

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



TRABAJO DE GRADUACIÓN

**“BIOPROSPECCIÓN DE PLANTAS
METALÓFITAS/PSEUDOMETALÓFITAS EN ZONAS MINERAS DE
EL SALVADOR”**

PRESENTADO POR:

DAVID ALFREDO SERVELLÓN CARPIO

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, NOVIEMBRE 2011

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



TRABAJO DE GRADUACIÓN

**“BIOPROSPECCIÓN DE PLANTAS
METALÓFITAS/PSEUDOMETALÓFITAS EN ZONAS MINERAS DE
EL SALVADOR”**

PRESENTADO POR:

DAVID ALFREDO SERVELLÓN CARPIO

ASESORES:

Dra. VIANNEY CASTAÑEDA DE ABREGO

Dr. ORLANDO CANJURA URRUTIA

Dr. NESTOR GUILLERMO ORELLANA VELADO

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, NOVIEMBRE 2011

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

RECTOR

DRA. ANA LETICIA DE AMAYA

SECRETARIA GENERAL

Msc. MARTÍN ENRIQUE GUERRA CÁCERES

DECANO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

LIC. NELSON EDILTRUDIS GÓMEZ CEDILLOS

SECRETARIA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

Lic. JOSÉ ALFREDO DÍAZ

DIRECTOR ESCUELA DE QUÍMICA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

Al CENTRO DE INVESTIGACIONES Y DESARROLLO EN SALUD (CENSALUD) DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR en especial a la Dra. Vianney Castañeda de Ábrego de quien surgió la iniciativa de realizar bioprospección en El Salvador, además de facilitar parte del material, reactivo y equipo necesario para el procesamiento de las muestras.



Al Ing. Ramón Portillo y el Lic. Julio Payés del Centro de Investigaciones Y Aplicaciones Nucleares (CIAN) por facilitarnos la realización de las Digestiones Asistidas con Microondas.



A la Ing. Vilma de Cabellero, Directora del Instituto del Agua de la Facultad Multidisciplinaria de Occidente de la Universidad de El Salvador por realizar las determinaciones mediante la técnica de Espectroscopia de Absorción

Atómica con Flujo de Llama y facilitar reactivo para el procesamiento de las muestras.

Al Centro de Investigación sobre Inversión y Comercio (CEICOM) a través de la Licda. CidiaCortéz por apoyarnos en aspectos logísticos para el traslado hacia la mina San Sebastián.



Al Lic. Dagoberto Rodríguez Del Cid del Jardín Botánico La Laguna por el apoyo brindado en la identificación taxonómica de las especies vegetales.



AGRADECIMIENTOS

A mis padres Sonia Carpio Arévalo y David Servellón Cruz por su apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida, a mi hijo Fernando David y mi esposa Daisy Carolina por ser el motivo e inspiración para la consecución y planteamiento de metas de vida. A mis amigos y familiares en especial a Leticia Cruz de Servellón (Mamaleti) por ser esa madre siempre que mis padres no estuvieron, a los Lic. Oscar Avilés, Lic. Haryes Funes, Lic. Ever Morán, Lic. Arnoldo Campos, Lic. Juan Cuadra (las viejas) por compartir muchas experiencias y apoyarme cuando las dificultades me apremiaron. Agradezco de forma muy sincera a la Dra. Erlinda Hándal Vega quien ha confiado en mí apoyándome tanto de forma profesional como personal, a la Dra. Dina Larios por guiarme e instruirme sobre la situación de San Sebastián con su vasta experiencia en el campo de la Geoquímica, a los Doctores Vianney Castañeda de Ábrego, Néstor Orellana y Orlando Canjura por ser mis asesores quienes dedicaron tiempo extra y su mayor esfuerzo para brindarme su asistencia profesional de forma incondicional. También agradezco a mis compañeros de la Dirección Nacional de Investigación en CTI por apoyarme siempre y brindarme consejos sabios, a la Licda. María Castillo por enseñarme a resolver problemas según las perspectivas particulares, dejando a un lado las emociones personales. En fin muchas personas que me han aportado en mi diario vivir, experiencias que cuajan en la madurez y sobre todo que me han brindado una palabra de aliento, palabras de consuelo, muestra de cariño y apoyo incondicional en muchas etapas.

Y para finalizar a Dios siendo este el primero ante todo, pero su reconocimiento es en este caso es una singularidad, ya que ha antepuesto todo lo mencionado en el párrafo anterior para que mis logros sean consecuentes y firmes, aún cuando en los momentos más difíciles me olvide de él, nunca me abandonó y prueba de ello es este mi primer logro de tantos que ha diseñado y por los cuales me dará sabiduría para alcanzar.

ÍNDICE

RESUMEN	i
I. INTRODUCCIÓN	ii
II. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo General	4
2.2 Objetivos Específicos	4
III. FUNDAMENTO TEÓRICO	
3.1 Contaminación de los suelos	5
3.2 Metales	6
3.3 Bioprospección	17
3.4 Biorremediación	17
3.5 Bioquímica del proceso de acumulación de metales Clase B e Intermedios en las plantas	21
3.6 Método para la cuantificación de metales	25
IV. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	
4.1 Recolección de muestras	32
4.2 Procesamiento de las muestras	33
4.3 Análisis mediante Espectrometría de Absorción Atómica con Llama	35

V.	DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	
5.1	Inventario florístico	37
5.2	Identificación de la especie <i>Waltheria glomerata</i> C. Presl.	38
5.3	Determinación de Cadmio (Cd) en suelo, raíz y masa aérea en la Especie <i>Waltheria glomerata</i> C. Presl.	40
5.4	Análisis de resultados	42
VI.	CONCLUSIONES	47
VII.	RECOMENDACIONES	49
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

III – FUNDAMENTO TEÓRICO

Figura 1	Tabla periódica de los elementos que muestra la clasificación de los metales en Clase A: metales duros Clase B: metales blandos; Intermedios.	12
Figura 2	Ubicación de los bioelementos en la tabla periódica (se han omitido los elementos Lantánidos y Actínidos debido a que ninguno de ellos forma parte de clasificación).	14
Figura 3	Respuesta típica de las plantas frente a la presencia de metales pesados en el suelo.	20
Figura 4	Síntesis del glutatión catalizada por la enzima Fitoquelatina sintetasa (Glutatión gamma-glutamilocisteintransferasa), inducido por un metal Clase B e Intermedio.	22
Figura 5	Mecanismos de desintoxicación y acumulación de metales Clase B e Intermedios en las plantas.	23
Figura 6	Mecanismo de desintoxicación mediante simbiosis entre la planta y la micorriza arbuscular.	24
Figura 7	a. Esquema gráfico de las partes que componen los sistemas cerrados cilíndricos utilizados para la digestión asistida con microondas los cuales están diseñados para soportar grandes presiones y b. Imagen simplificada del funcionamiento del equipo microondas.	26

Figura 8	Diagrama de fases del proceso de atomización.	27
Figura 9	Mechero de flujo laminar.	28
Figura 10	Sección transversal de una lámpara de cátodo hueco.	29
Figura 11	Esquematación de EAA de llama con diseño de doble haz.	31

IV – METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Figura 12	Mapa geográfico que proyecta los puntos de muestreo en la Mina San Sebastián, Municipio de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión.	32
Figura 13	Horno con sistema de vacío.	34
Figura 14	Horno microondas donde se llevaron a cabo las digestiones.	34
Figura 15	Esquematación del procesamiento de las muestras hasta la obtención de la solución producto de la digestión del material biológico.	35
Figura 16	Imagen del EAA con Flujo de Llama	36

V - DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

Figura 17	Identificación taxonómica de la especie <i>Waltheria glomerata</i> C. Presl..	38
------------------	---	----

Figura 18	Fotografía de la especie <i>Waltheria glomerata</i> C. Presl., tomada en la mina San Sebastián.	39
Figura 19	Distribución geográfica de la especie <i>Waltheria glomerata</i> C. Presl.	39
Figura 20	Curva de calibración.	40
Figura 21	Distribución de los puntos de muestreo en la mina San Sebastián.	42
Figura 22	Formación de grupos en base a la concentración de Cadmio (Cd) en suelo de los puntos de muestreo, en relación con la distancia aproximada a la boca mina.	44
Figura 23	Dendrograma de correlación entre suelo, raíz y hoja.	45
Figura 24	Dendrograma de correlación por cada punto de muestreo.	46

ÍNDICE DE TABLAS

III – FUNDAMENTO TEÓRICO

Tabla 1	Tendencia de estabilidad de los ligandos enlazados con los metales tipos <i>a</i> y <i>b</i> .	7
Tabla 2	Variación del parámetro β .	9
Tabla 3	Clasificación de los iones metálicos en Clase A, Clase B e Intermedios	11

V - DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

Tabla 4	Inventario florístico de la zona cercana a la boca mina de San Sebastián.	37
Tabla 5	Datos para la construcción de la curva de calibración y la ecuación de regresión.	40
Tabla 6	Determinación de mg de Cd por Kg de muestra.	41
Tabla 7	Rangos de concentración de Cadmio (Cd) en suelo de los puntos de muestreo en relación con la distancia aproximada a la boca mina.	43

RESUMEN

Las especies metalófitas y pseudometálofitas son plantas que, debido a procesos evolutivos, han desarrollado mecanismos fisiológicos capaces de acumular cantidades, significativamente grandes, de metales no bioelementales en su masa aérea o en la rizosfera, convirtiéndose en esponjas catiónicas de metales como los Clase B e Intermedios.

La especie *Waltheria glomerata* C. Presl., es una planta del estrato herbáceo que se encuentra diseminada en la parte sur de Norteamérica, Centroamérica y parte norte de Sur América, sin que hasta el momento se encuentren estudios formales de su utilidad como fitorremediadora.

Con este trabajo se realiza el primer estudio formal que utiliza la bioprospección con el objeto de identificar plantas metalófitas o pseudometalófitas reportado a nivel nacional. La investigación se lleva a cabo en la zona Minera del Cantón San Sebastián, en el Municipio de Santa Rosa de Lima, en el cual se identificó el potencial remediador de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl., tomando en cuenta su cantidad de masa aérea, forma de la raíz, señales de salud y cantidad de especímenes que se han desarrollado en el sitio. Como resultado se obtuvo concentraciones máximas acumuladas de 16.803, 9.022 y 5.374 mg de Cd por Kg de masa seca en hoja, raíz y suelo respectivamente.

Para el procesamiento de las muestras, se utilizó la técnica de digestión asistida por microondas y posteriormente se determinaron las concentraciones de cadmio a través de Espectrometría de Absorción Atómica con Flujo de Llama. En el tratamiento de los datos obtenidos, se han considerado aspectos de estadística multivariante.

I - INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental provocada por metales Clase B e Intermedios es uno de los principales problemas que a nivel mundial puede generar daños en la salud de las poblaciones.

Los metales Clase B e Intermedios, según el principio de Pearson y la teoría de Lewis, son especies metálicas de gran tamaño que poseen bajo número de oxidación, altamente polarizables y tienen afinidad por enlazarse con ligandos blandos formando enlaces covalentes muy estables.

Esta investigación realiza una bioprospección en una zona minera del área de San Sebastián, en el municipio de Santa Rosa de Lima, departamento de la Unión, con el fin de determinar la existencia de plantas metalófitas o pseudometalófitas que tienen la capacidad de indicar, acumular o hiperacumular cadmio (Cd), que pueda iniciar la creación de una línea de investigación enfocada a la búsqueda y utilización de este tipo de plantas fitorremediadoras. Además, logra obtener resultados preliminares sobre los niveles de contaminación por cadmio (Cd) existente en el suelo próximo a la mina.

Este documento inicia con los objetivos planteados para el estudio, los cuales definen de forma específica el alcance y dirección que regirá la bioprospección, de tal forma que permita encontrar especies nativas pseudometalófitas/metalófitas que favorezcan la descontaminación ambiental por medio de la fitorremediación.

Luego, el fundamento teórico, propiamente dicho, enmarca los conceptos de contaminación de suelos, clasificación de los metales y la toxicidad del Cd. A continuación se plantea la definición de términos y el abordaje de las teorías que rodean la biorremediación, en especial de las especies metalófitas y pseudometalófitas.

La metodología inicia con la ubicación y aspectos biofísicos de la zona de muestreo. Luego establece el método de muestreo y la técnica de procesamiento y análisis de las muestras,

finalizando con el tratamiento estadísticos de los resultados para dar paso a las conclusiones y recomendaciones pertinentes.

II - OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una bioprospección de plantas con características metalófitas o pseudometalófitas en el El Cerro San Sebastián del municipio de Santa Rosa de Lima, departamento de la Unión, capaces de hiperacumular Cd.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Realizar un inventario florístico de especies del estrato herbáceo en la zona seleccionada del Cerro San Sebastián.
- Determinar la presencia de Cd en suelo y biomasa de la especie vegetal seleccionada.
- Clasificar la especie metalófito o pseudometalófito encontradas en indicadoras, acumuladoras e hiperacumuladoras de Cd.

III - FUNDAMENTO TEÓRICO

3.1 CONTAMINACIÓN DE LOS SUELOS

El suelo está constituido por una gran variedad de materiales, de los cuales los nutrientes de las plantas son de capital importancia. Además de ofrecernos su riqueza a través de la explotación agrícola-ganadera también es otro de los ecosistemas que sufre la contaminación. Esta es principalmente resultado de la acumulación de residuos domiciliarios e industriales, insecticidas y plaguicidas, la minería intensiva y la destrucción de las bacterias benéficas debido a la acción de las sustancias químicas no degradables.

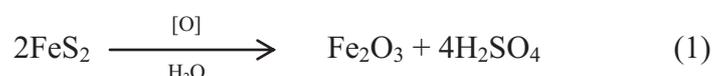
Según estimaciones del Instituto de Ecología Americano (Worldwatch Institute), el material de la corteza terrestre que la minería mundial extrae en un año equivale al doble de los sedimentos que arrastran todos los ríos del mundo. A los trabajos de extracción de los minerales metálicos y a su posterior fundición y purificación, hay que añadir los diversos procesos de fabricación derivados de sus múltiples aplicaciones. El resultado es que cada año el hombre vierte en el medio ambiente cantidades de elementos metálicos superiores a los aportes originales que de estos mismos elementos hace la naturaleza. Este efecto antropogénico provoca la incorporación de metales puros o combinados a las redes tróficas, afectando tanto a vegetales como a animales. Al ingerir alimentos o respirar aire contaminados, el ser humano corre graves peligros absorbiendo estos contaminantes a través de las vías respiratoria y digestiva, incluso a través de la piel. Una vez en el cuerpo, los metales se acumulan en diferentes órganos y tejidos, provocando efectos a corto, mediano y largo plazo en la salud del individuo.

