

**Universidad Católica de Santa María**

**Escuela de Postgrado**

**Maestría en Química del Medio Ambiente**



**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FITORREMEDIACIÓN DE  
*Chenopodium album L.* (LICCHA) EN AGUAS CONTAMINADAS CON  
MERCURIO, PLOMO Y CADMIO.**

Tesis presentada por la Bachiller:

**Flores Calla, Susan Sofia**

Para optar el Grado Académico de:

**Maestro en Química del Medio  
Ambiente**

Asesor:

**Dr. Bernabé Ortiz, Julio César**

**AREQUIPA – PERÚ**

**2017**

**DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE**

Sr. Dr.:  
Hugo Tejada Pradell  
Director de la Escuela de Postgrado de la UCSM  
Presente-

De mi mayor consideración:

En atención al nombramiento como Dictaminador del Borrador de Tesis presentado por la Bachiller Susana Sofía Flores Calla con el que pretende optar el grado Académico de Maestro en Química del Medio Ambiente, debo informar que el trabajo intitulado "Evaluación de la capacidad de fitorremediación de *Chenopodium album* L. (Liccha) en aguas contaminadas con mercurio, plomo y cadmio", ha sido desarrollado de acuerdo a los objetivos trazados y se han hecho las correcciones de forma y fondo correspondientes, encontrándose apto para su sustentación, por lo que doy mi dictamen aprobatorio.

Atentamente

Arequipa 06 de noviembre del 2017

  
Dr. Gonzalo Dávila del Carpio



**DICTAMEN DE ACEPTACIÓN DE BORRADOR DE TESIS PARA OPTAR EL  
GRADO DE MAGISTER EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE**

Sr. Dr.:

Hugo Tejada Pradell

Director de la Escuela de Posgrado de la UCSM

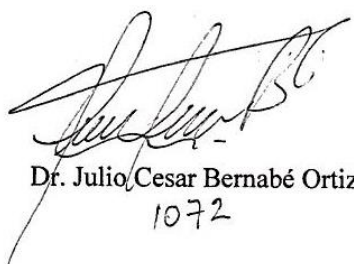
Presente.-

De mi mayor consideración:

En atención al nombramiento como Dictaminador del Borrador de Tesis presentado por la bachiller Susana Sofía Flores Calla,

Con el que pretende optar el grado de Académico de Maestro en Química del Medio Ambiente, se informa que el trabajo intitulado "Evaluación de la capacidad de fitorremediación de *Chenopodium album* (Liccha) en agua contaminada con mercurio, plomo y cadmio", se encuentra apto para su sustentación, por lo que doy mi dictamen aprobatorio.

Atentamente



Dr. Julio Cesar Bernabé Ortiz  
1072



INFORME No. 008-2017-LAPS

A : **Dr. Hugo Tejada Pradell**  
Director de la Escuela de Post Grado  
Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

DE : Prof. Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.

ASUNTO : Informe de Dictamen de Borrador de Tesis “EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FITORREMEDIACIÓN DE *Chenopodium album* L. (LICCHA) EN AGUAS CONTAMINADAS CON MERCURIO, PLOMO Y CADMIO”, presentado por la Bachiller SUSAN SOFIA FLORES CALLA, para optar el grado de Maestro en Química del Medio Ambiente.

FECHA : Arequipa, 31 de Octubre del 2017.

---

Tengo a bien dirigirme a usted, con la finalidad de informarle sobre el asunto, lo siguiente; después de haber revisado y evaluado el mencionado borrador de tesis intitulado “EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FITORREMEDIACIÓN DE *Chenopodium album* L. (LICCHA) EN AGUAS CONTAMINADAS CON MERCURIO, PLOMO Y CADMIO”, soy de la opinión de APROBAR en el formado actual.

Es todo cuanto tengo que informar sobre el particular quedando en espera para cualquier esclarecimiento.

Atentamente,



Prof. Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.  
DNI 29546298  
Dictaminador



## DEDICATORIA

*A Dios por darme el conocimiento y capacidad necesarios para siempre luchar y alcanzar mis metas, por brindarme todo lo que tengo y bendecirme siempre.*

*Con todo mi amor, a mis padres Guillermo Alejandro Flores Lovera y Asunción Encarnación Calla Calderón, quienes con todo su esfuerzo me apoyaron y me educaron, dándome la oportunidad de crecer, por su incondicional amor y paciencia; que este triunfo sea un regalo al gran esfuerzo que han realizado por mí, Dios los bendiga siempre. Los amo.*

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios por iluminar mi camino, guiar y bendecir mi vida en todo momento.*

*A mis padres, Guillermo y Asunción, por estar incondicionalmente conmigo.*

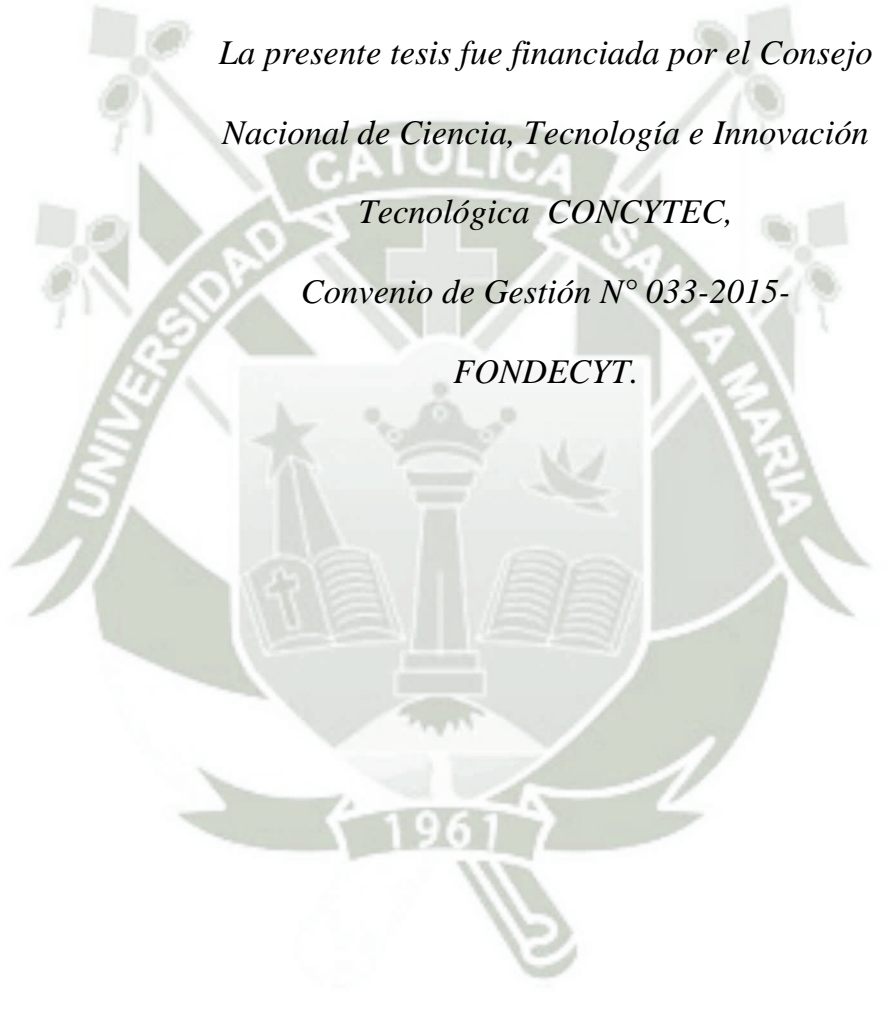
*A mi hermana, Angela, por apoyarme siempre.*

*Al Dr. José Antonio Villanueva Salas, por brindarme sus conocimientos y ayuda en momentos determinados.*

*A mis compañeros de Maestría.*

*Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica por darme la oportunidad de estudiar esta maestría.*

*Gracias a todos por confiar y brindarme su apoyo en todo momento.*



*La presente tesis fue financiada por el Consejo  
Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación  
Tecnológica CONCYTEC,  
Convenio de Gestión N° 033-2015-  
FONDECYT.*

