Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riiit.com.mx

Evaluación del proceso de fitorremediación con *Myriophyllum aquaticum* para remoción del colorante índigo carmín

Evaluation of the phytoremediation process with *Myriophyllum aquaticum* for removal of the indigo carmine dye

Reyes-Pérez, J.A.[1], De León-Condes, C.A.[1]*, Roa-Morales, G.[2], Balderas-Hernández, P.[2]

[1] Tecnológico de Estudios Superiores de Tianguistenco, Carretera Tenango – La Marquesa Km 22, C.P. 52650, Estado de México, México.
[2] Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable, Universidad Autónoma del Estado de México – Universidad Nacional Autónoma de México (UAEM-UNAM), Carretera Toluca-Atlacomulco, km 14.5, Unidad El Rosedal, C.P. 50200, Estado de México, México.
reyesjazz@outlook.com; deleoncondes@yahoo.com*; gabyroamo@yahoo.com.mx; patbh2003@yahoo.com.mx

Innovación tecnológica: Aplicación de plantas nativas para la eliminación de contaminantes orgánicos.

Área de aplicación industrial: Proceso viable para su acoplamiento en plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) tanto industriales como municipales.

Recibido: 29 septiembre 2022
Aceptado: 07 abril 2023

Abstract

The phytoremediation process is considered a promising approach in wastewater treatment for the removal of different organic compounds and metals due to its cost effectiveness. The objective of this study was to determine the effectiveness of *Myriophyllum aquaticum* in the removal of indigo carmine (IC) dye used in textile dyeing processes. The tests were carried out in a volume of 1.5 L, with two color control blocks for the low and high concentration respectively, a control block of plants without coloring and two phytoremediation blocks, one for the low concentration and the other for the high concentration. The working concentrations were 50 and 100 mg/L of IC dye, for 15 and 29 days, at a pH of 6.42 ± 0.20, all the treatments were exposed to natural periods of light and darkness, determining the relative growth of *Myriophyllum aquaticum*, as well as such as the analysis of photosynthetic pigments where a decrease in total chlorophylls and carotenoids was observed as an evident response to stress generated by exposure to the dye. UV-Vis spectroscopy was used to determine the absorption spectra of the dye and its main by-products. The chemical

oxygen demand (COD) was determined, obtaining a removal efficiency of 60.58 ± 0.26 %, the color removal was 97.73 ± 1.09 %, both parameters for both concentrations. The results of this study show that *M. aquaticum* can be used in treatment of IC-contaminated wastewater.

Keywords: phytoremediation, indigo carmine dye, *Myriophyllum aquaticum*.

Resumen

El proceso de fitorremediación es considerado un enfoque prometedor en el tratamiento de aguas residuales para la remoción de diferentes compuestos orgánicos y metales debido a su rentabilidad. El objetivo de este estudio fue determinar la efectividad de *Myriophyllum aquaticum* en la remoción de colorante índigo carmín (IC) utilizado en procesos de teñido textil. Las pruebas fueron realizadas en un volumen de 1.5 L, con dos bloques de control del color para la concentración baja y alta respectivamente, un bloque control de plantas sin colorante y dos bloques de fitorremediación uno para la concentración baja y otro para la concentración alta. Las concentraciones de trabajo fueron de 50 y 100 mg/L de colorante IC, durante 15 y 29 días, a pH de 6.42 ± 0.20, todos los tratamientos estuvieron expuestos a periodos naturales de luz y oscuridad determinando el crecimiento relativo de *Myriophyllum aquaticum*, así como el análisis de los pigmentos fotosintéticos donde se observó una disminución de clorofilas totales y carotenoides como respuesta evidente de estrés generado por la exposición al colorante. La espectroscopía UV- Vis se utilizó para determinar los espectros de absorción del colorante y sus principales subproductos. Se determino la demanda química de oxígeno (DQO), obteniendo una eficiencia de remoción de 60.58 ± 0.26%, la remoción de color fue de 97.73 ± 1.09%, ambos parámetros para ambas concentraciones. Los resultados de este estudio muestran que *M. aquaticum* puede emplearse en tratamientos de aguas residuales contaminadas con IC.

Palabras clave: fitorremediación, colorante índigo carmín, *Myriophyllum aquaticum*.

I. Introducción

Las aguas residuales provenientes del proceso de teñido de la industria textil contribuyen a la contaminación, generan riesgos en ecosistemas acuáticos y la salud humana por su variedad de contaminantes, entre ellos destacan los colorantes altamente tóxicos capaces de reducir la actividad fotosintética afectando a la flora y fauna [1]. De acuerdo con Yaseen y Scholz en 2019 [2], las concentraciones de color reportadas varían desde los 50 hasta 7000 mg/L, debidas al tipo de colorante utilizado y a los procesos específicos de cada fabrica, por otro lado, Ghaly et al. (2014) [3] mencionan que la concentración de color en las descargas domesticas varía en un rango de 10 a 250 mg/L. El colorante índigo carmín (IC) es utilizado en la industria, para teñir artículos de mezclilla, alrededor de 40 mil toneladas de colorante índigo se producen anualmente en función de la demanda mundial. Debido a su estructura molecular compleja y alta estabilidad, este tipo de colorantes son difíciles de biodegradar, representando una amenaza para todos los seres vivos [4]. Hay muchos procesos disponibles para la eliminación de colorantes mediante tecnologías de tratamiento convencionales, incluida la oxidación biológica y química, la

coagulación, la flotación de espuma, la electrólisis, la biodegradación, la oxidación avanzada, la fotocatálisis y los procesos de adsorción, sin embargo dada la complejidad de las aguas residuales textiles ningún tratamiento único es efectivo, por lo que lo más adecuado es implementar sistemas acoplados [5]. La fitorremediación ha demostrado ser una técnica eficiente, ambientalmente amigable y de bajo costo para eliminar color, el mecanismo implica el uso eficiente de las plantas mediante la absorción de contaminantes a través de las raíces, acumulándolos en los tejidos del cuerpo, descomponiéndolos y transformándolos en formas menos dañinas, por lo que la posibilidad de sistemas integrados por fitorremediación y tecnologías avanzadas debe ser explorada con la finalidad de mejorar la calidad del efluente y reducir los costos [6]. Varias plantas acuáticas y terrestres poseen tolerancia al estrés por agua y toxicidad, entre las plantas acuáticas más representativas estudiadas para la eliminación de contaminantes en agua pertenecen a las familias *Ranunculaceae, Lemnaceae, Cyperaceae, Haloragaceae, Hydrocharitaceae, Potamogetonaceae, Typhaceae, Najadaceae, Pontederiaceae, Juncaceae y Zosterophyllacea*e [7]. El género Myriophyllum que pertenece a la familia Haloragaceae, también conocida como "milhojas de agua", es un género muy prolífico y cosmopolita que consta de especies acuáticas o semiacuáticas. Se encuentra en cuerpos de agua, incluidos lagos, ríos, estanques, canales de riego, zanjas de drenaje y otras vías fluviales, estas especies son consideradas malezas, pues se desarrollan en una amplia gama de condiciones de crecimiento a través de diferentes mecanismos de fragmentación del tallo vegetativo que explican su éxito como invasores en una nueva región [8], la especie *Myriophyllum aquaticum* ha sido reportada como una macrofita ideal para ser utilizada en fitorremediación debido a que puede resistir altas cargas de contaminación por N y una elevada capacidad para absorber nutrientes [9] y diversos contaminantes por lo que ha sido ampliamente utilizada para el tratamiento de aguas residuales [10]–[12]. La fitorremediación aplicada para degradar colorantes es un área de investigación poco explorada que representa una opción viable soportada por la cantidad de literatura publicada en los últimos años, que refuerza el principio de las plantas como alternativa efectiva debido a sus capacidades metabólicas y extractivas [13], como se observa en las investigaciones sobre remoción de colorantes con fitorremediación mostradas en la tabla 1, se puede observar que en la mayoría de los casos se alcanzan remociones de color superiores al 90%, por ejemplo en el estudio de Khandare et al., (2011) [14] se probó que la eficiencia de remoción de color está asociada a la concentración de las soluciones experimentales, pues ellos evaluaron concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 mg/L y la eficiencia fue disminuyendo conforme incrementaba la concentración desde 98 hasta solo un 38%. Por otro lado, resulta interesante resaltar que en la evaluación de un efluente textil realizada por Rane et al., en 2015 [15] la eficiencia apenas alcanza el 50% durante 6 días de tratamiento lo que sugiere como se mencionó anteriormente que el proceso de fitorremediación puede ser acoplado con otros procesos previos para mejorar la calidad del efluente como método de pulimiento.

