

Tello Zevallos, W. ; Salvatierra, L. M. ; Pérez, L. M.

*Evaluación de los mecanismos de eliminación de Pb^{2+} en sistemas de fitorremediación en lotes operados con *Salvinia biloba raddi* (acordeón de agua)*

Energeia, Año 13, N° 13, 2015

Este documento está disponible en la Biblioteca Digital de la Universidad Católica Argentina, repositorio institucional desarrollado por la Biblioteca Central "San Benito Abad". Su objetivo es difundir y preservar la producción intelectual de la Institución.

La Biblioteca posee la autorización del autor para su divulgación en línea.

Cómo citar el documento:

Tello Zevallos, W., Salvatierra, L. M., Pérez, L. M. Evaluación de los mecanismos de eliminación de Pb^{2+} en sistemas de fitorremediación en lotes operados con *Salvinia biloba raddi* (acordeón de agua) [en línea]. *Energeia*, 13(13), 2015.
Disponible en:
<http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/revistas/evaluacion-mecanismos-eliminacion-fitorremediacion.pdf> [Fecha de consulta:]

Evaluación de los mecanismos de eliminación de Pb^{2+} en sistemas de fitorremediación en lotes operados con *Salvinia biloba raddi* (acordeón de agua)

W. Tello Zevallos¹, L. M. Salvatierra^{1,2}, L. M. Pérez^{1,3}

Proyecto “Estudio de las propiedades de la vegetación nativa aplicables a la biorremediación”

¹ Facultad de Química e Ingeniería, Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA), Av. Pellegrini 3314 (2000) Rosario, Argentina

² Instituto de Físicoquímica Teórica y Aplicada (INIFTA, UNLP-CONICET), Diag. 113 y 64, 1900, La Plata, Argentina

³ Instituto de Química Rosario (IQUIR, UNR-CONICET), Suipacha 570 (2000) Rosario, Argentina

lucas_salvatierra@uca.edu.ar; leonardoperez@uca.edu.ar

Resumen. La fitorremediación es una tecnología sostenible y ambientalmente pertinente que ha resultado útil como método alternativo a las tecnologías convencionales para el tratamiento de aguas residuales e industriales. Los sistemas basados en la utilización de plantas acuáticas han demostrado ser altamente eficientes para eliminar metales pesados. Numerosos estudios han sugerido que la adsorción superficial y la acumulación intracelular son los principales mecanismos involucrados en la eliminación de metales pesados por distintas especies de *Salvinia*. Sin embargo, estos estudios no se han ampliado a *Salvinia biloba* Raddi, una especie que crece en forma muy abundante en las costas santafesinas. Si bien ha sido demostrado que ciertas especies de este helecho acuático tienen el potencial para hiperacumular Pb^{2+} , es necesario generar más conocimiento para entender los mecanismos básicos participantes en la biorremediación de este metal. El presente trabajo pretende contribuir al entendimiento de estos fenómenos en *Salvinia biloba* Raddi, y podrían ser útiles para ser aplicados a la optimización de fitotecnologías orientadas al tratamiento de efluentes contaminados con metales pesados.

Palabras clave: fitorremediación de aguas contaminadas; metales pesados; *Salvinia biloba* Raddi; plomo.

Abstract. Phytoremediation is an environmentally sound technology that has been shown to be very efficient for wastewater remediation. Treatment systems using aquatic plants have proved to be efficient to remove several contaminants including metals. Previous research has suggested that superficial adsorption and intracellular accumulation are the main mechanisms involved in heavy metals removal from polluted waters in *Salvinia* species. However, no studies have been done on the phytoremediation potential of *Salvinia biloba* Raddi, a prolific aquatic plant frequently encountered in many Argentinian coasts. Although, other *Salvinia* species showed to be lead (Pb^{2+}) hyperaccumulator more information is required to understand the basic mechanisms involved in heavy metal bioremediation in other plants of this type. This work is a contribution to understand some factors and mechanisms involved in Pb^{2+} removal by *Salvinia biloba* Raddi, which will be very useful for the optimization of phytotechnologies using hyperaccumulating plants.

Keywords: polluted water phytoremediation; heavy metals; *Salvinia biloba* Raddi; lead.