## ÍNDICE

### CAPÍTULO I

#### MARCO TEÓRICO..... 1

1.1. CONTAMINACIÓN DEL MEDIO AMBIENTE.....	1
1.1.1. METALES PESADOS .....	2
1.1.1.1. MERCURIO.....	3
1.1.1.2. PLOMO.....	7
1.1.1.3. CADMIO.....	10
1.2. FITORREMEDIACIÓN.....	14
1.3. <i>Chenopodium album L.</i> (LICCHA).....	19
1.4. ESPECTROFOTOMETRÍA DE PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP – OES). .....	21

### CAPÍTULO II

#### MATERIALES Y MÉTODOS..... 23

2.1. MATERIALES .....	23
2.2. METODOLOGÍA.....	25
2.2.1. RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL .....	25
2.2.2. IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL.....	25
2.2.3. PROPAGACIÓN DE <i>Chenopodium album L.</i> .....	25
2.2.4. ADAPTACIÓN DE <i>Chenopodium album L.</i> .....	25
2.2.5. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO .....	28
2.2.6. ENSAYO DE FITOTOXICIDAD .....	30
2.2.7. ENSAYO DE BIOACUMULACIÓN .....	31
2.2.8. TRATAMIENTO Y DIGESTIÓN DE MUESTRAS.....	31

2.2.9. DETERMINACIÓN DE MERCURIO, PLOMO Y CADMIO POR EL MÉTODO ICP - OES.....	32
2.2.10 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	32

### **CAPÍTULO III**

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>34</b>
------------------------------------	-----------

3.1. IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL .....	34
3.2. PROPAGACIÓN DE <i>Chenopodium album</i> L.....	34
3.3. ADAPTACIÓN DE <i>Chenopodium album</i> L. ....	37
3.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	41
3.5. ENSAYO DE FITOTOXICIDAD.....	53
3.5.1. MERCURIO.....	57
3.5.2. PLOMO.....	60
3.5.3. CADMIO .....	63
3.6. ENSAYO DE BIOACUMULACIÓN .....	66
3.6.1. MERCURIO.....	66
3.6.2. PLOMO.....	79
3.6.3. CADMIO .....	92

### **CAPÍTULO IV**

<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>107</b>
---------------------------	------------

<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>109</b>
---------------------------	------------

<b>ANEXOS .....</b>	<b>119</b>
---------------------	------------

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Toxicocinética del mercurio .....	6
<b>FIGURA 2.</b> Toxicocinética del plomo .....	9
<b>FIGURA 3.</b> Toxicocinética del cadmio.....	13
<b>FIGURA 4.</b> <i>Chenopodium album</i> L. (Liccha).....	20
<b>FIGURA 5.</b> Esquema del equipo ICP.OES .....	22
<b>FIGURA 6.</b> Propagación de <i>Chenopodium album</i> .....	36
<b>FIGURA 7.</b> Tratamientos de adaptación de <i>Chenopodium album</i> .....	40
<b>FIGURA 8.</b> Representación gráfica de la linealidad del método para la determinación de mercurio, plomo y cadmio. ....	45
<b>FIGURA 9.</b> Ensayo de fitotoxicidad.....	55
<b>FIGURA 10.</b> Curva de bioacumulación de mercurio de la parte radicular y aérea de <i>Chenopodium album</i> , en solución pura del metal. ....	69
<b>FIGURA 11.</b> Plantas de <i>Chenopodium album</i> a los 30 días de bioacumulación de mercurio.....	71
<b>FIGURA 12.</b> Curva de bioacumulación de mercurio en la parte radicular y aérea de <i>Chenopodium album</i> , en solución mixta de metales.....	75
<b>FIGURA 13.</b> Curva de bioacumulación de plomo en la parte radicular y aérea de <i>Chenopodium album</i> , en solución pura del metal.....	82
<b>FIGURA 14.</b> Plantas de <i>Chenopodium album</i> a los 30 días de bioacumulación de plomo. ....	84
<b>FIGURA 15.</b> Curva de bioacumulación de plomo en la parte radicular y aérea de <i>Chenopodium album</i> , en solución mixta de metales. ....	88
<b>FIGURA 16.</b> Curva de bioacumulación de cadmio en la parte radicular y aérea de <i>Chenopodium album</i> , en solución pura del metal.....	95
<b>FIGURA 17.</b> Plantas de <i>Chenopodium album</i> a los 30 días de bioacumulación de cadmio.....	97
<b>FIGURA 18.</b> Curva de bioacumulación de cadmio en la parte radicular y aérea de <i>Chenopodium album</i> , en solución mixta de metales. ....	101

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1.</b>	Mecanismos de fitorremediación. ....	18
<b>TABLA 2.</b>	Sistema de adaptación .....	27
<b>TABLA 3.</b>	Tratamiento de bioacumulación de mercurio, plomo y cadmio.....	33
<b>TABLA 4.</b>	Preparación de estándares .....	43
<b>TABLA 5.</b>	Intensidad de estándares para mercurio, plomo y cadmio.....	44
<b>TABLA 6.</b>	Análisis de regresión lineal .....	46
<b>TABLA 7.</b>	Precisión: desviación estándar y porcentaje de coeficiente de variación. ....	48
<b>TABLA 8.</b>	Exactitud: porcentaje de recuperación analítico absoluto promedio.....	50
<b>TABLA 9.</b>	Límite de detección y cuantificación. ....	52
<b>TABLA 10.</b>	Escala de grados de toxicidad. ....	56
<b>TABLA 11.</b>	Escala de toxicidad a diferentes concentraciones de mercurio en <i>Chenopodium album</i> .....	58
<b>TABLA 12.</b>	Bioacumulación de mercurio en la parte radicular y aérea de <i>Chenopodium album</i> .....	59
<b>TABLA 13.</b>	Escala de toxicidad a diferentes concentraciones de plomo en <i>Chenopodium album</i> .....	61
<b>TABLA 14.</b>	Bioacumulación de plomo en la parte radicular y aérea de <i>Chenopodium album</i> .....	62
<b>TABLA 15.</b>	Escala de toxicidad a diferentes concentraciones de cadmio en <i>Chenopodium album</i> .....	64
<b>TABLA 16.</b>	Bioacumulación de cadmio en la parte radicular y aérea de <i>Chenopodium album</i> .....	65
<b>TABLA 17.</b>	Bioacumulación de mercurio en <i>Chenopodium album</i> . ....	68
<b>TABLA 18.</b>	Análisis estadístico para el tratamiento T1 (parte radicular y aérea). ....	70
<b>TABLA 19.</b>	Bioacumulación de mercurio en <i>Chenopodium album</i> , en solución mixta de metales. ....	74

<b>TABLA 20.</b>	Análisis estadístico para el tratamiento T4 para mercurio (parte radicular y aérea), en solución mixta de metales.....	76
<b>TABLA 21.</b>	Análisis estadístico para los tratamientos T1 y T4 (parte radicular).....	77
<b>TABLA 22.</b>	Análisis estadístico para los tratamientos T1 y T4 (parte aérea).....	78
<b>TABLA 23.</b>	Bioacumulación de plomo en <i>Chenopodium album</i> .....	81
<b>TABLA 24.</b>	Análisis estadístico para el tratamiento T2 (parte radicular y aérea). ....	83
<b>TABLA 25.</b>	Bioacumulación de plomo en <i>Chenopodium album</i> , en solución mixta de metales. ....	87
<b>TABLA 26.</b>	Análisis estadístico para el tratamiento T4 para plomo (parte radicular y aérea), en solución mixta de metales.....	89
<b>TABLA 27.</b>	Análisis estadístico para los tratamientos T2 y T4 (parte radicular).....	90
<b>TABLA 28.</b>	Análisis estadístico para los tratamientos T2 y T4 (parte aérea).....	91
<b>TABLA 29.</b>	Bioacumulación de cadmio en <i>Chenopodium album</i> .....	94
<b>TABLA 30.</b>	Análisis estadístico para el tratamiento T3 (parte radicular y aérea). ....	96
<b>TABLA 31.</b>	Bioacumulación de cadmio en <i>Chenopodium album</i> , en solución mixta de metales. ....	100
<b>TABLA 32.</b>	Análisis estadístico para el tratamiento T4 para cadmio (parte radicular y aérea), en solución mixta de metales.....	102
<b>TABLA 33.</b>	Análisis estadístico para los tratamientos T3 y T4 (parte radicular).....	103
<b>TABLA 34.</b>	Análisis estadístico para los tratamientos T3 y T4 (parte aérea).....	104

## ABREVIATURAS

Hg: Mercurio.

