

ADSORCIÓN DE IONES Cu^{2+} POR QUITOSANA Y SU APLICACIÓN AL SUELO PARA LA PROTECCIÓN DE LAS PLANTAS ANTE LA TOXICIDAD DEL METAL

O. Cartaya[✉], Oraima Marrero, Inés Reynaldo y C. Peniche

ABSTRACT. Some chemical properties of metal adsorption by chitosan are evaluated in this research work. Thus, the power of chitosan adsorption by Cu^{2+} metallic ion was comparatively studied at different pH values and stirring times. The adsorbed Cu^{2+} ion content was determined by atomic absorption, pH 5 being the most appropriate one for its adsorption. On the other hand, several trials were performed to analyze the possibility of chitosan to protect tomato plantlets from toxic levels of Cu^{2+} , so proving a bigger root growth and a height decrease of plants treated with the product, effects counteracting toxicity by Cu^{2+} .

Key words: bioproducts, chitosan, ions, tomatoes

RESUMEN. En este trabajo se evalúan algunas de las propiedades químicas de la adsorción de metales por quitosana. Para ello se estudió comparativamente el poder de adsorción de la quitosana con el ion metálico Cu^{2+} a diferentes pH y tiempos de agitación. El contenido de ion Cu^{2+} adsorbido se determinó por absorción atómica, siendo el pH 5 el más adecuado para su adsorción. Por otra parte, se realizaron ensayos analizando la posibilidad de que la quitosana pudiera proteger a plántulas de tomate cultivadas con niveles tóxicos de Cu^{2+} , evidenciándose un mayor crecimiento radical y una disminución de la altura de las plantas tratadas con el producto, efectos que contrarrestan el efecto de la toxicidad por Cu^{2+} .

Palabras clave: productos biológicos, quitosana, iones, tomate

INTRODUCCIÓN

Como resultado de la sociedad ampliamente industrializada de hoy, se han contaminado grandes áreas de tierra y agua con metales tóxicos, causando serios problemas medioambientales y de salud. Los desechos industriales y mineros son la principal fuente de contaminación medioambiental por los metales pesados. Durante estos años, se ha desarrollado una gama amplia de tecnologías de limpieza para eliminar los metales tóxicos del agua y el suelo (1).

Actualmente, las tecnologías de remediación ampliamente usadas son basadas en los procesos físico-químicos, incluso la filtración, precipitación química, intercambio del ion, adsorción, electro-deposición, y sistemas de membrana para el tratamiento de agua, y la excavación seguida por el entierro a un sitio desechado arriesgado para el tratamiento de la tierra (2). Estas tecnologías tienen una serie de problemas, como pueden ser su alto costo, naturaleza disociadora, e insuficiencia para eliminar los altos niveles de metales en la mayoría de los casos. Recientemente, se consideran tecnologías

biológicas, como la biorremediación y fitorremediación, las soluciones futuras a muchos problemas de contaminación, debido a las ventajas que ellas poseen, siendo de un costo eficaz, no disociadoras y fácil de mantener (3). Aunque existen problemas con estos métodos, cuando los microorganismos no tienen la habilidad para degradar metales sino transformarlos y la fitorremediación solo es eficaz para mantener los niveles de metales en el tiempo (4).

La alta disponibilidad de metales pesados en las plantas induce un estrés iónico, claramente distinguible del estrés salino. Los metales pesados no afectan el crecimiento de las plantas por una disminución significativa del potencial osmótico del sustrato, sino por su propia toxicidad. Un exceso de metales pesados o de sus quelatos solubles puede inducir una serie de alteraciones bioquímicas y fisiológicas, entre las que se encuentra la inhibición del crecimiento de la raíz (5, 6).

En los últimos años se han utilizado reguladores del crecimiento en la fitorremediación de plantas, tales como auxinas y citoquininas, para disminuir la contaminación en las plantas por metales pesados, pues estos reguladores potencialmente incrementan la velocidad de crecimiento y biomasa en plantas hiperacumuladoras (7).

En este contexto, el uso de materiales quelatantes con gran potencial para la adsorción de iones metálicos se ha estudiado ampliamente a nivel de laboratorio, pero no ha sido aplicado en el campo (8, 9). Algunos de los materiales quelatantes son los biopolímeros, que son compuestos de peso molecular alto y también pueden producirse por diferentes organismos vivientes.

Ms.C. O. Cartaya, Investigador Agregado y Dra.C. Inés Reynaldo, Investigador Titular del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal; Oraima Marrero, Especialista de la Dirección de Investigaciones, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, CP 32 700; Dr.C. C. Peniche, Profesor Titular del Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana, Cuba.

