

BIOACUMULACIÓN DE COBRE EN FRIJOLES

Hernán Zapata Gamarra. Elvis Contreras Llantoy

Resumen

El presente trabajo busca evaluar la bioacumulación del ion cobre en tres especies distintas de frijol, como son : panamito, canario y castilla. Esta información sería de utilidad en ingeniería ambiental para la remediación de suelos contaminados o en minería, para la extracción de este metal en rocas con muy baja concentración de éste metal y por tanto haciendo que el proceso extractivo sea poco atractivo económicamente. Dichas evaluaciones se realizaron determinando la concentración en cada parte de la planta, como son : raíces, tallos y hojas. El frijol castilla llegó a bioacumular más en el tallo y ésta fue de 400,56 mgCu/kg, mientras que el frijol canario llegó a bioacumular más en la raíz, 233,09 mgCu/kg.

Palabras clave

Bioacumulación, fitorremediación, frijol, biosorción.

Abstract

This paper seeks to assess the bioaccumulation of copper ion in three different species of beans, such as: panamito Canario and Castilla. This information would be useful in environmental engineering for the remediation of contaminated soils or mining for the extraction of this metal in rocks with very low concentration of this metal and thus making the extraction process economically unattractive. These assessments were performed by determining the concentration in each part of the plant, such as: roots, stems and leaves. The castilla beans reached bioaccumulate more in the stem and it was 400,56 mgCu/kg, while the canario beans became more bioaccumulate in the root, 233,09 mgCu/kg.

Key words

Bioaccumulation, phytoremediation, bean, biosorption.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de actividades industriales y mineras, ha contribuido cada vez más a la generación de residuos con metales pesados como por ejemplo el cobre, que de una u otra manera llegan a los suelos; esto afecta a muchas plantas, pero solo algunas logran asimilarlas; estas plantas no tienen un desarrollo normal, aquellos metales pesados se bioacumulan en distintas partes de la planta, puede ser en el fruto por ejemplo, de ser así este puede tener efectos nocivos a la salud de la población.

Es por ello que se necesita solucionar la contaminación originada por cobre, mediante estrategias basadas en el uso de plantas que tienen la propiedad de bioacumular éste metal; y por ello se trabajaron con tres especies distintas de frijoles, ya que estos tienen una buena velocidad de crecimiento. La cosecha se realizó a los 28 d y luego se determinó la concentración del metal en las hojas, tallos y raíces de las diferentes especies de frijoles; no se esperó hasta que las plantas dieran frutos, debido a que no se quiere estudiar la bioacumulación del metal para problemas de toxicidad en la población, sino la fitoextracción que consiste en la captación, transferencia y bioacumulación del cobre en las diferentes partes de la planta con fines extractivos.

Fundamentos

La fitoextracción, es el uso de plantas que absorben y concentran, en sus partes recolectables (hojas, tallos y raíces), los contaminantes contenidos en el suelo (a menudo metales pesados). Se utilizan plantas acumuladoras y / o hiperacumuladoras que sean capaces de tolerar y acumular los metales pesados. En la mayoría de los casos las plantas se cosechan y se incineran, y las cenizas se almacenan en lugares acondicionados para ello o son transformadas para recuperar los metales acumulados (a esto se le llama fitominería)[1]

El cobre es un nutriente esencial de la planta, que es absorbido por ésta como Cu (II), o como complejo $[Cu(EDTA)]^{2-}$, por vía radicular o foliar. No es muy móvil, aunque puede desplazarse en cierta proporción de las hojas viejas a las jóvenes. Este traslado depende del estado en que se encuentra, y del grado de deficiencia que la planta presente. En casos agudos queda completamente inmóvil. [2]

En las plantas se conoce un buen número de enzimas que contienen cobre. Entre ellos los más conocidos son la fenolasa, laccasa y ácido aspártico oxidasa. La fenolasa, cataliza dos importantes reacciones : la hidroxilación de ciertos monofenoles a o-difenoles, y la oxidación de éstas a o-quinonas; la laccasa, también conocida como p-difenol oxidasa, cataliza la oxidación a quinonas de varios polifenoles y compuestos relacionados, pero no tiene acción en la oxidación de monofenoles. Los compuestos que originan estas oxidaciones fenólicas están ampliamente involucrados en el importante proceso de lignificación, que es donde se sintetiza lignina a partir de los carbohidratos. [2]

En caso de una deficiencia de cobre, las enzimas fenoloxidasas no presentan actividad, se sintetiza menos lignina, los tejidos quedan debilitados, y los órganos de la planta tienden a encorvarse por esta pérdida de rigidez.