Pb: Plomo.

Cd: Cadmio.

ICP-OES: Espectrofotometría de plasma acoplado inductivamente.

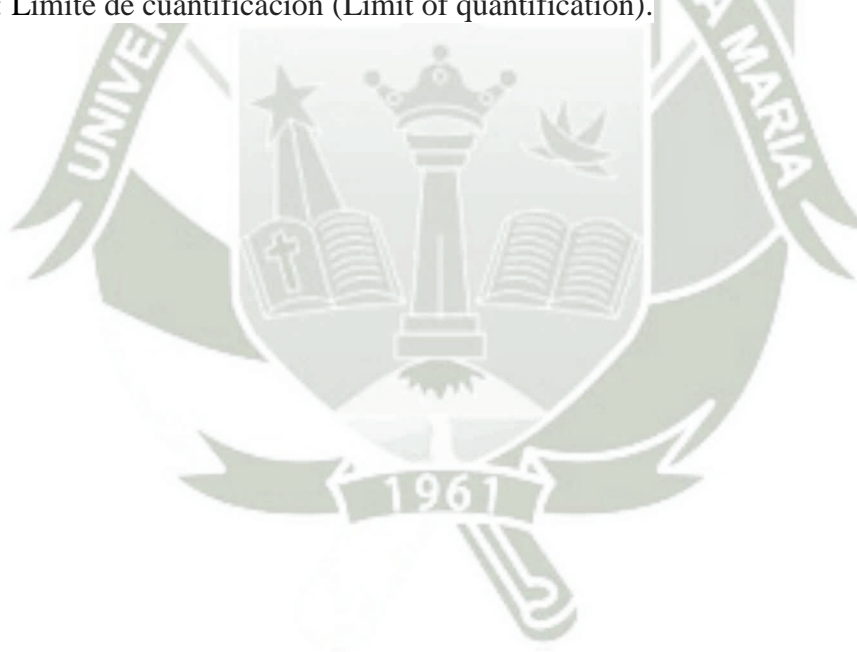
ICH: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.

% RSD: Porcentaje de desviación estándar relativa.

% R: Porcentaje de recuperación analítico absoluto promedio.

LD: Límite de detección (Limit of detection).

LC: Límite de cuantificación (Limit of quantification).

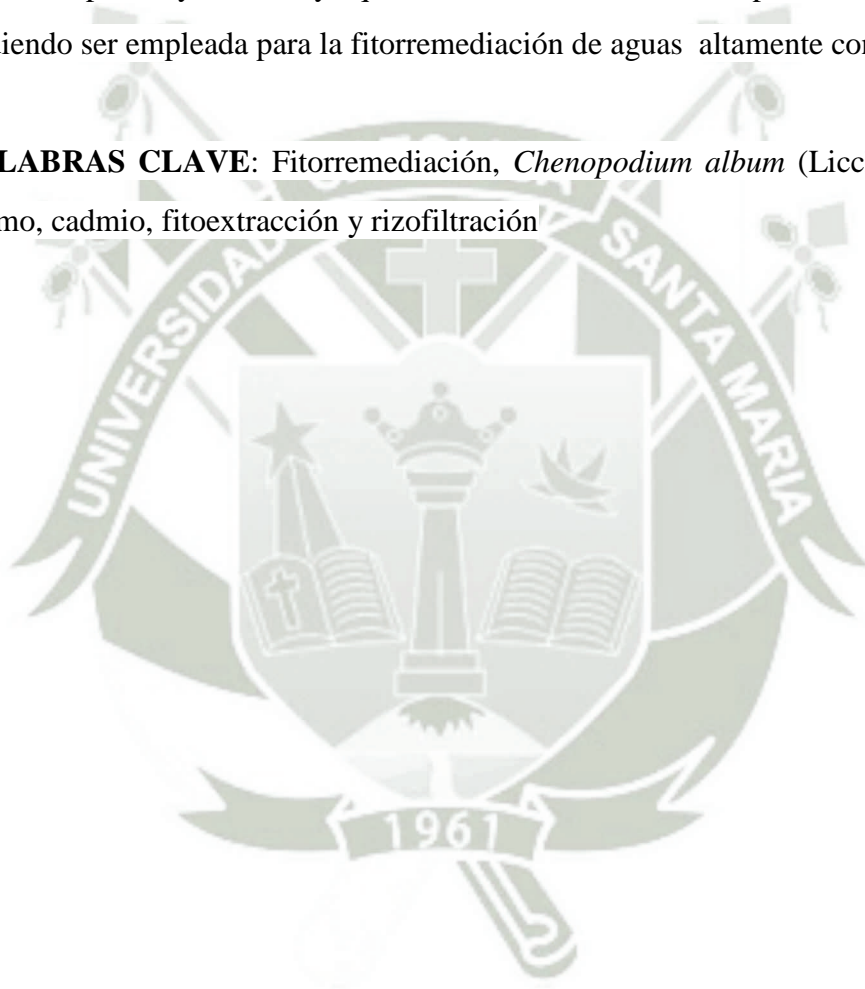


## RESUMEN

Los metales no son biodegradables y persisten en el medio ambiente, la liberación industrial acumulada en el medio ambiente ha sido masiva, contaminando los ecosistemas, como el agua. Ésta investigación, tiene como objetivo la evaluación de la capacidad fitorremediadora de *Chenopodium album* (Liccha), en aguas contaminadas con mercurio, plomo y cadmio. Primero, se llevó a cabo la propagación de *Chenopodium album* por esquejes; para la adaptación, se probaron 3 concentraciones del medio nutritivo de Hoagland (25, 50 y 100%), siendo la óptima al 25%. Se realizaron ensayos de fitotoxicidad por triplicado durante 20 días, analizando 3 concentraciones: 1, 5 y 10 mg.L<sup>-1</sup> para mercurio; y 5, 10 y 15 mg.L<sup>-1</sup> para plomo y cadmio. Se caracterizaron los grados de toxicidad y se determinaron las concentraciones óptimas de bioacumulación (a las que la planta presentó mayor resistencia y acumulación): 5 mg.L<sup>-1</sup> para mercurio, y 10 mg.L<sup>-1</sup> para plomo y cadmio; a la máxima concentración de cada metal, mostraron síntomas de clorosis y senescencia temprana. Finalmente, se realizó el ensayo de bioacumulación por triplicado; con 5 tratamientos: T0 (0 mg.L<sup>-1</sup>), T1 (5 mg.L<sup>-1</sup> Hg), T2 (10 mg.L<sup>-1</sup> Pb), T3 (10 mg.L<sup>-1</sup> Cd) y T4 (5 mg.L<sup>-1</sup> Hg, 10 mg.L<sup>-1</sup> Pb y Cd), determinando la concentración de cada metal acumulado en la planta cada 5 días, durante 30 días,

mediante la técnica de Espectroscopia de Plasma Acoplado Inductivamente ICP – OES, previa validación del método analítico. Así se determinó la máxima acumulación a los 15 días, en la parte radicular y aérea para Hg: 21808.046 mg.Kg<sup>-1</sup> y 105.360 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente; para Pb: 17112.069 mg.Kg<sup>-1</sup> y 29.250 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente; y para Cd: 9756.322 mg.Kg<sup>-1</sup> y 287.728 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente. En el tratamiento T4, la capacidad de acumulación fue de: 77% para Hg, 9% para Pb y 30% para Cd. Ésta planta, tiene la capacidad de fitoextracción y rizofiltración de mercurio, plomo y cadmio, ya que acumula los metales en la parte aérea y radicular, pudiendo ser empleada para la fitorremediación de aguas altamente contaminadas.