INTRODUCCIÓN

Los metales son contaminantes ubicuos que han acompañado al hombre desde la antigüedad. Estos elementos están sujetos, de forma natural, a diferentes ciclos biogeoquímicos que determinan su presencia y concentración en los suelos, aguas subterráneas y superficiales, en el aire y en los seres vivos. La actividad industrial, producto de la intervención humana, es capaz de modificar sustancialmente la concentración y la distribución de los metales en el medio ambiente (Peng *et al.*, 2008). Algunos de estos compuestos han sido categorizados como contaminantes prioritarios por la

Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). Entre ellos, el plomo (Pb), el mercurio (Hg), el arsénico (As) y el cadmio (Cd) están clasificados como los elementos de mayor riesgo en la lista de la Agencia para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades de los Estados Unidos (ATSDR) (Rai, 2008). Si bien, ciertos metales son fundamentales para algunos procesos metabólicos en diferentes organismos, cuando se hayan en exceso pueden ser altamente citotóxicos, cancerígenos y mutagénicos (Prasad *et al.*, 2003).

El Pb^{2+} es uno de los metales pesados más abundantes y más ampliamente distribuidos en el medio ambiente. Las principales fuentes de dispersión de Pb^{2+} han sido las fundiciones, su antigua presencia como aditivo en pinturas, gasolina para automóviles, baterías ácidas, plaguicidas, fertilizantes, y a causa de la actividad minera. Más recientemente, las preocupaciones concernientes a su control han estado vinculadas a su persistencia como residuo en el polvo urbano de las ciudades, a fugas e impacto a nivel de cursos de ríos y aguas subterráneas producto de las lluvias y de la escorrentía agrícola, y a su incorporación en la cadena trófica a través de cultivos contaminados con Pb^{2+} (Marmioli *et al.*, 2005).

Actualmente, la gestión integrada de los recursos hídricos, así como la restauración de áreas ambientalmente degradadas, han impulsado la demanda por el desarrollo de nuevas tecnologías orientadas a la remoción de contaminantes y a la minimización del impacto ambiental causado por diferentes residuos y compuestos tóxicos liberados en los efluentes industriales. La fitorremediación es una tecnología sostenible y ambientalmente pertinente que ha resultado muy útil como método alternativo a las tecnologías tradicionales para el tratamiento de aguas contaminadas. En particular, los sistemas basados en la utilización de plantas acuáticas del género *Salvinia* han demostrado ser altamente eficientes para eliminar metales en diferentes muestras de aguas (Dhir, 2009). Sin embargo, no se han reportado estudios sobre la capacidad hiperacumuladora de metales pesados en *Salvinia biloba* Raddi, una especie que se encuentra presente de manera muy abundante en los humedales de las costas santafesinas.

Por lo tanto, el presente estudio pretende evaluar la capacidad de *Salvinia biloba* Raddi para eliminar Pb^{2+} en muestras de aguas contaminadas artificialmente, ahondando en los mecanismos subyacentes involucrados en el proceso de fitorremediación de metales pesados característico de esta especie vegetal.

METODOLOGÍA

Recolección de plantas acuáticas y caracterización de la especie vegetal

Las plantas acuáticas utilizadas en el presente estudio fueron recolectadas en la zona del Río Paraná Medio (litoral santafesino), siendo identificadas inicialmente como pertenecientes al género *Salvinia* de acuerdo a su aspecto y características morfológicas. Las especies seleccionadas fueron trasladadas al laboratorio conservándose a temperatura ambiente en un recipiente conteniendo agua de los humedales del cual fueron extraídas. La clasificación final en especie se realizó mediante estudios taxonómicos llevados a cabo en el Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE-CONICET, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina). Los ejemplares remitidos al IBONE fueron examinados con las claves dicotómicas publicadas por De la Sota (1962; 1976a,b; 1977; 1982) resultando su clasificación como pertenecientes a la especie *Salvinia biloba* Raddi (Fig. 1). Estos especímenes fueron depositados en el herbario Carmen Cristóbal del IBONE para ser utilizados como ejemplares testigos para futuras investigaciones.



Figura 1. *Salvinia biloba* Raddi (acordeón de agua). Las plantas fueron recolectadas en las costas del Río Paraná lindantes a la Ciudad de Rosario.

Cultivo de plantas acuáticas

Los especímenes de *Salvinia biloba* Raddi fueron lavados con agua potable para eliminar todo tipo de residuo contaminante que pudiera interferir con el estudio (Torres y col., 2007). Posteriormente, se cultivaron en recipientes de vidrio manteniéndose en un espacio adecuado a temperatura ambiente con ciclos de luz/oscuridad de 16/8 horas. Periódicamente, se realizó el recambio del agua de los recipientes de cultivo evaluándose el estado de las plantas. En caso de presentar signos visibles de tejido dañado o deteriorado se procedió al descarte del ejemplar (Sánchez, 2008).