La incineración de residuos constituye otra fuente importante de contaminación de los suelos, además emite a la atmósfera sustancias de elevada toxicidad que mediante diferentes procesos de deposición retornan al suelo. Así mismo, estos procesos generan cenizas también tóxicas.

Aunque es difícil calcular las cantidades de metal producido por medios naturales y las que son resultado de la intervención del hombre, las mejores estimaciones indican que, por

ejemplo, para plata (Ag), oro (Au), cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), mercurio (Hg), plomo (Pb), antimonio (Sb), estaño (Sn), talio (Tl) y cinc (Zn), las cantidades que ingresan al mar cada año varían entre 4 y 600 veces las cantidades que pierde el mismo y, en consecuencia, tales elementos plantean problemas de probable contaminación [Huheey, 1981]

Un segundo problema relacionado con la explotación de los recursos minerales consiste en que, aún después de que termina la actividad minera, los problemas pueden persistir. El ácido sulfúrico proveniente de la oxidación del sulfuro de hierro II (pyrita), tanto química como biológica (1), se asocia al mismo [Huheey, 1981]:



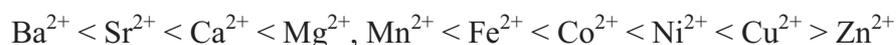
El ácido resultante puede extraer metales de las rocas circundantes, antes de que al final sea incorporado por las aguas. Los métodos que se utilizan para tratar el problema (además de ignorarlo) comprenden la neutralización con cal o piedra caliza. Se ha sugerido que para erradicar el problema desde su origen es necesario eliminar el oxígeno [Huheey, 1981]. Aunque dichas técnicas son factibles, resultan muy costosas.

3.2. METALES

3.2.1 Clasificación de los metales como Ácidos y Bases duros y blandos.

Las interacciones de los elementos metálicos se encuentran en sistemas dominados por propiedades de iones metálicos que actúan como ácidos de Lewis, clasificados como *Metales Clase A* [Lewis, 1923], éstos son definidos como especies elementales reactivas con orbitales vacantes disponibles o con el orbital molecular más bajo desocupado (LUMO). En otras palabras el ácido de Lewis es un receptor de un par electrónico [Huheey, 1981].

Con base en esta definición de Lewis se comenzaron a estudiar algunas tendencias de estabilidad de los complejos metálicos. Una de las primeras correlaciones fue la de las *series de estabilidad de Irving-Williams* [Irving, 1948]. Para un ligante dado, la estabilidad de los complejos con iones metálicos lleva el siguiente orden:



Este orden proviene, por una parte, de un decremento en el tamaño que se presenta a través de la serie de transición y, por otra, debido a efectos del campo de los ligantes [Huheey, 1981]. En una segunda observación se ve que ciertos ligantes forman sus complejos más estables con iones metálicos, tales como Ag^+ , Hg^{2+} y Pt^{2+} , mientras que otros parecen preferir iones como Al^{3+} , Ti^{4+} y Co^{3+} .

Los ligantes y los iones metálicos se clasifican como pertenecientes al tipo *a* o *b* de acuerdo con sus preferencias para enlazarse. Los iones metálicos del tipo *a* incluyen a los iones de los metales alcalinos, alcalinotérreos y los de los metales de transición más ligeros en estados de oxidación más altos, tales como Ti^{4+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Co^{3+} y al ion hidrógeno, H^+ , [Huheey, 1981].

Los iones metálicos del tipo *b* incluyen a los metales de transición, más pesados, y los que se encuentran en estados de oxidación bajos, como: Cu^+ , Ag^+ , Hg^+ , Hg^{2+} , Pd^{2+} y Pt^{2+} . Según sus tendencias hacia los iones metálicos del tipo *a* o *b*, los ligantes se pueden clasificar respectivamente, como del tipo *a* o *b*. La estabilidad de estos complejos se puede resumir en la Tabla 1.

Tabla 1. Tendencia de estabilidad de los ligandos enlazados con los metales tipos *a* y *b* [Huheey, 1981].

Tendencia a complejarse con iones metálicos del tipo <i>a</i> .	Tendencia a complejarse con los iones metálicos del tipo <i>b</i> .
N >> P > As > Sb	N << P > As > Sb
O >> S > Se > Te	O << S < Se ~ Te
F > Cl > Br > I	F < Cl < Br < I

Pearson ha sugerido los términos *duro* y *blando* para describir a los miembros de los tipos *a* y *b*. Así, un ácido duro es un ion metálico del tipo *a* y una base dura es un ligante como el amoníaco o el ion fluoruro. Por el contrario, un ácido blando es un ion metálico del tipo *b* y una base blanda es un ligante como la fosfina o el ion yoduro. Cabe hacer notar que las especies duras, tanto ácidos como bases, tienden a ser especies pequeñas, ligeramente polarizables, en tanto que ácidos y bases blandos suelen ser más grandes y más polarizables. Ha señalado una regla sencilla, llamada Principio de Pearson, para predecir la estabilidad de los complejos que se forman entre ácidos y bases: *Los ácidos duros prefieren unirse a las bases duras; mientras los ácidos blandos, a las bases blandas* [Pearson, 1963].

3.2.2 Bases teóricas de la dureza y la blandura

A pesar de que la regla duro-blando es fundamentalmente pragmática, la cual permita la predicción de las propiedades químicas, es de interés investigar las bases teóricas de este efecto.

Una explicación sencilla de las interacciones duro-duro sería considerarlas fundamentalmente de tipo electrostáticas o iónicas. La mayoría de los ácidos y bases típicos son los que se podría suponer que forman enlaces iónicos, como Li^+ , Na^+ , K^+ , F^- , OH^- , etc. Puesto que la energía electrostática o de Madelung de un par iónico es inversamente proporcional a la distancia interatómica, cuantos más pequeños sean los iones que intervienen, mayor será la atracción entre el ácido y la base fuerte. Como una situación electrostática no puede explicar la manifiesta estabilidad de las interacciones blando-blando (la energía de Madelung de un par de iones grandes debe ser relativamente pequeña), se ha señalado que el factor predominante es el carácter covalente. Esto se relacionaría bien con el comportamiento de los metales de transición, tales como Ag, Hg, etc., ya que generalmente se supone que enlaces como Ag-Cl son considerablemente más covalentes que los correspondientes a los metales alcalinos. En este aspecto, el poder polarizante y la polarizabilidad de los electrones *d*, en la configuración d^{10} (Ag^+ , Hg^{2+}) es extremadamente buena [Huheey, 1981].

Interpretar las interacciones duras como electrostáticas y las blandas como covalentes es semejante al sistema de dos parámetros de Drago y Wayland en el caso de las interacciones ácido - base de Lewis. Dicha interpretación conduce al desarrollo de un sistema análogo para los compuestos de coordinación [Hunheey, 1981]:

$$pK = -\log K = \alpha X + \beta Y + \gamma \quad (2)$$

donde K es la constante de equilibrio para la disociación del complejo (“constante de inestabilidad”), X e Y son los parámetros del ion metálico, α y β son los del ligante, y el parámetro γ es característico del ligante y se utiliza para ajustar los valores de pK , de manera que todos se encuentren en la misma escala. La capacidad para relacionar los datos experimentales con la ecuación (2) siempre tiene un valor práctico, pero esta ecuación posiblemente es de mayor interés, debido a que proporciona un conocimiento acerca de la naturaleza del enlace. Se considera que el parámetro Y es una medida de la blandura y puede calcularse a partir de parámetros atómicos, incluyendo el radio del ion, y se relaciona satisfactoriamente con la idea cualitativa acerca de la dureza y la blandura: Los iones duros tienen valores de Y menores a 2.8; los iones blandos, mayores a 3.2; y las especies intermedias; entre 2.8 – 3.2 (Tabla 3).

El parámetro análogo del ligante, β , muestra igualmente el incremento esperado en los valores desde las especies duras hasta las blandas, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Variación del parámetro β

Especie	OH^-	NH_3	Cl^-	Br^-	I^-	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$
β	0.40	1.08	2.49	5.58	7.17	12.4

La clasificación de los metales por la acidez de Lewis y el Principio de Pearson permite predecir la preferencia entre el ligando y la tendencia general de las propiedades de los complejos metálicos. Los metales duros del *bloque s* se enlazarán poco o formarán enlaces débiles con ligandos blandos y formará complejos con enlaces iónicos, principalmente con

ligandos duros (OH^- , O, etc). Como el enlace es principalmente iónico, los metales son fácilmente desplazados y móviles.

Los iones de metales del *bloque p*, en contraste, son generalmente blandos, aunque el Al^{3+} es mucho más parecido a los metales del *bloque s*. El aumento del número atómico de los metales del *bloque p* muestra gran afinidad por ligandos blandos, como el sulfuro o sulfuros donantes, y forman complejos altamente covalentes que dificultan su desplazamiento [Duffus, 2002]. Los iones metales intermedios son menos accesibles. Algunos forman complejos relativamente estables con ligandos duros y blandos, pero el orden exacto de estabilidad no es determinado fácilmente.

Ciertas excepciones pueden aplicarse en la clasificación de metales Clase A, Clase B e Intermedios. Hay que reconocer que la clasificación refiere algunos casos específicos de iones, en donde el metal existe en otros estados de oxidación, en los cuales la forma iónica debe ser tratada separadamente (Figura 1). En estos casos, el ión con carga elevada, por tanto más pequeño y menos polarizable, normalmente tiene que considerarse con carácter Clase A (o al menos un número menor de propiedades Clase B); mientras que en el menor estado de oxidación ocurre a la inversa. Debido a esto, el Fe^{3+} es generalmente descrito como ácido duro o Clase A, y siguiendo con las propiedades de la clasificación, se une preferentemente a ligandos donadores de oxígeno como grupos fenolatos o carboxilatos, y ácidos fúlvicos, mientras que el Fe^{2+} es considerado como Intermedio y tiene alta afinidad por ligandos blandos, incluyendo el nitrógeno insaturado de los tetrapirroles, y los sulfuros y grupos tiolatos en las ferredoxinas.

En la mezcla de ligandos ocurre algo más complejo, donde la influencia de un ligando afecta el enlace siguiente, de modo que las características Clase B incrementan para ligando blando y la mezcla compleja de ambos ligandos (duros y blandos) son generalmente menos estables [Duffus, 2002]. Las Figura 1 y Tabla 3 muestran la distribución y clasificación, respectivamente, de metales clases A, B e intermediarios.

La clasificación de algunos metales Clase B e Intermedios no es absoluta debido a que diferentes autores los identifican como blandos o Clase B, pero en general las concordancias superan a los desacuerdos.

Tabla 3. Clasificación de los iones metálicos en Clase A, Clase B e Intermediarios*.

Tipo	Intervalo de Y	Iones metálicos
Ácidos duros (clase A)	< 2.8	Li ⁺ (0.36), Na ⁺ (0.93), K ⁺ (0.92), Mg ²⁺ (0.87), Ca ²⁺ (1.62), Al ³⁺ (0.70), In ³⁺ (2.24), Fe ³⁺ (2.37), Co ³⁺ (2.56), Sr ²⁺ (2.08), Cr ³⁺ (2.70), Cs ⁺ (2.73), Be ²⁺ , Sc ³⁺ , Y ³⁺ , Zr ⁴⁺ , Ba ²⁺ , La ³⁺ , Hf ⁴⁺ , Fr ⁺ , Ra ²⁺ , Ac ²⁺ , Th ⁴⁺ .
Intermedios	2.8 ~ 3.2	Fe ²⁺ (3.09), Co ²⁺ (2.96), Ni ²⁺ (2.82), Zn ²⁺ (2.34), Sn ²⁺ (3.17), Cu ²⁺ (2.89), Pb ⁴⁺ .
Ácidos blandos (clase B)	>3.2	Cu ⁺ (3.45), Ag ⁺ (3.99), Au ⁺ (5.95), Tl ⁺ (3.78), Hg ²⁺ (4.25), Pt ²⁺ (4.82), Cd ²⁺ (3.04), Pd ²⁺ (4.27), Tl ³⁺ (3.23), Au ³⁺ (3.90), Pb ²⁺ (3.58).

* Modificado según Huffus [*Huheys, 1981*] basado en Duffus [*Duffus, 2002*].

3.2.3 Toxicidad de los metales Clase B e Intermedios.

Aunque el vapor de mercurio es altamente tóxico, los cuatro metales Hg, Pb, Cd y As no son particularmente tóxicos como elementos libres en su forma condensada. Sin embargo, los cuatro son peligrosos en forma catiónica y también enlazados a cadenas cortas de átomos de carbono. Bioquímicamente, el mecanismo de su acción tóxica proviene de la fuerte afinidad de los cationes por el azufre debido a su carácter como ligando blando¹ [*Colin, 2001*]. Así, los grupo sulfhidrido, -SH, los cuales están presentes comúnmente en las enzimas que controlan la velocidad de las reacciones metabólicas críticas en el cuerpo humano, se enlazan fácilmente a los cationes metálicos ingeridos o a las moléculas que

¹ Modificado según Colin Baird.

contienen los metales. Debido a que el enlace resultante metal blando (Clase B)-azufre afecta a toda la enzima, éste no puede actuar normalmente y la salud humana queda afectada adversamente, y a veces de forma fatal.

1											18						
H	Clase A										He						
2	Intermedios										13	14	15	16	17	18	
Li	Be	Clase B										B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe(III) Fe(II)	Co	Ni	Cu(II) Cu(I)	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	*	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb(IV) Pb(II)	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	#	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	110								
Lantánidos		La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	
Actínidos		Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr	

Figura 1. Tabla periódica de los elementos que muestra la clasificación de los metales en Clase A: metales duros (negro); Clase B: metales blandos (gris ligero); Intermedios (gris oscuro).

La reacción de los cationes de los metales M^{2+} , donde M es Hg, Pb o Cd (II) –perteneciente a la Clase B- con las unidades sulfhidrilo de las enzimas R-S-H para producir sistemas estables como el R-S-M-S-R, es análoga a su reacción con el compuesto simple inorgánico H_2S que permite obtener el sólido insoluble MS [Colin, 2001].

