

# Cierre ecológico en el tratamiento de aguas residuales con la fitomineralización de lodos utilizando *Phragmites australis*

Closing in organic waste water treatment with using sludge fitomineralization *Phragmites australis*

Sandra Grisell Mora-Ravelo<sup>o</sup>, Grazia Masciandaro<sup>\*\*</sup>, Eleonora Peruzzi<sup>\*\*</sup>, Brunello Ceccanti<sup>\*\*</sup>, Cristina Macci<sup>\*\*</sup>, Serena Doni<sup>\*\*</sup>

## RESUMEN

En el tratamiento de las aguas residuales se producen sedimentos conocidos como *lodos residuales* que podrían ser utilizados en la agricultura. El objetivo fue verificar el proceso de fitomineralización con *Phragmites* como cierre ecológico del tratamiento de aguas residuales. Se eligieron cuatro plantas de tratamiento (La Fontina, El Oratoio, Colle di Compito y El Pittini) en Pisa, Italia. Se realizaron muestreos de mayo a noviembre. Se verificó el curso de la preparación de los sistemas y los procesos de percolación, mineralización y humificación del material orgánico. En laboratorio se realizaron análisis específicos. Los resultados de mineralización indican que el contenido de carbono orgánico, nitrógeno total y materia orgánica decrece en cada muestreo de 47% a 32%, y el contenido de carbono húmico disminuye significativamente ( $p < 0.05$ ). El producto que se obtiene es prehumificado, apto para ser sometido a un proceso de compostaje, y posteriormente utilizarse como fertilizante.

## ABSTRACT

In treatment of wastewater produced as known sediment sludge that could be used in agriculture. The objective was to verify phytomineralization process with *Phragmites* closure and ecological wastewater treatment. Four treatment plants (La Fontina, El Oratoio, Colle di Compito and El Pittini) were chosen in Pisa, Italy. Samplings were conducted May to November. During preparation of systems and processes percolation, mineralization and humification of organic material was observed. Specific laboratory analyzes were performed. Results indicate that mineralization of organic carbon content, total nitrogen, and organic matter in each sample decreases from 47% to 32% and carbon content of humic significantly decreased ( $p < 0.05$ ). The product obtained is pre-humidified, suitable to be subjected to a composting process and subsequently used as fertilizer.

## INTRODUCCIÓN

El tratamiento de aguas residuales de origen urbano, dentro de las plantas de procesamiento, es una combinación de varios procesos físicos, químicos y biológicos que generan grandes volúmenes de lodos orgánicos, altamente putrescibles. Para facilitar el manejo de estos, se someten a métodos de espesamiento, digestión y deshidratación que dan como resultado los biosólidos que corresponden a lodos ricos en materia orgánica, nutrientes, microorganismos, agua y metales pesados (Castañeda, Flores, Velasco & Martínez, 2011).

En Italia y el resto de Europa está regulada la utilización de los lodos de las plantas de tratamiento en la agricultura, con el fin de evitar efectos nocivos en los suelos, la vegetación, los animales y el ser humano. En particular, las normas fijan límites de concentraciones de determinadas sustancias en dichos lodos, prohíben el uso de los mismos en algunos casos y regulan su tratamiento (Peruzzi, Masciandaro, Macci, Doni & Ceccanti, 2011b; Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [Semarnat], 2002).

Recibido: 4 de septiembre de 2015

Aceptado: 11 de agosto de 2016

### Palabras clave:

Biosólidos; mineralización; humificación; sustancia orgánica.

### Keywords:

Biosolids; mineralization; humification; organic substance.

### Cómo citar:

Mora-Ravelo, S. G., Masciandaro, G., Peruzzi, E., Ceccanti, B., Macci, C., & Doni, S. (2016). Cierre ecológico en el tratamiento de aguas residuales con la fitomineralización de lodos utilizando *Phragmites australis* closing in. *Acta Universitaria*, 26(5), 18-23. doi: 10.15174/au.2016.973

<sup>\*</sup> Instituto de Ecología Aplicada, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Av. División del Golfo núm. 356, Col. Libertad, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México, C.P. 87019. Tel.: 01 834 31 81 800, ext. 1612. Correo electrónico: sgmorea@uat.edu.mx

<sup>\*\*</sup> Institute of Ecosystem Study, National Research Council. Via Moruzzi 1, 56122, Pisa, Italia.