El cobre participa de manera importante en el metabolismo nitrogenado y glucídico. En plantas deficientes de cobre se ha observado un notable incremento de aminoácidos y paralización de la síntesis proteica, se cree que esta acción es debida a la función activadora que el cobre pueda ejercer sobre las enzimas que intervienen en la síntesis de los aminoácidos. Se ha demostrado también la influencia favorable que ejerce sobre las leguminosas en lo que se refiere a la fijación de nitrógeno atmosférico. Cuando el suelo está bien provisto de cobre hay una fijación normal, mientras que en los suelos deficientes la fijación queda atenuada. Se considera que el cobre participa en la síntesis de la leghemoglobina de los nódulos. También se sugiere que la deficiencia hace

disminuir la actividad de la enzima citocromo oxidasa en los nódulos, lo que puede producir en sus células un incremento de tensión de oxígeno que dificulta el proceso de la fijación de nitrógeno. [2]

La toxicidad del cobre se incrementa en suelos ácidos, debido a la estabilidad termodinámica del cobre. El cobre se encuentra en el suelo normalmente con estado de oxidación 2+, porque el suelo tiene una cierta concentración de oxígeno disuelto, y dependiendo del pH, se encontrarán distintas especies, como el hidroxido cobre (II), $[\text{CuOH}]^+$, y el trihidroxido cuprato (II), $[\text{Cu}(\text{OH})_3]^-$, mostrado en la gráfica 1.