Evaluación de la capacidad fitorremediadora

Con el objetivo de evaluar la capacidad de *Salvinia biloba* Raddi para eliminar Pb^{2+} en una muestra de agua sintética se establecieron diferentes unidades experimentales empleando recipientes de vidrio de 1,5 L de capacidad a los cuales se les adicionó 20,0 g de biomasa vegetal húmeda. A partir de una solución patrón de $Pb(NO_3)_2$ 1000 mg/L (ppm) se realizaron diluciones adecuadas para obtener una concentración final de Pb^{2+} en cada recipiente correspondiente a 5, 10, ó 20 ppm. Para cada concentración se instalaron 7 unidades experimentales de manera de establecer un sistema de trabajo en lotes. Adicionalmente, se incluyeron dos tipos de controles. El primero consistió en evaluar la posible adsorción del metal a la superficie del recipiente. Para ello, se dispuso una unidad experimental sin biomasa conteniendo el metal a la concentración inicial del tratamiento. El segundo control se utilizó para descartar la presencia de Pb^{2+} en las plantas para lo cual se reservó un recipiente conteniendo sólo biomasa sin la presencia del metal en el medio. En todos los ensayos, y para todos los grupos experimentales, la temperatura de trabajo se mantuvo constante ($23 \pm 2^\circ C$).

El estudio de los mecanismos involucrados en la fitorremediación de Pb^{2+} por *Salvinia biloba* Raddi se realizó mediante un análisis de compartimentalización de acuerdo al trabajo de Olguín y col. (2005). Estos autores definen tres sitios donde el metal puede ser encontrado: 1) en la columna de agua, 2) en la biomasa vegetal adsorbido a su superficie y, 3) en la biomasa vegetal acumulado intracelularmente. Para cuantificar el contenido de metal en la columna de agua se tomaron muestras a tiempo 0, 1/2, 2, 4, 6, 12 y 24 h. Las muestras de agua se analizaron por espectroscopia de absorción atómica utilizando un equipo Varian AA240FS (Varian Inc., Palo Alto, CA, USA) según el procedimiento descrito en las normas APHA (1998). La cuantificación del contenido de Pb^{2+} en la biomasa vegetal se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Olguín y col. (2005) con leves modificaciones. Brevemente, a cada tiempo de exposición se retiró la biomasa vegetal de su recipiente y se la enjuagó con agua desionizada. Posteriormente, se realizó un lavado con 400 mL de una solución de EDTA 0,0017 M durante 1 h con agitación orbital a 180 rpm con el objetivo de secuestrar por complejación el Pb^{2+} adsorbido superficialmente a las raíces de las plantas. A continuación, las muestras de biomasa se lavaron con 400 mL de agua desionizada, con agitación suave, para eliminar el exceso de EDTA. Finalmente, el contenido de metal se cuantificó en ambas aguas de lavado por espectroscopia de absorción atómica.

La cuantificación de la cantidad de Pb^{2+} acumulado intracelularmente se realizó sobre una porción de materia vegetal previamente secada en una estufa de cultivo a $80^\circ C$ hasta peso constante. Para ello, 0,1 g de biomasa seca se dejó reposar durante 12 h con 10 mL de ácido nítrico concentrado (grado reactivo). Posteriormente, la muestra se colocó en un bloque de digestión a una temperatura de $120^\circ C$ durante 2 h hasta la desaparición de vapores pardos. Finalmente, el contenido de Pb^{2+} intracelular en las muestras digeridas se analizó espectrofotométricamente de manera análoga a la descrita anteriormente. Adicionalmente, se determinó el porcentaje de humedad de cada muestra de biomasa a través de la determinación gravimétrica de la pérdida de agua por calentamiento hasta peso constante. Este dato se utilizó para corregir la concentración de Pb^{2+} intracelular.

Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se utilizó el programa Sigma-Stat® (Versión 3.1, Systat Software Inc., USA). Se utilizó el análisis de la variancia (ANOVA) para la comparación entre distintos factores. Cuando los efectos fueron significativos ($p < 0,05$) se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (con un intervalo de confianza del 95%).

RESULTADOS

En la Figura 2 se muestran las curvas de eliminación de Pb^{2+} en la columna de agua obtenidas en ensayos independientes para las tres concentraciones del metal analizadas (5, 10 y 20 ppm). Como puede evidenciarse, existe una correlación positiva entre la cantidad de metal removido de la columna de agua respecto del tiempo de exposición a la biomasa vegetal; es decir, a medida que se incrementa el tiempo de exposición, aumenta la cantidad de metal eliminado. Notablemente, más del 90% del contaminante es removido a las 24 h de ensayo, en todas las concentraciones analizadas (Fig. 3). Resultados similares, empleando concentraciones análogas a las utilizadas en el presente estudio, habían sido reportados previamente para otras especies del *Salvinia* (Olguín *et al.*, 2005; Sánchez *et al.*, 2008; Dhir, 2009) demostrando su capacidad para hiperacumular Pb^{2+} . Nuestros resultados sustentan estas observaciones, ampliando el espectro de especies nativas de *Salvinia* con potencial para ser empleadas en el desarrollo de fitotecnologías orientadas a la remoción de metales pesados.

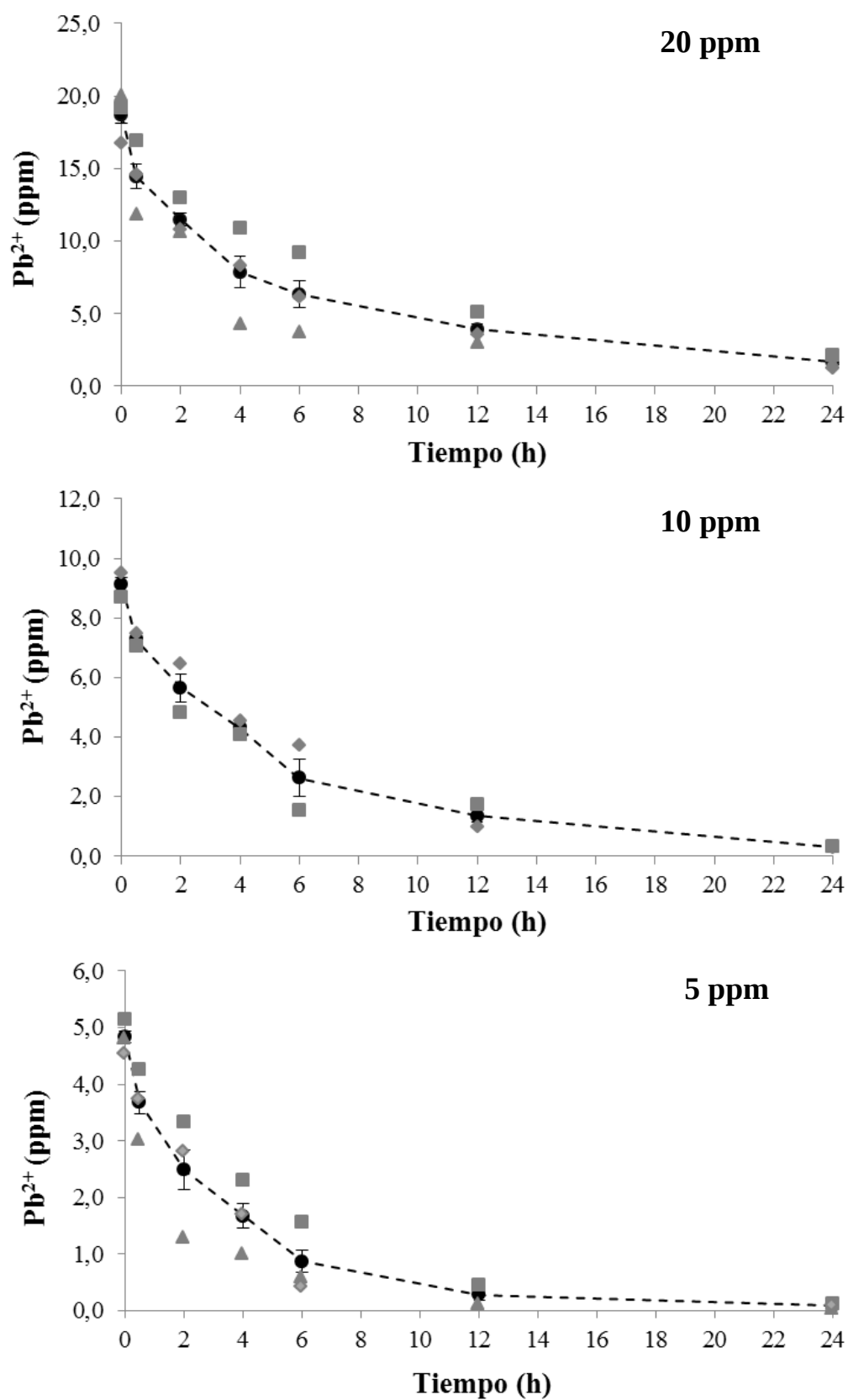


Figura 2. Fitorremediación de aguas contaminadas con Pb^{2+} empleando sistemas en lotes operados con *Salvinia biloba* Radii. Los puntos grises corresponden a los valores obtenidos en ensayos independientes. Los puntos negros corresponden al promedio $\pm$ error estándar para cada tiempo.

La Figura 3, muestra el porcentaje (%) de remoción de Pb^{2+} en función del tiempo de exposición a *Salvinia biloba* Radii. Como puede observarse, para una concentración inicial de Pb^{2+} en agua de 5 ppm, el 50% de remoción se logra en las primeras 2 h; mientras que para concentraciones superiores (10 y 20 ppm) se requiere aproximadamente del doble de tiempo (*i.e.*, 4 hs) para lograr el mismo porcentaje de remoción. Algo similar ocurre para alcanzar una remoción del 80%; para una concentración inicial de Pb^{2+} en agua de 5 ppm se necesitan 6 hs mientras que este tiempo se duplica cuando la concentración inicial del metal es de 10 ppm. Estas observaciones ponen en evidencia la existencia de una correlación negativa entre la concentración inicial del metal en el agua y el tiempo de exposición requerido para su eliminación, siendo este fenómeno más notorio en las primeras horas del ensayo.

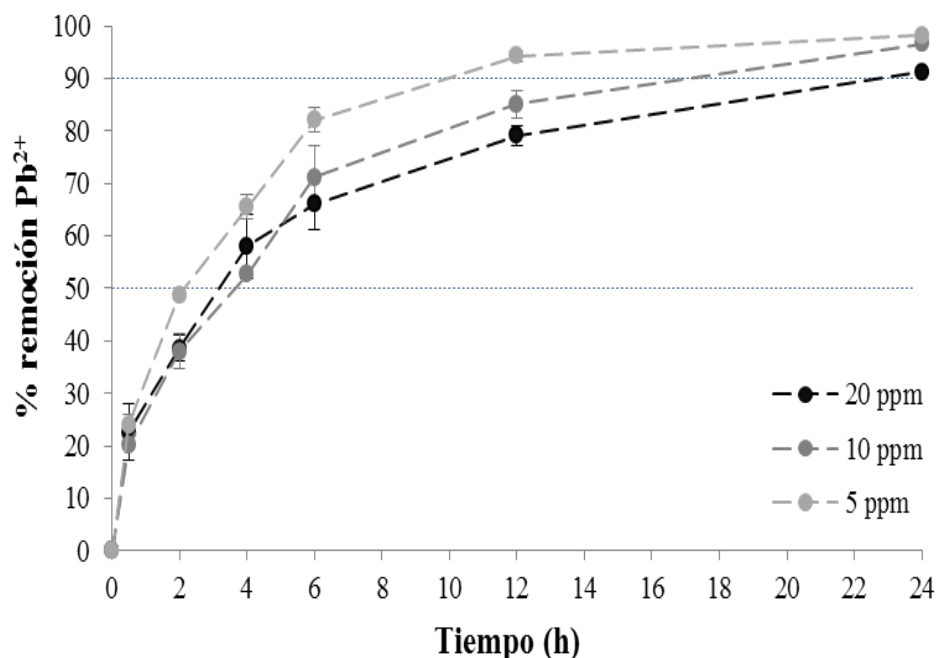


Figura 3. Porcentaje (%) de remoción de Pb^{2+} en agua sintética contaminada artificialmente empleando sistemas en lotes operados con *Salvinia biloba* Radii. Los valores representados corresponden al promedio de tres determinaciones $\pm$ error estándar.

Si bien, al final del período de evaluación (24 h) los porcentajes de remoción alcanzados fueron muy satisfactorios para todas las concentraciones iniciales ensayadas, el porcentaje de remoción logrado con 20 ppm de Pb^{2+} ($91,2 \pm 1,9\%$) fue significativamente menor ($p < 0,05$) que el alcanzado con 5 ($98,2 \pm 0,8\%$) y 10 ppm ($96,6 \pm 0,5\%$). Es interesante notar que en trabajos similares utilizando otras plantas acuáticas flotantes como las lemnáceas y bajo condiciones experimentales análogas, se han encontrado menores porcentajes de eliminación de Pb^{2+} . Por ejemplo, Hurd y Sternberg (2008) reportaron una eliminación cercana al 86% en un período de 24 h en un sistema por lotes utilizando *Lemna minor* a una concentración inicial de Pb^{2+} de 5 mg/l. En este trabajo, se obtuvo una eliminación 12% mayor ($98,2 \pm 0,8\%$) del metal en la columna de agua para una concentración inicial similar.