<sup>o</sup> Autor de correspondencia.

Aunque muchas de las tecnologías tradicionales de limpieza en suelos contaminados y las aguas han demostrado ser eficientes, por lo general son muy caros y de mano de obra intensiva. En el caso de las aguas residuales, la relación costo-eficacia es siempre un problema en la toma de decisiones (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO, por sus siglas en inglés] 2013).

La fitorremediación ofrece un análisis costo-efectivo más económico, no intrusiva, respetuosa del medio ambiente y una alternativa segura a las técnicas de limpieza convencionales. Esta técnica puede ser utilizada para biorremediar sitios con un alto nivel de contaminación. Básicamente, utiliza plantas vegetales para “limpiar” o “remediar” ambientes contaminados, debido en gran parte a la capacidad fisiológica y a las características bioquímicas que poseen algunos vegetales de absorber y retener contaminantes, tales como metales, complejos orgánicos, compuestos radioactivos, elementos petroquímicos y otros. Esta técnica es utilizada ampliamente en China en humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales, como un campo prometedor (García-Einschlag, 2011).

El proceso de fitomineralización permite tratar lodos de agua residual con un contenido de 2% – 4% de sólidos secos, y almacenar por meses o años las capas de drenaje hasta alcanzar la maduración y humificación deseadas (*Processo di Biostabilizzazione e umificazione dei fanghi biologici in letti filtranti e piantumati-CNFR/ACQUE Spa*. Patente n. CNR1841-italy n° PI2007 A 000003-12 gennaio, 2007). El producto final es un humus de buena calidad, con alto contenido en nutrientes (N y P), microorganismos y enzimas, con grandes beneficios para el medio ambiente y para la fertilidad de los suelos (Navarro & Navarro, 2013). Con ello sigue creciendo el acervo tecnológico que permite pensar que el uso de biosólidos en tierras agrícolas podría llegar a ser una alternativa sustentable si se gestiona de manera responsable (Peruzzi *et al.*, 2011b).

Por ello se han desarrollado sistemas para transformar los lodos residuales en una sustancia similar al humus (“humificación” o conversión de lodos residuales), y posteriormente emplearlo como un recurso nutricional y acondicionador de suelos agrícolas (Masciandaro *et al.*, 2006). La fitomineralización con *Phragmites australis* es una alternativa que permite la utilización de estos biosólidos y el cierre del ciclo ecológico en el tratamiento de aguas (Bianchi *et al.*, 2011; Pempkowiak & Obarska-Pempkowiak, 2002; Peruzzi *et al.*, 2009). Los juncos de *Phragmites australis* son una especie perenne robusta y recta, resistente a hostilidades ambientales, con altura que va de

3 m a 4 m, rizoma largo y prominente, floración de agosto a octubre, resistente a la estabilización del lodo a nivel radical (rizoestabilización), transferencia de oxígeno del aire al lodo y actividad radical. La eficiencia de *P. australis* como planta fitorremediadora ha sido altamente estudiada a nivel mundial, no solo para mejoramiento de aguas residuales, sino también para la descontaminación de metales pesados en lodos residuales; se ha encontrado una efectividad del 95% – 99% para remover elementos traza del ambiente. Los principales estudios con esta planta se han realizado haciendo uso de humedales artificiales (Peruzzi *et al.*, 2009, Peruzzi *et al.*, 2011a). Sin embargo, la capacidad *P. australis* en la estabilización y la maduración de la materia orgánica no ha sido estudiada. El objetivo de esta investigación fue verificar la viabilidad del proceso de fitomineralización con *Phragmites australis* de los lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales de origen urbano.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en cuatro plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas que pertenecen a *Acque Spa* (La Fontina, El Oratoio, Colle di Compito y El Pittini), en Pisa, Italia. Se hicieron muestreos cada mes (de mayo a noviembre), obteniéndose 12 muestras por cada cama, con el fin de observar la constante evolución del proceso de humificación y mineralización de los lodos residuales en las camas experimentales ubicadas en cada planta depuradora. Las muestras fueron tomadas a 0 (superficie) y 30 cm de profundidad de las camas en cada una de las plantas de tratamiento. Las muestras se tomaron en contenedores de plástico de 30 mL, los cuales se llenaron a su máxima capacidad, y posteriormente se transfirieron al laboratorio de química de suelos del Instituto para el Estudio del Ecosistema (ISE).