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación es evaluar la remoción progresiva del colorante índigo carmín en solución por parte de *Myriophyllum aquaticum*, para demostrar su capacidad en la remediación de aguas residuales contaminadas con este colorante.

Tabla 1. Revisión de literatura sobre la remoción de colorantes utilizando fitorremediación con diferentes especies de macrofitas.

Autor, año	Contaminante	[mg/L]	Volumen	Biomasa	Especie usada	Tiempo de residencia	Remoción de color
Ekanayake et al., 2021 [16]	CI Azul directo 201 (DB 201)	50 mg/L	1 L	4 -10 plantas	*Eichhornia crassipes* y *Pistia stratiotes*	48 y 84 h	100 %
Ahila et al., 2021 [17]	Efluente textil y Rojo reactivo	NR	5 L	250 g	*P. stratiotes, S. adnata* y *H. verticillata*	48 h	73 - 86 %
Sharma et al., 2020 [18]	Colorantes aniónicos y catiónicos.	10 mg/L	2.5 L	96 -100 g	*Eichhornia crassipes*	10 días	79-90.8% catiónicos, 33.3 – 62.8 % aniónicos.
Imron et al., 2019 [19]	Azul de metileno	50	50 mL	2 g	*Lemna minor*	24 h	80.56 ± 0.44 %
Rane et al., 2016 [20]	Café 5R y mezcla de 6 colorantes	200	200 mL	/	*Ipomoea aquatica*	72 h	94 - 90%
	Efluente textil	valor ADMI	510 L	75% de covertura	*I. aquatica*	72 h/8 d	94%
Rani et al., 2016 [21]	Verde brillante	8.5 - 45	71 mL	callos de Tecoma, 3g	*Tecoma stans var. angustata*	2 h	100%
Chandanshive et al., 2016 [22]	Rubí GFL	100	500 mL	60 g	*Salvinia molesta*	72 h	97%
	Mezcla de 4 colorantes	100	500 mL	60 g	*S. molesta*	72 h	81%
	Efluente textil	694 ADMI	52,500 L	/	*S. molesta*	192 h	84%
Rane et al., 2015 [15]	Rojo remazol	70	200 mL	/	*A. philoxeroides*	72 h	100%
	Efluente textil	768 ADMI	340 L	25 al 100% covertura	*A. philoxeroides*	6 d	50%
Watharkar et al., 2014 [23]	Mezcla de 5 colorantes	50	10 mL	2 plantulas	*Portulaca grandiflora Gaillardia grandiflora*	36 h	76-96%
Vijayalakshmidevi et al., 2014 [24]	Efluente textil	/	100 mL	/	*B. dactyloides*	24 h	/
Vafaei et al., 2013 [25]	Rojo básico 46	5, 10, 15 y 20	400 mL	2, 4, 6 y 8 g	*Hydrocotyle vulgaris*	7 d	95%
Kabra et al., 2012 [26]	Escarlata RR/ Mezcla	50/ADMI	10mL/30L	6.5 g /planta	*G. pulchella*	72/96 h	100 -78%
Kabra et al., 2012 [27]	Mezcla de 5 colorantes	50 c/u	/	/	*G. pulchella*	72/96 h	50 -100%
Khataee et al., 2012 [28]	Azul ácido 92	5 a 20	200 mL	0.5 -4 g/ 200mL	*L. minor*	6 d	/
Khandare et al., 2011 [14]	Azul reactivo 172	20-100	/	2 -10 plantas	*P. grandiflora*	40 h	98-38%
Ong et al., 2010 [29]	Naranja ácido 7	50 y 100	/	/	*P. australis*	3 y 6 d	94-98%
Kagalkar et al., 2009 [30]	Mezcla de 5 colorantes	20-100 c/u	100 mL	3 plantas (8.03g)	*B. malcolmii*	3 d	42-96%

II. Materiales y equipos

El colorante índigo carmín utilizado en las pruebas de remoción fue de grado analítico adquirido en Sigma-Aldrich Chemicals. La determinación de los parámetros físicos y químicos de la solución de colorante índigo carmín fue medida mediante espectroscopia UV- Vis utilizando el espectrofotómetro Perkin- Elmer Lambda 25, determinando

espectros de absorción del colorante y sus principales subproductos, a partir de estándares se construyó la curva de calibración para medir la concentración del colorante. Los parámetros se midieron utilizando la metodología contenida en las normas oficiales mexicanas, la DQO por la NMX-AA-030/2-SCFI-2011 método del tubo sellado a pequeña escala; el pH fue medido de acuerdo con la NMX-AA-008-SCFI-2011 Análisis de agua - determinación del pH - método de prueba. Para el porcentaje de remoción de color y DQO se utilizaron las ecuaciones 1 y 2 respectivamente.

$$\%\ \text{Remoción de color} = \frac{[IC]_0 - [IC]_t}{[IC]_0} * 100 \quad \textbf{(Ec. 1)}$$

$$\%\ \text{Remoción de DQO} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} * 100 \quad \textbf{(Ec. 2)}$$

Para el crecimiento de las plantas se preparó una solución nutritiva de Hoagland (preparada con reactivos marca Fermont grado reactivo) modificado para crecimiento [31]. Para la determinación de pigmentos fotosintéticos se utilizó acetona HPLC de Fermont, agua destilada y nitrógeno líquido. La determinación se realizó por espectrofotometría UV-Vis entre 200 y 900 nm con el espectrofotómetro HACH DR/4000U siguiendo la metodología reportada por Yang et al., [32].

III. Métodos experimentales

Recolección y propagación de *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc., 1973.