✉ ocartaya@inca.edu.cu

Uno de los biopolímeros más abundantes en la biosfera es la quitosana, producto desacetilado de la quitina, la cual es el polisacárido más abundante en la naturaleza que contiene grupos aminos. La capacidad de la quitina, y especialmente la quitosana para secuestrar iones de metales de transición y postransición, ha sido ampliamente descrita en la literatura (10, 11). Esta cualidad ha sido explotada para aplicaciones en la química nuclear, electroquímica, hidrometalurgia y protección del medio ambiente, entre otras (12).

En el presente trabajo se hace un estudio de la capacidad de adsorción de la quitosana (DD 63.5 %), para secuestrar iones metálicos contaminantes de los suelos, con el fin de explorar su posible aplicación como bloqueador del efecto contaminante del Cu^{2+} sobre plantas de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

La quitosana se obtuvo a partir del exoesqueleto branquial de la langosta común (*Panulirus argos*), según metodología propuesta por Ramirez (13). Se seleccionó para el estudio el ion Cu^{2+} , que es uno de los metales contaminantes de los suelos (14, 15).

Estudio de la capacidad de adsorción de Cu^{2+} por la quitosana. Los estudios de adsorción se realizaron partiendo de disoluciones acuosas sintéticas de CuCl_2 a una concentración aproximada de 500 mg.L^{-1} . Se emplearon 500 mL de disolución y los experimentos se llevaron a cabo por duplicado, en *batch*, a una temperatura de la solución de $27 \pm 0,01 \text{ }^\circ\text{C}$ con agitación magnética durante diferentes tiempos. El pH de las soluciones se controló con ácido clorhídrico o hidróxido de sodio a valores de pH 3, 5 y 7.

Posteriormente, las muestras fueron filtradas y el análisis del ion cobre en el filtrado, tomado al principio y al final del experimento, se realizó por absorción atómica (*Perkin Elmer 3110*) a 228.8 nm .

Efecto de la quitosana en las raíces de tomate cultivado con niveles altos de toxicidad. Se utilizaron semillas de tomate de la variedad Amalia germinadas en recipientes plásticos de 0,3 L de capacidad con suelo contaminado con 5 mg Cu(II)/kg de suelo. Los tratamientos fueron:

- ↪ semillas imbibidas durante cuatro horas en agua, suelo sin contaminar (control)
- ↪ semillas imbibidas durante cuatro horas en agua, suelo contaminado
- ↪ semillas imbibidas durante cuatro horas con quitosana 10 mg.L^{-1} , suelo contaminado
- ↪ semillas imbibidas durante cuatro horas con quitosana 20 mg.L^{-1} , suelo contaminado
- ↪ semillas imbibidas durante cuatro horas con quitosana 30 mg.L^{-1} , suelo contaminado

Se utilizaron seis recipientes plásticos por cada tratamiento, con una planta cada uno; el riego se realizó según las exigencias del cultivo.

A los 25 días de germinadas las semillas se evaluaron la longitud radical y altura de la planta.

Los resultados se evaluaron por análisis de varianza de clasificación simple; en caso de diferencias significativas, las medias se compararon según la prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$).

RESULTADOS

* Capacidad de adsorción del Cu^{2+} por la quitosana

La adsorción de iones metálicos es altamente dependiente del pH de la solución, la cual está afectada por la carga superficial del adsorbente, el grado de ionización y las condiciones específicas de cada especie adsorbente (16). El estudio de la adsorción de los iones metálicos por la quitosana se muestra en la Figura 1. De forma general, se demuestra el gran poder de adsorción de los iones Cu por la quitosana a los valores de pH estudiados; además, el pH del medio no afecta el tiempo requerido para alcanzar el equilibrio, pues en todos los casos está aproximadamente entre los 15-30 minutos de iniciado el proceso en las condiciones trabajadas.