Las camas con una dimensión de 45 m<sup>2</sup> y camas de 55 m<sup>2</sup> estaban a cielo abierto; la pendiente era 1% y cada cama estaba provista de un sistema de drenaje compuesto de dos capas y dos diámetros diferentes: la capa inferior era de 25 cm de profundidad con grava de 40 mm/70 mm y la capa superior era de 15 cm de profundidad con 5 mm de grava.

Las plántulas de *Phragmites australis* fueron sembradas a una distancia de 50 cm × 50 cm, y se regaron con el efluente de la planta de aguas residuales para mejorar enraizamiento de las plantas. El flujo de salida desde el sistema de drenaje se recogió por gravedad y después se bombeó de nuevo al tratamiento planta para un tratamiento adicional del lodo.

## Determinación de carbono total, extraíble, ácidos húmicos y fúlvicos

La determinación de carbono total, extraíble, ácidos húmicos y fúlvicos se realizó a partir del extracto alcalino en pirofosfato (Yeomans & Bremner, 1988). Una vez obtenido el extracto se procedió a las determinaciones de:

C total extraíble

Dado el alto contenido de carbono del extracto fue necesario diluir con agua bidestilada en proporción 1:10. En cada muestra se tomaron 2 mL de extracto + 1 mL de  $K_2Cr_2O_7$  2N + 2 mL de  $H_2SO_4$  concentrado. Las muestras se pusieron a digerir a 150 °C durante 2 h. Se realizaron lecturas espectrofotométricas en una longitud de onda de 590 nm, se preparó un blanco sin la presencia del extracto y se trabajó en las mismas condiciones que las muestras con extracto. Para las medidas de UV-Vis se utilizó un espectrofotómetro Thermo Spectronic UNICAM UV500. Todas las lecturas se realizaron en la parte visible utilizando cubetas en PMMA y cubetas de cuarzo.

Ácidos fúlvicos (AF)

Se añadió  $H_2SO_4$  concentrado al extracto alcalino hasta que el pH fue igual a 2 (los ácidos húmicos y ácidos fúlvicos precipitados permanecen en solución). A causa del alto contenido de carbono, los extractos fueron diluidos 1:10 por acidificación. Las muestras se pusieron a digerir a 150 °C durante 2 h. Las lecturas se realizaron con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 590 nm, frente a un blanco. La densidad óptica detectado por el instrumento °C / g se convierte en las concentraciones, expresada en materia orgánica, al referirse a un nivel línea recta trazada a partir de concentraciones conocidas de carbono (como la glucosa). El ácido húmico de carbono se calculó a partir de la diferencia entre el total de carbono y el carbono extraíble fúlvico determinado en el mismo extracto.

Deshidrogenasa

Se determinó mediante el método desarrollado por Masciandaro & Ceccanti (1999).

Índice de mineralización (O/N-pirrola/furfurolo)

Se realizó mediante análisis de pirólisis gas-cromatografía (Py-GC).

Índice de humificación (B/E3-benzeno/tolueno)

Se calculó mediante el análisis de pirólisis gas-cromatografía (Py-GC).

Se utilizaron técnicas como el análisis químico y estructural de pirólisis-cromatografía de gases (PY-CG) para evaluar la evolución de la materia orgánica, porque es muy eficaz en la definición de las propiedades químicas y estructurales de los polímeros húmicos. La técnica de pirólisis ofrece caracterizar la inestabilidad de los fragmentos y la composición estructural de la materia orgánica analizada por cromatografía de gases. La elaboración de los fragmentos pirolíticos sirve para calcular los índices que reflejan la mineralización (O/N), la humectación (B/E3) y las reservas de energía de la materia orgánica en sí misma (Al / Ar):

Determinación de nitrógeno total

Se efectuó mediante el método Kjeldhal.

## Análisis estadístico

Los resultados obtenidos para cada variable química y bioquímica estudiada fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) con *post-hoc* de la prueba de diferencia mínima significativa (LSD, por sus siglas en inglés) de Fisher, con un nivel de significancia inferior al 5% ( $p < 0.05$ ). Cada parámetro estudiado se normalizó y se estandarizó antes del cálculo para relacionar los parámetros de fitomineralización y estabilización de los lodos residuales utilizando el paquete STATISTICA 6.0.