La toxicidad de todos los metales Clase B e Intermedios depende mucho de la forma química del elemento; es decir, de su especiación. Por ejemplo, en relación a la toxicidad del plomo metálico, ésta difiere substancialmente según si el metal está como catión divalente Pb^{2+} o en forma de moléculas covalentes. Las formas que son casi totalmente insolubles pasan a través del cuerpo humano sin hacerle demasiado daño.

En algunos metales pesados, como el mercurio, la forma más tóxica es la que tiene grupos alquilo unidos al metal, ya que muchos de estos compuestos son solubles en tejidos humanos y pueden pasar a través de las membranas biológicas.

Las formas más devastadoras de los metales son aquellas que causan enfermedad grave o muerte inmediata (por ejemplo, una dosis suficientemente grande de óxido de arsénico), de manera que la terapia no puede ejercer sus efectos a tiempo. Otra forma muy perjudicial es cuando los metales pasan a través de la membrana protectora del cerebro -la barrera de la sangre cerebral- o la que protege el feto en desarrollo.

La toxicidad de un metal Clase B e Intermedio presente en ríos, canales o suelos, para una concentración dada, depende del pH y de las cantidades disueltas [*Hoffman, 1995*].

Una de sus propiedades importantes de los metales es su nula degradabilidad. A diferencia de muchos contaminantes orgánicos que se descomponen con la exposición a la luz solar o al calor, los metales persisten. Pueden ser enterrados o lavados de los sedimentos, pero nunca desaparecen por completo.

Los metales, una vez que se encuentran en el medio acuoso, pueden estar en forma libre o formando complejos, ya sea con ligando inorgánicos (Cl^- , OH^- , CN^- , y otros) o con orgánicos (EDTA, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido húmico, ácidos fúlvicos, proteínas, etc.).

Otra posibilidad es que el ión metálico se incorpore en la fase sólida (sedimentos), bien sea por precipitación, fundamentalmente como hidróxido, óxido o carbonato; o bien, a través de procesos de adsorción coprecipitación.

La toxicidad de los metales Clase B e Intermedios ha quedado documentada a lo largo de la historia, los médicos antiguos, tanto griegos como romanos, diagnosticaron síntomas de envenenamientos agudos por plomo mucho antes de que la toxicología se convirtiera en ciencia.

3.2.4 Bioelementos

Los bioelementos o elementos biogénicos, son elementos químicos considerados como parte integrante de los seres vivos (Figura 2). Casi todos están situados en la primera mitad del sistema periódico, es decir, entre los elementos más ligeros [Macarulla, 1994].

Los bioelementos se clasifican en:

- **Bioelementos primarios:** Son los más abundantes y ligeros. Constituyen el 96.5% de la materia viva (C, O, H, N, P y S).
- **Bioelementos secundarios:** Agrupan el 3.3% de la materia viva. Suelen estar ionizados en el interior de las células, desempeñando importantes funciones, como el Na, Mg, K, Cl, entre otros.
- **Oligoelementos:** Constituyen tan solo el 0.2% de la materia viva pero son indispensables para el desarrollo de las funciones vitales. Son ejemplos el Fe, Co, Cu, Zn, Mn, F, I, B, Si, V, Se, Mo, y otros más.

H																	He
Li	Be	Bioelementos										B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg	Oligoelementos										Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	L	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	A	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt									

Figura 2. Ubicación de los bioelementos en la tabla periódica (se han omitido los elementos Lantánidos y Actínidos debido a que ninguno de ellos forma parte de clasificación).

3.2.5 El Cadmio

El cadmio (Cd), se encuentra en el mismo subgrupo de la tabla periódica que el zinc (Zn) y el mercurio (Hg), pero es más similar al primero. Igual que el zinc, el único ion de cadmio es la especie $2+$ (Cd^{2+}). En comparación con el mercurio, los compuestos de cadmio con aniones simples, tales como el cloruro, son sales iónicas en lugar de ser moléculas. La mayor parte del cadmio se produce como subproducto de la fundición del zinc, ya que los dos metales se encuentran habitualmente juntos en la naturaleza [Colin, 2001]. Debido a que el Cd no forma parte de los bioelementos se le considera potencialmente tóxico, pues la sustitución de éste en los centros activos de las enzimas provoca cambios en la estructura y función de ellas.

Una aplicación importante del cadmio es como electrodo en baterías recargables de níquel-cadmio, utilizadas en muchos aparatos electrónicos. Cuando se extrae corriente de la batería, el electrodo sólido de cadmio metálico se disuelve parcialmente, para formar hidróxido de cadmio insoluble, $\text{Cd}(\text{OH})_2$, gracias a la incorporación de iones hidróxidos del medio en el cual se sumerge el electrodo. [Colin, 2001]

En forma iónica, el principal uso del cadmio es como pigmento. Debido a que el color del sulfuro de cadmio depende del tamaño de las partículas, se pueden preparar pigmentos de cadmio de distintos tonos. Tanto el sulfuro de cadmio (CdS) como el seleniuro de cadmio (CdSe), se han utilizado extensamente para dar color a los plásticos (amarillo intenso y rojo rubí, respectivamente) [Colin, 2001].

El cadmio se emite al medio ambiente con la incineración de plásticos y otros materiales que lo contienen como pigmento o como estabilizante. La emisión a la atmósfera ocurre también al reciclar el acero chapado con cadmio, ya que el elemento es bastante volátil cuando se calienta (punto de ebullición: $765\text{ }^\circ\text{C}$) [Colin, 2001].

Debido a su semejanza con el zinc, las plantas absorben el cadmio del agua de irrigación. La diseminación de fertilizantes de fosfato que contienen cadmio iónico, por los campos agrícolas; así como depuradoras de fangos residuales contaminados por este metal,

procedente de vertidos industriales, aumenta el nivel de cadmio en el suelo y, en consecuencia, en las plantas que lo incorporan, convirtiéndose en contaminante natural

La enfermedad que provoca la ingestión excesiva de cadmio es la *itai-itai* o *ay-ay*, denominada así a causa de los fuertes dolores en las articulaciones. En esta enfermedad, algunos iones Ca^{2+} de los huesos son aparentemente reemplazados por iones Cd^{2+} , ya que poseen la misma carga y, virtualmente, el mismo tamaño; por lo tanto los huesos se vuelven porosos de forma lenta y puede causar fracturas luego de algún tiempo.

3.2.5.1 Mineralogía del Cd.

El sulfuro de cadmio (CdS) o *Greenockita*, es la forma predominante, producto del intemperismo del Cd contenido en la *sphalerita* ($(\text{Zn,Fe})\text{S}$). Usualmente el Cd existe como impureza de la *sphalerita* en un rango de concentraciones que van desde el 0.2 al 0.7 % p/p. Sin embargo, la *greenockita* existe como mineral primario en varias configuraciones geológicas incluyendo la mineralización metamórfica del óxido de zinc (ZnO), granito, fumarolas, pegmatitas, menas hidrotermales y sedimentos de Pb-Zn [*Mogessie, 2009*].

El CdS cristaliza en dos formas: una forma β cúbica (*hawleyita*, estructura tipo *sphalerita*) y una forma α hexagonal (*greenockita*; estructura tipo *wurtzita*).

Un estudio realizado en la zona de las minas del Grupo Caledonia (Argentina) mostraron la presencia de muchas menas minerales en varias paragénesis: *greenockita* + *pirita* + *sphalerita* + *galena* + *calcopirita* ± *arsenopirita* ± *pirrotita* ± *bornita* ± *tennantita* ± *tetraedrita*, entre otros [*Mogessie, 2009*]. También en la base de datos del *Mineral Data Publishing* se puede asociar la *greenockita* con *sphalerita*, *pirita* y oro [*M. D. P., 2001-2005*].

3.3 BIOPROSPECCIÓN

El proceso de búsqueda y evaluación que permite identificar, seleccionar y aislar componentes útiles de la biodiversidad se conoce como **bioprospección**. Es la exploración de la biodiversidad biológica y del saber indígena, asociado a ella, para facilitar la selección y extracción de recursos genéticos y bioquímicos.

En los últimos años se ha prestado mayor atención a la bioprospección a medida que los países buscan conservar su biodiversidad y compartir los beneficios que ofrece. Los convenios en esta esfera se consideran como “medios para mejorar la capacidad nacional para agregar valor a los recursos naturales, compartir los beneficios con países desarrollados y, a la vez, la protección y el uso sostenible de estos recursos”.

3.4 BIORREMEDIACIÓN

La **biorremediación** es definida como el proceso por el cual los desechos orgánicos son degradados biológicamente, bajo condiciones controladas, a estados inocuos o lograr niveles por debajo de los establecidos por las autoridades regulatorias [*Mueller, 1996*].

La biorremediación aprovecha la capacidad de los microorganismos, en especial bacterias y hongos, para degradar muchos tipos de residuos, habitualmente en sustancias más simples y menos tóxicas.

Para que una técnica de biorremediación opere eficientemente, deben cumplirse varias condiciones:

- a) El residuo debe ser susceptible de biodegradarse biológicamente y presentarse en una forma física que sea susceptible a la acción de los microorganismos.
- b) Debe estar disponibles los microorganismos apropiados.

- c) Las condiciones ambientales –como pH, temperatura y nivel de oxígeno- deben ser las apropiadas.
- d) Existen dos tipos de biorremediación:
 - 1) *Remediación microbiana.*
 - 2) *Fitorremediación*

3.4.1 Remediación microbiana

Se refiere al uso de microorganismos directamente en el foco de la contaminación. Estos microorganismos pueden ya existir en este sitio o provenir de otros ecosistemas, en cuyo caso deben ser inoculados en el sitio contaminado (proceso de inoculación). Cuando no es necesaria la inoculación de microorganismos, suelen administrarse más nutrientes, como fósforo y nitrógeno, con el fin de acelerar el proceso. Para que la biorremediación sea efectiva, los microorganismos deben atacar enzimáticamente al contaminante y convertirlos en productos inofensivos. Debido a la adaptabilidad de los microbios y otros sistemas biológicos, éstos pueden ser usados para degradar o remediar medioambiente contaminado.

3.4.2 Fitorremediación

La técnica de fitorremediación utiliza la vegetación para la descontaminación *in situ* de suelos y sedimentos contaminados por metales Clase B e Intermedios y contaminantes orgánicos. Se está erigiendo como una tecnología emergente [Colin, 2001].

Se pueden mencionar 4 principales técnicas de fitorremediación, basados en el destino del contaminante:

- 1) ***Fitoextracción o fitoacumulación***, es el proceso por el cual se utilizan plantas para acumular contaminantes en las raíces o biomasa aérea. Esta técnica ahorra enormes costos económicos debido a que descontamina por acumulación en una amplia zona. A diferencia de los mecanismos de degradación, el proceso produce biomasa

de la planta y contaminante (usualmente metales) que puede ser transportado para su eliminación o reciclado [Vidali, 2001].

- 2) **Fitotransformación o fitodegradación**, se refiere a la absorción de contaminantes orgánicos del suelo, sedimentos o agua que subsecuentemente son transformados en compuestos más estables, menos tóxicos o en formas menos móviles. El cromo metálico puede ser reducido de una forma hexavalente a trivalente, el cual es de baja movilidad y no carcinógeno [Vidali, 2001].
- 3) **Fitoestabilización**, es el mecanismo mediante el cual la planta reduce la movilidad y migración del contaminante al suelo. Los lixiviados son absorbidos y enlazados a la estructura de la planta en un compuesto estable que no permita el reingreso al medioambiente [Vidali, 2001].
- 4) **Rizodegradación**, consiste en la descomposición del contaminante a través de la actividad existente en la rizósfera. La actividad se genera por la presencia de proteínas y enzimas en la planta u organismos del suelo como bacterias, levaduras u hongos. La rizodegradación es una relación simbiótica entre la planta y los microorganismos. La planta provee los nutrientes necesarios para la actividad microbiana y el microbio provee salud al suelo y medio ambiente [Vidali, 2001].

3.4.2.1 Plantas metalófitas

Muchas especies toleran elevadas concentraciones de metales en el suelo porque restringen su absorción o translocación hacia las hojas, lo cual permite mantener concentraciones constantes y relativamente bajas en la biomasa aérea, independientemente de la concentración metálica del suelo en un intervalo amplio. A este mecanismo se le llama **exclusión** [Beaker, 1981]. Sin embargo, otras absorben los metales activamente a partir del suelo y los acumulan en formas no tóxicas en su biomasa aérea a las cuales se les llama **acumuladoras**.

Una respuesta intermedia es la que presentan las plantas **indicadoras**, cuya concentración metálica refleja la del suelo.

Entre las acumuladoras se han reconocido diferentes grados de acumulación metálica, desde pequeñas cantidades hasta concentraciones excepcionalmente elevadas de metales Clase B e Intermedios como Ni, Zn, Pb y Co en su biomasa aérea, sin mostrar ningún síntoma visible de toxicidad [Brooks *et al.*, 1977]. Incluso, algunas de estas plantas no pueden completar sus ciclos vitales cuando crecen en suelos “normales” y se denominan plantas *hiperacumuladoras* (Figura 3).

Las plantas hiperacumuladoras alcanzan concentraciones de metales en hojas entre 10 y 100 veces las concentraciones normales [Chaney *et al.*, 2000]. Actualmente se utiliza el término hiperacumuladora de metales para designar plantas que acumulan más de 10,000 mg/kg de Mn y Zn, más de 1000 mg/kg de Co, Cu, Pb, Ni, As y Se y más de 100 mg/kg de Cd [Kidd, 2007].

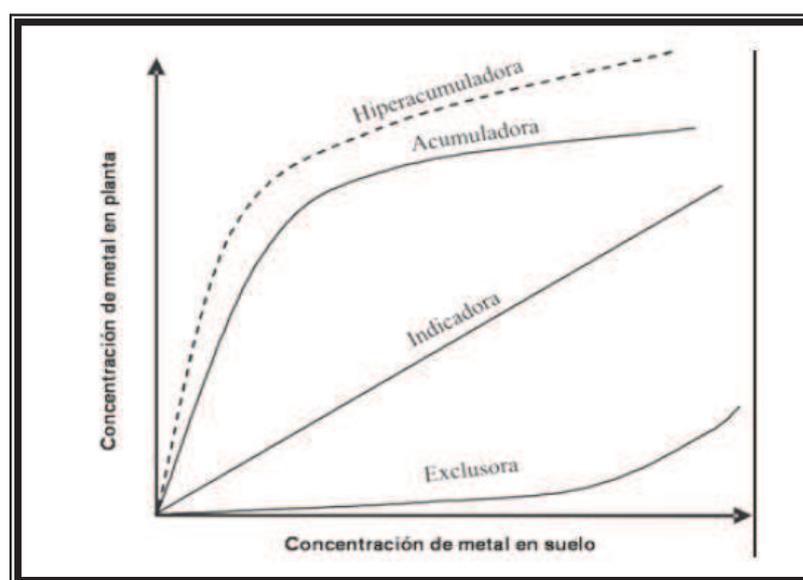


Figura 3. Respuesta típica de las plantas frente a la presencia de metales pesados en el suelo [Adriano, 2001].