La macrofita *Myriophyllum aquaticum* fue seleccionada para esta investigación porque es una planta típica que crece en la región del Estado de México, sus tallos, raíces y ramas crecen muy rápidamente bajo el agua, proporcionando grandes áreas de contacto para contaminantes y microorganismos, incrementado el potencial considerablemente para su uso en el tratamiento de aguas residuales [33]. Los ejemplares de *Myriophyllum aquaticum* fueron colectados en la presa Ignacio Ramírez en Almoloya de Juárez, Estado de México (elevación de 2550 msnm, 19° 46’ 38” N y 99° 77’ 75’’ W), llevadas al laboratorio, lavadas y colocadas en dos tinas con agua potable en un volumen de 20 L cada una, se adicionaron 20 mL/L de la solución nutritiva de Hoagland una vez por semana. Las plantas fueron mantenidas a temperatura ambiente (20 ± 5° C), a un pH de 6.5 a 7.5, expuestas a periodos naturales de luz y oscuridad por un espacio de 29 días [34].

Determinación de concentraciones

Se realizó una revisión de artículos de investigación sobre fitorremediación en colorantes textiles y a partir de estos resultados se propusieron las concentraciones experimentales del colorante, así como el volumen a tratar y la biomasa utilizada. Se determinaron los parámetros fisicoquímicos necesarios a medir como la DQO, como se muestra en la Tabla 1.

La búsqueda bibliográfica también es soporte para determinar el tipo de planta a utilizar que no ha sido probada, el tiempo de tratamiento, y las concentraciones de contaminante.

Tratamientos experimentales de fitorremediación

Se realizaron cinco bloques de prueba con tres sistemas cada uno en recipientes plásticos con capacidad para dos litros, previamente lavados. Se marcó con tinta indeleble el nivel del volumen tratado para realizar la recuperación de volumen perdido por evapotranspiración y muestreo, para la recuperación se utilizó agua destilada.

El volumen de los tratamientos fue de 1.5 L, los bloques se distribuyeron de la siguiente manera, 2 bloques de control color para las concentraciones baja y alta respectivamente, 1 bloque control de plantas sin colorante y 2 bloques de fitorremediación uno para la concentración baja y otro para la

concentración alta como se muestra en la Figura 1, además se agregaron a todos los tratamientos 3 mL de solución nutritiva de Hoagland al inicio del experimento. El experimento tuvo una duración de 15 y 29 días para las distintas concentraciones, el pH fue monitoreado cada tercer día desde la colocación de los tratamientos hasta el final de estos con el potenciómetro portátil CONDUCTRONIC pH10.

Se utilizaron dos organismos de *Myriophyllum aquaticum* para cada tratamiento de fitorremediación con un peso promedio de 6.86 ± 0.48 g. Como preparación para los tratamientos de fitorremediación las plantas fueron seleccionadas tres días antes del montaje de los tratamientos y separadas del resto en otro recipiente, se registraron sus datos de peso y longitud, las plantas fueron colocadas en papel absorbente para eliminar el exceso de agua y poder tomar los datos de peso y longitud, al final se les asignó un número de identificación colocando un anillo de cinta adhesiva en la parte aérea del ejemplar. Con los datos registrados se calculó la tasa de crecimiento relativo (TCR) de acuerdo con la ecuación 3 [35], donde W_i se refiere al peso inicial y W_f al peso final del tratamiento con el colorante IC.

$$TCR\ (día^{-1}) = \frac{[In\,W_f - In\,W_i]}{día} \quad \textbf{(Ec. 3)}$$

Con los datos de peso y longitud fue posible determinar también el índice de tolerancia (IT) que es la habilidad de la planta para crecer en presencia de algún contaminante orgánico, fue determinada con la ecuación 4 [36].

$$\text{IT} = \frac{\text{Biomasa fresca de las plantas expuestas}}{\text{Biomasa fresca de las plantas control}} \quad \textbf{(Ec. 4)}$$

Análisis de pigmentos fotosintéticos.

Las clorofilas (a y b) y los carotenoides (xantofila y caroteno) son los principales pigmentos vegetales involucrados en el proceso fotosintético, para determinarlos en los ejemplares experimentales se siguió el método de extracción reportado por Yang et al. [32] para lo que fueron tomados 0.25 ± 0.01 gramos de hojas de la planta, se maceraron con nitrógeno líquido, una vez triturados se mezclaron con 5 mL de acetona al 80%, se llevan a refrigeración durante 20 min y el extracto crudo se centrifugó a 2000 g durante 10 min. La absorbancia del sobrenadante se midió espectrofotométricamente a las longitudes de onda de 663, 646 y 440 nm, para el cálculo de las concentraciones de clorofilas a, b, totales (Cl a, Cl b y Cl a+b) y carotenoides (Car) se aplicaron las ecuaciones de la 5 a la 8 respectivamente, como blanco se utilizó acetona al 80%.

$$\text{Cl a} = 12.25\ A_{663} - 2.55\ A_{646}\ (\mu g/\ mL) \quad \textbf{(Ec. 5)}$$
$$\text{Cl b} = 20.31\ A_{646} - 4.91\ A_{663}\ (\mu g/\ mL) \quad \textbf{(Ec. 6)}$$
$$\text{Cl a + b} = 17.76\ A_{646} + 7.34\ A_{663}\ (\mu g/\ mL) \quad \textbf{(Ec. 7)}$$
$$\text{Car} = 4.69\ A_{440} - 0.267\ \text{Cl a + b}\ (\mu g/\ mL) \quad \textbf{(Ec. 8)}$$

IV. Resultados y discusión

Cambios en los parámetros de crecimiento vegetal de Myriophyllum aquaticum.

En la figura 1 se muestra el avance progresivo de la remoción de colorante índigo carmín durante su tratamiento con *M. aquaticum*. Visualmente se puede observar que el color pierde intensidad si se compara con los tratamientos control de color, también es posible observar que las plantas en el bloque control tienen un mayor crecimiento que las expuestas al colorante.

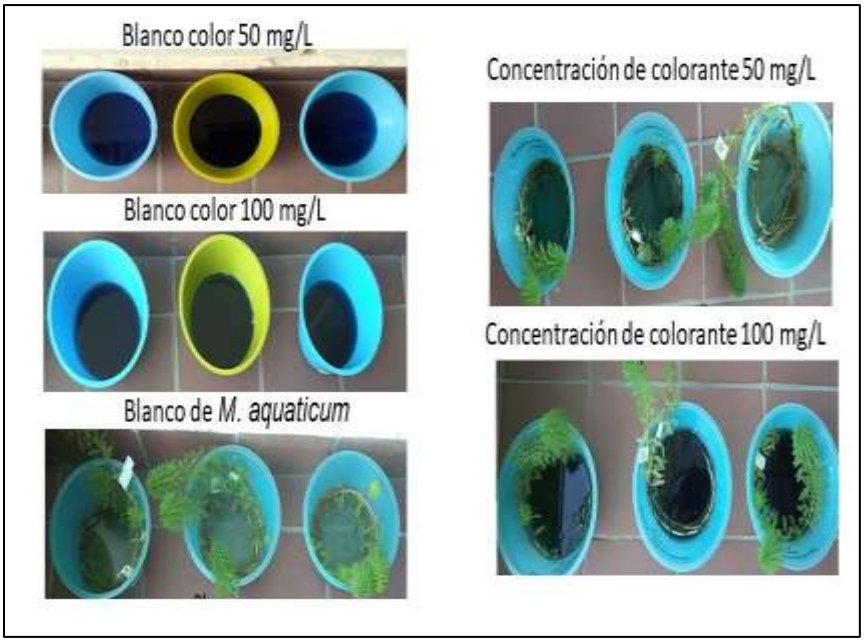


Figura 1. Tratamientos con *Myriophyllum aquaticum* en contacto con la solución de colorante índigo carmín.