## RESULTADOS

**Mineralización de lodos:** en general, el contenido de carbono orgánico total (TOC) y nitrógeno total (NT) (figuras 1 y 2) de la materia orgánica presente en los lodos de las plantas de tratamiento decrece conforme avanza el tiempo de muestreo, de un 47% en mayo a un 32% en noviembre. También las formas lábiles de la materia orgánica (carbono y nitrógeno amoniacal en el agua), como se observa en la figura 3, el  $NH_4^+$  aumentó en todas las plantas de tratamiento, siendo más representativo en Pittini con  $2700 \mu g NH_4^+ gdw^{-1}$  en mayo, decreciendo hasta  $250 \mu g NH_4^+ gdw^{-1}$  en noviembre, como consecuencia del proceso de mineralización de la materia orgánica, tal como ha sido reportado por Peruzzi *et al.* (2011a).

Para seguir el proceso de mineralización también es importante la actividad de la deshidrogenasa, utilizada comúnmente como una medida metabólica de la cantidad total de suelo relacionada con los procesos de fosforilación oxidativa por ser una enzima intracelular (Masciandaro & Ceccanti, 1999; Masciandaro,

Ceccanti, Ronchi & Bauer, 2000). En La Fontina y El Pittini hubo una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de mayo a noviembre de la deshidrogenasa (figura 4), mientras que para Oratoio y Colle di Compito (CDC) se presenta una relación inversa, es decir, la deshidrogenasa aumenta en noviembre para ambos casos. Esto puede relacionarse con la cantidad de carbono hidrosoluble presente.

**Humificación de lodos:** las sustancias húmicas tienen un papel clave en la determinación de las características químicas y físicas de los lodos residuales, y se utilizan para la reserva de macro y micro nutrientes que afectan fuertemente la actividad de las plantas y el equilibrio de la microfloradelsuelo (Manahan, 2010).

En todas las plantas, el contenido de carbono húmico (figuras 5 y 6), que es la suma de los ácidos húmicos y fúlvicos, tiende a disminuir significativamente, con un ligero aumento de ácidos húmicos.

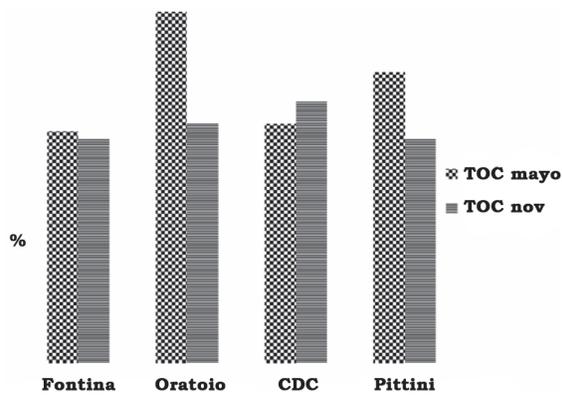


Figura 1. Carbono orgánico total (TOC) (%).  
Fuente: Elaboración propia.

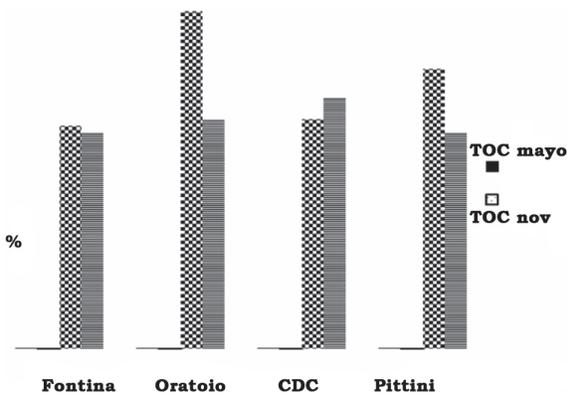


Figura 2. Nitrógeno total (NT) (%).  
Fuente: Elaboración propia.