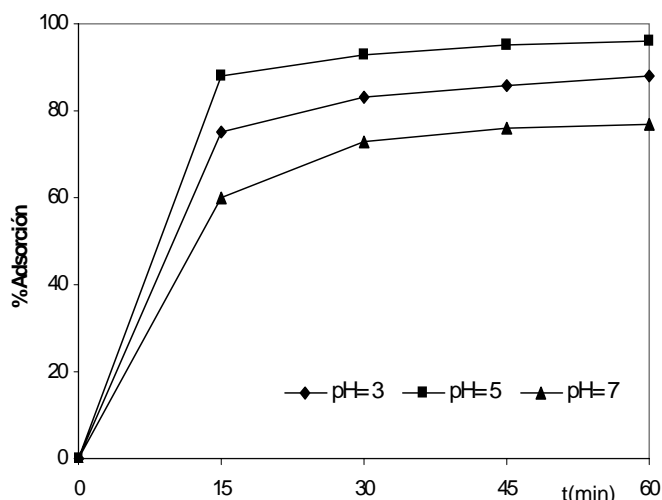


Figura 1. Adsorción de los iones cobre por la quitosana (DD 63.5 %) a pH 3, 5 y 7 a diferentes tiempos de agitación

Por otro lado, se denota la fuerte influencia del pH en la capacidad de adsorción en estas condiciones, debido a su efecto en la superficie del adsorbente y en la química acuosa del ion metálico (17, 18). A los 15 minutos de agitación, el mayor valor de adsorción se mostró a pH 5, el cual se mantiene constante a los otros tiempos de agitación; a valores de pH 3 y 7 se muestra el mismo comportamiento en la adsorción de iones cobre, teniendo el pH 3 mayor poder de adsorción del ion metálico.

A valores de pH por encima de 3, los grupos funcionales del adsorbente se encuentran desprotonados en su mayoría y son capaces de retener cationes metálicos en su superficie. Por otro lado, a valores de pH alrededor de 7 se observa que la eliminación del metal disminuye; esto es debido a la generación de complejos voluminosos.

sos hidroxilados y acuosos a pH mayores de 7, los cuales no solo son menos accesibles a los centros activos del adsorbente, sino también reducen la carga positiva del ion, reduciendo su afinidad por el adsorbente (19, 20).

Se ha planteado que el pH 5 es el idóneo para la adsorción de iones por quitosana, debido a que a valores de pH bajos la quitosana es inestable y a valores de pH altos puede disminuir la adsorción, producto de los cambios que puede sufrir la molécula de quitosana entre la formas protonadas y no protonadas (21).

Los dos modelos de isotermas de adsorción más extensamente utilizados para la recuperación de un único componente, son los correspondientes a las ecuaciones de *Langmuir* y *Freundlich*. Ambos modelos describen una amplia gama de equilibrios de adsorción y permiten una interpretación física sencilla de cómo se producen las interrelaciones entre una sustancia adsorbida (sorbato) y una fase que adsorbe (adsorbente).

En este trabajo, para determinar la capacidad máxima de adsorción de quitosana para el ion Cu²⁺ a los diferentes valores de pH, se emplearon las isotermas adsorción de Langmuir, pues los datos se ajustaron mejor.

$$\frac{C_e}{X} = \frac{C_e}{X_{\max}} + \frac{1}{X_{\max} b} \quad (1)$$

donde: C_e es la concentración de equilibrio en solución de Cu²⁺ (mg.L⁻¹), X es la cantidad de Cu²⁺ adsorbido por masa de adsorbente a la concentración de equilibrio óptima (mg/g), X_{máx} es la adsorción máxima (mg/g) y b es la constante de equilibrio de Langmuir (mg.L⁻¹).

Al plotear C_e/X versus C_e se obtienen X_{máx} y b. Los valores de X_{máx} se encuentran en la Tabla I y se obtienen a partir de la isoterma de Langmuir. La máxima capacidad de adsorción de la quitosana se puede considerar que es igual a X_{máx}; este término corresponde a la máxima cantidad de Cu²⁺ adsorbido sobre la superficie de la quitosana y se obtiene a pH 5.

Tabla I. Valores de las constantes de las isotermas de Langmuir en el proceso de adsorción de iones Cu²⁺ por quitosana a diferentes valores de pH

Valores de pH	Parámetros de Langmuir		
	X _{máx} (mg.g ⁻¹)	b (mg.L ⁻¹)	R ²
3	183, 26	1, 03628	0, 99755
5	231, 48	1, 04386	0, 99907
7	137, 74	1, 03826	0, 99616

La gran afinidad del ion Cu²⁺ por la quitosana se debe en gran medida a la teoría de los ácidos y bases fuertes y débiles; resultados similares se han obtenido al estudiar la adsorción de diferentes iones metálicos por quitosanas mediante las isotermas de Langmuir y Freundlich, al calcular las constantes en el proceso de adsorción (22, 23).