Una vez evaluada la eliminación de Pb^{2+} en la columna de agua, se procedió a determinar la distribución del metal en la planta a través de un análisis de compartimentalización. para ello, se definieron 3 destinos o compartimentos probables para encontrar el metal durante el proceso de fitorremediación: 1) Pb^{2+} remanente en la columna de agua, 2) Pb^{2+} adsorbido a la superficie de la biomasa vegetal, 3) Pb^{2+} acumulado intracelularmente.

Los resultados de la figura 4 muestran la distribución del metal en los diferentes compartimentos a medida que avanza el proceso de remediación. Como puede observarse, la sumatoria de las concentraciones de Pb^{2+} halladas en los diferentes destinos permiten recuperar el 100% de metal adicionado al comienzo del ensayo. Por lo tanto, estos resultados sugieren que los dos mecanismos principales involucrados en la remoción de Pb^{2+} por *Salvinia biloba* Radii son la adsorción superficial y la acumulación intracelular, en analogía con lo reportado previamente para otras especies de *Salvinia* (Olguín et al., 2005).

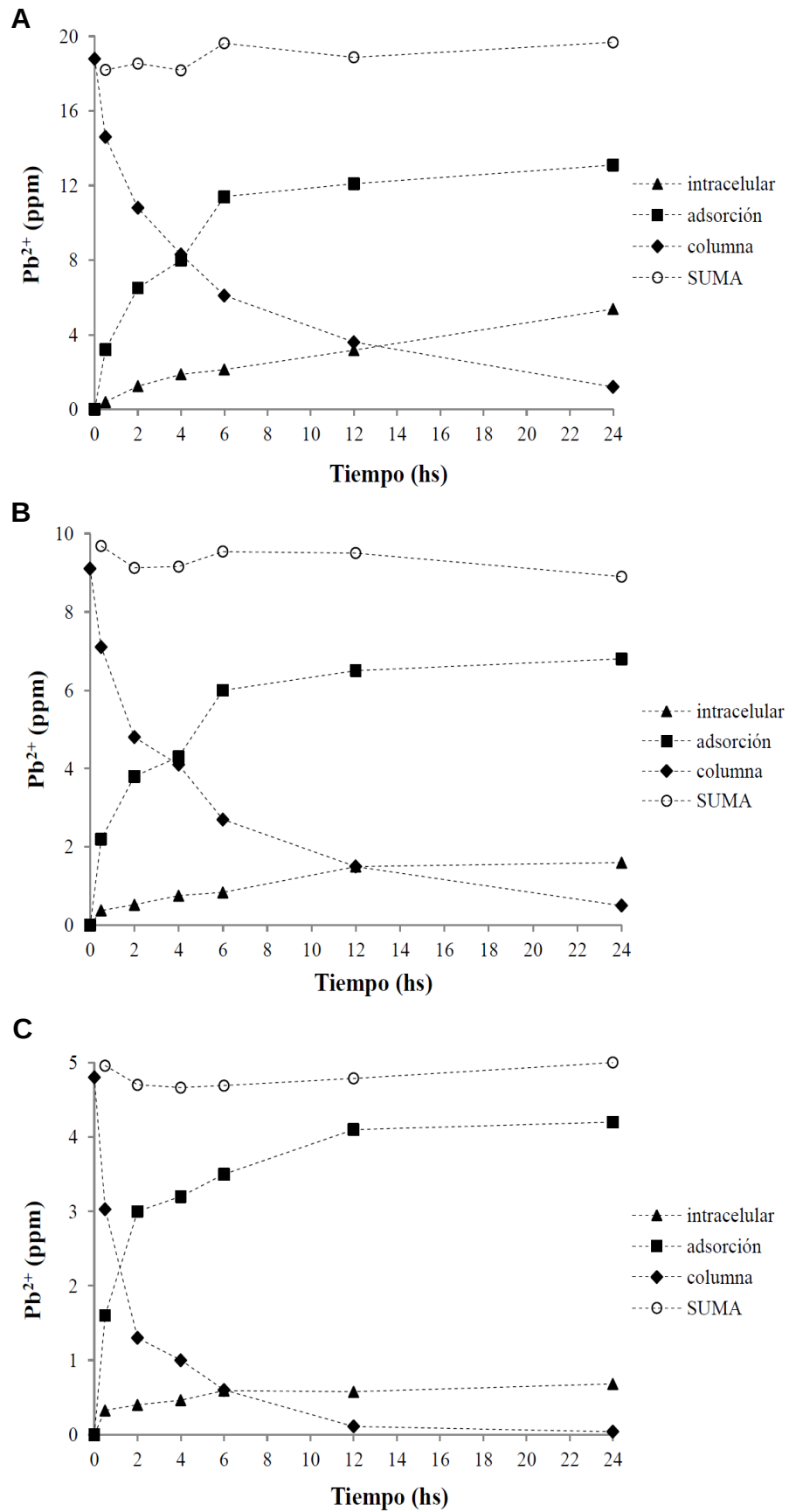


Figura 4. Estudios de compartimentalización en *Salvinia biloba* Radii. Las curvas muestran la distribución de Pb^{2+} en los tres compartimentos definidos (columna de agua, adsorción superficial o espacio intracelular) para las distintas concentraciones iniciales del metal ensayadas: A) 20 ppm; B) 10 ppm y C) 5 ppm.