En la figura 2 se muestran dos ejemplares de *Myriophyllum aquaticum*, el primero corresponde al grupo control y el segundo al tratamiento con 100 mg/L de IC, ambas muestran el antes y después del tratamiento que duro 29 días, en el ejemplar del grupo control es evidente el incremento foliar, el crecimiento radicular así como el surgimiento de varios brotes en el tallo principal, mientras que en el ejemplar experimental aun cuando se observan cambios en el tamaño de la raíz estos son menores, esto se explica considerando que la tasa de crecimiento relativo en los tratamientos con la concentración de 50 mg/L de colorante se observó una disminución en un 0.82% por debajo del control. Sin embargo, al final del tratamiento con la concentración de 100 mg/L de IC la TCR aumentó un 6.5% en comparación con el control. Estos resultados sugieren que el colorante IC tiene efectos inhibitorios en el crecimiento de las plantas en un periodo inicial de exposición, pero al incrementar este las plantas desarrollan tolerancia al contaminante, lo cual fue demostrado con el cálculo del índice de tolerancia que fue de 0.94 para las plantas expuestas a 50 mg/L y retiradas a los 15 días, e incrementa a 1.16 para las plantas expuestas a 100 mg/L y retiradas a los 29 días. Es importante destacar que una mayor biomasa en la zona de la raíz incrementa la superficie de contacto y conduce a una remediación más efectiva [37]. Se ha reportado que la TCR de *M. aquaticum* son muy rápidas, entre 1.8–7.0 g m^{-2} d^{-1} (de materia seca) en canales de riego [8]. Gao et al., 2020 [38] por su parte encontró que la TCR de *M. aquaticum* presenta una tendencia decreciente dependiente de la concentración de amonio – N y tiempo de exposición presentado un TCR negativa en tratamientos con concentración de amonio de 200 y 400 mg/L durante 21 días de exposición.

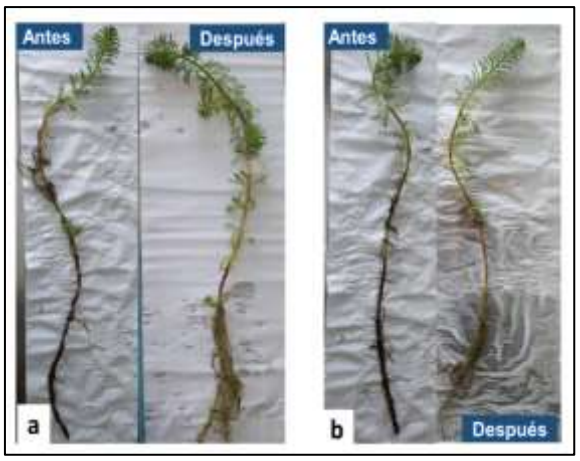


Figura 2. Cambios en el tamaño de la raíz de *Myriophyllum aquaticum* después del tratamiento del colorante IC, a) grupo control, b) tratamiento con 100 mg/L de IC.

El pH medido inicial para los tratamientos de IC de 50 mg/L y 100 mg/L fue de 6.01 ± 0.22 y 7.11 ± 0.08, en el caso del tratamiento de 50 mg/L el pH se mantuvo a 6.18 ± 0.08, mientras que en el tratamiento de 100 mg/L el pH disminuyó ligeramente y se estabilizó en 6.51 ± 0.08 esto indica que el pH adecuado para el crecimiento y actividades metabólicas de *M. aquaticum* está entre 6 y 7, de acuerdo con lo reportado por Al-Baldawi *et al.* (2020) [35] quienes mencionan que el pH cercano a 6.5 puede ser relevante para el proceso de decoloración. Dado que las raíces de las plantas tienen carga negativa, las cargas positivas presentes en la molécula del colorante IC mejoran la interacción entre la planta y el colorante incrementando su adsorción y posterior degradación [11].

Análisis del pigmento fotosintético en la remoción.

Las clorofilas y la concentración de carotenoides en las hojas fueron medidas después de 15 y 29 días de exposición entre la planta y el colorante índigo carmín a concentraciones de 50 y 100 mg/L. Durante el proceso de tratamiento, se encontró que las cantidades de clorofila a (Ca), clorofilas totales a+b (Ca+b) y carotenoides (Cx+c) disminuyeron un 23.37, 20.28 y 22.45 % respectivamente durante los primeros 15 días, en comparación con el control (Figura 3), mientras que al concluir los 29 días la diferencia con el control se redujo a 11.98, 10.62 y 7.27%, respectivamente. Rane et al., 2016 [20] encontraron resultados similares en *Ipomoea aquatica* donde la clorofila a, la clorofila b y los carotenoides se redujeron en un 25, 17 y 30%, respectivamente, después de la exposición a Brown 5R en comparación con el control. La disminución de clorofila a, clorofilas totales y carotenoides durante los primeros 15 días de exposición es una respuesta evidente de estrés generado por la exposición al colorante, el incremento de estos pigmentos a través del tiempo en el tratamiento más largo junto con los valores de las relaciones Cl a/b y Cl a+b/ Car que se mantuvieron estables durante todo el experimento representa una evidencia de adaptación a las condiciones ambientales [39]. Khataee et al., 2012 [28] sugieren que la inhibición en el crecimiento de las plantas en la etapa inicial de exposición al colorante puede influir en la producción de carotenos en esta etapa dado que estos actúan como pigmentos accesorios en la fotosíntesis tomando un papel protector ante el estrés ambiental.

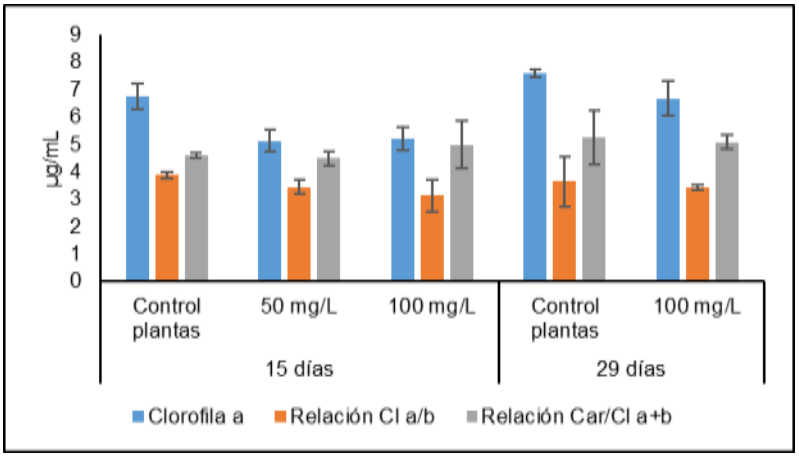


Figura 3. Determinación de pigmento fotosintético para los tratamientos de fitorremediación con *M. aquaticum* de 50 y 100 mg/L a 15 y 29 días.