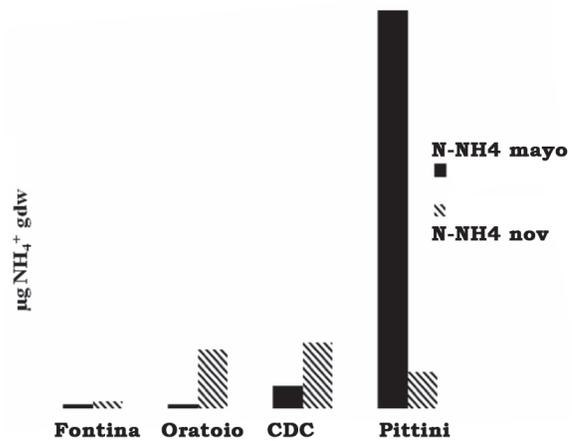


Figura 3. Nitrógeno amoniacal.  
Fuente: Elaboración propia.

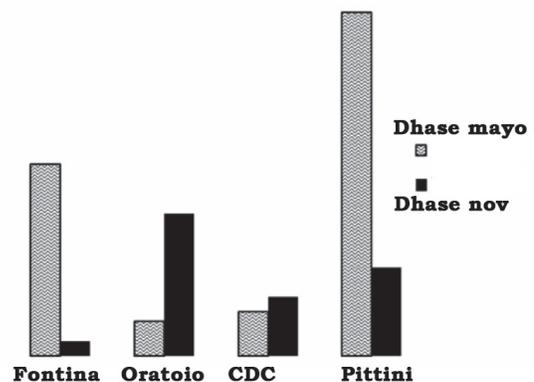


Figura 4. Carbono orgánico total (TOC) (%).  
Fuente: Elaboración propia.

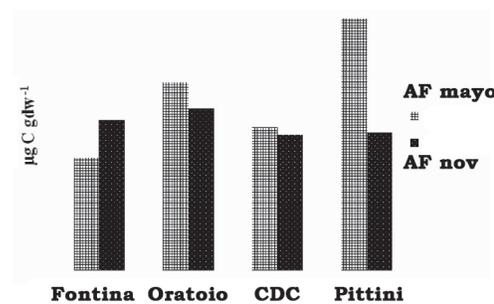


Figura 5. Ácidos fúlvicos (µg C/g dw).  
Fuente: Elaboración propia.

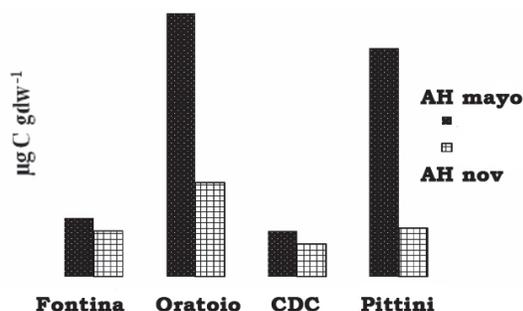


Figura 6. Ácidos húmicos (µg C/g dw).  
Fuente: Elaboración propia.

## DISCUSIÓN

La leve variación de comportamiento para TOC y NT en Colle di Compito (CDC) se debe a que las relaciones C:N son bajas, y hacen que se pierda N por falta de estructuras de carbono que permitan retener el N, lo cual se refleja conforme avanza el tiempo (Nannipieri, Sequi & Fusi, 1996; Usman, Kuzyakov & Stahr, 2004).

Los procesos de mineralización disminuyen con el tiempo debido a una rápida disminución de la actividad microbiana y sustratos lábiles, tales como la enzima DHase y de carbono y  $\text{NH}_4^+$  solubles en agua, respectivamente (Giraldi, *et al.*, 2009; Masciandaro *et al.*, 2000). El contenido de amonio mostró un incremento durante mayo y noviembre, sin embargo, en El Pittini sucede un considerable decremento de  $\text{NH}_4^+$ , lo que posiblemente se debe al inicio del proceso de nitrificación y a las condiciones aeróbicas que pueden presentarse en las camas (Havlin, Tisdale, Werner & Beaton, 2013). Además, la transformación de  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NO}_3^-$  es una garantía de estabilización de lodos, y la relación entre ambas formas de N se pueden considerar como un índice de potencial de biodegradabilidad fácilmente disponible para las plantas y materia orgánica recalcitrante de los lodos (Peruzzi *et al.*, 2011a).