**PALABRAS CLAVE:** Fitorremediación, *Chenopodium album* (Liccha), mercurio, plomo, cadmio, fitoextracción y rizofiltración





## ABSTRACT

Metals are not biodegradable and persist in the environment; industrial release accumulated in the environment has been massive, polluting ecosystems such as water. This research aims to evaluate the phytoremediative capacity of *Chenopodium album* (Liccha) in waters contaminated with mercury, lead and cadmium. First, the *Chenopodium album* was propagated by cuttings; for adaptation, 3 concentrations of Hoagland nutrient medium (25, 50 and 100%) were tested, the optimum being 25%. Phytotoxicity assays were performed in triplicate for 20 days, analyzing 3 concentrations: 1, 5 and 10mg.L<sup>-1</sup> for mercury; and 5, 10 and 15mg.L<sup>-1</sup> for lead and cadmium. The degrees of toxicity are characterized and determine the optimum concentrations of bioaccumulation (to which the plant has the highest resistance and accumulation): 5 mg.L<sup>-1</sup> mercury, and 10 mg.L<sup>-1</sup> lead and cadmium; at the maximum concentration of each metal, they showed symptoms of chlorosis and early senescence. Finally, the bioaccumulation test was performed by triplicate; with 5 treatments: T0 (0 mg.L<sup>-1</sup>), T1 (5 mg.L<sup>-1</sup> Hg), T2 (10 mg.L<sup>-1</sup> Pb), T3 (10 mg.L<sup>-1</sup> Cd) y T4 (5 mg.L<sup>-1</sup> Hg, 10 mg.L<sup>-1</sup> Pb y Cd), determining the concentration of each metal accumulated in the plant every 5 days, during 30 days, by the technique of Plasma Spectroscopy by Inductive Coupling ICP-OES, previous validation of the analytical method. Thus, the maximum accumulation at 15 days was determined in the root and

aerial part; for Hg: 21808.046 mg.Kg<sup>-1</sup> and 105.3600 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectively; for Pb: 17112.069 mg.Kg<sup>-1</sup> and 29.2500 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectively; and for Cd: 9756,322 mg.Kg<sup>-1</sup> and 287.728 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectively. In T4 treatment, the accumulation capacity was: 77% for Hg, 9% for Pb and 30% for Cd. This plant has the capacity of phytoextraction and rizofiltration of mercury, lead and cadmium, since it accumulates the metals in the Aerial and root, and can be used for the phytoremediation of highly contaminated waters.

**KEY WORDS:** Phytoremediation, *Chenopodium album* (Liccha), mercury, lead, cadmium, phytoextraction and rizofiltration



## INTRODUCCIÓN

El agua es el compuesto más importante y uno de los principales constituyentes de la naturaleza y de los seres vivos. La contaminación del agua, es uno de los mayores problemas a los que se enfrenta la población actualmente.

El desarrollo global en las últimas décadas ha estado caracterizado por un incremento rápido en la utilización de sustancias químicas asociadas con diferentes tipos de actividades: industrial, urbana, comercial y agrícola (Farré, Martínez, & Barceló, 2007). Las principales fuentes de contaminación del agua, son las actividades industriales; éstas, generan distintos productos tóxicos, como resultado del mal manejo de sus residuos, terminando en ríos, lagos y acuíferos, los cuales alteran la calidad natural del agua, poniendo en alto riesgo el abastecimiento de agua potable, el riego y la pesca (Echarri, 2007).

Uno de los problemas ambientales más serios, es la contaminación del agua por la presencia de metales pesados, los cuales son tóxicos y capaces de alterar el metabolismo, provocando graves trastornos teratogénicos y carcinógenos.

A pesar de sus efectos nocivos, las especiales características físicas que poseen estos metales, hacen que su empleo siga actualmente muy extendido, por lo que es importante el desarrollo de procesos que permitan el tratamiento de aguas contaminadas.

Existen varios métodos fisicoquímicos para la eliminación de metales pesados del agua, sin embargo, la mayoría de estos son costosos y muy poco factibles a nivel industrial (Vidal, 2009). En la actualidad, se busca el desarrollo de nuevas tecnologías, que sean más factibles y compatibles con el medio ambiente, tal es el caso de la fitorremediación.

La fitorremediación propone un tratamiento de áreas contaminadas in situ, ya sea agua, aire o suelo, haciendo uso de plantas; éstas tienen la capacidad de disminuir el efecto tóxico del agente contaminante, mediante la degradación, asimilación o metabolismo de agentes orgánicos e inorgánicos del entorno (Aisien, Faleye, & Aisien, 2010). Se trata de una tecnología emergente con un gran potencial para la limpieza eficiente, ya que presenta mayor sensibilidad al estrés ambiental, fácil manipulación y son de bajo costo.

*Chenopodium album* L., es una planta con alta capacidad de remediación; considerada como maleza, de crecimiento abundante y rápido, en diferentes áreas agrícolas de la ciudad de Arequipa.

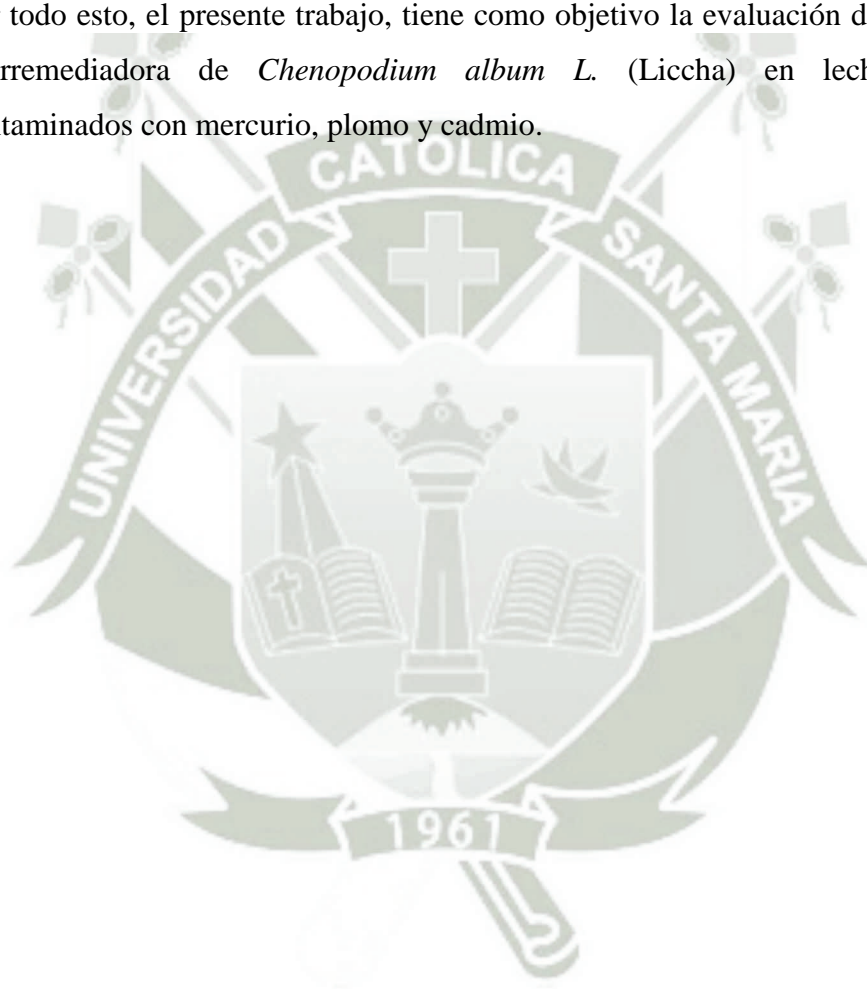
Walker, 2004, enfatiza que la planta *Chenopodium album*, fue una de las primeras especies que colonizaron áreas contaminadas por residuos de minas piríticas, modificando el pH y la biodisponibilidad de metales pesados en la misma (Walker, Clemente, & Bernal, 2004), demostrándose así la resistencia de la planta al habitar medios con metales pesados.

A.K. Gupta y Sinha, 2007, realizaron estudios en suelos contaminados con efluentes de curtiembre, determinando la capacidad de remediación de *Chenopodium album* frente a metales pesados, concluyendo así que la especie *Chenopodium* acumula

significativamente metales tóxicos en las partes altas de la planta, pudiendo ser usada en fitorremediación de suelos contaminados con Cr (VI) (Gupta & Sinha, 2007).

Víctor R. P., 2014, ha estudiado los parámetros fisicoquímicos para la fitorremediación de cadmio y mercurio, con la especie *Eichhornia Crassipes* (Jacinto de agua); obteniendo un porcentaje de acumulación de 16,56 % para Cd (II) y 15,6 % para Hg (II) en un periodo de 7 días (Llantoy, Raúl, & Valderrama Negrón, 2014).

Por todo esto, el presente trabajo, tiene como objetivo la evaluación de la capacidad fitorremediadora de *Chenopodium album L.* (Liccha) en lechos acuáticos contaminados con mercurio, plomo y cadmio.



## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad de fitorremediación de *Chenopodium album* en aguas contaminadas con mercurio, plomo y cadmio.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer las condiciones óptimas de crecimiento de *Chenopodium album* L., empleando un sistema de cultivo hidropónico.
- Validar el método analítico de espectrofotometría de plasma acoplado inductivamente (ICP – OES).
- Determinar el nivel de tolerancia de *Chenopodium album* L., mediante ensayos de fitotoxicidad por diagnóstico visual; frente a diferentes concentraciones de mercurio, plomo y cadmio.
- Analizar la distribución de mercurio, plomo y cadmio en la parte radicular y aérea de plantas de *Chenopodium album* L., empleando el método de espectrofotometría de plasma acoplado inductivamente (ICP – OES); para determinar el potencial de bioacumulación.
- Determinar la influencia de mercurio, plomo y cadmio, en la capacidad de acumulación de cada uno; mediante la comparación de un cultivo hidropónico mixto y cultivos puros de cada metal en estudio.

## HIPÓTESIS

Dado que diversos estudios demuestran la capacidad de bioacumulación de metales pesados de *Chenopodium album* (Liccha); es posible, que esta planta, pueda ser empleada en la fitorremediación de aguas contaminadas con mercurio, plomo y cadmio.



## CAPÍTULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1. CONTAMINACIÓN DEL MEDIO AMBIENTE

La contaminación del ambiente se produce por la incorporación de cualquier tipo de energía, organismo o sustancia, que afecta las propiedades de los ecosistemas, modificando negativamente sus características y su capacidad para asimilarlas o degradarlas. Esta contaminación es producida por factores antropogénicos y, aunque también se puede producir de forma natural.

De manera general, los contaminantes se clasifican en:

- Contaminantes orgánicos: incluyen hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH's), dioxinas, hidrocarburos de petróleo, entre otros. En comparación con los compuestos inorgánicos, estos contaminantes son menos tóxicos

para las plantas, ya que son menos reactivos y se acumulan en menor proporción (Paz-Ferreiro, Lu, Fu, Méndez, & Gascó, 2014).

- Contaminantes inorgánicos: incluyen a los metales pesados. La toxicidad de estos elementos depende de la concentración, la forma química y su persistencia (Navarro-Aviñó, Alonso, & López-Moya, 2007).

### 1.1.1. METALES PESADOS

Los metales pesados son un grupo de elementos químicos que tienen una densidad mayor de 4 a 7 g/cm<sup>3</sup> cuando están en forma elemental o cuyo número atómico es superior a 20 (Martín-Lara, 2008). Dentro de los metales pesados hay dos grupos: los micronutrientes que son necesarios para los organismos en pequeñas cantidades, pero tóxicos una vez pasado cierto umbral; y los metales pesados sin función biológica, que son altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos (Martínez, 2010; Palacios, 2015).

Los metales son componentes naturales de la corteza terrestre; se pueden detectar en concentraciones bajas de fondo en suelos, sedimentos, aguas e incluso en organismos. Desde la revolución industrial en 1815, las actividades industriales y agrícolas avanzadas han aumentado exponencialmente la producción y consecuentemente la emisión de metales (Nriagu & Pacyna, 1988). A diferencia de muchos contaminantes orgánicos, que potencialmente se degradan a dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y agua (H<sub>2</sub>O), los metales no son biodegradables y persisten en el medio ambiente. La liberación industrial acumulada en nuestro medio ambiente ha sido masiva y ha saturado los ciclos naturales de los metales en muchos ecosistemas (Chary, Kamala, & Raj, 2008; Nriagu & Pacyna, 1988).

De todos los recursos, la extracción de minerales metálicos ha aumentado proporcionalmente más desde 1980, se prevé un aumento aún mayor en el

futuro cercano, lo que indica la importancia continuada de los metales para el desarrollo industrial, con la consecuencia del aumento de las emisiones al medio ambiente (Behrens, Giljum, Kovanda, & Niza, 2007; Giljum, Behrens, Hinterberger, Lutz, & Meyer, 2008).

Muestran una elevada tendencia a bioacumularse y a biomagnificarse a través de su paso por los distintos eslabones de las cadenas tróficas. El término bioacumulación significa la acumulación neta en un organismo de metales provenientes de fuentes bióticas (otros organismos) o abióticas (suelo, aire y agua) (Lozada-Zarate, Monks, Pulido-Flores, Gordillo-Martínez, & Prieto-García, 2007).

Por otro lado, el término biomagnificación significa la acumulación progresiva de ciertos metales pesados (y otras sustancias persistentes) de uno a otro nivel trófico sucesivo. Está relacionada con el coeficiente de concentración en los tejidos de un organismo depredador en comparación con el de su presa (Loredo, Soto, Álvarez, & Ordóñez, 2007). En concentraciones elevadas, la acumulación de metales pesados, ocasiona graves problemas en el desarrollo, crecimiento y reproducción de los seres vivos (García & Sandoval, 2011).

Los mecanismos de tolerancia varían entre las distintas especies de plantas y están determinados por el tipo de metal, eficiencia de absorción, traslocación y secuestro (Delgadillo-López, González-Ramírez, Prieto-García, Villagómez-Ibarra, & Acevedo-Sandoval, 2011).

#### **1.1.1.1. MERCURIO**

Un factor muy importante de los efectos del mercurio en el medio ambiente es su capacidad para acumularse en organismos y ascender por la cadena alimenticia. Al ponerse en contacto con un ambiente acuático, el mercurio se transforma en metilmercurio, un potente neurotóxico que se acumula, primero en los peces y luego en los humanos. Hasta cierto punto, todas las

formas de mercurio pueden llegar a acumularse, pero el metilmercurio se absorbe y acumula más que otras (HEA, 2016).

### **Toxicocinética**

En la **FIGURA 1**, se muestra la toxicocinética del mercurio.

Por la vía respiratoria (absorción por inhalación), es probablemente el único caso en que la absorción de este metal se da en estado de gas o vapor, la exposición en su forma elemental es de importancia en la práctica, ya que no es frecuente excepto para el caso del mercurio. El vapor de mercurio es no polar (no se disuelve en la membrana mucosa) y fácilmente penetra la membrana alveolar y pasa a la sangre absorbiéndose un 80% de la cantidad inhalada (Gleny, 2013). Puede causar embolia pulmonar (Dus, Viedma, Gutiérrez, Bayo, & Aldás, 2007).

Por vía digestiva (absorción por ingestión), el  $Hg^0$  se absorbe muy poco en el tracto gastrointestinal, probablemente en cantidades inferiores al 0,01%. En el caso del  $Hg^{2+}$ , se presenta una acción cáustica e irritante por la formación de albuminato soluble que genera una alteración en la permeabilidad del tracto gastrointestinal que favorece la absorción y por tanto la toxicidad. La absorción del metilmercurio por esta vía es del orden del 95% de la dosis administrada (Gaioli, Amoedo, & González, 2012).

En el caso de la vía cutánea, es muy probable que el  $Hg^0$  pueda atravesar la piel, más se duda que se dé una máxima absorción por esta vía comparándola con otras (Clarkson, Vyas, & Ballatori, 2007).