* *Influencia de la quitosana en la amortiguación del efecto tóxico del catión Cu²⁺ en el crecimiento de las raíces de tomate*

En la Figura 2 se muestra el efecto del Cu²⁺ sobre la longitud de la raíz de plantas de tomate tratadas con quitosana. De forma general, se observa la disminución de la longitud radical de las plantas que crecieron en contacto con el ion Cu²⁺. Sin embargo, entre ellas sí puede apreciar que hubo una disminución de la longitud radical en las plantas que crecieron en contacto con el cobre sin aplicación previa de quitosana, en relación con aquellas que sí recibieron tratamiento con el producto. Este comportamiento sugiere que la dosis de 10 mg.L⁻¹ y mayores parecen atenuar la toxicidad o al menos estimula el alargamiento de la raíz principal.

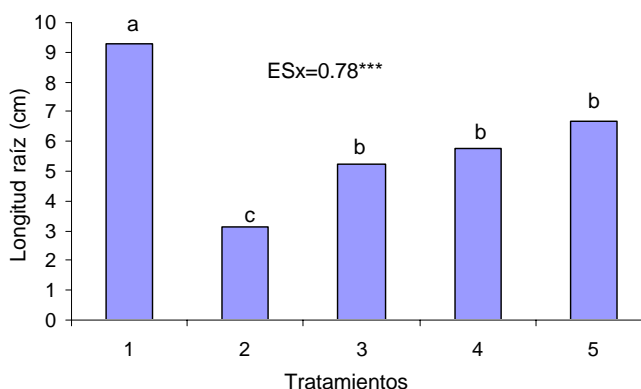


Figura 2. Efecto del Cu²⁺ en la longitud radical de plantas de tomate tratadas con quitosana. 1. Semillas imbibidas durante cuatro horas en agua, suelo sin contaminar (control), 2. Semillas imbibidas durante cuatro horas en agua, suelo contaminado, 3. Semillas imbibidas durante cuatro horas con quitosana 10 mg.L⁻¹, suelo contaminado, 4. Semillas imbibidas durante cuatro horas con quitosana 20 mg.L⁻¹, suelo contaminado, 5. Semillas imbibidas durante cuatro horas con quitosana 30 mg.L⁻¹, suelo contaminado

Resultados de la literatura demuestran que las raíces de las plantas se acortan y engrosan, debido a que los iones metálicos actúan directamente sobre el metabolismo, interfiriendo en la transferencia de iones a través de las membranas celulares, lo cual afecta posteriormente la habilidad de la planta para la absorción de agua y nutrientes del suelo (24).

La mayor longitud de las raíces de las plantas a las que se les aplicó quitosana, con respecto a las crecidas en un medio contaminado sin este producto, puede ser consecuencia de la posible formación de quelatos, los cuales incrementan la traslocación de metales del sustrato a la planta, que no permite apreciar el efecto estimulador del crecimiento que también posee la quitosana y que ha sido observado en diferentes cultivos (25, 26, 27).

Los resultados de la Figura 3 indican que las plantas que crecieron en un medio contaminado con cobre sin aplicación de productos disminuyeron su crecimiento en altura, en relación con las plantas que crecieron en un medio con condiciones normales, lo que reitera el efecto fitotóxico de este ion en plantas de tomate.

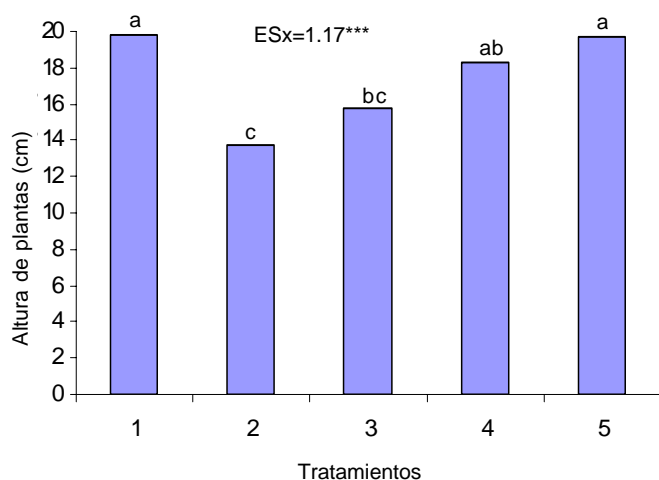


Figura 3. Efecto del Cu^{2+} en altura de plantas de tomate tratadas con quitosana. 1. Semillas imbibidas durante cuatro horas en agua, suelo sin contaminar (control), 2. Semillas imbibidas durante cuatro horas en agua, suelo contaminado, 3. Semillas imbibidas durante cuatro horas con quitosana 10 mg.L^{-1} , suelo contaminado, 4. Semillas imbibidas durante cuatro horas con quitosana 20 mg.L^{-1} , suelo contaminado, 5. Semillas imbibidas durante cuatro horas con quitosana 30 mg.L^{-1} , suelo contaminado