La presencia de un alto contenido de materia orgánica lábil como sustrato de las camas con *Phragmites australis* estimula la síntesis de enzimas: cuando disminuye la superficie, se reduce la actividad de la deshidrogenasa (Ceccanti & García, 1994; Nannipieri *et al.*, 1996). En El Pittini, la actividad deshidrogenasa se incrementa en mayo y disminuye en noviembre, lo que indica la presencia de M. O. mineralizada, independientemente de la disminución de carbono en el agua. La presencia de grandes cantidades de lípidos en las fracciones de los residuos orgánicos, en

particular los lodos de depuración, puede enmascarar la evaluación, ya que estas sustancias se extraen con compuestos húmicos (Ceccanti, García, Nogales, Benítez & Masciandaro, 1996). La disminución en el índice de la mineralización pirolítico y el ligero aumento de la humificación puede significar que el proceso de mineralización está bien establecido en todas las plantas y que el proceso de humificación ha comenzado de acuerdo con los resultados obtenidos en estudios por Ceccanti, Masciandaro & Macci (2007).

El índice de humificación B/E3 (la proporción de benceno, que se deriva de la estructura de aromáticos, y el tolueno, que se deriva de las estructuras que contienen aromáticos alifáticos cadenas cortas) aumenta cuando la materia orgánica se vuelve más madura. El índice de mineralización O/N (la proporción de pirrol, húmico de compuestos derivados de nitrógeno y condensado y el furfural indican la presencia de materia orgánica de bajo peso molecular) disminuye con la degradación de la misma (Ceccanti *et al.*, 2007).

La variabilidad de temperaturas entre una temporada y otra (primavera-otoño) y el estado vegetativo influyó significativamente en las propiedades fisicoquímicas y parámetros bioquímicos ( $p < 0,05$ ), como lo señala Bianchi *et al.* (2011). Los valores de parámetros no cambiaron a lo largo de las profundidades de muestreo (0 cm y 30 cm), lo que significa que la interacción entre microorganismos y las raíces de *Phragmites australis* en las capas de la rizósfera tienen un comportamiento fisicoquímico similar y, por tanto, actúan como activadoras principales de los procesos básicos de compuestos orgánicos en el proceso de mineralización (Peruzzi *et al.*, 2009).

## CONCLUSIONES

El proceso de lodo por fitomineralización abre la puerta a una especie de nuevo concepto de *intervención*, que permite cerrar el ciclo ecológico de las plantas de tratamiento de aguas residuales con la utilización de los lodos directamente tratados en las plantas.

El producto que se obtiene con este tratamiento es prehumificado y, por tanto, apto para ser sometido a un proceso de compostaje, con el fin de preparar una matriz que aborde diferentes usos (agrícolas y medioambientales).

La recomendación, para obtener un proceso de humificación, es esperar más tiempo para la estabilización

y maduración de la materia orgánica; un periodo de descanso de los derrames de más de seis meses o un año antes de que el desmantelamiento del depósito lleve un mayor contenido de contaminantes orgánicos humificados que será más adecuado para producir una composta de calidad.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (Conacyt) y al *Consiglio Nazionale delle Ricerche Pisa* CNR-ISE por haber colaborado en esta investigación.