### **Fuentes naturales**

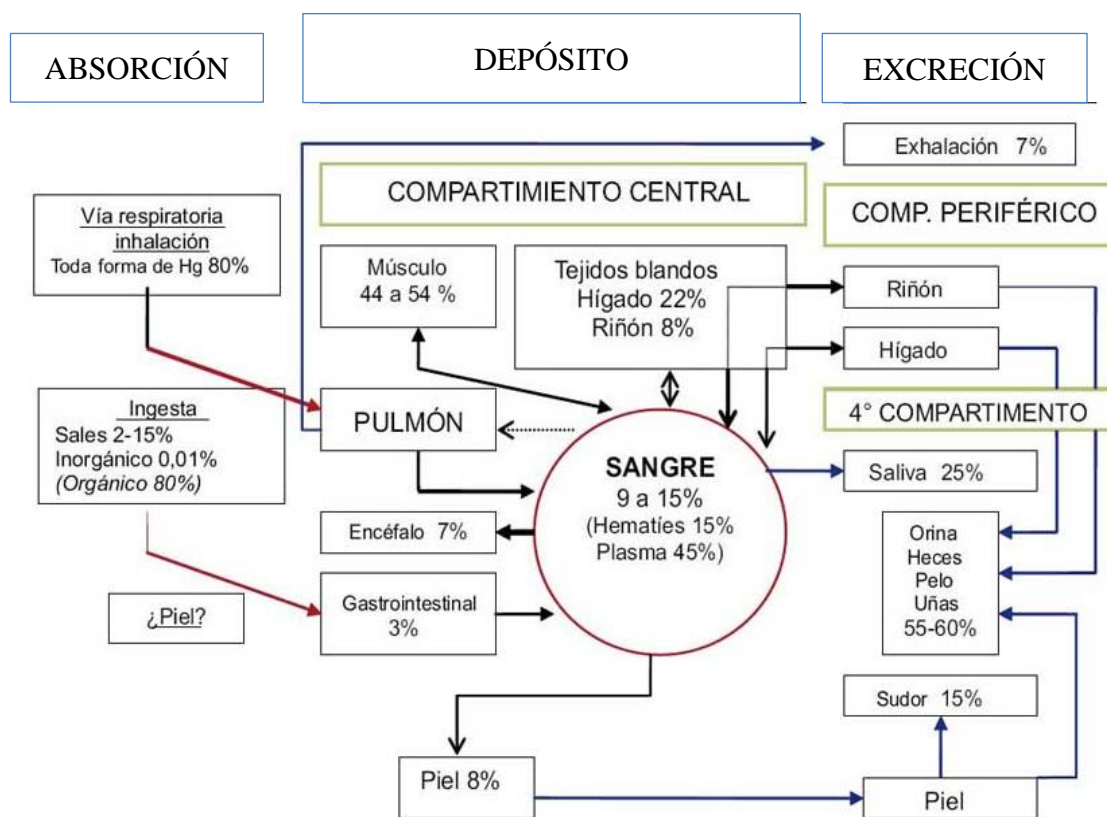
El mercurio naturalmente se encuentra como cinabrio rojo ( $HgS$ ) y también como metacinabrio negro (sulfuro mixto). Estos, pueden encontrarse en yacimientos de sulfuros de hierro, arsénico, antimonio, zinc, cobre y plomo.

Se absorbe y deposita fácilmente en arcillas y sedimentos, así también por su alta tensión de vapor en estado metálico o elemental, se evapora hacia la atmósfera (A. V. Ramírez, 2008).

### **Fuentes antropogénicas**

La mayor fuente de emisión atmosférica son actualmente las centrales eléctricas de carbón rojo, sin embargo, el uso generalizado de mercurio en la amalgama dental significa que en el futuro, crematorios podrían convertirse en la fuente más significativa. El Grupo de Expertos de la Organización Mundial de la Salud afirma que: “La concentración de mercurio en la atmósfera es tan baja que no contribuye de manera significativa a la ingestión humana de mercurio” (Mercury, 1991).

En el agua, el incremento de concentración de este metal se debe principalmente a contaminación de origen industrial o minero. Los lixiviados de vertederos o vertidos de aguas residuales pueden ser asimismo una fuente de contaminación. En algunos casos, existen aguas que sufren un proceso de enriquecimiento natural en metales pesados al atravesar acuíferos formados por rocas (Yarto, Gavilán, & Castro, 2004).



**FIGURA 1.** Toxicocinética del mercurio

Fuente: Intoxicación ocupacional por mercurio (A. V. Ramírez, 2008).

### 1.1.1.2. PLOMO

El Plomo es tóxico para el sistema nervioso y se asocia con la depresión de muchas funciones endócrinas, aunque no hay evidencia de efectos teratogénicos o carcinogénicos. El uso más amplio del Pb elemental es para la fabricación de acumuladores; también es usado para la fabricación de tetra-etilo de plomo, pinturas, cerámicas, forros para cables, elementos de construcción, vidrios especiales, pigmentos, soldadura suave y municiones (Lango-Reynoso, 2010).

Los adultos expuestos al plomo pueden sufrir de problemas reproductivos, presión sanguínea alta, trastornos digestivos, dolor en los músculos y problemas de memoria y de concentración (Tang et al., 2012), y es muy difícil revertir los efectos.

#### **Toxicocinética**

En la **FIGURA 2**, se muestra la toxicocinética del plomo.

El plomo puede penetrar en el organismo por tres vías: respiratoria, digestiva y cutánea, siendo ésta última de escasa entidad (Montoya, Casas, & Wandurraga, 2010; Rodríguez Rey, Cuéllar Luna, Maldonado Cantillo, & Suardiaz Espinosa, 2016).

El plomo que atraviesa la piel pasa a través de los folículos pilosos y glándulas sebáceas y sudoríparas directamente al torrente circulatorio.

En el caso de penetrar por vía respiratoria se combina con proteínas o con el CO<sub>2</sub> espirado, formándose PbCO<sub>3</sub> soluble. Por vía respiratoria, la más importante en el medio laboral, se llega a absorber el 90 % del plomo. Parte de este plomo se fija en la saliva y se traga. Por todo lo cual la vía respiratoria está considerada como la más peligrosa (Rubio et al., 2004).

Respecto a la absorción digestiva, mientras los adultos absorben el 10%, los niños absorben hasta el 50% del Pb ingerido (Mason, Harp, & Han, 2014). Tras ser absorbido, el plomo en el organismo sigue un modelo

tricompartimental: El sanguíneo (el 2% del contenido total, cuya vida media es de  $36 \pm 5$  días); el de los tejidos blandos (cuya vida media es más prolongada) y el óseo (que representa el 90% del contenido total con una vida media entre 10 y 28 años (Peña Fernández, 2011).

Cualquier vía de ingestión de plomo tiene su punto final en el hígado, el cual metaboliza los compuestos que a él llegan, eliminando una parte por la bilis; cuando existe una insuficiencia hepática se elimina por el sudor, saliva, páncreas u orina. La excreción renal es la de mayor importancia toxicológica debido a que se hace por filtración glomerular, pasado un cierto nivel, comienza a acumularse, éste depende del grado de exposición, la edad y la integridad de órganos (Peralta Jimenez, 2015).

#### **Fuentes naturales**

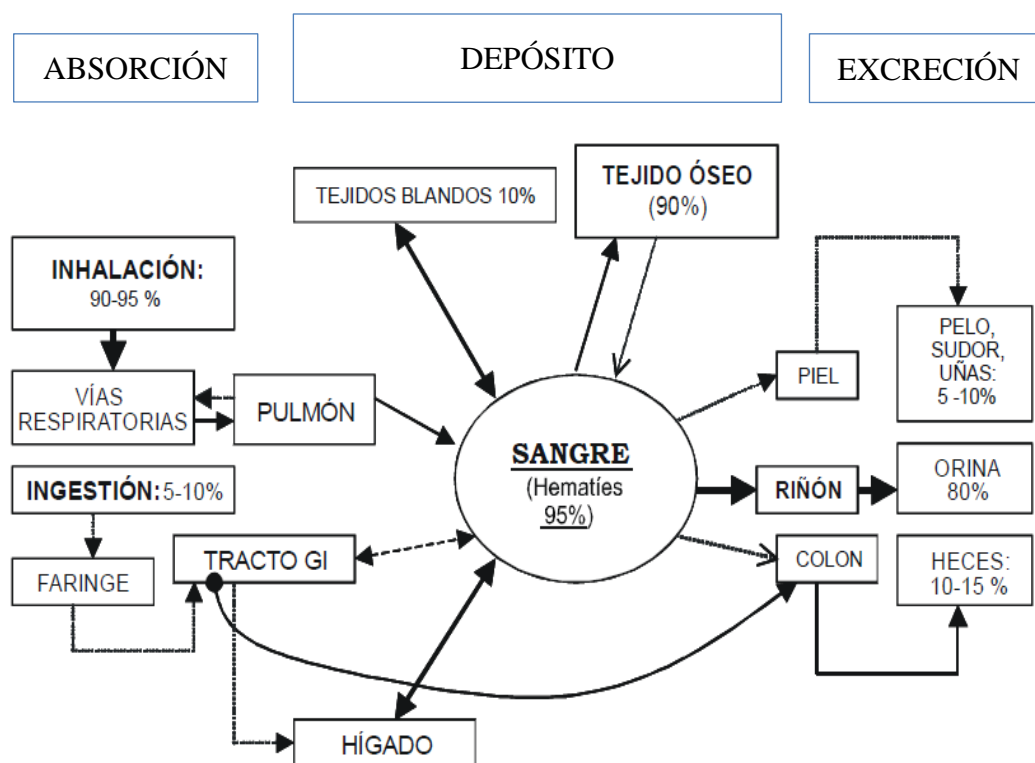
La contaminación natural por plomo es imperceptible.