Sin embargo, las plantas procedentes de las semillas donde se aplicaron diferentes niveles de quitosana, tratamientos 4 y 5, alcanzaron alturas superiores a aquellas donde no se aplicó el producto, aun cuando estas crecieron en presencia de exceso de Cu^{2+} en el medio. Se puede apreciar también que en la medida en que aumenta la concentración de quitosana aplicada a las semillas, se produce una tendencia al aumento de la altura de las plantas; estos resultados parecen indicar que la quitosana estimula el crecimiento en altura (28).

Estos resultados son muy promisorios, por lo que se debe continuar profundizando en la interacción de este producto en las plantas, para poder dilucidar cuál es el mecanismo mediante el que se puede disminuir el efecto de los metales pesados en las plantas y establecer una metodología para el secuestro de los iones, a partir del conocimiento de la factibilidad de la utilización de diferentes derivados de quitosanas y, de esta forma, contar con una vía para la fitorremediación de plantas cultivadas en un medio con altos niveles de metales pesados, utilizando productos ecológicamente inocuos (29, 30).

REFERENCIAS

1. Chu, K. H. Removal of copper from aqueous solution by chitosan in prawn shell: Adsorption equilibrium and kinetics. *Journal of Hazardous Materials*, 2002, vol. 90, p. 77-95.
2. Petrisor, I. G.; Komnitsas, K.; Lazar, I.; Voicu, A.; Dobrota, S. y Stefanescu, M. Biosorption of heavy metals from leachates generated at mine waste disposal sites. *The European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection-Biotreatment and Biosorption I-Special Issue*, 2002, vol. 2, no. 3, p. 158-167.
3. Cusato, M.; Tortosa, R.; Bartoloni, N.; Valiente, L. y Puelles, M. Fitorremediación: Empleo de *Discaria americana*. Consultado [24 de marzo de 2005]. Disponible en: <w.w.w.dsostenible.com.ar.>.
4. Barcelo, J. Perspectivas actuales de la fitorremediación. *Anuari Reial. Academia de Catalunya*. 2003, vol. 47, p. 13-45.
5. Cuevas, G. y Walter, I. Metales pesados en maíz (*Zea mays* L.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 2004, 20, no. 2, p. 59-68.
6. Pérez, I.; Moreno, A. M. y González, J. Índices de acumulación de metales pesados en granos y hojas de trigo. *Schironia*, 2004, no. 3, p. 5-9.
7. Navarro, J. P.; Aquilar, I. A y López-Moya, J. R. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 2007, p. 1-17.
8. Toshio, Y.; Keiko, S. y Rumiko, F. Pectin-based superabsorbent hydrogels crosslinked by some chemicals: synthesis and characterization. *Polymer Bulletin*, 2005, vol. 55, p. 123-129.
9. Badawy, M. E. I.; Rabea, E. I.; Rogge, T. M.; Stevens, C. V.; Smaghe, G.; Steurbaut, W. y Hofte, M. Synthesis and fungicidal activity of new N, O-Acyl chitosan derivatives. *Biomacromolecules*, 2004, vol. 5, p. 589-595.
10. Meng-Wei, W.; Petrisor, I. G.; Hsuan-Ting, L. y Daeik-Kim, T. F. Y. Copper adsorption through chitosan immobilized on sand to demonstrate the feasibility for *in situ* soil decontamination. *Carbohydrate Polymers*, 2004, vol. 55, p. 249-254.
11. Varma, A. J.; Deshpande, S. V. y Kennedy, J. K. Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. *Carbohydrate Polymers*, 2004, vol. 55, p. 77-93.
12. Reynaldo, I.; Cartaya, O.; y Utría, E. Los metales pesados, una amenaza para la vida. *Agricultura Orgánica*, 2002, vol. 3, p. 5-9.
13. Ramírez, M. A.; Cabrera, G.; Gutiérrez, A. y Rodríguez, T. Metodología de obtención de quitosana a bajas temperaturas a partir de langosta. *Cultivos Tropicales*, 2000, vol. 21, no. 1, p. 81-84.
14. Muñoz, O. Heavy metal pollution in a Rhodic Ferralsol of Cuba. En: Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium. Ed. by University of Hannover, 2001.
15. Angarica, E. Los metales pesados de ocho perfiles de un vertisuelo gris amarillento de la zona norte del oriente de Cuba. En: Congres. Latinoamer. y Congres. Cubano de la Ciec. del Suelo. (15,5:2001:La Habana), 2001. p. 162.