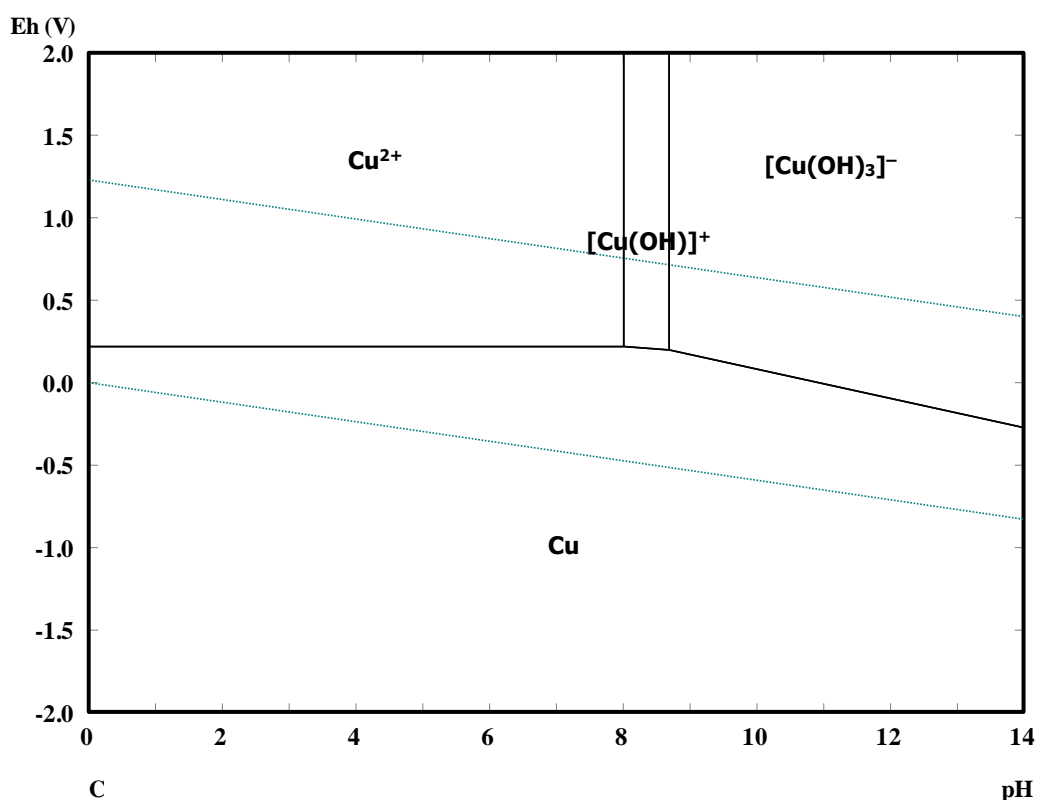


Gráfico 1 : Diagrama de Pourbaix para el cobre [3]

PROCESO EXPERIMENTAL

Equipos

- Equipo de absorción atómica, Perkin Elmer Analys 400
- Equipo potenciométrico Xplorer GLX
- Mechero Bunsen
- Plancha de calentamiento Thermo Scientific
- Balanza analítica Mettler Toledo
- Estufa Fisher

Reactivos

- Fosfato ácido de sodio
- Sulfato ferroso
- Sulfato de zinc
- Oxalato de amonio
- Sulfato de cobre pentahidratado
- Tres especies de frijoles, ver tabla 1

Tabla 1: Especies utilizadas

Nombre común	Nombre científico
Frijol panamito	<i>Phaseolus Vulgaris</i>
Frijol castilla	<i>Vigna unguiculata specie</i>
Frijol canario	<i>Phaseolus Vulgaris L.</i>

PROCEDIMIENTO

Determinación de la concentración fitotóxica del cobre

Se realizaron plantaciones de semillas de frijoles en vasos de precipitado, utilizando algodón como material de soporte y a diferentes concentraciones de cobre, ver tabla 2. Con ello se evaluó la concentración máxima de cobre que las especies de frijoles pueden soportar, antes de mostrar toxicidad.

Tabla 2. Concentración de cobre en muestra.

Vaso de precipitado	mgCu/kg	pH
1	15	6,8
2	20	6,7
3	25	6,7
4	30	6,6
5	40	6,5
6	50	6,5

Preparación del suelo, siembra y cosecha

Se pesó dos cantidades de 4,2 kg de tierra agrícola, se las llevó a dos cubetas de vidrio diferentes y se les agregó igual cantidad de nutrientes pero a una de ellas se le adicionó cobre y a la otra no; ésta última servirá de blanco. Las cantidades se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Cantidades adicionadas de nutrientes a las cubetas

Nutrientes	Sal adicionada	Cubeta blanco g	Cubeta de prueba g
Fósforo	Na_2HPO_4	16,15	16,15
Hierro	FeSO_4	0,57	0,57
Cinc	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,84	1,84
Nitrógeno	$(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$	35,56	35,56
Cobre	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$		0,82

El pH de cada cubeta fue de 7,1. Se dividió el área de las cubetas en tres columnas y en cada una de ellas se procedió a sembrar 6 plantas de cada especie.

Pasados 28 d se obtuvo una altura considerable y se procedió a la cosecha, para ello se procedió a abrir un lado de la cubeta de vidrio debido a que de esta manera se evita mezclar las raíces, tal como se muestra en la gráfica 2.



Gráfica 2 : cosecha de los frijoles

Preparación de las muestras

Luego de extraer las muestras de la cubeta, se realizó el lavado de éstas con agua destilada, teniéndose especial cuidado de no romper las raíces y luego se procedió a tomar las características de cada especie que creció en las dos cubetas, es decir en la cubeta blanco y en la cubeta de prueba, tal como se aprecia en la gráfica 3.



Gráfica 3 : Clasificación de las muestras por especie

Luego se separó la hojas, tallos y raíces de cada especie, para ello se cortó entre la vaina (dilatación de la base del peciolo, que se adhiere al tallo) y el peciolo (parte de la hoja que sostiene al limbo y lo une al tallo mediante la vaina) y para obtener la raíz se cortó desde el nudo vital (parte que separa la raíz del tallo), tal como se muestra en la gráfica 4.