3.5 BIOQUIMICA DEL PROCESO DE ACUMULACION DE METALES CLASE B E INTERMEDIOS EN LAS PLANTAS.

3.5.1 Aspectos bioquímicos involucrados en la desintoxicación y acumulación de la planta.

El glutatión y los ácidos orgánicos metabólicos juegan un rol clave para la tolerancia de las plantas [Arisi, 2000]. Es un componente celular de las bacterias, animales y plantas. En las plantas, es el más abundante de los compuestos tioles de bajo peso molecular. Las plantas lo utilizan principalmente como un reductor GSH (95%), cuya síntesis es mediada por la glutamilcisteína sintetasa y la glutatión sintetasa.

El metabolismo glutatiónico está también relacionado con la cisteína y el metabolismo sulfúrico en las plantas. La cisteína está limitada por la biosíntesis del glutatión. Las moléculas pequeñas de péptidos tiólicos son las fitoquelatinas (PCs, abreviatura en inglés), muchas veces llamadas Metalotioninas clase III, sintetizadas en las plantas por glutatión inducido por iones de metales Clase B e Intermedios [Vara, 2003].

Estos péptidos son sintetizados a partir del glutatión por medio de la enzima α -glutamylcisteína transferasa, llamada también fitoquelatina sintetasa (PCs, abreviatura en inglés), catalizando la reacción del grupo α -Glu-Cis de una molécula donadora de glutatión a glutatión, como aceptor molecular (Figura 4) [Vara, 2003].

Los PCs son un citosólico, constitutivo de una enzima y es activado por iones metálicos como Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , Bi^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} y Au^{2+} . Así los PCs, sintetizados como quelatos metálicos Clase B e Intermedios y en forma de complejos son transportados a través del citosol en un ATP (dependiendo de la forma), exportados al citoplasma por medio del tonoplasto, subsecuentemente dentro de la vacuola (Figura 5). De esta forma los metales tóxicos son desplazados del citosol.

Otras moléculas involucradas en el proceso de quelación de metales son las metalotioninas, las cuales tienen alta afinidad por metales Clase B e Intermedios principalmente por sus propiedades como enlace blando-blando [Vera, 2006].

Las plantas bajo estrés por metales Clase B e Intermedios producen radicales libres y especies reactivas con el oxígeno, resistiendo el estrés oxidativo antes de adquirir tolerancia hacia los metales tóxicos.

El glutatión es utilizado por las plantas para la síntesis de PCs, así como para la producción de ditiolos. El glutatión-ascorbato implica la vía defensiva de la planta contra la oxidación provocada por el estrés. Los ácidos orgánicos juegan un mayor rol dentro de la tolerancia del metal debido a la formación de complejos con los metales (proceso de desintoxicación). Muchos aspectos bioquímicos relacionados con la fisiología de las plantas y los metales Clase B e Intermedios son aún estudiados. [Ma, 2001].

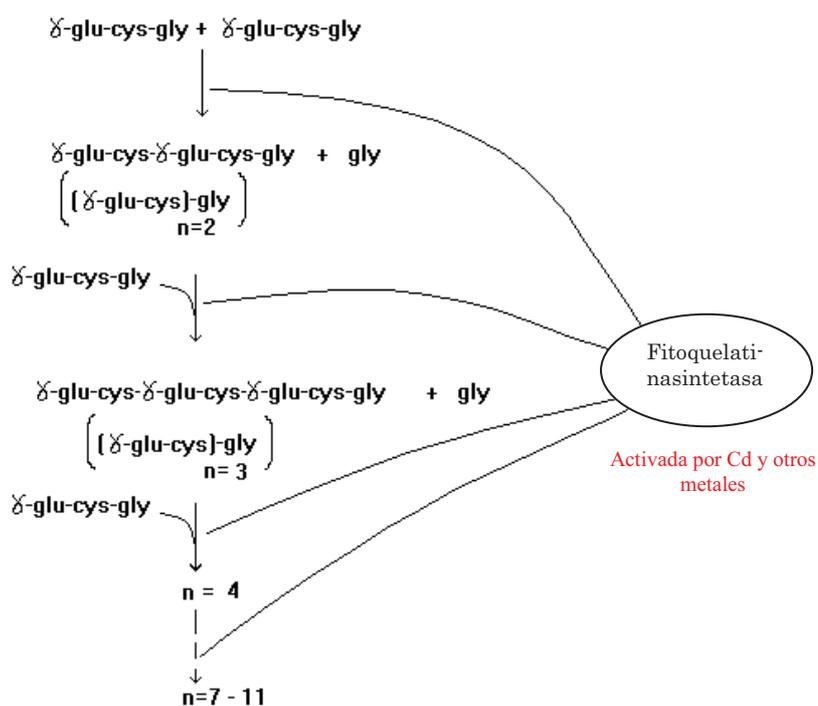


Figura 4. Síntesis del glutatión catalizada por la enzima Fitoquelatina sintetasa (Glutatión gamma-glutamilocisteintransferasa), inducido por un metal Clase B e Intermedio.

3.5.2 Influencia de las micorrizas arbusculares en la fitorremediación.

Las **micorrizas arbusculares** (MA) son hongos que se encuentran en el suelo de muchos ecosistemas, incluyendo suelos contaminados. Forman una relación simbiótica entre la planta y hongo, por la adquisición de fosfatos, micronutrientes y agua, los dos individuos mejoran su nutrición. Esta simbiosis con las raíces de las plantas se encuentra en más del 80% de las plantas terrestres y puede ser considerada una extensión funcional de la raíz de la planta ya que aumenta considerablemente el volumen de nutrientes que la planta puede adquirir [Vera, 2006].

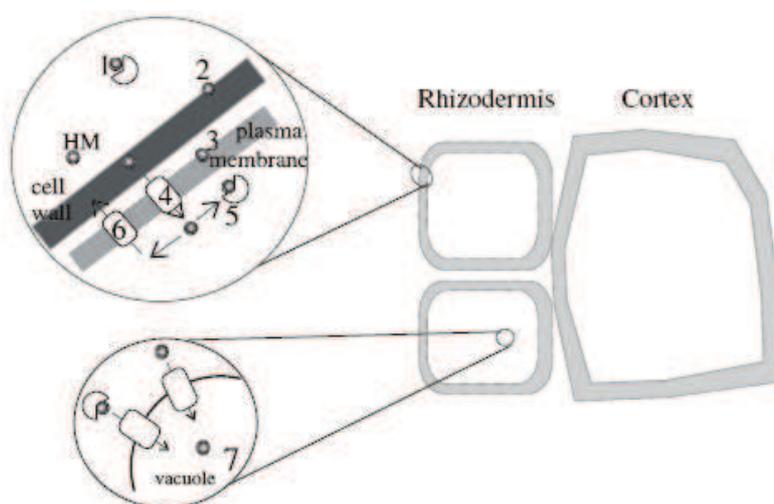


Figura 5. Mecanismos de desintoxicación y acumulación de metales Clase B e Intermedios en las plantas. 1) Agentes quelantes, secretados y enlazados con los metales del suelo (como la histidina, ácidos orgánicos de la planta o glomalina de los hongos). 2) Metales Clase B e Intermedios, enlazados a los componentes de la pared celular. 3) Membrana plasmática, utilizada como barrera selectiva. 4) Metales transportados y ubicados en los poros de la membrana plasmática de la planta. 5) Agentes quelantes en el citosol (metalotioninas y fitoquelatinas). 6) Transporte hacia la célula. 7) Secuestro del metal Clase B e Intermedio en la vacuola [Vera, 2006].

De forma similar que a una planta, los metales Clase B e Intermedios son absorbidos por la hifa del hongo y son transportados hacia la planta. De esta forma, algunas especies micorrizadas muestran mayor absorción y transporte hacia las raíces y las hojas de metales

Clase B e Intermedios (fitoextracción). En otros casos las *micorrizas arbusculares* (MA) contribuyen a la inmovilización de metales dentro del suelo (fitoestabilización) [Vera, 2006].

Una glicoproteína producida por las micorrizas es la glomalina, la cual es liberada hacia el suelo y forma enlaces estables con metales Clase B e Intermediarios [Gonzales-Chávez, 2004]. Debido a este mecanismo las plantas tienden a absorber mayor cantidad de metales, ya que las hifas de la micorrizas forman extensiones radiculares que capturan el metal y lo transportan hacia el interior de la pared celular vegetal, predominando el mecanismo de desintoxicación intraradicular (Figura 6) [Vera, 2006].

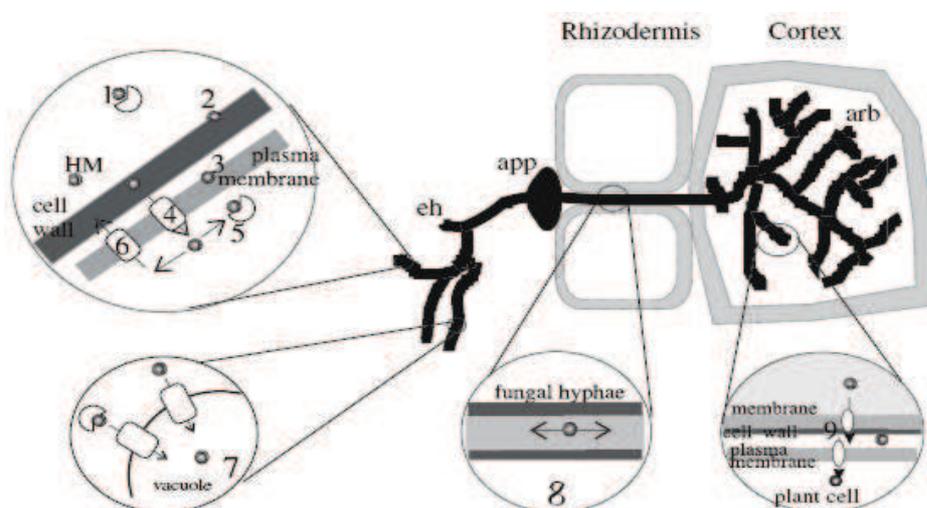


Figura 6. Mecanismo de desintoxicación mediante simbiosis entre la planta y la micorriza arbuscular. 1) Agentes quelantes, son liberados en el suelo, como la glomalina del hongo. 2) Metales Clase B e Intermedios enlazados con los componentes de la pared celular de la planta y el hongo. 3) Membrana plasmática utilizada como barrera selectiva. 4) Transporte hacia los poros de la membrana plasmática. 5) Agentes quelantes en el citosol, como la metalotioninas. 6) Transporte hacia las células de la planta u hongo. 7) Secuestro del metal dentro de la vacuola del hongo. 8) Transporte del metal Clase B e Intermedio a la hifa del hongo. 9) En especies arbusculares, el hongo exporta el metal y es importado por el interior de la célula por transporte vía activa o pasiva.

3.6 MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE METALES

3.6.1 Digestión asistida con radiación microondas.

La radiación de microondas es un método alternativo para dar energía térmica a una reacción. La digestión por microondas es calentada directamente por la absorción de la radiación de la microonda. Esto permite una calefacción extremadamente rápida y simultánea de 8-12 muestras.

El empleo de energía de microondas para la digestión ácida de materiales en sistemas cerrados a altas temperaturas y presiones (Figura 7), es una importante alternativa que ha demostrado reducir significativamente los tiempos de preparación previa de las muestras, para posteriormente determinar componentes orgánicos (tales como aminoácidos) o inorgánicos (como el cadmio). El calentamiento de un material en horno de microondas involucra absorción directa de energía electromagnética, en la forma de radiaciones no ionizantes, que causa movimiento molecular, traducido en rotaciones que traen como consecuencia la producción de roce entre las moléculas, sin generar cambios en su estructura.

La energía electromagnética que incide sobre un cuerpo, puede ser reflejada, transmitida o absorbida. Los metales reflejan la energía de microondas y no se calientan. Muchos materiales aislantes son transparentes a la energía de microondas y ésta los atraviesa sin producir calentamiento. Los materiales dieléctricos en cambio, tienen la capacidad de absorber la energía de microondas y por lo tanto son calentados. Por otra parte la disipación de energía (producción de calor), también se produce por conducción iónica, producida por la migración de los iones disueltos en el campo electromagnético aplicado, la cual depende de la movilidad y la concentración de dichas especies en la solución. La producción de calor se puede explicar en función de la resistencia opuesta al flujo de los iones involucrados [Herrera, 2001].

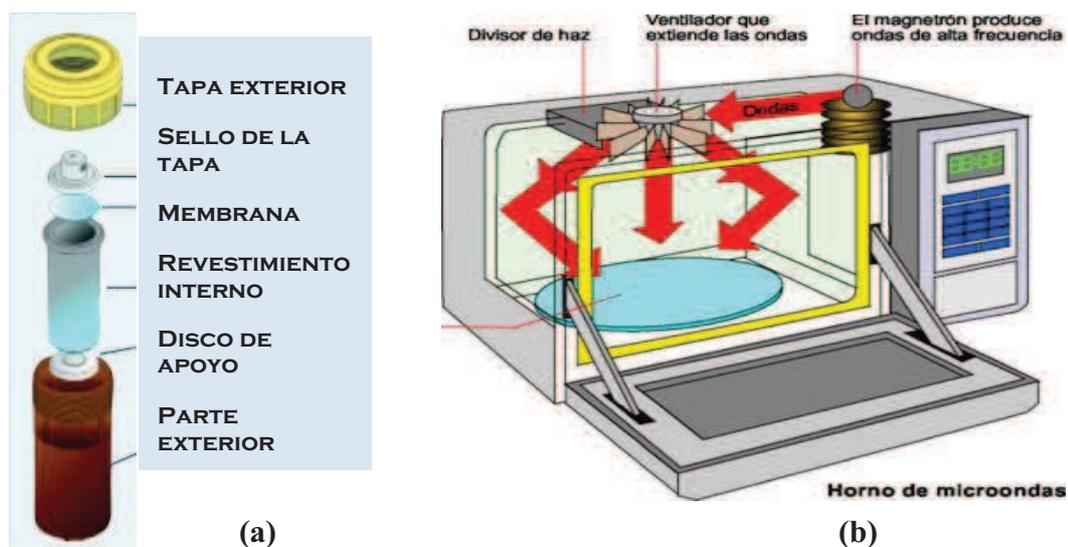


Figura 7. (a) Esquema gráfico de las partes que componen los sistemas cerrados cilíndricos, utilizados para la digestión asistida con microondas los cuales están diseñados para soportar grandes presiones. (b) Imagen simplificada del funcionamiento del equipo microondas.