#### **Fuente antropogénicas**

Por el contrario, la contaminación antropogénica es considerable.

Existen dos principales fuentes: emisiones industriales como fundiciones de hierro, zinc, cobre, y plomo; fábricas de pinturas, cerámicas, cristalería, pólvoras y explosivos; combustión del carbón etc. y emisiones producidas por los vehículos. Aunque, actualmente, se está restringiendo el contenido de plomo de las gasolinas, para reducir así las emisiones a la atmósfera (Caravanos et al., 2014).

La industria minera, es una fuente importante de contaminación, generando una gran cantidad de desechos y dejando lugares contaminados. Puede causar daños ambientales y, en casos extremos, destruir el ecosistema; se pueden dañar tierras de cultivo, favorecer la erosión y contaminar cuerpos de agua con sales solubles de elementos potencialmente tóxicos (EPT) (Sepúlveda, 2005).



**FIGURA 2.** Toxicocinética del plomo

Fuente: El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo (A. V. Ramírez, 2005).

### 1.1.1.3. CADMIO

El cadmio es un metal sin función biológica y puede ser tóxico a niveles relativamente bajos. Este metal es responsable de modificar la composición de las poblaciones microbianas en el suelo y, por ello, de reducir la descomposición de la materia orgánica. Se puede acumular en plantas y en la fauna edáfica o animales superiores a través de pastos o aguas contaminadas (Juan-Aracil, Parra, & García, 2010).

La absorción de cadmio por las plantas en suelos contaminados y su incorporación a la cadena alimenticia, tiene en la actualidad mucha importancia debido a que este elemento puede alterar el metabolismo humano compitiendo con el hierro, cobre, zinc, manganeso y selenio por ligantes en sistemas biológicos (Méndez, Ramírez, Gutiérrez, & García, 2009).

#### **Toxicocinética**

En la **FIGURA 3**, se muestra la toxicocinética del cadmio.

La absorción es relativamente lenta, con un promedio de 14 días en exposiciones prolongadas.

Vías de ingreso y distribución: inhalación e ingestión. La fracción que pasa a la sangre se distribuye en 3 compartimentos de recambio:

- Compartimento 1 de “recambio rápido” y, por tanto, no genera acumulación.
- Compartimento 2 de “recambio medio”, constituido por los hematíes, en los que se acumula en pequeñas cantidades.
- Compartimento 3 de “recambio lento”; una fracción significativa

de cadmio se une a la metalotioneína y se deposita en los órganos blanco.

Los compartimentos 1 y 3 son los de mayor intercambio con los demás órganos y se estima que desde el compartimento 1 la tasa de transferencia a otros tejidos es de 50% y al hígado de 16%. Entre los tres compartimentos hay equilibrio dinámico, sin embargo, existiría un aporte extra del riñón, una parte se reabsorbe en el túbulo, contribuyendo a su acumulación en forma lenta, aunque el excedente se excreta con la orina (Ellenhorn, Schonwald, Ordog, & Wasserberger, 1997).

La vida media del cadmio en el organismo total es de 30 a 40 años.

Excreción:

Las principales vías de excreción son orina y heces. Por orina, diariamente se elimina 0,007% del contenido corporal y por heces 0,03%. La vida media de excreción urinaria es de hasta 40 años. Tan sólo una pequeña fracción del cadmio del compartimento sanguíneo y otra del hígado, a través de la vía biliar, se elimina por heces (Akerstrom, Barregard, Lundh, & Sallsten, 2013).

Además el ión cadmio divalente disminuye significativamente la absorción intestinal del hierro en el cuerpo humano. Cuando se ingiere un alimento contaminado con cadmio el metal se acumula en los riñones donde su vida media de permanencia es de 18 a 30 años, lo que demuestra la gran dificultad en la eliminación de cadmio por el órgano (Martinez, 2010; Palacios, 2015).

### **Fuentes naturales**

El cadmio se encuentra ampliamente distribuido en el medio ambiente de forma natural asociado a minerales de cinc, cobre o plomo y a consecuencia de las actividades antrópicas como la agricultura en la que los

fertilizantes fosfatados contienen pequeñas cantidades de cadmio que son absorbidas por las plantaciones (Pernía, De Sousa, Reyes, & Castrillo, 2008).