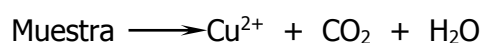
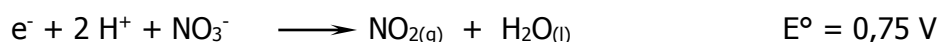
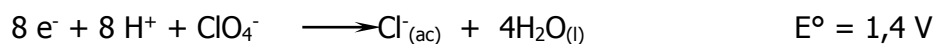
Gráfica 4 : Separación de las diferentes partes de la planta

Después se procedió al secado a 70 °C hasta obtener un peso constante y luego se carbonizó y calcinó las muestras utilizando un mechero Bunsen, como se muestra en la gráfica 5.



Gráfica 5 : Carbonización y calcinación de las muestras

Se colocó las muestras calcinadas en vasos de precipitado, se les adicionó ácido nítrico y ácido perclórico concentrado, se les tapo con un vidrio de reloj y se las llevo a una plancha calefactora a 150 °C, hasta disolución total de las muestras. Las reacciones químicas acontecidas, se muestran a continuación [4] :



Luego se enfriaron las muestras, se las colocó en matraces volumétricos de 25 mL y se les aforó con agua destilada. Finalmente se prepararon estándares de cobre (II) de 0, 2 , 3 y 10 mg/L y se leyeron en un equipo de absorción atómica.

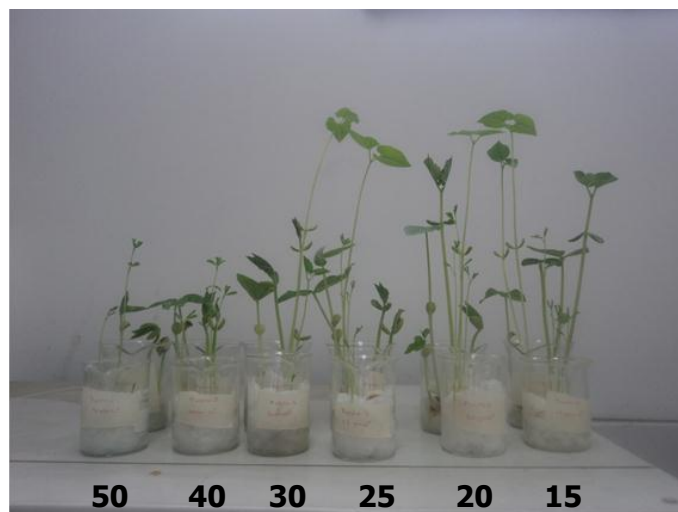
RESULTADOS

Determinación de la concentración fitotóxica del cobre :

A los 5 d se confirmó la germinación de las semillas como se observa en la gráfica 6.



Gráfica 6 : Germinación de las semillas a los 5 d



Gráfica 7 : vasos de precipitado con diferentes concentraciones de cobre en mg/kg

Preparación de las muestras

Tabla 4 : Alturas promedio de las especies estudiadas, después 28 d

Especie	cm	
	Cubeta blanco	Cubeta de prueba
Frijol panamito	14,00	17,40
Frijol castilla	11,00	17,00
Frijol canario	12,22	18,18