3.6.2 Espectrometría de Absorción Atómica (EAA) con Llama.

3.6.2.1 Atomización con llama.

En un atomizador de llama, la disolución de la muestra es nebulizada mediante un flujo de gas oxidante, mezclado con el gas combustible, y se transporta a una llama donde se produce la atomización. En la llama tiene lugar una serie compleja de procesos encadenados. El primero es la desolvatación, en el que se evapora el disolvente hasta producir un aerosol molecular sólido finamente dividido. Luego la disociación de la mayoría de estas moléculas produce un gas atómico. La mayoría de los átomos así formados se ionizan originando cationes y electrones. Indudablemente se producen también otras moléculas y átomos en la llama, como resultado de las interacciones del gas combustible con el gas oxidante y con las distintas especies de la muestra. Una fracción de las moléculas, átomos e iones también se excita por el calor de la llama, produciéndose así espectros de emisión moleculares, atómicos e iónicos. La Figura 8 muestra en forma de diagrama los procesos que tienen lugar durante la atomización [Skoog, 2001].

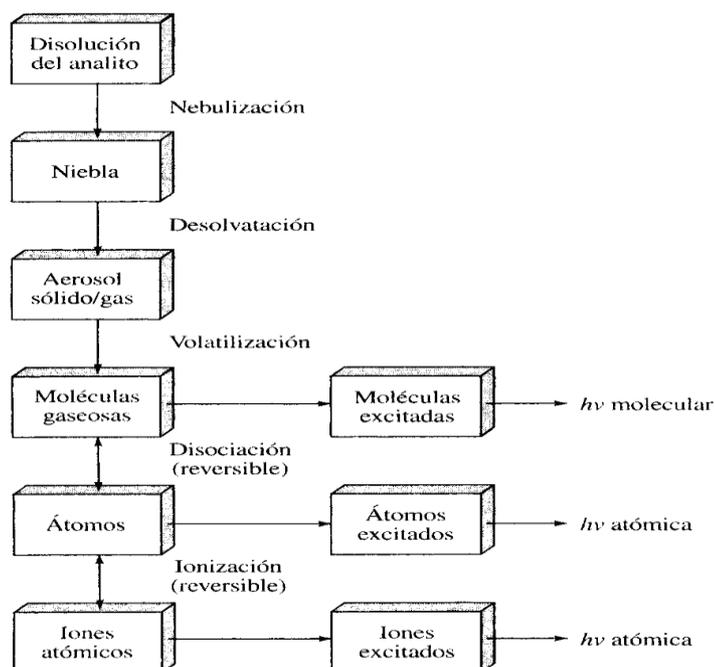


Figura 8. Diagrama de fases del proceso de atomización.

3.6.2.2 Atomizadores de llama

Los atomizadores de llama se emplean en espectroscopia de emisión, absorción y fluorescencia atómica. El aerosol, formado por el flujo del gas oxidante, se mezcla con el combustible y pasa a través de una serie de deflectores que eliminan las gotitas de disolución que no sean muy finas. Como consecuencia de la acción de estos deflectores, la mayor parte de la muestra se recoge en el fondo de la cámara de mezcla, donde se drena hacia un contenedor de desechos. El aerosol, el oxidante y el combustible se queman en un mechero provisto de una ranura, donde se produce una llama que generalmente mide entre 5 y 10 cm de longitud.

Los mecheros de flujo laminar proporcionan una llama relativamente estable y larga. Estas propiedades tienden a aumentar la sensibilidad y la reproducibilidad. La cámara de mezcla en este tipo de mechero contienen una mezcla potencialmente explosiva, que se puede

encender por el retroceso de la llama, si su caudal es demasiado bajo. Por esta razón, el mechero de flujo laminar está equipado con unas válvulas para disminuir la presión. La Figura 9 muestra la estructura del mechero de flujo laminar [Skoog, 2001].

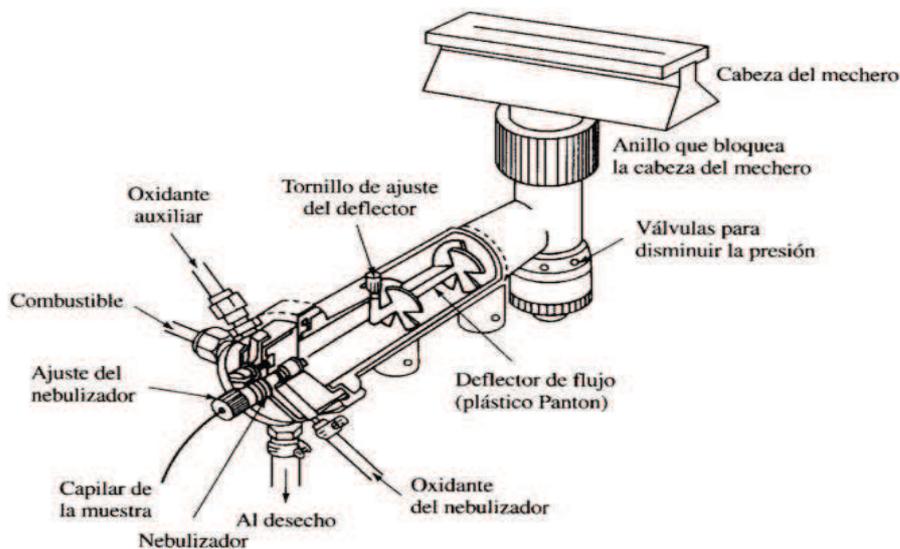


Figura 9. Mechero de flujo laminar.

En la espectroscopia de llama, los caudales de oxidante y de combustible constituyen variables importantes que requieren control preciso. Es deseable poder variar cada uno de ellos en un intervalo amplio para poder encontrar experimentalmente las condiciones óptimas para la atomización. Por lo general, el combustible y el oxidante se combinan aproximadamente en una proporción estequiométrica. Sin embargo, para la determinación de metales que forman óxidos estables es más conveniente el empleo de una llama que contenga un exceso de combustible. Los caudales se controlan, por lo general, por medio de reguladores de presión de doble diafragma seguidos de válvulas de aguja situadas en el instrumento. El sistema de medida de caudal más empleado es el rotámetro, que consiste en un tubo cónico, graduado y transparente montado verticalmente con su extremo más estrecho hacia abajo. El flujo del gas levanta un flotador liviano, cónico o esférico, cuya posición vertical está determinada por el caudal de gas [Skoog, 2001].

3.6.2.3 Lámpara de cátodo hueco como fuente de radiación de EAA.

La fuente más común para las medidas de EAA es la *lámpara de cátodo hueco*. Este tipo de lámparas consiste en un ánodo de wolframio y un cátodo cilíndrico cerrados herméticamente en un tubo de vidrio lleno con neón o argón a una presión de 1 a 5 torr. El cátodo está construido con el metal cuyo espectro se desea obtener, o bien, sirve de soporte para una capa de dicho metal, según como se muestra en la Figura 10.

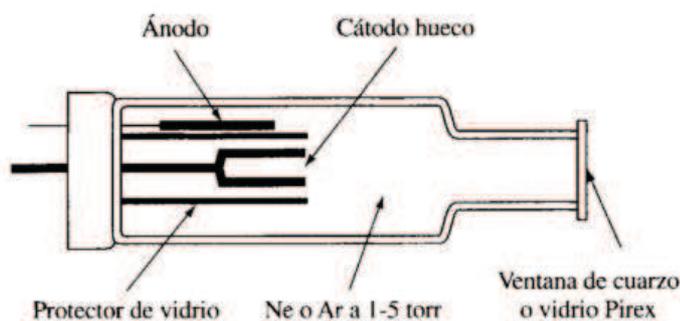


Figura 10. Sección transversal de una lámpara de cátodo hueco.

Cuando se aplica un potencial del orden de 300 V entre los electrodos se produce la ionización del gas inerte, lo que da lugar a una corriente de aproximadamente 5 a 15 mA, al tiempo que los iones y electrones migran hacia los electrodos. Si el potencial es lo suficientemente grande, los cationes gaseosos adquieren la suficiente energía cinética como para arrancar algunos de los átomos metálicos de la superficie del cátodo y producir una nube atómica; a este proceso se le denomina *chisporroteo*. Una parte de los átomos metálicos desprendidos se encuentran en estado excitado y, de este modo, al volver al estado fundamental emiten su radiación característica. Al final, los átomos metálicos se vuelven a depositar difundiéndose de nuevo hacia la superficie del cátodo o hacia las paredes de vidrio del tubo [Skoog, 2001].

La configuración cilíndrica del cátodo tiende a concentrar la radiación en una región limitada del tubo metálico; este diseño aumenta también la probabilidad de que la redistribución sea mayor en el cátodo que sobre las paredes de vidrio.

La eficacia de la lámpara de cátodo hueco depende de su geometría y del potencial aplicado. Los altos potenciales y, por consiguiente, las corrientes elevadas originan intensidades de radiación mayores. Esta ventaja se neutraliza en parte por un aumento del ensanchamiento por efecto Doppler de las líneas de emisión de la lámpara. Además, las corrientes mayores provocan un aumento del número de átomos no excitados en la nube. Los átomos no excitados, a su vez, son capaces de absorber la radiación emitida por los átomos excitados. Esta autoabsorción reduce la intensidad, sobre todo en el centro de la banda de emisión.

En el comercio existe una gran variedad de lámparas de cátodo hueco. En algunos casos los cátodos están constituidos por una mezcla de varios metales; lo que permite el análisis de más de un elemento [Skoog, 2001].

3.6.2.4 Instrumentos espectrofotométricos de doble haz.

Un instrumento espectrofotométrico debe ser capaz de proporcionar una anchura de banda lo suficientemente estrecha para que pueda aislar, para la medida, la línea elegida de las otras líneas que pueden interferir o disminuir la sensibilidad del análisis.

Para cada elemento se utiliza un filtro y una fuente de radiación distintos. La mayoría de los instrumentos EAA utilizan tubos fotomultiplicadores como detectores, además se necesitan sistemas electrónicos que puedan discriminar entre la señal modulada de la fuente y la señal continua de la llama.

En los instrumentos de doble haz uno de ellos proviene de la fuente de cátodo hueco y se divide mediante un cortador reflectante, una mitad pasa a través de la llama y la otra mitad fuera de ella. Los dos haces se juntan mediante un espejo semiplatado y llegan a un monocromador de red Czerny-Turner; un tubo fotomultiplicador actúa como detector. La salida de éste se utiliza para alimentar un amplificador de cierre sincronizado con el movimiento del cortador. Se amplifica entonces la relación entre las señales de la referencia

y de la muestra, y pasan al sistema de tratamiento de datos, que puede ser un medidor digital o un registrador de señal [Skoog, 2001]. La figura 11 muestra un esquema general de los instrumentos de doble haz.

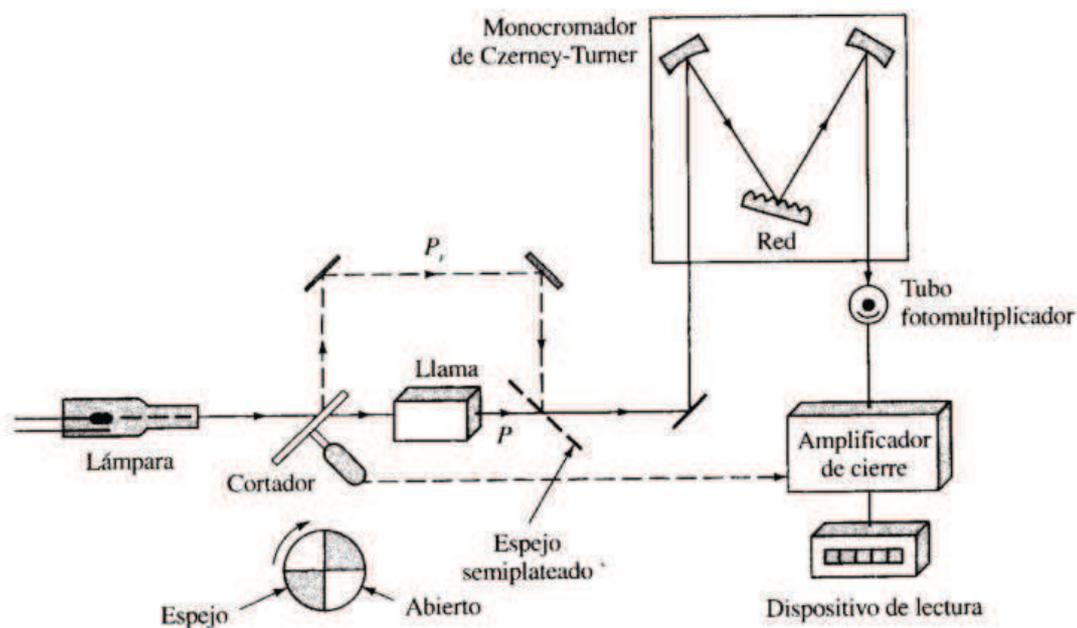


Figura 11. Esquematización de EAA de llama con diseño de doble haz.

IV – METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

4.1 Recolección de muestras

La recolección de las muestras se llevó a cabo en la zona minera del Cerro San Sebastián ubicado en el municipio de Santa Rosa de Lima del departamento de La Unión en La República de El Salvador. En la Figura 12 se muestra la zona minera del cantón San Sebastián y los puntos en los que se realizó el muestreo.