Remoción de colorante índigo carmín por Myriophyllum aquaticum.

Se calcularon los porcentajes de remoción del colorante IC después del tratamiento de fitorremediación por *Myriophyllum aquaticum*. Las figuras 4(a) y 4(b) muestran los porcentajes de remoción de color después de 15 y 29 días, estos ascienden a 97.74% y 97.76% para concentraciones de 50 y 100 mg/L respectivamente, resultados similares a los obtenidos en las diferentes investigaciones mostradas en la tabla 1. El mayor porcentaje de remoción (alrededor del 60%) respecto de los controles de color (alrededor del 20%), se produjo en la primera mitad del tiempo total. Esto coincide con trabajos de fitorremediación reportados sobre la remoción de colorantes tipo azo removidos por procesos de fitorremediación en concentraciones y días de monitoreo similares [39], [40]. La tasa de remoción del color también es influida por el tipo de colorante que se trate ya que se debe considerar la fotodegradación por exposición a la luz solar, en este trabajo se pudo observar que el colorante IC se degrada en un 44.91% durante 15 días de exposición a luz solar y un 66.29% al final de 29 días [40].

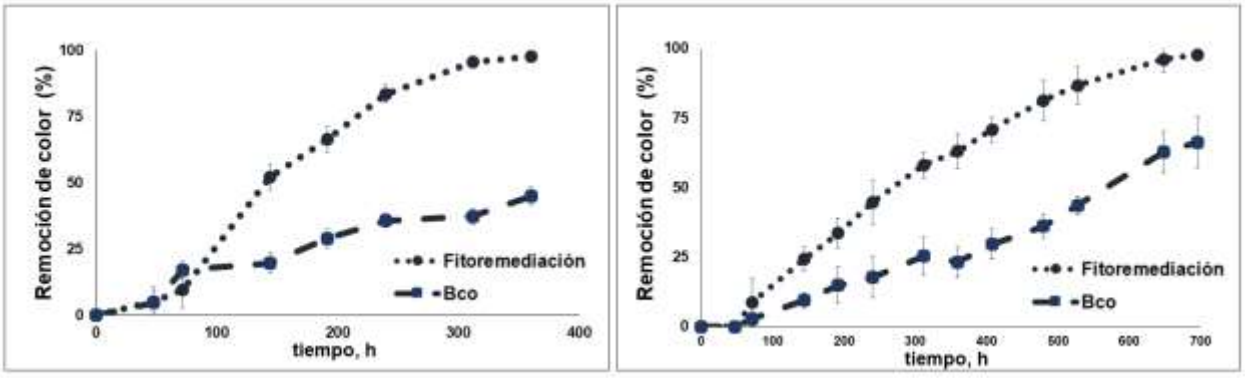


Figura 4. Porcentaje de remoción del colorante índigo carmín a concentraciones de 50 (a) y 100 mg/L (b).

El análisis UV-Visible se realizó en una longitud de onda de 900 a 200 nm para ambas concentraciones de los tratamientos con IC. El espectro de absorción UV-Visible del índigo carmín se caracteriza por presentar tres bandas de máxima absorción situadas en 610, 287 y 252 nm. Las muestras de los sobrenadantes retirados al término de la

exposición de *Myriophyllum aquaticum* al colorante IC muestran la decoloración asociada a la disminución de la concentración del colorante. En la figura 5 se observa que la banda a 610 nm asociada al grupo cromóforo de la molécula del IC disminuye considerablemente después del tratamiento, al igual que el pico a 287 nm, mientras que aparece una banda de absorción en 259 nm y otra en 233 nm. Se observa además la aparición de una banda a 290 nm relacionada con el grupo amino y una banda a 205 nm que se atribuye al grupo carbonilo, ambas relacionadas con la resonancia del anillo aromático resultante de la degradación de la molécula de IC. Los resultados sugirieren la escisión de la estructura cromófora del colorante en los tejidos de la planta y que una vez degradado sus metabolitos son secretados a hacia la solución, como lo reportan otros autores que han implementado la fitodegradación en otros colorantes [19], [22].

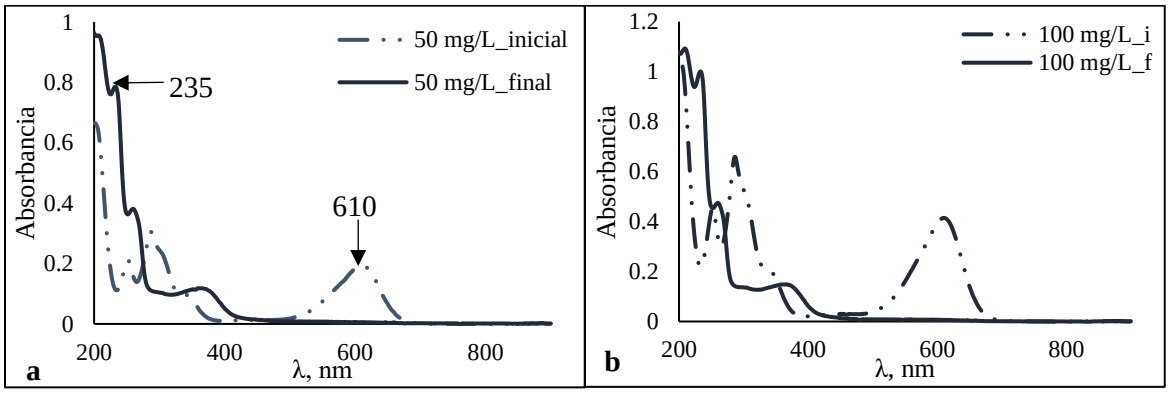


Figura 5. Espectros de absorción UV-Vis de índigo carmín antes y después del tratamiento con *Myriophyllum aquaticum*, a) para la concentración de 50 mg/L y b) para la concentración de 100 mg/L.

Análisis de parámetros de calidad del agua

Se determinó la DQO del agua contaminada con índigo carmín, los valores para las concentraciones de colorante de experimentales (50 y 100 mg/L) disminuyeron en las muestras de prueba tratadas con *M. aquaticum* durante los 15 y 29 días. Como se muestra en la figura 6 la eficiencia de remoción de DQO fue muy similar para ambos tratamientos con un 60.81 ± 0.02 % y 60.36 ± 0.02 % para 50, 100 mg/L respectivamente. Estos resultados indican que *Myriophyllum aquaticum* tiene la capacidad de degradar el IC presente en solución acuosa.

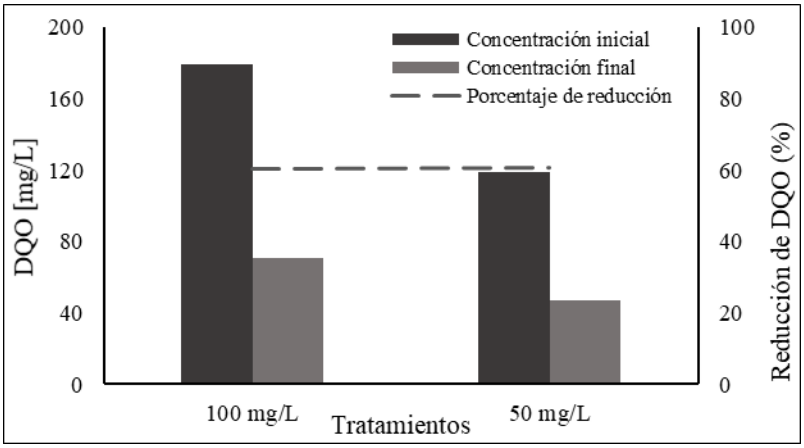


Figura 6. Reducción de DQO en los tratamientos experimentales con 50 y 100 mg/L de IC.

Como se observó en la figura 5 la banda característica del colorante disminuye a través del tiempo transcurrido por el tratamiento, sin embargo los valores de la DQO no disminuyeron en la misma proporción y esto está relacionado con los subproductos observados en el espectro UV-Vis derivados de la degradación del colorante por la planta, entre los metabolitos principales se encuentra el ácido isatin sulfónico [41]. De las investigaciones revisadas pocas son las que reportan la reducción de DQO como complemento en las investigaciones con fitorremediación, tal es el caso de Kabra et al., 2012 [27] quienes probaron la eficiencia de *Glandularia pulchella* para tres diferentes tipos de efluentes con colorantes encontrando reducciones de DQO en un rango de 66 a 70%, por su parte Watharkar et al., 2014 [23] evaluaron la eficiencia de remoción de color y DQO en un efluente real utilizando un consorcio compuesto por *Petunia grandiflora* y *Gaillardia grandiflora*, encontraron una eficiencia de reducción de la DQO en un 73%, en ambos casos la remoción de color supero el 90%.

En la figura 7 se muestra la solución al término del tratamiento de los 15 y 29 días para una concentración inicial de 50 mg/L y 100 mg/L respectivamente, puede observarse la completa decoloración de ambos tratamientos a excepción de la segunda réplica del tratamiento de 100 mg/L, donde aún se observa un ligero tono azul, la eficiencia puede estar asociada con un bajo crecimiento de las raíces de las plantas expuestas en este tratamiento.

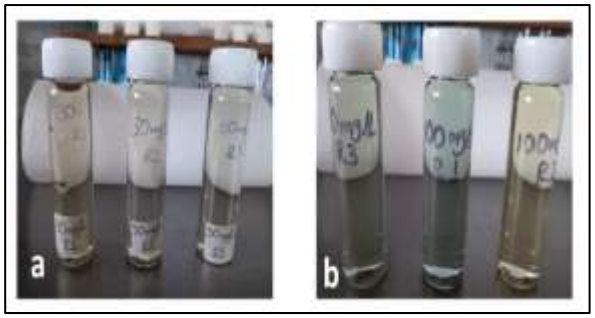


Figura 7. Soluciones después del tratamiento con *Myriophyllum aquaticum* con a) 50 mg/L y b) 100mg/L.

Mecanismo

La Fitorremediaciones de contaminantes generalmente ocurre a través de varios mecanismos, entre estos se encuentra la fitoabsorción que es generalmente un proceso inicial donde las plantas absorben los contaminantes al interactuar con ellos en la zona de la raíz, en conjunto con otros nutrientes y agua necesarios para su crecimiento. Algunos contaminantes absorbidos como los metálicos no se destruyen, sino que se acumulan en brotes, hojas y otras partes de la planta [42]. En cambio, lo contaminantes orgánicos como el caso del colorante IC pasan por un proceso de fitodegradación, donde las plantas descomponen el contaminante en formas más simples y menos tóxicas utilizándolo como fuente de carbono mediante procesos metabólicos o bien por medio de enzimas. Entre las enzimas que se han reportado que participan en el proceso de fitorremediación son principalmente del tipo oxido-reductoras como la nitroreductasa, lacasa, deshalogenasa, peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa y nitrilasa. En el caso de *Myriophyllum aquaticum* esta planta acuática produce la enzima nitroreductasa [43] responsable parcialmente de degradar compuestos orgánicos nitro aromáticos [44] mediante dos mecanismos de reducción posibles, 1) tipo I que es insensible al oxígeno dando lugar a intermediarios nitroso y amino; 2) tipo II mediante la nitroreductasa sensible

al oxígeno que da lugar al radical nitro anión que al volver a re-oxidarse en presencia del oxígeno genera al radical anión superóxido [45] especie de oxígeno altamente reactiva el cual, al aceptar otro electrón, es capaz de producir peróxido de hidrógeno (H_2O_2), potente prooxidante y del que se puede originar el radical hidroxilo ($OH^{\cdot}$) capaz de mineralizar compuestos orgánicos presentes en el agua. Por lo tanto y al reaccionar con el agua es posible que haya ocurrido la combinación de procesos de fitorremediación por *Myriophyllum aquaticum* para la remoción del colorante orgánico IC incluida la fitoabsorción seguida de la fitodegradación y que, sumada a la contribución de la fotodegradación del colorante, permitió alcanzar el 97.73± 1.09% de remoción de color y la disminución del 60.58 ± 0.26% de DQO en las concentraciones baja y alta probadas.

V. Conclusiones

El presente estudio confirmó que *Myriophyllum aquaticum* remueve el colorante índigo carmín, es una planta que puede sobrevivir y crecer en una solución contaminada y ser utilizada en la fitorremediación de aguas residuales en cuerpos de agua contaminados por colorantes. Los resultados de las pruebas de remoción del colorante con *M. aquaticum* alcanzaron el 97.73± 1.09% para concentración baja y alta del colorante mediante la fitoabsorción y fitodegradación. Por otro lado, los resultados de los parámetros de crecimiento y producción de clorofilas por parte de *M. aquaticum* durante el proceso experimental sugieren que la planta pasa por una fase de adaptación en la que su crecimiento se ve disminuido, pero que con el trascurrir del tiempo la planta se recupera reduciendo sus diferencias con respecto al grupo no expuesto, mejorando su crecimiento y producción de pigmentos fotosintéticos. Los hallazgos del presente estudio podrían ser probados con aguas del teñido textil y aplicados para planeación y desarrollo de plantas de tratamiento de aguas residuales del teñido de mezclilla en un espacio limitado con bajo costo de construcción y mantenimiento, bajo requerimiento de mano de obra, menor tiempo de operación y producción mínima de lodos, en comparación con los métodos de tratamiento fisicoquímicos existentes. Se debe considerar que la fitorremediación, especialmente la ocurrida por medio del metabolismo de las plantas y la biodegradación, requieren más investigación.

VI. Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por el apoyo a la estancia de especialización EESP2021-0040, agradecen también al Centro Conjunto en Química Sustentable UAEMex-UNAM por la infraestructura prestada, especialmente a la L.I.A. María Citlalit Martínez Soto por el apoyo con la información documental.

VII. Referencias

[1] G. Saxena, R. Kishor, S. Zainith, and R. N. Bharagava, “Chapter 17. Environmental contamination, toxicity profile and bioremediation technologies for treatment and detoxification of textile effluent”, in Bioremediation for Environmental Sustainability, *INC*, 2021, pp. 415–434.