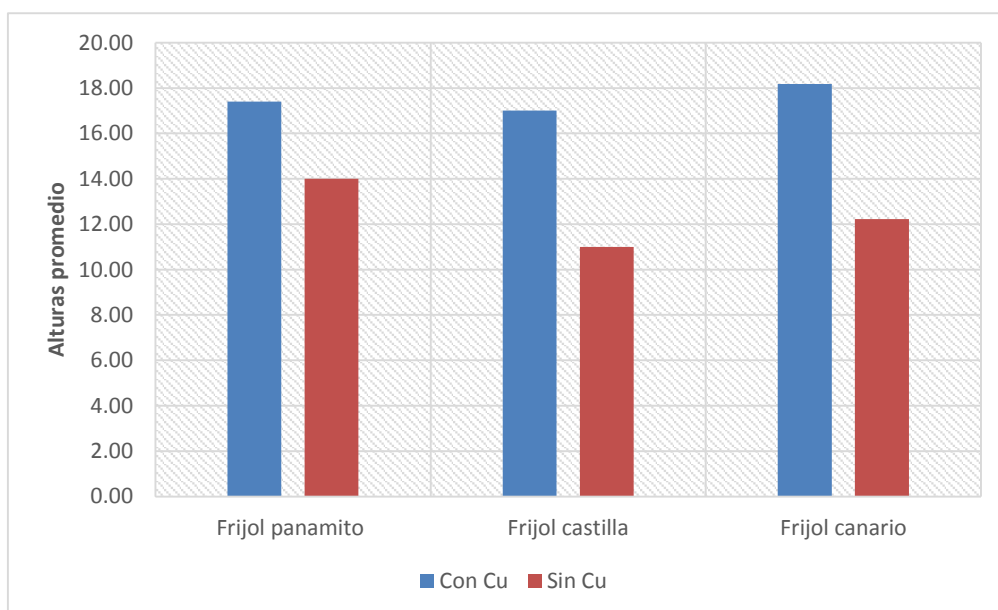


Gráfico 8 : Alturas promedio de cada especie después de 28 d

Tabla 5 : Masa seca de las diferentes especies

Partes de la planta	Masa de la muestra seca g
Frijol panamito Raíz Tallo Hojas	0,0545 0,2141 0,1496
Frijol canario Raíz Tallo Hojas	0,2363 0,2530 0,2525
Frijol castilla Raíz Tallo Hojas	0,0828 0,4453 0,5542

Tabla 6 : Concentración de cobre en el frijol panamito

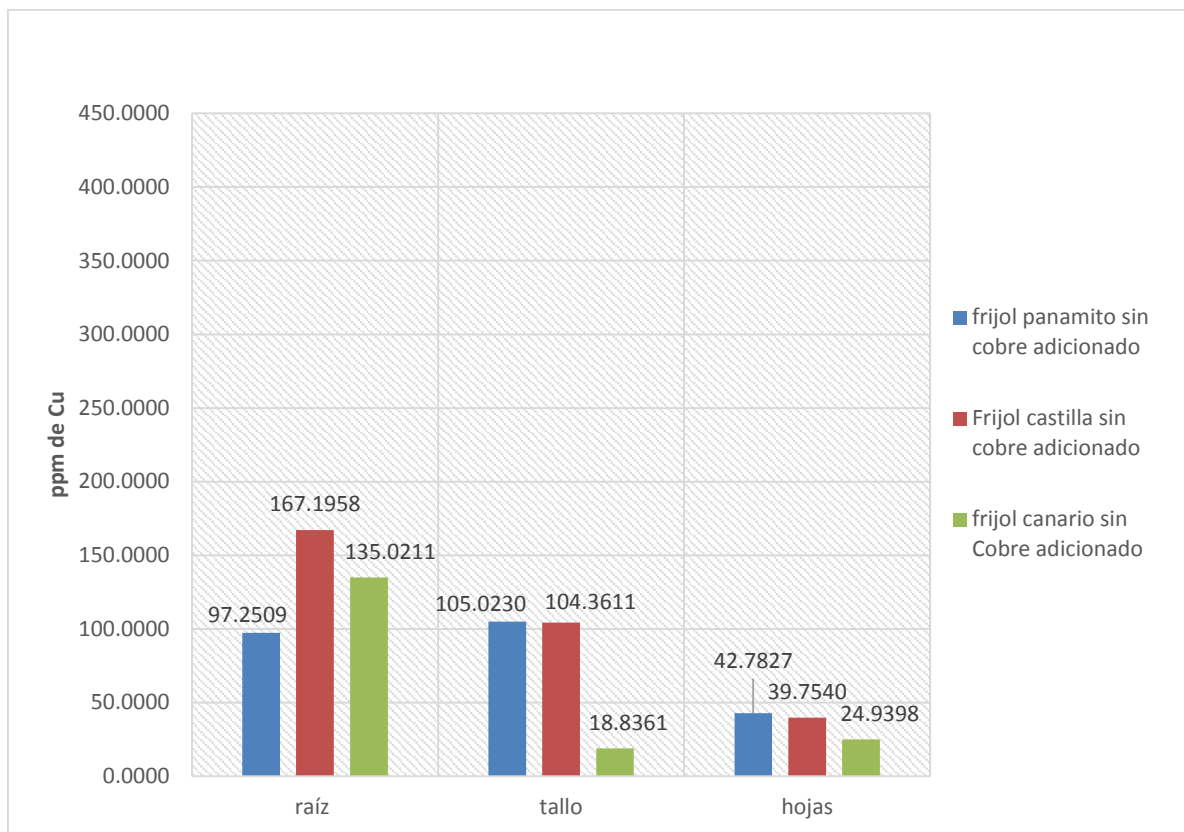
Parte de la planta	mg Cu/kg muestra seca	
	Cubeta blanco	Cubeta de prueba
Raíz	97,2509	162,0795
Tallo	105,0230	115,8337
Hojas	42,7827	65,4523