La mina San Sebastián, ubicada en la zona en mención, fue explotada de forma industrial desde sus inicios hasta mediados del siglo XX. Luego de este período ha continuado de forma artesanal, siendo esta práctica una de las principales fuentes de ingreso para los pobladores de la zona [Bianchini, 2006]. Posee una vegetación clasificada como arbustales mixtos, el clima se caracteriza como Sabana Tropical Caliente, según los mapas temáticos del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

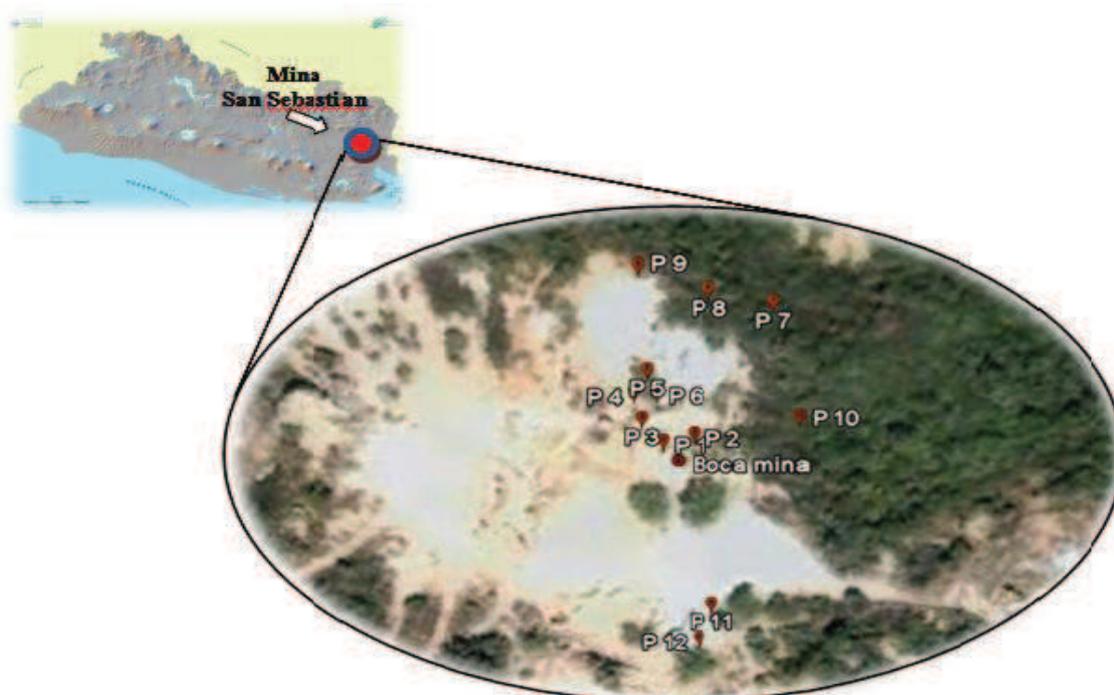


Figura 12. Mapa geográfico que proyecta los puntos de muestreo en la Mina San Sebastián, Municipio de Santa Rosa de Lima, Departamento de La Unión.

Se realizaron dos visitas de reconocimiento para identificar la zona específica de recolección de muestras y tomar imágenes fotográficas, con el fin de realizar el inventario florístico del estrato herbáceo local. Estas incursiones se efectuaron durante la segunda y tercera semanas de noviembre del año 2009.

La zona de muestreo se parceló en un radio máximo de alcance de 50 metros a partir de la boca mina y se recolectaron las muestras en los lugares donde se encontraba el espécimen. Al final se obtuvieron 12 muestras de suelo, 12 muestras de raíz y 12 muestras de hojas proveniente de 12 individuos de una especie del estrato herbáceo vegetal, en el lapso de tres días, comprendidos entre las 2 primeras semanas de enero del año 2010. Los criterios de selección de la especie a muestrear se basaron en la cantidad de individuos presentes en la zona, masa aérea, tipo de raíz, tamaño y signos de fertilidad de la planta en general. El muestreo de suelo se realizó en el lugar donde se encontraba la planta, a 20 cm de profundidad de la superficie. Posteriormente las muestras se trasladaron en bolsas plásticas con cierre hermético, puestas en una hilera y se almacenaron en refrigeración a -10° C hasta el procesamiento.

Finalmente las especies se identificaron taxonómicamente mediante imágenes fotográficas, con el apoyo del Laboratorio de Botánica del “Jardín Botánico La Laguna”.

4.2. Procesamiento de las muestras.

El trabajo experimental de procesamiento de las muestras se realizó en los laboratorios del Centro de Investigaciones y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador (UES), los laboratorios del Centro de Investigaciones y Aplicaciones Nucleares (CIAN/UES), y los análisis fisicoquímicos en el laboratorio del Instituto del Agua de la Facultad Multidisciplinaria de Occidente (FMO/UES).

Las muestras vegetales y de suelo se secaron en un Horno con vacío Marca HEREUS (especificaciones detalladas en la figura 13) durante dos semanas hasta lograr el mayor porcentaje de deshidratación. Posteriormente se pulverizó el material seco y se tamizó hasta

lograr partículas de $0.125\ \mu\text{m}$ de tamaño. Para su cuantificación, las muestras se pesaron en una balanza analítica.



Equipo: Horno con sistema de vacío
Marca: Heraeus vacuumtherm
Modelo: Klasse 2
Temperatura máxima de trabajo: $200\ ^\circ\text{C}$
Marca de la bomba de vacío: GAST
Modelo de la bomba de vacío: DOA-P104-AA.

Figura 13. Horno con sistema de vacío.

Luego se depositó el material en un vaso de teflón al cual se le agregó $2\ \text{mL}$ de HNO_3 y $0.5\ \text{mL}$ de HF dejándose reposar durante aproximadamente 30 minutos. Luego se sometieron a radiación microondas en un horno Marca O-I-Analytical (detalles en la figura 14) al cual se le programó una rampa de potencias de 30% durante 9 minutos y 50% durante 1 minuto.



Equipo: Horno microondas
Marca: O-I-Analytical.
Modelo: 7295
No. de Serie: A108323554

Figura 14. Horno microondas donde se llevó a cabo las digestiones.

Al final, las soluciones producto de las digestiones se aforaron en un balón volumétrico grado A de $25\ \text{mL}$, posteriormente fueron trasladadas a las instalaciones del Instituto de

Aguas de la Facultad Multidisciplinaria de Occidente, para realizar las determinaciones en el equipo de Absorción Atómica con Llama, Marca Perkin Elmer, Modelo 3110. En la Figura 15 se detalla gráficamente el procedimiento.

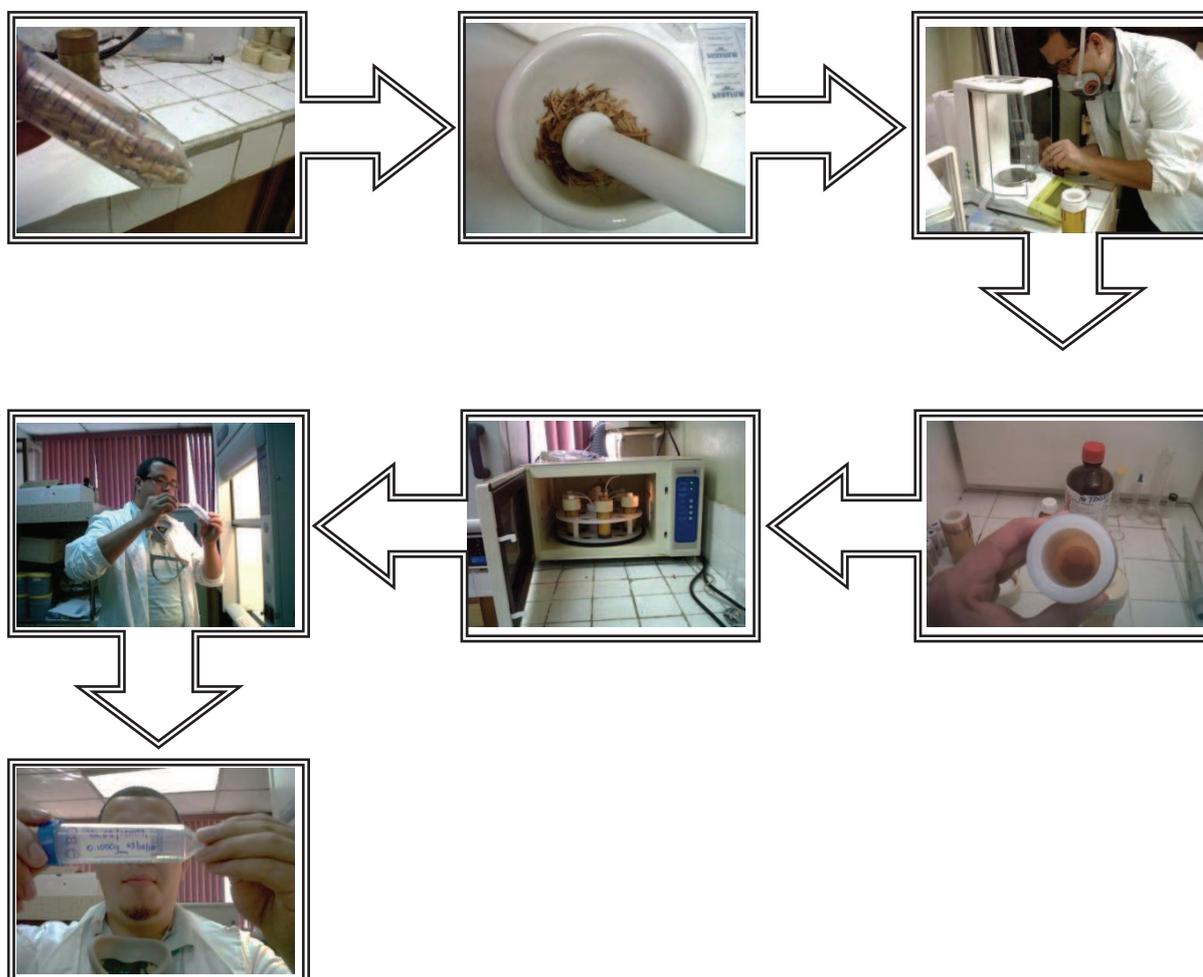


Figura 15. Esquematación del procesamiento de las muestras hasta la obtención de la solución producto de la digestión del material biológico.

4.3 Análisis mediante Espectrometría de Absorción Atómica con Llama

Las determinaciones de Cd se realizaron en un Espectrómetro de Absorción Atómica con Llama y lámpara de cátodo, hueco según características detalladas en la figura 16.



Equipo: Espectrómetro de Absorción Atómica de doble haz, Marca Perkin Elmer, Modelo 3110.

Técnica de atomización de la muestra: Atomizador con llama, mechero de flujo laminar marca Perkin Elmer.

Combustible: Acetileno

Oxidante: Aire.



Fuente: Lámpara de cátodo hueco para determinación de Cd con longitud de onda de trabajo de 228.8 nm.

Figura 16. Imagen del EAA con Llama

V - DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

5.1 Inventario florístico

A través de imágenes fotográficas tomadas en la zona de la mina San Sebastián, en un radio aproximado a 50 metros partiendo de la boca mina, y con la colaboración del laboratorio de botánica del “Jardín Botánico La Laguna”, se identificaron las especies nativas de la zona que a continuación se detallan en la Tabla 4:

Tabla 4. Inventario florístico de la zona cercana a la boca mina de San Sebastián.

No.	Familia	Nombre Científico	Nombre Común
1	Asteraceae	<i>Elephantopus cf. mollis</i>	
2	Boraginaceae	<i>Cordia curassavica</i> (Jacq.) Roem & Schult.	
3	Dilleniaceae	<i>Curatella americana</i> L.	"chaparro"
4	Fabaceae	<i>Senna reticulata</i> (Willd.) H.S. Irwin & Barneby.	"sembran"
5	Fabaceae	<i>Mimosa pigra</i> L.	"mimosa"
6	Apocynaceae	<i>Stemmadenia pubescens</i> Benth.	"cojon de puerco"
7	Bignoniaceae	<i>Crescentia alata</i> Kunth.	"morro"
8	Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i> (L) Kunth	"nance"
9	Passifloraceae	<i>Passiflora foetida</i> L.	"granadilla de culebra"
10	Euphorbiaceae	<i>Jatropha gossypifolia</i> Chodat & Hassl.	
11	Malvaceae	<i>Waltheria glomerata</i> C. Presl.	
12	Malvaceae	<i>Melochia nodiflora</i> Sw.	
13	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	"guayaba"
14	Moraceae	<i>Ficus</i> sp.	
15	Pteridaceae	<i>Pityrogramma calomelanos</i> L.	"helecho"

5.2 Identificación de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl.

Los criterios de selección que fueron tomados en cuenta para la selección de la especie muestreada se basaron en sus características físicas como cantidad de masa aérea, tipo de raíz y cantidad de especímenes en la zona.

Tomando en cuenta las imágenes con el que fue construido el inventario florístico se logró identificar el nombre de la especie que según registros taxonómicos es la *Waltheria glomerata* C. Presl.

5.2.1 Generalidades de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl (Figura 17).

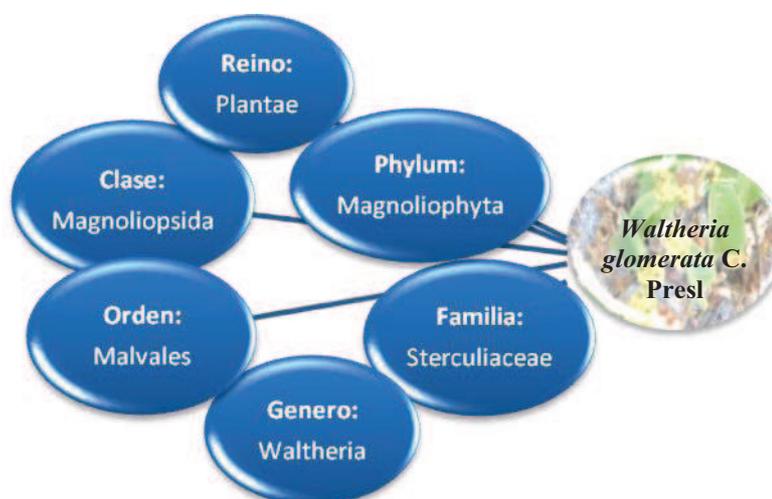


Figura 17. Identificación taxonómica de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl.