[2] D. A. Yaseen and M. Scholz, “Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review”, *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 16, no. 2. 2019, pp. 1193-1226, doi: 10.1007/s13762-018-2130-z

[3] A. E. Ghaly, R. Ananthashankar, M. Alhattab, and V. V. Ramakrishnan, “Production, Characterization and

Treatment of Textile Effluents: A Critical Review", *Journal of Chemical Engineering & Process Technology*, vol. 05, 2014, pp. 1–19, doi: 10.4172/2157-7048.1000182.

[4] M. F. Chowdhury, S. Khandaker, F. Sarker, A. Islam, M. T. Rahman, and M. R. Awual, "Current treatment technologies and mechanisms for removal of indigo carmine dyes from wastewater: A review", *Journal of Molecular Liquids*, vol. 318, 2020, p. 114061, doi: 10.1016/j.molliq.2020.114061.

[5] C. V. Nachiyar, A. D. Rakshi, S. Sandhya, N. B. D. Jebasta, and J. Nellore, "Developments in treatment technologies of dye-containing effluent: A review", *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, vol. 7, no. July 2022, p. 100339, doi: 10.1016/j.cscee.2023.100339.

[6] R. Yuliasni, S. B., Kurniawan, B. Marlena, M. R. Hidayat, A. Kadier, Ma, P. C., and M. F. Imron, "Recent Progress of Phytoremediation-Based Technologies for Industrial Wastewater Treatment", *Journal of Ecological* Engineering, vol. 24, no. 2, 2023, pp. 208–220, doi: 10.12911/22998993/156621.

[7] A. A. Ansari, M. Naeem, S. S. Gill, and F. M. AlZuaibr, "Phytoremediation of contaminated waters: An eco-friendly technology based on aquatic macrophytes application," *Egyptian Journal of Aquatic Research*, vol. 46, no. 4, 2020, pp. 371–376, doi: 10.1016/j.ejar.2020.03.002.

[8] M. Nsenga Kumwimba, M. Dzakpasu, and X. Li, "Potential of invasive watermilfoil (*Myriophyllum spp.*) to remediate eutrophic waterbodies with organic and inorganic pollutants," *Journal of Environmental Management*, vol. 270, no. November, 2020, p. 110919, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110919.

[9] L. Xu, B. Zhang, X. Peng, X. Zhang, B. Sun, H. Sun, C. Jiang, S. Zhou, X. Zeng, Z. Bai, S.

Xu and X. Zhuang, "Dynamic variations of microbial community structure in *Myriophyllum aquaticum* constructed wetlands in response to different NH4+-N concentrations," *Process Biochemistry*, vol. 93, no. February, 2020, pp. 55–62, doi: 10.1016/j.procbio.2020.02.028.

[10] X. Guo, H. Zhong, P. Li and C. Zhang, "Microbial communities responded to tetracyclines and Cu(II) in constructed wetlands microcosms with *Myriophyllum aquaticum*," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 205, no. September, 2020, pp. 111362, doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111362.

[11] X. Guo, P. Wang, Y. Li, H. Zhong, P. Li, C. Zhang and T. Zhao, "Effect of copper on the removal of tetracycline from water by *Myriophyllum aquaticum*: Performance and mechanisms," *Bioresource Technology*, vol. 291, no. July, 2019, p. 121916, doi: 10.1016/j.biortech.2019.121916.

[12] F. Liu, S. Zhang, P. Luo, X. Zhuang, X. Chen, and J. Wu, "Purification and reuse of non-point source wastewater via Myriophyllum-based integrative biotechnology: A review," *Bioresource Technology*, vol. 248, Jan. 2018, pp. 3–11, doi: 10.1016/j.biortech.2017.07.181.

[13] V. Kumar, A. Kaushal, M. P. Shah, and K. Singh, "Chapter 16 - Phytoaugmentation technology for phytoremediation of environmental

pollutants: current scenario and future prospects," in Bioremediation for Environmental Sustainability, *Elsevier B.V.*, 2021, pp. 329–381.

[14] R. V. Khandare, A. N. Kabra, M. B. Kurade, and S. P. Govindwar, "Phytoremediation potential of *Portulaca grandiflora* Hook. (Moss-Rose) in degrading a sulfonated diazo reactive dye Navy Blue HE2R (Reactive Blue 172)", *Bioresource Technology*, vol. 102, no. 12, 2011, pp. 6774–6777, doi: 10.1016/j.biortech.2011.03.094.

[15] N. R. Rane, V. V. Chandanshive, A. D. Watharkar, R. V. Khandare, T. S. Patil, P. K. Pawar, and S. P. Govindwar, "Phytoremediation of sulfonated Remazol Red dye and textile effluents by *Alternanthera philoxeroides*: An anatomical, enzymatic and pilot scale study", *Water Research*, vol. 83, 2015, pp. 271–281, doi: 10.1016/j.watres.2015.06.046.

[16] M. S. Ekanayake, D. Udayanga, I. Wijesekara, and P. Manage, "Phytoremediation of synthetic textile dyes: biosorption and enzymatic degradation involved in efficient dye decolorization by *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms and *Pistia stratiotes* L.", *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 28, no. 16, 2021, pp. 20476–20486, doi: 10.1007/s11356-020-11699-8.

[17] K. G. Ahila, B. Ravindran, V. Muthunarayanan, D. D. Nguyen, X. C. Nguyen, S. W. Chang, V. K. Nguyen, and C. Thamaraiselvi, "Phytoremediation potential of freshwater macrophytes for treating dye-containing wastewater", *Sustainability*, vol. 13, no. 1, 2021, pp. 1–13, doi: 10.3390/su13010329.

[18] R. Sharma, H. Saini, D. R. Paul, S. Chaudhary, and S. P. Nehra, "Removal of organic dyes from wastewater using *Eichhornia crassipes*: a potential phytoremediation option", *Environmental Science and Pollution Research.*, vol. 28, no. 6, 2020, pp. 7116–7122, doi: 10.1007/s11356-020-10940-8.

[19] M. Imron, S. Budi, and A. Soegianto, "Phytoremediation of methylene blue using duckweed (*Lemna minor*)", *Heliyon*, vol. 5, no. July, 2019, p. e02206, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02206.

[20] N. R. Rane, S. M. Patil, V. V. Chandanshive, S. K. Kadam, R. V. Khandare, J. P. Jadhav, and S. P. Govindwar, "*Ipomoea hederifolia* rooted soil bed and *Ipomoea aquatica* rhizofiltration coupled phytoreactors for efficient treatment of textile wastewater", *Water Research*, vol. 96, 2016, pp. 1–11, doi: 10.1016/j.watres.2016.03.029.

[21] N. Rani and E. Abraham, "A potential tissue culture approach for the phytoremediation of dyes in aquaculture industry", *Biochemical Engineering Journal*, vol. 115, 2016, pp. 23–29, doi: 10.1016/j.bej.2016.08.001.

[22] V. V. Chandanshive, N. R. Rane, A. R. Gholave, S. M. Patil, B. Jeon, and S. P. Govindwar, "Efficient decolorization and detoxification of textile industry effluent by *Salvinia molesta* in lagoon treatment", *Environmental Research*, vol. 150, 2016, pp. 88–96, doi: 10.1016/j.envres.2016.05.047.

[23] A. D. Watharkar and J. P. Jadhav, "Detoxification and decolorization of a simulated textile dye mixture by phytoremediation using *Petunia grandiflora* and, *Gailardia grandiflora*:

A plant – plant consortial strategy", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 103, 2014, pp. 1–8, doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.01.033.

[24] S. R. Vijayalakshmidevi and K. Muthukumar, "Phytoremediation of textile effluent pretreated with ultrasound and bacteria", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 2, no. 3, 2014, pp. 1813–1820, doi: 10.1016/j.jece.2014.07.017.

[25] F. Vafaei, A. Movafeghi, A. R. Khataee, M. Zarei, and S. Y. Salehi Lisar, "Potential of *Hydrocotyle vulgaris* for phytoremediation of a textile dye: Inducing antioxidant response in roots and leaves", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 93, 2013, pp. 128–134, doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.03.035.

[26] A. N. Kabra, R. V. Khandare, T. R. Waghmode, and S. P. Govindwar, "Phytoremediation of textile effluent and mixture of structurally different dyes by *Glandularia pulchella* (Sweet) Tronc.", *Chemosphere*, vol. 87, no. 3, 2012, pp. 265–272, doi:10.1016/j.chemosphere.2011.12.052 .

[27] A. N. Kabra, R. V Khandare, and S. P. Govindwar, "Development of a bioreactor for remediation of textile effluent and dye mixture: A plant e bacterial synergistic strategy", *Water Research*, vol. 47, no. 3, 2012, pp. 1035–1048, doi: 10.1016/j.watres.2012.11.007.

[28] A. R. Khataee, A. Movafeghi, S. Torbati, S. Y. Salehi, and M. Zarei, "Phytoremediation potential of duckweed (*Lemna minor* L.) in degradation of C. I. Acid Blue 92 : Artificial neural network modeling", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 80, 2012, pp. 291–298, doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.03.021.

[29] S. Ong, K. Uchiyama, D. Inadama, Y. Ishida, and K. Yamagiwa, "Treatment of azo dye Acid Orange 7 containing wastewater using up-flow constructed wetland with and without supplementary aeration", *Bioresource Technology*, vol. 101, no. 23, 2010, pp. 9049–9057, doi: 10.1016/j.biortech.2010.07.034.

[30] A. N. Kagalkar, U. B. Jagtap, J. P. Jadhav, V. A. Bapat, and S. P. Govindwar, "Biotechnological strategies for phytoremediation of the sulfonated azo dye Direct Red 5B using *Blumea malcolmii* Hook", *Bioresource Technology*, vol. 100, no. 18, 2009, pp. 4104–4110, doi: 10.1016/j.biortech.2009.03.049.

[31] L. Taiz and E. Zeiger, "Fisiología Vegetal", Volumen I, *Universitat Jaume I, Publicacions*, ed III, 2002, pp. 722

[32] C.-M. Yang, K.-W. Chang, M.-H. Yin, and H.-M. Huang, "Method and Determination of the Chlorophyll and their Derivates", *Taiwania*, vol. 43, no. 2, 1998, pp. 116–122.

[33] X. Guo, M. Liu, H. Zhong, P. Li, C. Zhang, D. Wei, and T. Zhao, "Potential of *Myriophyllum aquaticum* for phytoremediation of water contaminated with tetracycline antibiotics and copper", *Journal of Environmental Management*, vol. 270, no. February, 2020, p. 110867, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110867.

[34] C. T. Cano-Rodríguez, G. Roa-Morales, A. Amaya-Chávez, R. A. Valdés-Arias, C. E. Barrera-Díaz, and P. Balderas-Hernández, "Tolerance of *Myriophyllum aquaticum* to exposure of industrial wastewater pretreatment with electrocoagulation and their efficiency in the removal of pollutants", *Journal of*

Environmental Biology, vol. 35, no. January, 2014, pp. 127–136.

[35] I. A. Al-Baldawi, S. R. S. Abdullah, A. F. Almansoory, N. 'Izzati Ismail, H. A. Hasan, and N. Anuar, "Role of *Salvinia molesta* in biodecolorization of methyl orange dye from water", *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, 2020, pp. 1–9, doi: 10.1038/s41598-020-70740-5.

[36] K. Li, H. Li, C. Li, and H. Xie, "Phytoremediation of aniline by *Salix babylonica* cuttings: Removal, accumulation, and photosynthetic response", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 214, 2021, p. 112124, doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112124.

[37] H. Xiao-Dong, Y. El-alawi, D. M. Penrose, B. R. Glick, and B. M. Greenberg, "Responses of three grass species to creosote during phytoremediation", *Environmental Pollution*, vol. 130, 2004, pp. 453–463, doi: 10.1016/j.envpol.2003.09.031.

[38] J. Gao, L. Liu, N. Ma, J. Yang, Z. Dong, J. Zhang, J. Zhang, and M. Cai, "Effect of ammonia stress on carbon metabolism in tolerant aquatic plant—*Myriophyllum aquaticum*", *Environmental Pollution*, vol. 263, 2020, pp. 114412, doi: 10.1016/j.envpol.2020.114412.

[39] E. Rapó, K. Posta, A. Csavdari, and V. Boglarka, "Performance Comparison of Eichhornia", *Crystals*, 2020, pp. 4–17, doi:10.3390/cryst10070565.

[40] K. A. Tan, N. Morad, and J. Q. Ooi, "Phytoremediation of Methylene Blue and Methyl Orange Using *Eichhornia crassipes*", *International Journal of Environmental Science and Development*, vol. 7, no. 10, 2016, pp. 724–728, doi: 10.18178/ijesd.2016.7.10.869.

[41] C. A. De León-Condés, G. Roa-Morales, G. Martínez-Barrera, P. Balderas-Hernández, C. Menchaca-Campos, and F. Ureña-Núñez, "A novel sulfonated waste polystyrene / iron oxide nanoparticles composite: Green synthesis, characterization and applications", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 7, no. 1, 2019, p. 102841, doi: 10.1016/j.jece.2018.102841.

[42] V. S. Kanwar, A. Sharma, A. L. Srivastav, and L. Rani, "Phytoremediation of toxic metals present in soil and water environment: a critical review", *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 27, no. 36, 2020, pp. 44835–44860, doi: 10.1007/s11356-020-10713-3.

[43] S. Muthusaravanan, N. Sivarajasekar, J. S. Vivek, T. Paramasivan, Mu. Naushad, J. Prakashmaran, V. Gayathri, O. K. Al-Duaij, "Phytoremediation of heavy metals: Mechanisms, methods and enhancements", *Environmental Chemistry Letters*, vol. c, no. June, 2018, doi: 10.1007/s10311-018-0762-3.

[44] S. Parveen, I. U. H. Bhat, Z. Khanam, A. E. Rak, H. M. Yusoff, and M. S. Akhter, "Phytoremediation: In situ alternative for pollutant removal from contaminated natural media: A brief review", *Biointerface Research in Applied Chemistry*, vol. 12, no. 4, pp. 4945–4960, 2022, doi: 10.33263/BRIAC124.49454960.

[45] R. Gomez-Cruz, "Las Nitrorreductasas y su Aplicación en Biotecnología", *Kuxulkab*, vol. XVII, no. 32, 2011, pp. 101–107.