Tabla 7 : Concentración de cobre en el frijol castilla

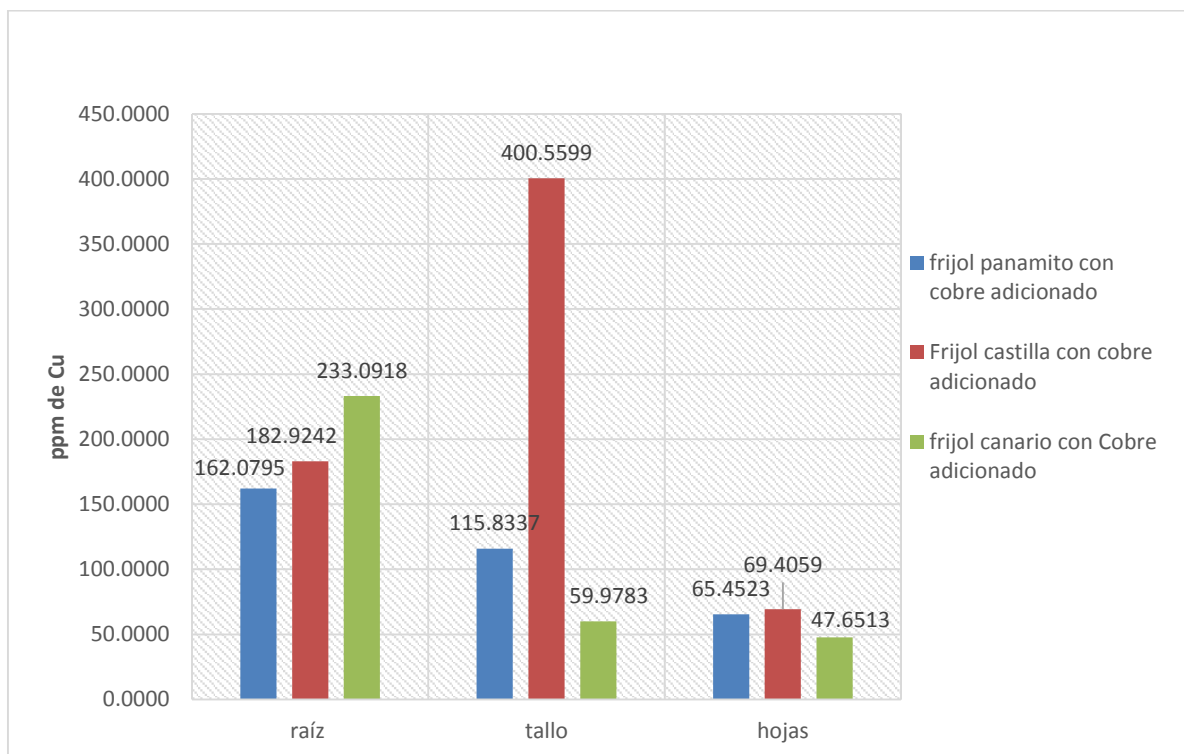
Parte de la planta	mg Cu/kg muestra seca	
	Cubeta blanco	Cubeta de prueba
Raíz	167,1958	182,9242
Tallo	104,3611	400,5599
Hojas	39,7540	69,4059