16. Rabea, E. I.; Badawy, M. E. T.; Rogge, T. M.; Stevens, C. V.; Smaghe, G.; Hořte, M. y Steurbaut, W. En: Proceedings of the International Chitin-Chitosan Conference; Montreal, Canada. (9:2003), 2003. p. 103.
17. Navarro, A. E.; Ramos, K.; Campos, K.; Llanos, B. y Maldonado, H. Contribución del pH en la remoción de iones tóxicos de soluciones acuosas. *Revista de Química*, 2005, vol. 19, p. 53-59.
18. Reyes, E.; Cerino, F. y Suárez M. Remoción de metales pesados con carbón activado como soporte de biomasa. *Ingenierías*, 2006, vol. 9, p. 59-64.
19. Li, Y.; Di, Z.; Ding, J.; Wu, D.; Luan, Z. y Zhu, Y. Adsorption thermodynamic, kinetic and desorption studies of Pb^{2+} on carbon nanotubes. *Water Research*, 2005, vol. 39, p. 605-609.
20. Navarro, A. E.; Ramos, K. P.; Agapito, R. y Cuizano, N. A. Propiedades ácido-básicas de *Lentinus edodes* y cinética de biosorción de Cadmio (II). *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 2006, vol. 2, no. 2, p. 47-54.
21. Tsaih, M. L. y Chen, R. H. Effect of molecular weight and urea on the conformation of chitosan molecules in dilute solutions. *Int. J. Biol. Macromol.* 1997, vol. 20, p. 233-240.
22. Rudrapatnam, N.; Tharanathan, R. N. y Kittur, F. S. Chitin-the undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2003, vol. 43, no. 1, p. 61-87.
23. Liu, H.; Du, Y. y Wang, X. Adsorption of Cu (II) and Cr (VI) ions by chitosan: Kinetics and equilibrium studies. *Carbohydr Polym*, 2004, p. 55-291.
24. Budiková, S.; Ciamporová, M.; Ověcka, M. y Polonyi, J. Structural characterization of maize root tip cell under aluminium stress. *Acta FRN Univ. Comen.*, 1997, vol. 29, p. 47-52.
25. Alkorta, I.; Hernández-Allica, J.; Becerril, I.; Amezaga, I.; Albizu, I.; Onaindia, M. y Garbisu, C. Chelate-enhanced phytoremediation of soil polluted with heavy metals. *Environment Science and Bio.*, 2004, vol. 100, p. 1-16.
26. Marrero, M. T.; Reynaldo, I.; Cabrera, G. y Martínez, M. Hidrolizado de quitosana como estimulador del crecimiento de vitroplantas de naranjo agrio (*Citrus aurantium*). *Cultivos Tropicales*, 1999, vol. 19, no. 1, p. 38-39.
27. Rodríguez, A. T.; Ramírez, M. A.; Falcón, A.; Guridi, F. y Cristo, E. Estimación de algunas enzimas relacionadas con la defensa en plantas de arroz (*Oryza sativa*, L.) obtenidas en semillas tratadas con quitosanas. *Cultivos Tropicales*, 2004, vol. 25, no.3, p. 111-115.
28. Hernández, I.. La quitosana, un producto bioactivo de diversas aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 2004, vol. 25, no. 3, p. 97-110.
29. Marrero, O. Efecto de productos naturales en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. Amalia) crecidas en un medio contaminado con cobre. [Trabajo de Diploma]; UNAH, 2005.
30. Heng-Wei, W.; Petrisor, I.; Hsuan-Ting, L.; Daeik, K. y Tech Fu, Y. Copper adsorption chitosan immobilized on sand to demonstrate the feasibility for *in situ* soil decontamination. *Carbohydrate Polymer*, 2004, vol. 55, p. 249-254.

Recibido: 7 de septiembre de 2007

Aceptado: 8 de octubre de 2008

CURSOS DE POSGRADO

Precio: 250 CUC

Producción de plantas ornamentales con el empleo de alternativas orgánicas

*Coordinador: M.s.C. María Regla Soroa Bell
Dra.C. Sara Cortés Hernández*

Fecha: a solicitud

SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (47) 86-3773
Fax: (53) (47) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu