

## Remoción de cromo hexavalente empleando *Salvinia minima* bajo condiciones controladas de laboratorio

Bárbara M. Gomez<sup>1</sup>, Valeria Rodríguez Salemi<sup>1</sup>, Carlos Gómez<sup>1</sup> y Laura de Cabo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional del Agua - Centro de Tecnología del Uso del Agua

<sup>2</sup> Museo Argentino de Ciencias Naturales "B. Rivadavia"-CONICET

E-mail:barbaramarion@gmail.com

### RESUMEN

La contaminación del medio acuático por metales pesados se ha convertido en un serio problema debido a su alta toxicidad y persistencia en el medio ambiente. Su tratamiento por lo general es difícil y costoso. La fitorremediación, mediante el uso de macrófitas flotantes, ofrece una prometedora tecnología debido a su gran potencial para acumular metales pesados. El objetivo de este trabajo fue estudiar la tasa de absorción y el factor de bioconcentración (FBC) de cromo en *Salvinia minima* durante 8 días de exposición bajo condiciones controladas de temperatura e iluminación (fotoperiodo 16:8 /luz:oscuridad). Se trabajó con plantas obtenidas de la laguna de San Vicente, provincia de Buenos Aires, Argentina. Las mismas fueron colocadas en recipientes plásticos de 60 x 40 x 10 cm con agua de la laguna adicionada con ~ 5 mg/L de cromo hexavalente. Se cuantificó el metal retenido en el tejido por triplicado a los 0, 1, 2, 4, 7 y 8 días de comenzada la experiencia. La tasa de absorción fue máxima a las 24 hs de exposición ( $117.2 \text{ mg Cr/Kg biomasa}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ) y luego decae de manera exponencial hasta finalizado el ensayo. El Factor de Bioconcentración (FBC) aumentó de forma lineal hasta el 7<sup>mo</sup> día ( $65.8 \pm 0.4$ ) y luego se mantuvo constante con una concentración de cromo en el tejido de  $448 \pm 40.4 \text{ mg/Kg}$ . Los resultados aportan información relevante en cuanto a la dinámica de remoción de cromo por *Salvinia minima* y muestran que la capacidad de bioacumulación de la misma ha alcanzado su saturación luego de 7 días de exposición.

PALABRAS CLAVE: fitorremediación, dinámica, macrófitas acuáticas

## 1. INTRODUCCION

La intensificación del proceso de urbanización ha constituido uno de los rasgos destacables del siglo XX (Di Pace, 2000). Este proceso de crecimiento demográfico ha impactado en el medio ambiente principalmente debido a la concentración de industrias en los márgenes de los ríos convirtiéndolos en receptores de efluentes. La contaminación de los recursos hídricos, tanto superficiales como subterráneos, por la descarga indiscriminada de desechos se ha convertido en una preocupación mundial grave (Chandra y Kulshreshtha, 2004).

Un informe elaborado en la Argentina (ACUMAR, 2012) relevó un total de 18.630 industrias localizadas en la Cuenca Matanza Riachuelo (CMR) de las cuales 1570 fueron declaradas como agentes contaminantes. Al menos el 3% de estas industrias vierten cromo en sus efluentes.

El cromo existe en varios estados de oxidación, pero las formas más comunes y estables en las que se encuentra son el cromo trivalente y hexavalente (Bhalerao y Sharma, 2015). Su toxicidad varía según su especiación siendo el cromo (VI) mucho más tóxico que el cromo (III), para exposiciones tanto agudas como crónicas (ATSDR, 1998).

A pesar de que puede tener su origen a partir de fuentes geoquímicas, la mayor parte de la contaminación ambiental se debe a fuentes antropogénicas, tales como lechos de minas, efluentes industriales (curtiembres, galvanoplastias), o de los lixiviados de vertedero (Zurayk et al., 2001).

Debido al alto valor ecológico y la importancia de los servicios ecosistémicos provistos por los ríos y arroyos, la restauración de ambientes ribereños ha recibido mucha atención, especialmente durante los últimos 20 años (Palmer et al., 2007). La acumulación de metales por plantas ha suscitado un gran interés en los últimos años (Antunes, et al., 2001; Cohen-Shoel et al., 2002; Shen y Liu, 1998). Las macrófitas sumergidas y flotantes son importantes componentes de los ecosistemas fluviales. Proporcionan hábitat y alimento para peces e invertebrados, estabilizan sustratos, y modifican el flujo de corriente, sedimentos y la química del agua (Kaenel et al 1998; Wilcock et al., 1999). También juegan un papel importante en la absorción, el almacenamiento, y el reciclado de metales. Ciertas plantas acuáticas pueden tolerar, absorber y traslocar altos niveles de metales pesados que serían tóxicos para la mayoría de los organismos. Es por esto que la fitorremediación con plantas nativas puede plantearse como una alternativa viable para la rehabilitación de cuerpos de agua receptores de efluentes con cromo.

Conocer la cinética de reacción involucrada en el proceso de remoción, resulta de interés para la aplicación de esta tecnología. La cinética química permite obtener ecuaciones mediante las cuales

se pueden predecir las concentraciones de reactivos y productos en el tiempo dentro del sistema (Brezonik P. y Arnold W., 2011). Esta información es relevante a la hora de la implementación *in situ* ya que permite estipular los tiempos de exposición y de cosecha y de esta manera aumentar la eficiencia del tratamiento.

El objetivo de este trabajo fue conocer la tasa de asimilación, el Factor de Bioconcentración (FBC) y el orden de la reacción cinética de *Salvinia minima* luego de ser expuesta por 8 días a una concentración de Cromo (VI) de 5 mg/L.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *2.1 Bioensayo*

El bioensayo consistió en la exposición de *Salvinia minima* durante 8 días en agua de la laguna de San Vicente adicionada con 5 mg/L de Cr (VI) bajo condiciones controladas de temperatura e iluminación (fotoperiodo 16:8/luz:oscuridad, temperatura  $24 \pm 2$  °C, 1054 lux ) por triplicado (n=3). Las plantas fueron colectadas en la laguna de San Vicente, provincia de Buenos Aires, y aclimatadas a condiciones de laboratorio en el agua de la laguna durante la semana previa al ensayo. Se realizó un control: A sin plantas y un tratamiento: B con plantas. Los recipientes utilizados fueron bateas de plástico de 40 cm x 60 cm x 10 cm. El volumen total en cada unidad experimental fue de 12 litros. Tanto el tratamiento A como B fueron fortificados con el primer enjuague de la cuba electrolítica de una galvanoplastia (21 g Cr (VI)/L) de manera que la concentración final fuese de 5 mg/L de Cr (VI). Las diluciones se realizaron con el agua de la laguna previamente caracterizada (**Tabla 1**).

Se realizaron mediciones por triplicado de: pH, Temperatura, Conductividad Eléctrica (CE), Oxígeno Disuelto (OD), Potencial Óxido-Reducción (ORP), Cr (VI), Cromo total (Cr T) y Cromo Disuelto (Cr D) en la fase acuosa y Cr T en el tejido a los 0, 1, 2, 4, 7 y 8 días de comenzada la experiencia.

### *2.2 Determinaciones analíticas*

Las mediciones de pH, temperatura, conductividad eléctrica (CE), oxígeno disuelto (OD) se realizaron con sensores marca Thermo® y el Potencial Óxido-Reducción (ORP) con sensor marca DKK-TOA®

El análisis de Cr T en agua y en tejido se realizó mediante digestión por microondas según metodología 3015 y 3052 de US EPA (*U.S. Environmental Protection Agency*), respectivamente. Para la determinación de Cr T bioacumulado, se utilizó la planta total molida sin diferenciar partes

aéreas y sumergidas. Los digestos se midieron por espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS) según metodología propia del equipo Hitachi Z5000. Límite de detección: 0,012 mg/L y Límite de Cuantificación: 0,050 mg/L. El análisis de Cr (VI) se realizó según la metodología 7196 A US EPA. El cromo disuelto (Cr D) se determinó por la misma metodología que el Cr T previa filtración por acetato de celulosa de 0.45  $\mu\text{m}$ . La fracción de Cromo particulado (Cr P) se calculó como la diferencia entre Cr T y Cr D.

La caracterización fisicoquímica del agua de la laguna se realizó por triplicado siguiendo protocolos estandarizados (APHA, 1998), incluyendo: temperatura, conductividad eléctrica (CE), Potencial de Óxido-Reducción (ORP), oxígeno disuelto (OD), amonio, nitratos, ortofosfatos, fósforo total, carbono orgánico disuelto (COD), carbono inorgánico disuelto (CID), Carbono Disuelto Total (CDT), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Alcalinidad, Dureza, Sólidos Suspendidos Totales (SST), sulfuros, sulfatos, cloruros, sodio, potasio, magnesio, calcio, cobre y cinc.

### 2.3 Factor de Bioconcentración

El factor de bioconcentración (FBC) fue calculado como la relación entre la concentración del metal en el tejido de la planta y la concentración de este elemento en el ambiente externo (Zayed *et al.* 1998).

$$\text{FBC} = \text{P/E} \quad (1)$$

Donde: “P” representa la concentración del elemento traza en el tejido de las plantas (mg/Kg peso seco) y “E” representa la concentración del elemento traza en la solución (mg/L). Comparativamente valores mayores de FBC significan una mejor capacidad de bioacumulación.

### 2.4 Análisis estadístico

Los resultados fueron representados por los valores medios de las determinaciones y su correspondiente Error Estándar Medio (EEM). También se hicieron análisis de la varianza (ANOVA). Se verificó que los datos cumplieren con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Para los contrastes se realizó la prueba de Tukey con un nivel de significación del 0.05. Las barras de error representadas en los gráficos corresponden al intervalo de confianza del 95%.

## 2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Caracterización del agua de la laguna

En la tabla 1 se muestra la caracterización de la laguna de San Vicente donde se presentan la media de los parámetros analizados con su respectivo EEM. No se observan concentraciones detectables de cromo pero sí de otros metales como cobre y cinc.

**Tabla 1.** Caracterización del agua de la laguna de San Vicente. En la tabla se indican el promedio y el Error Estándar Medio correspondiente para cada parámetro (n=3). ND: No Detectable.

Parámetro	Unidades	Concentración
Sulfatos	mg/L	<10
Sulfuros	mg/L	<0.03
SST	mg/L	5.7±0.9
CDT	mg/L	43.4±0.9
CID	mg/L	18.2±0.5
COD	mg/L	25.2±0.5
Alcalinidad	mg/L	134±1
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	mg/L	<0.1
Fosforo Total	mg/L	<0.5
Cloruros	mg/L	14.9±0.3
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/L	<0.3
N-NH <sub>4</sub>	mg/L	0.60±0.06
DQO	mg/L	64.7±1.9
Dureza	mg CaCO <sub>3</sub> /L	60.8±8.9
Sodio	mg/L	15.2±1.5
Potasio	mg/L	11.8±0.6
Calcio	mg/L	0.10±0.01
Magnesio	mg/L	14.7±2.2
Cobre	mg/L	0.10±0.01
Cinc	mg/L	0.04±0.02
Manganeso	mg/L	0.20±0.04
Hierro	mg/L	0.05±0.01
Cromo	mg/L	ND

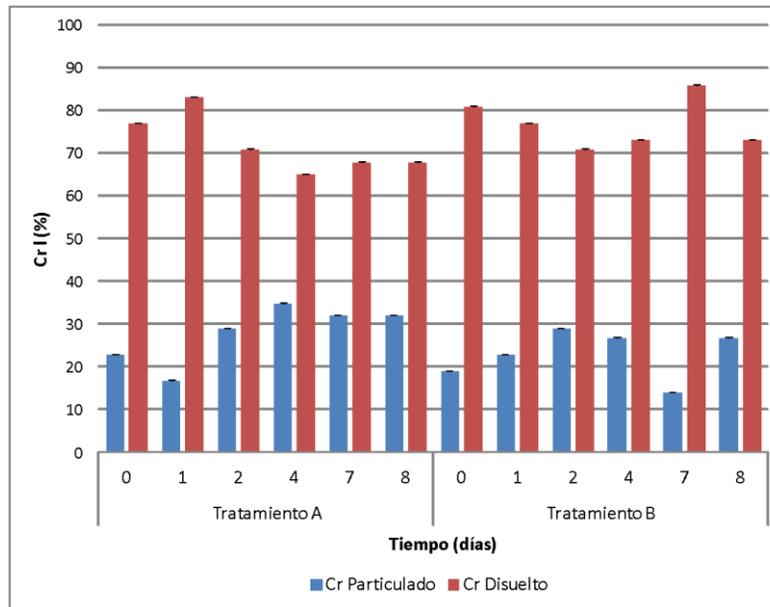
### 3.3 Bioensayos

#### 3.3.1 Análisis químico del agua

Durante el ensayo, las mayores pérdidas de agua ocurrieron en los tratamientos con plantas debido a la evapotranspiración, por lo que fueron tenidas en cuenta para las estimaciones subsiguientes. El pH incrementó a lo largo de la experiencia de  $7.37 \pm 0.02$  al inicio a  $8.34 \pm 0.12$  y  $8.41 \pm 0.01$  para los tratamientos A y B respectivamente. Los valores medios de CE estuvieron entre  $264 \pm 4$  -  $407 \pm 10$   $\mu\text{S/cm}$  y  $231 \pm 2$  -  $364 \pm 5$   $\mu\text{S/cm}$  para los tratamiento A y B respectivamente. Se observó una caída del OD acompañada por el ORP (**Tabla 2**) a medida que avanzó la experiencia convirtiéndose en un ambiente reductor al finalizar la experiencia. Sin embargo, la especie predominante durante todo el ensayo fue cromo disuelto (**Figura 1**).

**Tabla 2.** Parámetros medidos en cada unidad experimental a lo largo de la experiencia. Se informa el rango en el que se mantuvieron a lo largo de la experiencia.

Variable (unidad)	Tratamiento A	Tratamiento B
pH	7.35 - 8.34	7.40 - 8.41
CE ( $\mu\text{S/cm}$ )	264 - 407	231 - 364
OD (mg/L)	7.37 - 4.17	7.59 - 4.80
ORP (mV)	338 - 213	335- 220
Temperatura (°C)	23.8 - 22.8	23.3 - 22.9



**Figura 1.** Porcentaje del cromo en fase disuelta y particulada para el tratamiento A (sin plantas) y B (con plantas) a lo largo de la experiencia. Las barras de error corresponden a los intervalos de confianza del 95% (n=3)

Palmer y Wittbrodt (1991) afirman que el cromo puede existir en varios estados de oxidación que van desde 0 a 6. En condiciones reductoras, Cr (III) es el estado de oxidación más estable termodinámicamente. Sin embargo, el Cr (VI) puede permanecer estable durante largos períodos de tiempo. Pudiendo explicarse de esta manera que aún en condiciones reductoras al finalizar el ensayo la especie que predomine sea el Cr VI.

Palmer y Wittbrodt (1991) han determinado que existen especies diferentes de Cr (III) con respecto al pH. Cr (III) predomina como especie iónica (es decir,  $\text{Cr}^{3+}$ ) a valores de pH menores a 3. A valores de pH por encima de 3,5 se hidroliza en:  $\text{CrOH}^{2+}$ ,  $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ ,  $\text{Cr}(\text{OH})_3^\circ$ , y  $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$  (**Figura 2**). El  $\text{Cr}(\text{OH})_3^\circ$  es la única especie sólida. Este es el principal producto precipitado en el proceso de reducción de Cr (VI) a Cr (III) y es el componente mayoritario del cromo particulado en el ensayo realizado.

El pH y las condiciones redox del ensayo fueron propicias para que la especie de cromo mayoritario sea el  $\text{CrO}_4^{2-}$  aunque también parte estuvo como particulado ( $\text{Cr}(\text{OH})_3^\circ$ ).

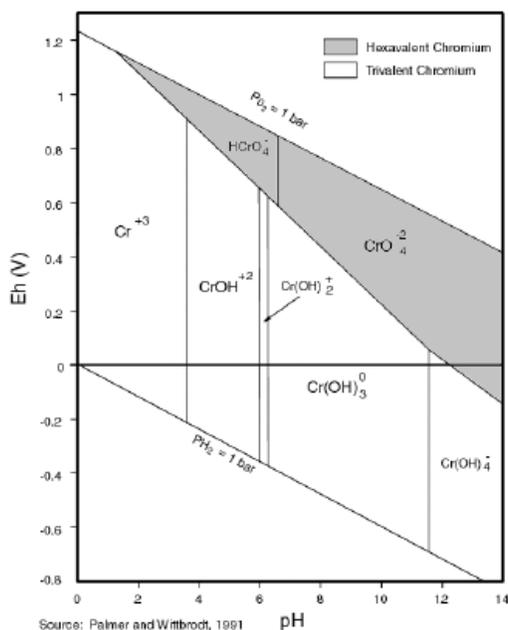


Figura 2. Diagrama de especiación del cromo de acuerdo al pH y el potencial redox (Eh).

Tomado de Palmer y Wittbrodt (1991)

La concentración de cromo total al finalizar la experiencia fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento B (con plantas) (Figura 3) indicando un efecto significativo de las plantas en la remoción del cromo.

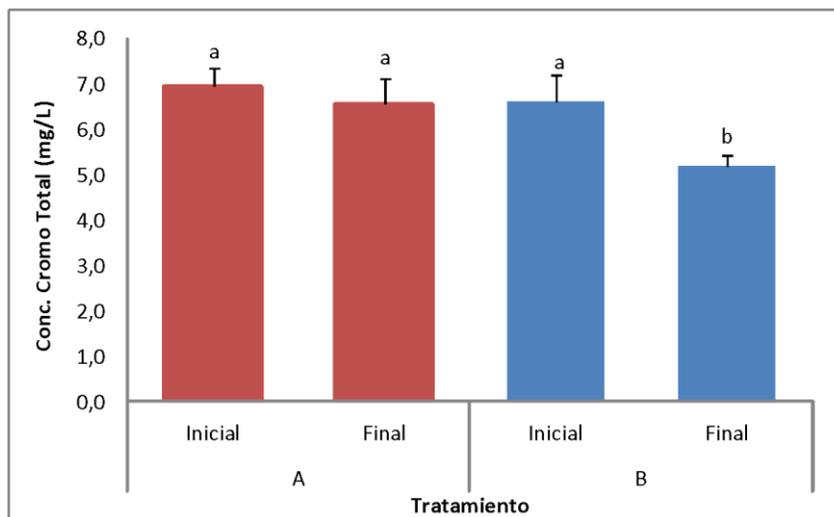


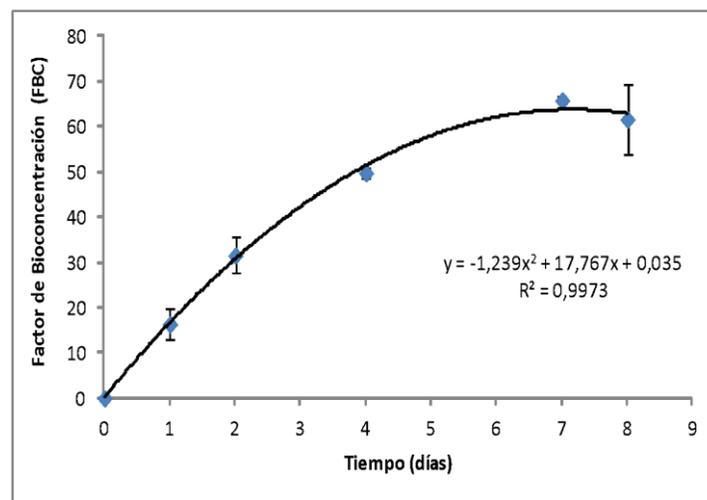
Figura 3. Concentración de cromo total inicial y final para el tratamiento A (sin plantas) y B (con plantas).

Las barras de error corresponden a los intervalos de confianza del 95% (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas (p-valor < 0.05).

### 3.3.2 Análisis en el tejido

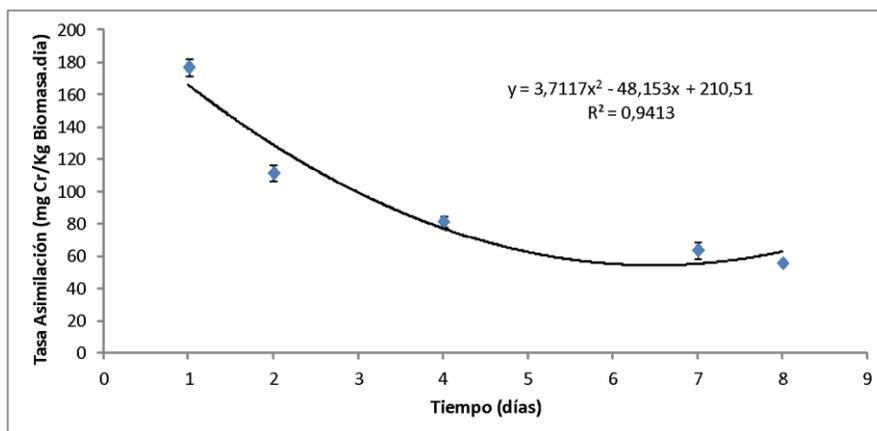
El FBC aumentó con el transcurso de la experiencia. El máximo valor se registró al día 7 ( $65.8 \pm 0.4$ ) sin diferencias significativas con respecto al del día 8 ( $61.6 \pm 3.9$ ) alcanzando una concentración en el tejido de  $448 \pm 40.4$  mg/Kg (**Figura 4**). Se observa un buen ajuste ( $r^2 0.9973$ ) a un polinomio de segundo grado.

El FBC se utiliza como una medida de la eficiencia de acumulación de metales pesados en plantas. Valores de FBC superiores a 1, como los encontrados para *Salvinia minima* en este trabajo, indican que la especie es una potencial acumuladora del metal en estudio (Zhang et al., 2002).



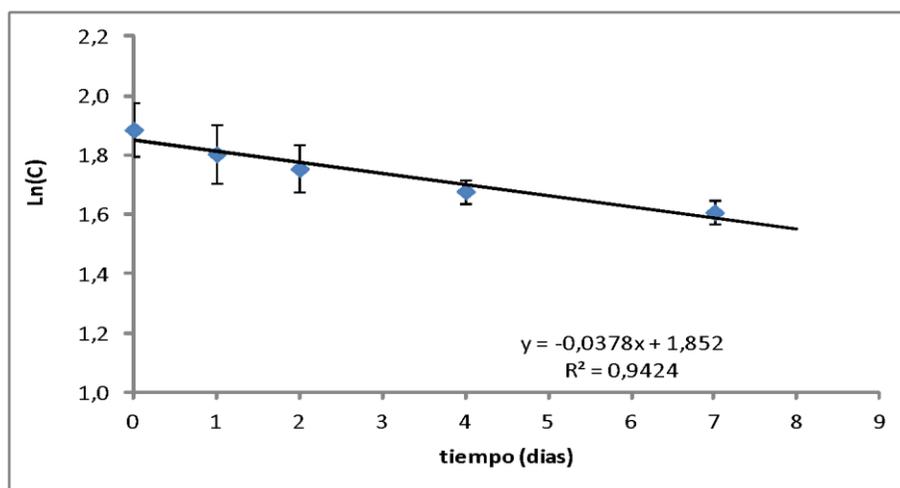
**Figura 4.** Factor de Bioconcentración (FBC) en función del tiempo. Ajuste a un polinomio de segundo grado ( $r^2 0.9973$ ). Las barras de error corresponden a los intervalos de confianza del 95% ( $n=3$ ).

La tasa de asimilación fue máxima a las 24 hs ( $117.2 \pm 9.7$  mg Cr/Kg.día) y fue disminuyendo en el transcurso de la experiencia. Se observó un buen ajuste a un polinomio de segundo grado ( $r^2 0.9413$ ) (**Figura 5**). Estos resultados indican que la máxima velocidad en donde la planta capta el metal ocurre en las primeras horas y luego decae, infiriendo que se llega a un punto cercano a la saturación y a la máxima capacidad de la planta de acumular el metal.



**Figura 5.** Tasa de asimilación del metal. Ajuste a un polinomio de segundo grado ( $r^2$  0.9413). Las barras de error corresponden a los intervalos de confianza del 95% (n=3).

Por otro lado, el comportamiento cinético de la remoción del cromo ajusta a una cinética de primer orden (**Figura 6**). Lo cual implica que la velocidad de asimilación depende de la concentración de un solo reactivo. En este caso, el cromo presente en el medio acuoso.



**Figura 6.** Logaritmo natural de la concentración de cromo en función del tiempo. Ajuste lineal a una recta ( $r^2=0.9424$ ). Las barras de error corresponden a los intervalos de confianza del 95% (n=3).

## CONCLUSIONES

Durante el transcurso de la experiencia el cromo se encontró mayoritariamente en su estado de oxidación +6. No se observó un efecto significativo de la presencia de las plantas con respecto a la

especiación del cromo pero sí en cuanto a la remoción donde se observaron diferencias significativas en la concentración final de cromo en el agua.

El FBC aumentó conforme transcurría la experiencia. Alcanzó un valor máximo al 7<sup>mo</sup> día ( $65.8 \pm 0.4$ ). Dicho valor estuvo en el orden del obtenido en el ensayo de tolerancia con la misma especie ( $53.6 \pm 2.9$ ) (Gomez et al., 2015). Teniendo en cuenta que provienen de diferente pool de plantas, unas cultivadas en invernáculo y otras provenientes de una laguna natural, el valor similar de FBC nos permite inferir que es propio de la especie y además reproducible.

La concentración máxima de cromo en tejido obtenida fue de  $448 \pm 40.4$  mg/Kg, valor relativamente bajo comparado a los encontrados para otras especies.

La tasa de asimilación fue máxima a las 24 hs de comenzada la experiencia y fue disminuyendo a lo largo de la misma.

La disminución del cromo en el agua siguió una ecuación de cinética de primer orden, es decir que la velocidad de remoción depende de la concentración de cromo presente en el medio.

Los resultados obtenidos indican que si bien *Salvinia mínima* no es hiperacumuladora de Cr, sí demostró tener capacidad de remover este metal del medio. Esta especie presenta algunas ventajas que la convierten en una alternativa factible en el momento de diseñar un plan de remediación: es una especie nativa, de rápido crecimiento, fácil cultivo y se la puede encontrar en diversos cuerpos de agua de la llanura pampeana y Delta del Paraná.

## REFERENCIAS

Antunes, A. P. M., Watkins, G. M., & Duncan, J. R. 2001. Batch studies on removal of gold (III) from aqueous solution by *Azolla filiculoides*. *Biotechnologies*, 23, 249–251.

APHA.1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition. American Public Health Association.

Autoridad de la Cuenca Matanza-Riachuelo (ACUMAR). 2012. Sistema de Indicadores Publicación Anual.

Bhalerao S. A y Sharma A. S. 2015. Chromium: As an Environmental Pollutant. ISSN: 2319-7706 Volume 4 Number 4, 732-746

Brezonik P. y Arnold W. 2011. Water chemistry : an introduction to the chemistry of natural and engineered aquatic systems. Published by Oxford University Press, Inc. 198 Madison Avenue, New York, New York 10016. ISBN 978-0-19-973072-8

Chandra P., Kulshreshtha K. 2004. Chromium accumulation and toxicity in aquatic vascular plants. *The Botanical Review*. Volume 70, Issue 3, pp 313-327.

Cohen Shoel, N., Barkay, Z., Ilzyer, D., Gilath, L., & Tel-Or, E. 2002. Biofiltration of toxic elements by *Azolla* biomass. *Water, Air, and Soil Pollution*, 135, 93–104.

Di Pace, M. 2000. *Sustentabilidad Urbana y Desarrollo Local*. San Miguel: Curso de Postgrado en Desarrollo Local en Áreas Metropolitanas, Instituto del Conurbano, Universidad Nacional de General Sarmiento.

Gomez B. M, Rodriguez Salemi V., El Kassisse Y., Gomez C., de Cabo L. 2015. Evaluación de la tolerancia y remoción de cromo (VI) en tres especies de macrófitas flotantes, *Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. N°127. Pag 22-26. ISSN:0328-2937.

James, B. R. y Bartlett R. J. 1983. Behavior of Chromium in Soils: V. Fate of Organically Complexed Cr(III) Added to Soil.”*Journal of Environmental Quality*. Vol. 12, No. 2. Pag. 169-172.

Kaenel, B. R., Matthaei B. C., y Uehlinger U.. 1998. Disturbance by aquatic plant management in streams: effects on benthic invertebrates. *Regulated Rivers: Research & Management* 14:341–356.

Palmer, C.D. y Wittbrodt P. R. 1991. Processes Affecting the Remediation of Chromium-Contaminated sites. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 92. Pag. 25-40.

Shen, Z. G., & Liu, Y. L. 1998. Progress in the study on the plants that hyperaccumulate heavy metal. *Plant Physiology Communications*, 34, 133–139.

SW-846. Test Method 7196A. 1992. Chromium, Hexavalent (Colorimetric). Part of Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods.

Wilcock, R. J., Champion P. DNagels, J. W., y Croker G. F.. 1999. The influence of aquatic macrophytes on the hydraulic and physicochemical properties of a New Zealand lowland stream. *Hydrobiologia* 416:203–214.

Zayed, A., Gowthaman, S. y Terry. N. 1998. Phytoaccumulation of Trace Elements by Wetland Plants: Duckweed. *Journal of Environmental Quality*; May/Jun 1998; 27,3; ProQuest. Pag 715

Zhang W., Cai Y., Tu C. y Ma L.Q. 2002. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *Sci. Total Environ*. 300: 167–177.

Zurayk R., Sukkariyah B., Baalbaki R. y Ghanem D. A. 2001. Chromium Phytoaccumulation from Solution by Selected Hydrophytes. *International Journal of Phytoremediation*, 3:3, 335-350.