Tabla 8 : Concentración de cobre en el frijol canario

Parte de la planta	mg Cu/kg muestra seca	
	Cubeta blanco	Cubeta de prueba
Raíz	135,0211	233,0918
Tallo	18,8361	59,9783
Hojas	24,9398	47,6513



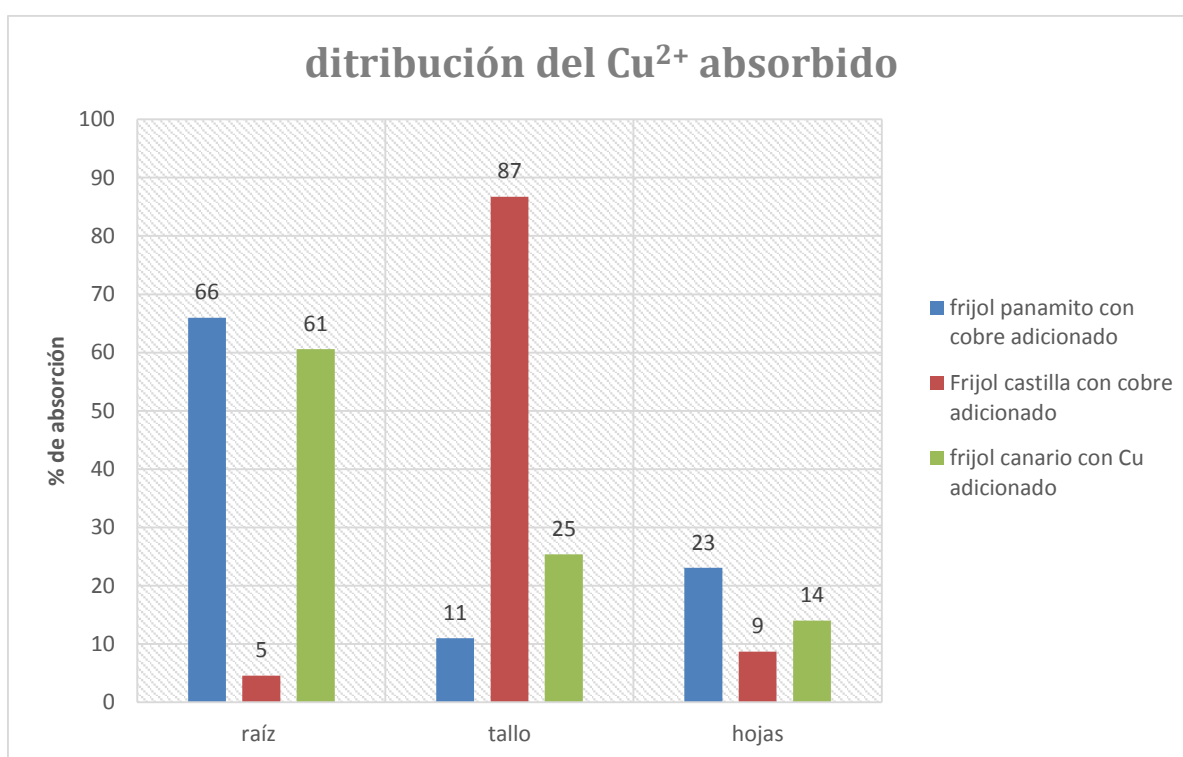
Gráfica 9 : concentración de cobre en las distintas especies estudiadas en la cubeta blanco



Gráfica 10 : concentración de cobre en las distintas especies estudiadas en la cubeta de prueba

Tabla 9 : Distribución porcentual del cobre en las diferentes partes de las especies estudiadas

Especie	Total Cu bioacumulado mg	Porcentaje bioacumulado %		
		Raíz	Tallo	Hojas
Frijol panamito	98,3090	66	11	23
Frijol castilla	341,5793	5	87	9
Frijol canario	161,9244	61	25	14



Gráfica 11 : Distribución porcentual del cobre bioacumulado en las diferentes especies estudiadas

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

- Como se aprecia en la gráfica 7, a los 9 d se observó que las plantas que crecen en concentraciones mayores a 40 mgCu/kg, tienen crecimiento retardado, por lo cual se trabajaron las cubetas a la concentración de 30 mgCu/kg.
- En la tabla 4 y en el gráfico 8, se aprecia que en las cubetas que contienen cobre, las diferentes muestras de frijoles crecieron más, por lo que se deduce que éste metal es un nutriente para estas especies.