## REFERENCIAS

- Bianchi, V., Peruzzi, E., Masciandaro, G., Ceccanti, B., Mora-Ravelo, S. G., & Iannelli, R. (2011). Efficiency assessment of a reed bed pilot plant (*Phragmites australis*) for sludge stabilization in Tuscany (Italy). *Ecological Engineering*, 37(5), 779-785.
- Castañeda, A., Flores, H., Velazco, R., & Martínez, M. (2011). Efectos de la aplicación de lodos sobre el suelo y la productividad de maíz forrajero en los Altos de Jalisco, México. In U. Spring, C. Sánchez, M. Miranda, R. Pérez, A. Domínguez, J. Garatuzza, & C. Watts (Eds.), *Retos de la investigación del agua en México* (pp. 227-237). México: UNAM.
- Ceccanti, B., & García, C. (1994). Coupled chemical and biochemical methodologies to characterize a composting process and the humic substances. In M. Senesi & T. M. Miano (Eds.), *Humic substances in the global environment and implications on human health* (1279-1284 pp.). Amsterdam: Elsevier.
- Ceccanti, B., García, C., Nogales, R., Benítez, E., & Masciandaro, G. (1996). Attività e ruolo delle sostanze umiche nell'ambiente: aspetti chimico-strutturali e biochimici. *Atti del convegno IHSS*, 12-13 Udine.
- Ceccanti, B., Masciandaro, G., & Macci, C. (2007). Pyrolysis gas chromatography to evaluate the organic matter quality of a mulched soil. *Soil Tillage Research*, 97(1), 71-78.
- García-Einschlag, F. S. (2011). *Waste Water - Treatment and Reutilization*. Edited by Fernando Sebastian Garcia Einschlag (427 pp.). Vienna, Austria: INTECH.
- Giraldi, D., Masciandaro, G., Peruzzi, E., Bianchi, V., Peruzzi, P., Ceccanti, B., & Iannelli, R. (2009). Hydraulic and biochemical analyses on full scale sludge consolidation reed beds in Tuscany (Italy). *Water Science and Technology*, 60(5), 1201-1216.
- Havlin, L. J., Tisdale, L. S., Nelson, W., & Beaton, J. D. (2013). *Soil Fertility and Fertilizers* (8va. edición). New Jersey, USA: Prentice Hill.
- Manahan, S. E. (2010). *Environmental chemistry* (7<sup>th</sup>. Ed.) (783 pp.). USA: CRC Prees.
- Masciandaro, G., & Ceccanti, B. (1999). Assessing soil quality in different agro-ecosystems through biochemical and chemico-structural properties of humic substances. *Soil and Tillage Research*, 51(1), 129-137.
- Masciandaro, G., Ceccanti, B., Ronchi, V., & Bauer, C. (2000). Kinetic parameters of dehydrogenase in the assessment of the response of soil to treatments by vermicompost and inorganic fertilizers. *Biol. and Fertil. Soils*, 32(6), 479-483.
- Masciandaro, G., Ceccanti, B., Macci, C., Doni, S., Peruzzi, E., Viglianti, A., & Montanelli, A. (17-22 settembre, 2006). Chiusura del ciclo di depurazione delle acque reflue civili mediante trattamento di fitostabilizzazione dei fanghi. *VIII Simposio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Fortaleza CE (Brasile)*, 17-22.
- Nannipieri, P., Sequi, P., & Fusi, P. (1996). *Humus and enzyme activity*. In *Humic substances in terrestrial ecosystems* (293-23 pp.). Amsterdam, Países Bajos: Elsevier.
- Navarro García, G., & Navarro-García, S. (2013). *Química agrícola: química del suelo y de los nutrientes esenciales para las plantas* (101-139 pp.). Madrid, España: Mundiprensa.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2013). *Reutilización del agua en la agricultura: ¿beneficios para todos?* (119 pp.) Roma, Italia.
- Pempkowiak, J., & Obarska-Pempkowiak, H. (2002). Long-term changes in sewage sludge stored in a reed bed. *Science of the Total Environment*, 297(1-3), 59-65.
- Peruzzi, E., Macci, C., Doni, S., Masciandaro, G., Peruzzi, P., Aiello, M., & Ceccanti, B. (2009). *Phragmites australis* for sewage sludge stabilization. *Desalination*, 246(1), 110-119.
- Peruzzi, E., Masciandaro, G., Macci, G., Donni, S., Mora, S. G. M., Peruzzi, P., & Ceccanti, B. (2011a). Heavy metal fractionation and organic matter stabilization in sewage sludge treatment wetlands. *Ecological Engineering*, 37(5), 771-778.
- Peruzzi, E., Masciandaro, G., Macci, G., Doni, S., & Ceccanti, B. (2011b). Pollution monitoring in sludge treatment. *Water Science & Technology*, 64, 1581-65.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat) (2002). NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. México: Semarnat.
- Stevenson, F. J. (1982). *Humus chemistry*. John Wiley and sons (Ed.). Chichester: John Wiley & Sons. Inc.
- Usman, A. R. A., Kuzyakov, Y., & Stahr, K. (2004). Dynamics of organic C mineralization and the mobile fraction of heavy metals in a calcareous soil incubated with organic wastes. *Water Science & Technology*, 158, 401-418.
- Yeomans, J. C., & Bremner, J. M. (1988). A rapid and precise method for routine determination of Organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant*, 19(13), 1467-1476.