Los resultados obtenidos a las 24 h mostraron claramente que la mayor cantidad de Pb^{2+} eliminado de la columna de agua se encontró adsorbido a la superficie de la biomasa en todas las concentraciones evaluadas y a todos los tiempos de exposición. Por el contrario, una menor proporción del metal se acumuló en el interior celular (Fig. 5).

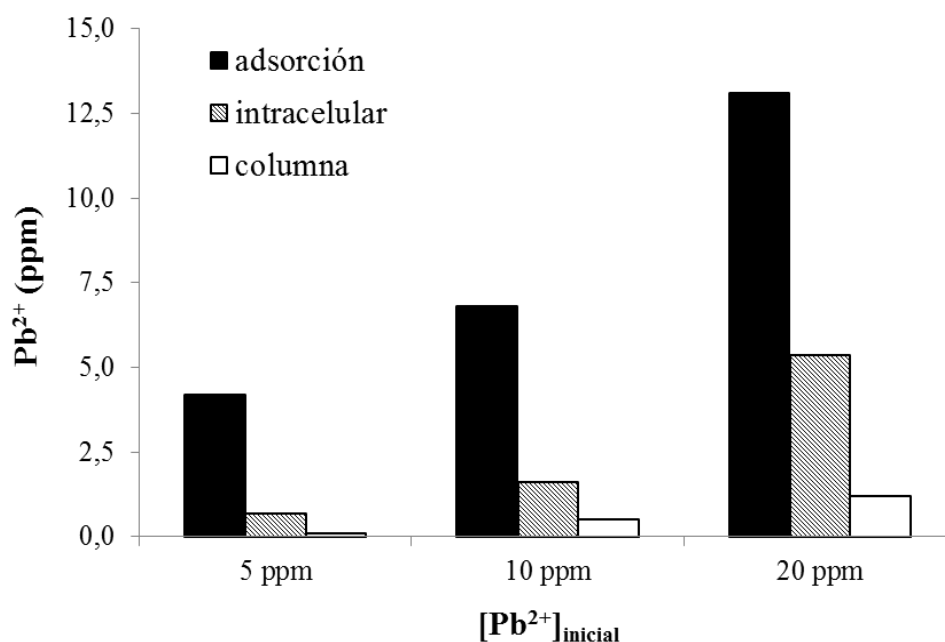


Figura 5. Distribución del contenido de Pb^{2+} en los tres compartimentos definidos al tiempo final del ensayo (24 h) para las distintas concentraciones iniciales del metal ensayadas.

El modo de captación del metal en los procesos de fitorremediación con plantas acuáticas varía dependiendo de la especie vegetal y del metal. La biorremediación de metales pesados en *Salvinia*, y su compartimentación, dependen principalmente de la presencia de ciertos nutrientes y agentes quelantes, hecho que corresponde a diferentes condiciones ambientales (Olguín et al., 2005). La eliminación de metales en *Salvinia* se produce a través de un mecanismo físico y otro biológico. El primer mecanismo es la adsorción superficial, el cual es un proceso físico, rápido, reversible, e implica fenómenos de adherencia, intercambio iónico y complejación. El segundo mecanismo es un proceso biológico de captación intracelular del metal por medio de un transporte activo a través de la membrana plasmática de las células y es comparativamente más lento (Suñe et al., 2007).

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se evaluó, por primera vez, la eficiencia de eliminación de Pb^{2+} en un modelo de sistema de fitorremediación en lotes utilizando *Salvinia biloba* Raddi. Esta especie mostró ser muy eficiente para remover el metal de la columna de agua aún a la concentración más elevada de 20 ppm, mostrando en tan sólo 24 h un porcentaje de remoción de Pb^{2+} de entre $91,2 \pm 1,9\%$ a $98,2 \pm 0,8\%$. A partir de los resultados de los estudios de compartimentalización efectuados en *Salvinia biloba* Raddi se pudo demostrar que los principales mecanismos involucrados en este proceso son la adsorción superficial y la acumulación intracelular del metal. Estos resultados contribuyen al entendimiento de los fenómenos de biorremediación utilizando diferentes especies de *Salvinia*, y podrían ser útiles en el desarrollo y optimización de fitotecnologías orientadas al tratamiento de efluentes contaminados con metales pesados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer especialmente a la Facultad de Química e Ingeniería de la Pontificia Universidad Católica Argentina, campus Rosario, por los fondos suministrados para la realización del presente trabajo; y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). W. T. Z desea agradecer personalmente al Ministerio de Educación de la República de Perú, a través de su Programa Nacional de Becas y Crédito Educativo (Pronabec).

REFERENCIAS

- APHA. American Public Health Association (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed.
- De la Sota, E.R. (1962). Contribución al conocimiento de las Salviniaceae neotropicales. *Darwiniana*, 12(3): 465-520.
- De la Sota, E.R. (1976a). Sinopsis de las especies argentinas del género *Salvinia* Adanson (Salviniaceae-Pteridophyta). *Bol. Soc. Arg. Bot.*, 17(1-2): 47-50.
- De la Sota, E.R. (1976b). Sinopsis de las Pteridófitas del Noroeste de Argentina III. *Darwiniana*, 20(1-2): 225-232.
- De la Sota, E.R. (1977). Índice sistemático y bibliográfico de los taxa vivientes del género *Salvinia* Adanson (Salviniaceae-Pteridophyta). *Obra Centenario, Museo de La Plata. III. Bor.*: 229-235.
- De la Sota, E.R. (1982). Sobre *Salvinia radula* Baker (Salviniaceae-Pteridophyta). *Biotica*, 7(3): 457-462.
- Dhir, B. (2009). *Salvinia*: an aquatic fern with potential use in phytoremediatio. *Environ. We Int. J. Sci. Tech.*, 4: 23-27.
- Hurd, N.A., Sternberg, S.P.K. (2008). Bioremoval of aqueous lead using *Lemna minor*. *Int. J. Phytorem.*, 10(4): 278-288.
- Marmiroli, M., Antonioli, G., Maestri, E., Marmiroli, N. (2005). Evidence of the involvement of plant lignocellulosic structure in the sequestration of Pb: an X-ray spectroscopy-based analysis. *Environ. Poll.*, 134: 217-227.
- Olguín, E.J., Sánchez, G., Pérez, T., Pérez, A. (2005). Surface adsorption, intracellular accumulation and compartmentalization of Pb (II) in batch-operated lagoons with *Salvinia minima* as affected by environmental conditions, EDTA and nutrients. *J. Ind. Microbiol. Biotech.*, 32(11-12): 577-586.
- Peng, K., Luo, C., Lou, L., Li, X., Shen, Z. (2008). Bioaccumulation of heavy metals by the aquatic plants *Potamogeton pectinatus* L. and *Potamogeton malaianus* Miq. and their potential use for contamination indicators and in wastewater treatment. *Sci. Total Environ.*, 392: 22-29.
- Prasad, M.N.V. (2003). Phytoremediation of metal-polluted ecosystems: hype for commercialization. *Russ. J. Plant Physiol.*, 50(5): 686-700.
- Rai, P.K. (2008). Heavy metal pollution in aquatic ecosystems and its phytoremediation using wetland plants: an ecosustainable approach. *Int. J. Phytoremediat.*, 10: 133-160.
- Sánchez, G., Monroy, O., Gómez, J., Olguín, E.J. (2008). Assessment of the hyperaccumulating lead capacity of *Salvinia minima* using bioadsorption and intracellular accumulation factors. *Water Air Soil Poll.*, 194(1-4): 77-90.
- Suñe, N., Sánchez, G., Caffaratti, S., Maine, M.A. (2007). Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. *Environ. Poll.*, 145: 467-473.
- Torres, G., Navarro, A.E., Languasco, J., Campos, K., Cuizano, N.A. (2007). Estudio preliminar de la fitorremediación de cobre divalente mediante *Pistia stratiotes* (lechuga de agua). *Rev. Lat. Rec. Nat.*, 3(1): 13-20.