- En la tabla 5, se aprecia que la mayor producción de hojas y de tallos la tuvo el frijol castilla, mientras que la mayor cantidad de raíces la tuvo el frijol canario.
- En la tabla 6, se aprecia que cuando el frijol panamito no está sometido a concentraciones altas de cobre, éste se bioacumula mejor en el tallo, mientras que cuando se adiciona una mayor cantidad de cobre al suelo, es la raíz de ésta especie la que la bioacumula en mayor concentración, lo cual nos hace notar que la bioquímica de asimilación es dependiente de la concentración del metal en el suelo.
- En la tabla 7, se aprecia que cuando el frijol castilla no está sometido a concentraciones altas de cobre, éste se bioacumula mejor en la raíz, mientras que cuando se adiciona una mayor cantidad de cobre al suelo, es el tallo de ésta especie la que la bioacumula en mayor concentración, lo cual nos hace notar que la bioquímica de asimilación es dependiente de la concentración del metal en el suelo.
- En la tabla 8, se aprecia que cuando el frijol canario no está sometido a concentraciones altas de cobre y cuando si lo está, es la raíz la que siempre bioacumula la mayor cantidad, lo cual nos hace notar que la bioquímica de asimilación es independiente de la concentración del metal en el suelo.
- En la gráfica 9, observamos que cuando el frijol no está sometido a concentraciones altas de cobre, la raíz del frijol castilla es la que bioacumula en mayor cantidad, seguido de los tallos de las especies panamito y castilla.
- En la gráfica 10, observamos que cuando el frijol está sometido a concentraciones de 30 mgCu/kg, es el tallo del frijol castilla la que bioacumula la mayor cantidad de cobre, seguido de la raíz del frijol canario.
- En la tabla 9 y gráfico 11, observamos que cuando las especies de frijoles están sometidas a concentraciones de 30 mgCu/kg, es el tallo del frijol castilla el que porcentualmente bioacumula la mayor cantidad de cobre, mientras que el frijol panamito y el frijol canario lo bioacumulan mejor en las raíces.

CONCLUSIONES

- Una concentración de 30 mg/Kg de cobre hace que las enzimas fenoloxidasas presenten alta actividad, bio-sintetizándose así más lignina, lo cual hace que las plantas presenten tallos más grandes y fuertes.
- La alta área superficial que presenta la raíz del frijol canario y panamito traen como consecuencia la retención de más cobre en ésta parte de la planta, las concentraciones en el frijol canario y panamito llegaron a 233,0918 mgCu/Kg y 162,0795 mgCu/kg respectivamente.
- En el tallo, es el frijol castilla es la especie que llegó a acumular la mayor cantidad de cobre, siendo ésta de 400,56 mg Cu/Kg.
- La bioquímica de asimilación del cobre en el frijol panamito y castilla, es dependiente de la concentración del metal en el suelo.
- La bioquímica de asimilación del cobre en el frijol canario, es independiente de la concentración del metal en el suelo.

REFERENCIAS

- [1] Alexander,L.; E.Masarovikova; D.Liskova, 1999. Screening of plants for toxic metals accumulation. Phytoremediation, Conference, Lausana, Group 2, Toxic Metals.
- [2] Ginés N. Química agrícola. Cobre en la planta y el suelo. Editorial Multi-prensa. Madrid, 2003.
- [3] Outokumpu. [Programa de computadora]. HSC chemistry 7.1; 2010.
- [4] Deam, J. Lange's handbook of chemistry. Editorial McGraw-Hill. New York, 1999.