Es un sub arbusto de 1-2.5 m de alto. Posee hojas ovales de 6-7 cm de largo y 4-12 cm de ancho, ápice obtuso o agudo, base redondeada o subcuneada, envés heterótrico, nervadura mayor y notablemente menor en ambas caras; pecíolo de 0.5-1.3 cm de largo. Flores heterostilias, brácteas y bractéolas ovales, subaguadas, pétalos más cortos que el cáliz, flores brevistilas con filamentos soldados de $\frac{1}{4}$ basal y gineceo más corto que el cáliz, flores lingistilas con filamentos soldados hasta el ápice, estilo sobrepasando ampliamente el perianto [www.tropicos.org, 2011]. La Figura 18 muestra la especie *Waltheria glomerata* C. Presl.



Figura 18. Fotografía de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl., tomada en la mina San Sebastián.

La distribución geográfica de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl., abarca desde México hasta Venezuela, siendo endémicas en pastizales y sabanas [www.tropicos.org, 2011]. Según como se muestra en la Figura 19, se verifica que la especie es nativa de El Salvador.



Colombia, Costa Rica, El Salvador, México, Nicaragua, Panamá, Venezuela

Figura 19. Distribución geográfica de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl. Los países de color rojo muestran la localización de la especie. [Smithsonian Tropical Research Institute, 2011].

5.3 Determinación de Cadmio (Cd) en suelo, raíz y masa aérea en la especie *Waltheria glomerata* C. Presl.

Según lo descrito en el capítulo IV, a partir de las soluciones y los espectros de absorción atómica (EAA), el primer paso fue construir la curva de calibración con estándar de Cd según como se muestra en la Tabla 5 y la Figura 20.

Tabla 5. Datos para la construcción de la curva de calibración y la ecuación de regresión.

Concentración (mg/L)	Absorbancia (u.a.)
0.00	0.000
0.50	0.011
1.00	0.023
1.50	0.032
2.00	0.048

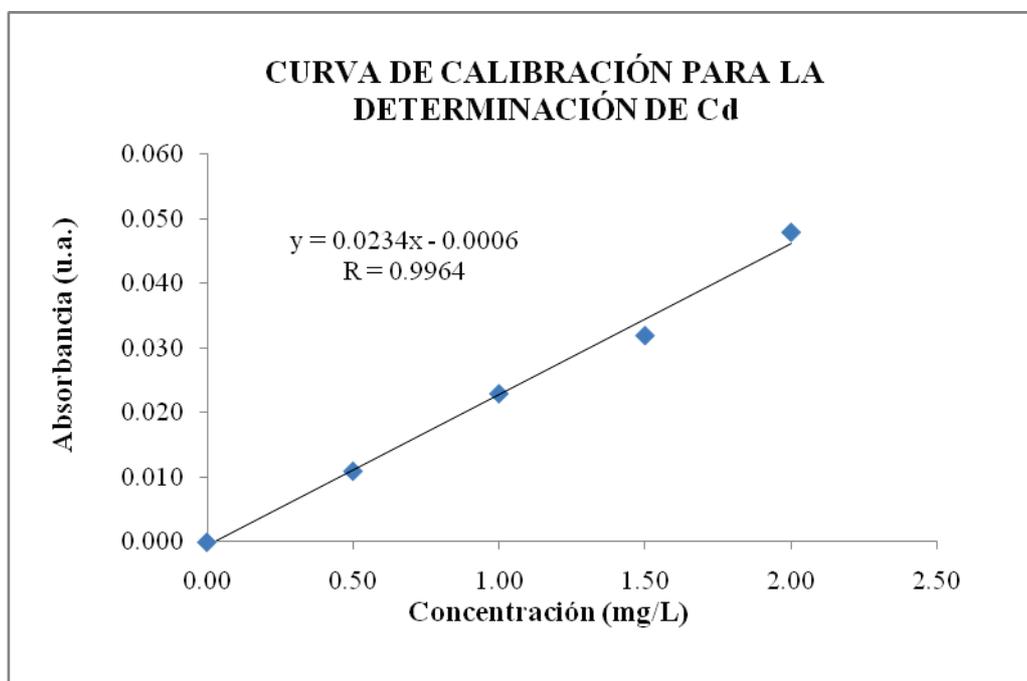


Figura 20. Curva de calibración.

Aplicando la ecuación de regresión para las absorbancias obtenidas de las muestras de suelo, raíz y hoja de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl., se obtuvo las concentraciones en mg de Cd/L de solución las cuales por conversión se expresan en mg de Cd por cada kg de muestra seca según el detalle de la Tabla 6.

Tabla 6. Determinación de mg de Cd por kg de masa seca por muestra.

No. DE PUNTO DE MUESTREO	mg de Cd/kg de Suelo	mg de Cd/kg de Raíz	mg de Cd/kg de Hoja
1	3.746	5.588	6.751
2	4.098	4.616	3.244
3	3.765	4.110	3.495
4	5.088	4.976	4.427
5	5.374	7.360	3.841
6	5.009	9.022	10.415
7	1.415	2.863	4.619
8	1.687	3.365	5.900
9	1.367	8.032	16.803
10	1.773	3.165	7.918
11	1.446	4.853	6.756
12	1.425	6.719	6.793

Los rangos de concentración varían de 1.367 a 5.374 mg de Cd/kg en suelo, 2.863 a 9.022 mg de Cd/kg de raíz y 3.244 a 16.803 mg de Cd/kg de hoja.

5.4 Análisis de los resultados

5.4.1 Tendencia geoespacial de la concentración de Cadmio (Cd) en suelo.

Partiendo de los puntos de muestreo geoespacialmente distribuidos según la figura 21 y la tabla 6, se observa que la tendencia de las concentraciones en suelo no muestra una relación definida en función de la cercanía o lejanía a la boca mina. Sin embargo, existen algunos datos conglomerados que muestran su similitud de acuerdo a la distancia entre ellos, como los puntos 1, 2 y 3 en donde se observa una concentración que varía en los rangos de 3.746 a 4.098 mg de Cd por kg de suelo. Las muestras 4, 5 y 6 rondan los 5.009 a 5.374 mg de Cd por kg de suelo, formando un grupo de acuerdo a la cercanía del punto en donde fueron tomados. Los puntos 7, 8, 9, 10, 11 y 12 muestran concentraciones de 1.367 a 1.773 mg de Cd por kg de suelo, siendo estas muestras las que se recolectaron en las partes más distantes de la boca mina. La figura 25 muestra en mayor detalle esta distribución.



Figura 21. Distribución de los puntos de muestreo en la mina San Sebastián

Esta tendencia podría explicarse de acuerdo a la probabilidad de la deposición de los escombros, resultado de las perforaciones hechas para la construcción del túnel de donde se extrae el oro por los pobladores de la zona. En la parte próxima a los 10 metros de distancia del túnel los escombros son arrojados de forma momentánea por los trabajadores de la mina, ya que para no formar cúmulos que obstruyan el paso hacia la perforación, lo depositan de forma permanente en las zonas superiores a la boca mina (donde se ubican los puntos de muestreo 4, 5 y 6), creando montículos acumulados de subsuelo que han permanecido por períodos largos de años. Con respecto a la tercera tendencia descrita en el párrafo anterior que muestra una disminución de la concentración de Cd, se puede suponer que se debe a que en esta zona se encuentra la mayor densidad de vegetación, la cual no muestra cúmulos de escombros e identificándose que los sitios han sido poco explorados y no explotados por los mineros artesanales. Las observaciones anteriores se pueden resumir en la Tabla 7 y Figura 22.

Tabla 7. Rangos de concentración de Cadmio (Cd) en suelo de los puntos de muestreo en relación con la distancia aproximada a la boca mina.

Puntos muestreados	Distancia aproximada a la boca mina (m)	Rango de concentración de Cd (mg Cd/kg suelo)
1, 2 y 3	0 - 5	3.746 - 4.098
4, 5 y 6	5 - 20	5.009 - 5.374
7, 8, 9, 10, 11 y 12	20 - 50	1.367 a 1.773

5.4.2 Tendencia de la concentración de Cadmio (Cd) en las muestras vegetales de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl.

Con respecto a las concentraciones en la especie vegetal, según los datos de la tabla 6, no muestran tendencia creciente o decreciente con respecto a la distancia y ubicación de los puntos de muestreo. No obstante, la concentración en la parte aérea y la raíz de los individuos muestreados, es significativamente mayor en el 66.67% en las muestras de hojas con respecto a las concentraciones en raíz, siendo esto un gran indicio de que la especie

Waltheria glomerata C. Presl. es una especie pseudometalófito acumuladora de Cd, que almacena el metal en su parte aérea.

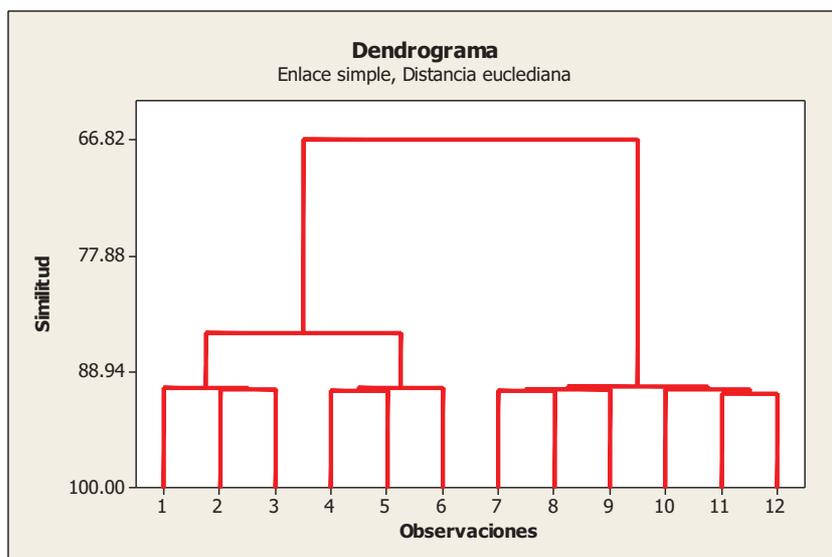


Figura 22. Formación de grupos en base a la concentración de Cadmio (Cd) en suelo de los puntos de muestreo en relación con la distancia aproximada a la boca mina.

5.4.3 Análisis multivariante de los puntos de muestreo.

El análisis de conglomerados o cluster es una técnica multivariante que busca agrupar elementos o variables tratando de lograr la máxima homogeneidad en cada grupo y la mayor diferencia entre los grupos. El dendrograma es la representación gráfica que ayuda a interpretar el análisis cluster de una serie de datos. A continuación se describen mediante esta técnica estadística el análisis de los resultados obtenidos.

Se puede visualizar en la figura anterior que se forman dos grupos definidos constituido el primero por los puntos 7, 8, 11, 12 y 10, y el segundo por 2, 3, 4, 5 quedando separados los puntos 1, 6 y 9.

Tomando en cuenta la Figura 21 que muestra la distribución espacial de las muestras, se observa que los puntos del segundo grupo se encuentran ubicados en las cercanías del túnel

de extracción (boca mina), aproximadamente entre 3 y 20 metros arriba de la entrada principal de la boca mina. El punto 1 se puede presumir que, debido a que era el único individuo presente frente y al mismo nivel del túnel, presenta un comportamiento aislado en referencia a los demás.

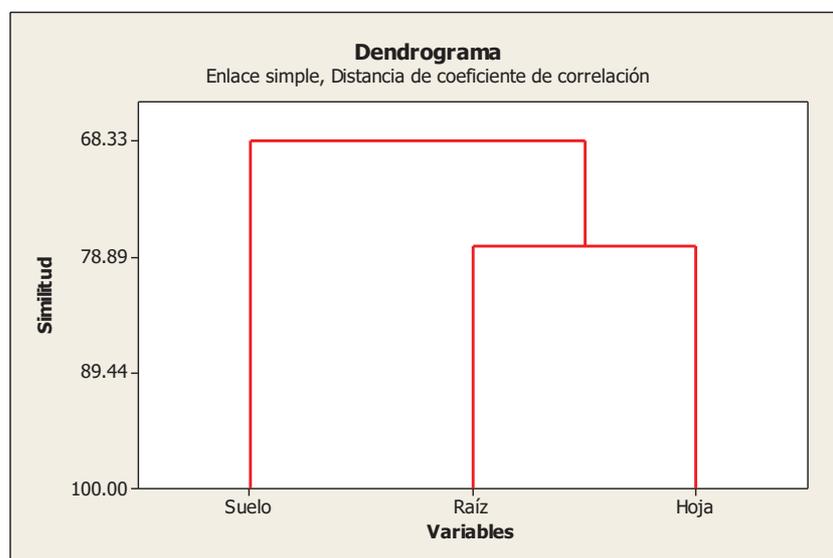


Figura 23. Dendrograma de correlación entre suelo, raíz y hoja.

En el primer escenario, se aplicó análisis multivariante de conglomerados de variables, el cual calcula la correlación que existe entre suelo, raíz y hoja en función de la distancia del coeficiente de correlación, según se muestra en la Figura 23.

Según lo observado la correlación más directa se encuentra entre las concentraciones de raíz y hoja, confirmando que la concentración de Cd en la planta es independiente de la existente en el suelo. Además demuestra que los resultados son congruentes, con respecto a que las concentraciones de Cd de raíz y hoja provienen de las mismas matrices vegetales, ya que son totalmente independientes de la matriz del suelo.

En el segundo escenario, se aplicó análisis de conglomerados de observaciones el cual muestra la correlación existente entre cada punto de muestreo, tomando las 3 variables que componen cada punto y calculando una distancia euclidiana, es decir, una distancia

vectorial entre cada uno de los puntos muestreados. Esta relación vectorial se hace en función de la similitud expresada en forma porcentual lo cual forma grupos definidos según su tendencia. La figura 24 proyecta el dendograma de la interrelación mencionada.

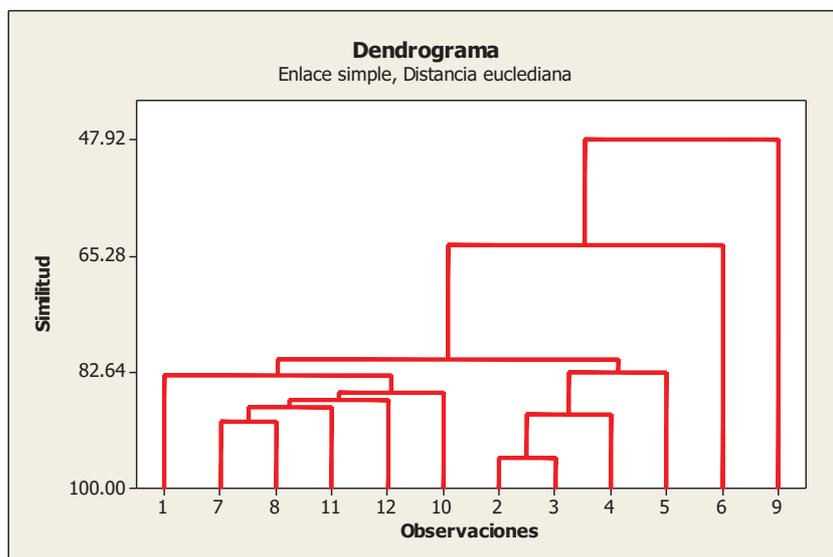


Figura 24. Dendrograma de correlación por cada punto de muestreo.

El primer grupo está conformado por la mayoría de puntos alejados del túnel principal, aproximadamente de 20 a 50 metros de distancia, es decir, que su comportamiento coincide con la lógica empírica de presentar mayor correlación entre puntos distantes.

Con respecto a la anomalía de los puntos 6 y 9, puede existir diferencia debido al tamaño, edad, cantidad de masa aérea o alguna otra variable, asociada a la morfología de la planta, que interfiera con el comportamiento mostrado por los demás puntos.

VI – CONCLUSIONES

1. La especie *Waltheria glomerata* C. Presl., es una especie capaz de acumular mayores concentraciones de Cd en raíz y hoja que las existentes en el suelo circundante al sitio en donde se ha desarrollado, por lo que debe ser catalogada como una especie **pseudometalófito** debido a que también puede desarrollarse también en suelos no contaminados con metales como lo reporta el Smithsonian Tropical Research Institute y como **acumuladora** en base a los resultados que muestran mayor concentración de cadmio (Cd) en la biomasa de la planta que la encontrada en el suelo, coincidiendo con el comportamiento de la especie *Arabis gemmifera* que ha sido reportada en la International Journal of Phytoremediation como una hiperacumuladora de cadmio (Cd) [Kubota, 2003].
2. La metodología idónea para la realización de la bioprospección de plantas metalófitas o pseudometalófitas con el fin de encontrar potenciales remediadoras de suelos contaminados con metales Clase B e Intermedios se basa en: a). Identificación de las zonas contaminadas o con gran probabilidad de contaminación por metales, b) Identificación de la flora circundante al sitio, c) Identificación de potenciales especies metalófitas o pseudometalófitas tomando en cuenta sus características físicas como: i) cantidad significativa de masa aérea la cual no posea daño visible; ii) forma de la raíz; y iii) cantidad de individuos de la misma especie que se hayan desarrollado de forma saludable y d) Selección de las técnicas analíticas adecuadas para la determinación de los metales de interés.
3. Es factible ejecutar bioprospecciones en diferentes zonas contaminadas o potencialmente contaminadas con metales Clase B e Intermedios, ya que existe suficiente biodiversidad vegetal en El Salvador para llevar a cabo más proyectos de tipo exploratorios, que tengan como fin encontrar otras especies capaces de acumular este tipo de especies químicas y utilizarlas como remediadoras de suelos.

4. Tomando en cuenta que los valores para las concentraciones de cadmio (Cd) en suelo de la mina San Sebastián van de 1.367 a 5.374 mg de Cd/kg de masa seca, se encuentra significativamente contaminado con Cd en cantidades considerablemente peligrosas, según parámetros establecidos por algunos países como España en el “Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre”, donde se establece que el valor límite de concentración de cadmio (Cd) es de 1.0 mg/kg de materia seca, para suelos con $\text{pH} < 7$; y 3.0 mg/Kg de materia seca, para $\text{pH} > 7$.

VII – RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio *in vitro* con la especie *Waltheria glomerata* C. Presl., controlando variables como tipo de metal, pH del suelo, concentración del metal, tamaño de la planta, tamaño de raíz, y forma química del metal como sal iónica o estructura complejada.
- Potenciar, a través de la de biología molecular, la reproducción mejorada de la especie *Waltheria glomerata* C. Presl., con el fin de aumentar el rendimiento de absorción de metales Clase B e Intermedios.
- Realizar pruebas piloto en sitios contaminados con metales Clase B e Intermedios con la especie *Waltheria glomerata* C. Presl., monitoreando constantemente la reducción del metal *in situ*.
- Realizar un estudio completo de metales presentes en el suelo de la mina San Sebastián, utilizando Espectroscopia de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo como técnica precisa, sensible, y con un rango de identificación y determinación mucho más completo que la EAA.
- Realizar estudios en los cultivos aledaños a la mina San Sebastián para determinar de, forma cualitativa y cuantitativa, los metales Clase B e Intermedios que puedan ser potencialmente tóxicos para la salud de los pobladores.
- Investigar, de forma exploratoria, otro tipo de especies endémicas de las zonas mineras de El Salvador con el objetivo de encontrar otras especies metalófitas o pseudometalófitas, capaces de acumular metales, útiles para la remediación de suelos contaminados con metales Clase B e Intermedios.

. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adriano D. C. *Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals*. Springer-Verlag. New York, USA **2001**.
- Arisi A. C. M., Mocquot B., Lagriffoul A., Mench M., Foyer C. H., and Jouanin L. *Responses to cadmium in leaves of transformed poplars overexpressing g-glutamylcysteine synthetase*. *Physiologia Plantarum* Vol. 109, no. 2, pp. 143-149 (**2000**).
- Atkins P., and Jones L. *Chemistry-Molecules, Matter and Change, 3rd ed.* W. H. Freeman, New York, USA (**1997**).
- Becerril J.M., Barrutia O., García Plazaola J.I., Hernández A., Olano J.M., Garbisu C. *Especies nativas de suelos contaminados por metales: Aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación*. *Ecosistemas* 16(2): 50-55 (**2007**).
- Beker, A. J. M. *Acumulators and Excluders – Strategies in the Response of Plants to Heavy-Metals*. *J. Plant Nutr.* 3: 643-654 (**1981**).
- Bennet H. (Ed). *Concise Chemical and Technical Dictionary, 4th enlarged ed.* Edward Arnold. London, UK (**1986**).
- Bianchini Flaviano. *Estudio Técnico. Calidad de agua en la zona de explotación minera de San Sebastián, municipio de Santa Rosa de Lima, departamento de La Unión. El Salvador*. CEICOM. El Salvador **2006**.

- Bjerrum N. *Bjerrum's Inorganic Chemistry 3rd Danish ed.* Heinemann, London (1936).
- Brooks R. R., Lee J., Reeves R. D., Jaffre T., *Detection of Nickeliferous Rocks by Analysis of Herbarium Specimens of Indicator Plants.* J. Geochem. Exploration 7: 49-57 (1977).
- Burrell D. C. *Atomic Spectrometric Analysis of Heavy Metal Pollutants in Water.* Ann Arbor Science Publishers. Ann Arbor Michigan (1974).
- Bueno J. C., Sastre H. *Contaminación e ingeniería ambiental. Contaminación de las aguas.* Vol. 3. FICYT. Oviedo, España (1997).
- Chaney R. L., Li Y.-M., Brown S. L., Homer F. A., Malik M., Angle J. S., Baker A. J. M., Reeves R. D., Chin M. *Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction Systems: Approaches and Progress.* Phytoremediation of contaminated Soil and Water (eds Terry, N. y Buñuelos G.), Lewis Publishers, Boca Raton, Florida (2000).
- Colin B. *Química Ambiental.* Reverte S.A. Barcelona, España 2001.
- Davies B. E. *Consequences of environmental contamination by lead mining in Wales.* Hydrobiologia, 49, 213 (1987).
- Duffus J. H. *Heavy metals- A meaningless term?.* Pure Appl. Chem., Vol. 74, No. 5, pp. 793-807 (2002).

- U. S. EPA. *EPA's Terms of Environment*. U. S. Environmental Protection Agency, Washington DC (2000).
- Falbe J., and Regitz M. (eds). *Roempp Chemie Lexikon*. Georg Thieme, Weinheim (1996).
- Fonseca O. *Desarrollo de un analizador automático para la determinación del ión plomo en muestras medioambientales*. Memoria de Investigación. Universitat Autònoma de Barcelona. 2003.
- Gonzalez-Chávez M. C., Carrillo Gonzalez R., Wright S. F., Nichols K. A. *The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements*. Environ Pollut 130 pp. 317-323 (2004).
- Grant R., and Grant C., (Eds). *Grant and Hackh's Chemical Dictionary*. McGraw-Hill, New York, USA (1987).
- Hale W. G., Margham J. P. *Collins Dictionary of Biology*. Collins, Glasgow (1988).
- Harrison P., and Waites G. *The Cassell Dictionary of Chemistry*. Cassell, London, UK (1998).
- Herrera C., Tello M., Ibañez I., Velásquez L., Mancini M., Alvares S. *Digestion proteica con microondas y su aplicación en preparación de muestras para análisis de harina de pescado*. Bol. Soc. Chil. Quím. V.46 No.4 Concepción dic. (2001).

- Hodgson E., Mailman R. B., Chambers J. E. *Macmillan Dictionary of Toxicology*. Macmillan, London (1988).
- Holister G., and Porteous A. (Eds). *The Environment: A Dictionary of the World Around*. Us Arrow, London (1976).
- Hoffman J., Rattner B.A., Burton G.A., Cairns J. *Handbook of Ecotoxicology*. Cemis Publisher. Boca Ratón, USA. 1995.
- Hunt A. *Dictionary of Chemistry*. Fitzroy Dearborn, London (1999).
- Huheey J. E., Keiter E.A., Keiter R. L. *Química Inorgánica: Principios de Estructura y Reactividad, 2da ed.* Harper and Row Latinoamericana, México (1981).
- Irving H., Williams R. J. P. *Order of Stability of Metal Complexes*. Nature, Vol. 162, pp. 746-747 (1948).
- Kidd P.S., Bacerra C., García M., Monterroso C. *Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género Alyssum L.* Ecosistema Vol.16, No.2, pp. 26-43 (2007).
- Kubota H., Takenaka C. *Field note: Arabis gemmifera is a Hyperacummulator of Cd and Zn*. Inter. J. of Phyto. 5(3): 197-201 (2003).
- Larios D. L., Guzmán H., Mira E. *Riesgos y posibles impactos de la minería metálica en El Salvador*. ECA, Vol. 63, No. 711-712, pp. 77-80 (2008).

- Lewis G. N. *Valence and the Structure of Molecules*. The Chemical Catalogue Company, New York (1923).
- Lewis Sr, R. J. *Hawley's Condensed Chemical Dictionary, 12th ed.* Van Nostrand Reinhold, New York (1993).
- Lyman W. J. "Transport and transformation processes" in *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Taylor and Francis, Washington DC (1995).
- Ma L. Q., Komar K. M., Tu C., Zhang W. H., Cai Y., Kennelley E. D. *A fern that hyperaccumulates arsenic*. *Nature*, Vol. 409, pp. 579-580 (2001).
- Macarrulla José M., Goñi Félix M. *Bioquímica humana*. Editorial Revertè, S.A. Baceclona, España (1994).
- M. D. P. *Gold, Pyrite, Sphalerite y Greenockite*. Mineral Data Publishing, version 1 © 2001-2005.
- Mogessie A., Gallien F., Bernhard F., Bauer C., Castro de Machuca B., Meissl E., Bjerg E., Delpino S. *Greenockite and associated sulfide mineralization from the Caledonia Group mines, Blanca Creek, La Huerta Range, San Juan Province, Argentina*. *The Canadian Mineralogist*. Vol. 47, pp. 129-141 (2009).
- Oxford. *Oxford Dictionary of Science, 4th ed.* Oxford University Press, Oxford (1999).

- Parker S. P. *Mc-Graw-Hill Dictionary of Scientific and Technical Terms*, 4th ed. McGraw Hill, New York (1989).
- Pearson R. G. *Hard and soft acids and bases*. J. Am. Chem. Soc. Vol. 85, No.22, pp. 3533-3539 (1963).
- Phipps D. A. “*Chemistry and Biochemistry of Trace Metals in Biological Systems*” in *Effect of Heavy Metals Pollution on Plants*. Applied Science Publishers, Barking (1981).
- Rand G. M., Wells P. G., McCarty L. S. *Introduction to Aquatic Toxicology*” in *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Taylor and Francis, Washington DC (1995).
- Salido A.L., Hasty K.L., Lim J.M., Butcher D. *Phytoremediation of Arsenic and Lead in Contaminated soil Using Brake Ferns (Pteris vittata) and Indian Mustard (Brassica juncea)*. Inter. J. of Phyto. Vol. 5, No. 2 pp. 89-103 (2003).
- Scott J. S., Smith P. G. *Dictionary of Waste and Water Treatment*. Butterworths, London (1981).
- Streit B. *Lexikon der Okotoxologie*. VCH, Weinheim (1994).
- Skoog D. A., Holler F.J., Nieman T. A. Traducido por: Martín G. M. del C., López R. B., Martín C. M. A., Garcedo G., Olives A. L. *Principios de Análisis Instrumental*. 5a. Edición. McGraw-Hill. Madrid, España (2001).

- Thornton I. *Metals in the Global Environment-Fact and Misconceptions*. ICME, Ottawa (1995).
- Van Nostrand. *International Encyclopaedia of Chemical Science*. Van Nostrand, New Jersey (1964).
- Vara M. N., Freitas H. M. *Metal hiperaccumulation in plants- Biodiversity prospecting for phytoremediation technology*. Elec. J. of Biotech., Vol. 6, No. 3, pp. 285-321 (2003).
- Vera G., Paszkowski U. *Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation*. Planta. Vol. 223, No. 6, pp. 1115-1122 (2006).
- Venugopal B., Luchey T. D. *Toxicology of nonradio-active Heavy Metals and their salts” in Heavy Metal Toxicity, Safety and Hermology*. George Thicme, Stuttgart (1975).
- Vidali M. *Bioremediation. An Overview*. Pure Appl. Chem., Vol. 73, No. 7, pp. 1163-1172 (2001).
- Walker P. M. *Chambers Science and Technology Dictionary*. Chambers/Cambridge, Cambridge (1988).
- Webster. *3rd New International Dictionary*. Marriam, Chicago (1976).

PAGINAS WEB

- <http://www.hort.purdue.edu/rhodcv/hort640c/sulfate/sulf6.gif>
- <http://www.stri.si.edu> (Smithsonian Tropical Research Institute)
- http://www.hear.org/pier/locations/pacific_rim/index.html