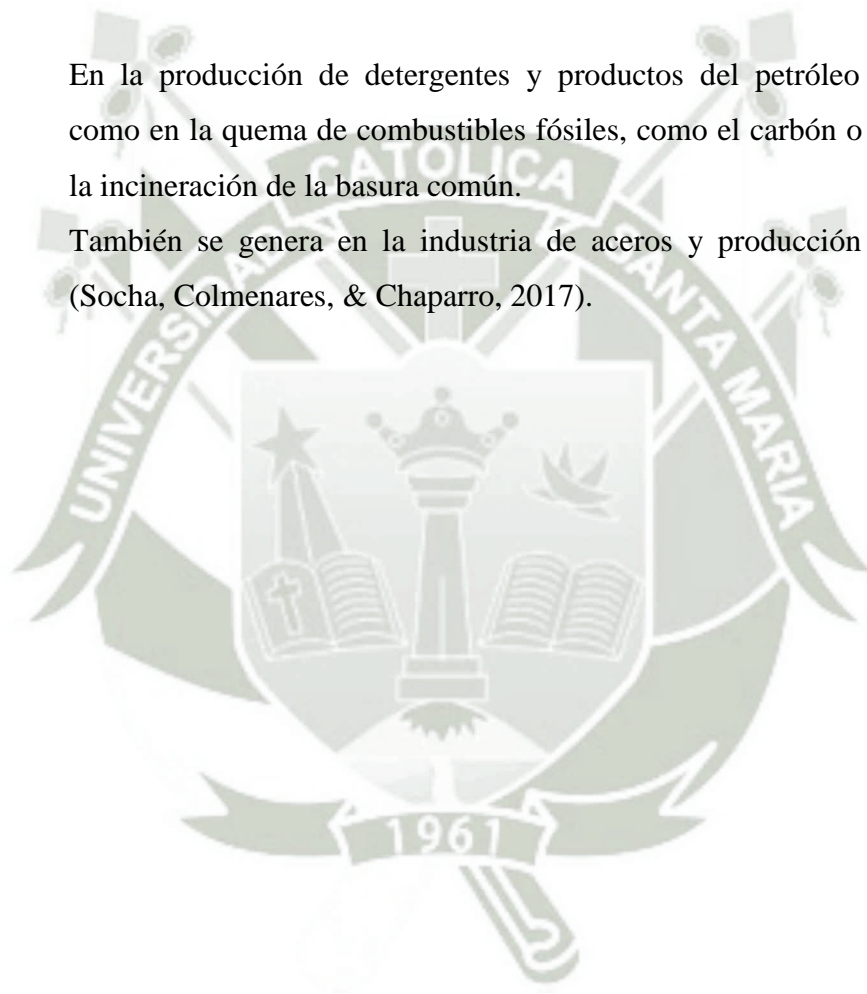
### **Fuentes antropogénicas**

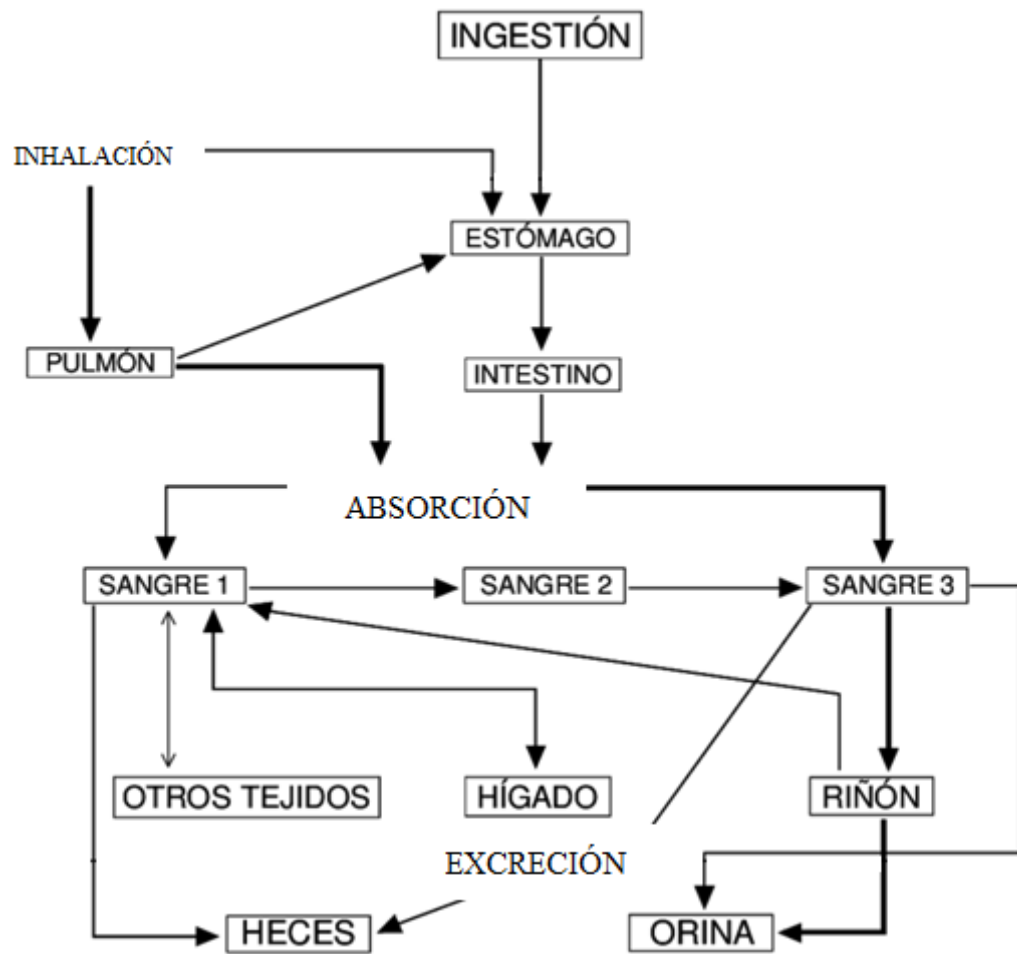
Fertilizantes fosforados (Wångstrand, Eriksson, & Öborn, 2007).

Refinación del zinc, baterías o pilas recargables de níquel/cadmio

En la producción de detergentes y productos del petróleo refinado, así como en la quema de combustibles fósiles, como el carbón o el petróleo, y la incineración de la basura común.

También se genera en la industria de aceros y producción de cementos (Socha, Colmenares, & Chaparro, 2017).





**FIGURA 3.** Toxicocinética del cadmio

Fuente: Toxicología del Cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental y ocupacional con indicadores biológicos (A. Ramírez, 2002)

## 1.2. FITORREMEDIACIÓN

En general, los mecanismos involucrados en la remoción de contaminantes son de tres tipos: físicos (sedimentación, filtración, adsorción, volatilización), químicos (precipitación, hidrólisis, reacciones de óxido-reducción o fotoquímicas) y biológicos (resultado del metabolismo microbiano, del metabolismo de plantas o de procesos de bioabsorción).

La fitorremediación es un conjunto de tecnologías que reducen in situ o ex situ la concentración de diversos compuestos a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a ellas.

La fitorremediación utiliza las plantas para remover, reducir, transformar, mineralizar, degradar, volatilizar o estabilizar contaminantes (Cho, Corapcioglu, Park, & Sung, 2008). Las fitotecnologías se basan en la capacidad de algunas especies vegetales y en los mecanismos fisiológicos básicos, tales como: transpiración, fotosíntesis, metabolismo y nutrición (Garbisu, Becerril, Epelde, & Alkorta, 2007; Garcia & Sandoval, 2011).

Las fases del proceso por el cual las plantas incorporan y acumulan metales pesados son las siguientes:

- Fase I:

Implica el transporte de los metales pesados al interior de la planta y, después, al interior de la célula. La raíz constituye el tejido inicial principal de los metales, los cuales llegan por difusión en el medio, mediante flujo masivo o por intercambio catiónico (Navarro-Aviñó et al., 2007).

La raíz posee cargas negativas en sus células, debido a la presencia de grupos carboxilo, que interaccionan con las positivas de los metales

pesados, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular, ya sea por vía apoplástica o simplástica (Torres Rodríguez, Cumana, Torrealba, & Posada, 2010).

- Fase II:

Una vez dentro de la planta, las especies metálicas son secuestradas o acomplejadas mediante la unión a ligandos específicos. Entre los quelantes producidos por las plantas se encuentran los ácidos orgánicos (ácidos cítrico, oxálico y málico), algunos aminoácidos (histidina y cisteína) y dos clases de péptidos: fitoquelatinas y metalotioneínas (Delgadillo-López et al., 2011).

Las fitoquelatinas son ligandos de afinidad alta, mejor caracterizados en las células de plantas, que tienen como sustrato al glutatión. Están constituidas básicamente por 3 aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicina, unidos por enlaces peptídicos (González-Mendoza, 2008).

Las metalotioneínas son polipéptidos de unos 70-75 aminoácidos con un alto contenido en cisteína, aminoácido capaz de formar complejos con cationes mediante el grupo sulfhidrilo. Tienen una marcada afinidad por las formas iónicas de Zn, Cd, Hg y Cu (García Rico, Robles Burgueño, & Valenzuela Soto, 1999).

- Fase III:

Incluye la compartimentalización y detoxificación de la planta, así, en este proceso, el complejo ligando-metal queda retenido en la vacuola (Cherian & Oliveira, 2005).

Dependiendo del tipo de contaminante, las condiciones del sitio y el nivel de limpieza requerido; las tecnologías de fitorremediación se pueden utilizar como medio de contención (fitoestabilización, rizofiltración y fitoinmovilización) o eliminación (fitoextracción, fitovolatilización y fitodegradación) (Ali, Khan, & Sajad, 2013).

### **Tecnologías de fitorremediación**

- La fitoestabilización permite inmovilizar contaminantes en el suelo a través de su absorción y acumulación en las raíces o bien, por precipitación en la zona de la rizosfera. Este proceso reduce la movilidad de los contaminantes y evita su migración a las aguas subterráneas o al aire (Bolan, Park, Robinson, Naidu, & Huh, 2011).
- La rizofiltración utiliza las plantas para eliminar del medio hídrico contaminantes a través de la raíz (Yadav, Siebel, & van Bruggen, 2011). En la rizofiltración estas plantas se cultivan de manera hidropónica. Primero se debe esperar al desarrollo del sistema radicular e introducir la planta en el agua contaminada con metales.
- La fitoextracción o fitoacumulación consiste en la absorción de metales contaminantes mediante las raíces de las plantas y su acumulación en tallos y hojas (Wuana & Okieimen, 2010). Se debe seleccionar las plantas adecuadas para cada metal, incinerarlo y trasladar de las cenizas a un vertedero de seguridad.
- La fitovolatilización se produce a medida que los árboles y otras plantas en crecimiento absorben agua junto con contaminantes orgánicos e inorgánicos. Algunos de estos pueden llegar hasta las hojas y

evaporarse o volatilizarse en la atmósfera (Sakakibara, Watanabe, Inoue, Sano, & Kaise, 2010). Mediante este proceso se han eliminado contaminantes como compuestos orgánicos volátiles (benceno, nitrobenceno, tolueno, etilbenceno y m-xileno), As, Se y Hg (Macek et al., 2009).

- En la fitodegradación las plantas y los microorganismos asociados a ellas degradan los contaminantes orgánicos en productos inofensivos, o bien, mineralizarlos hasta CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O (Zazouli, Mahdavi, Bazrafshan, & Balarak, 2014).
- La fitoinmovilización provoca la sujeción y reducción de la biodisponibilidad de los contaminantes mediante la producción de compuestos químicos en la interfaz suelo-raíz, los que inactivan las sustancias tóxicas, ya sea por procesos de absorción, adsorción o precipitación (Carpena & Bernal, 2007).

En la **TABLA 1**, se muestra un resumen de los mecanismos de fitorremediación que emplean las plantas en el proceso de descontaminación.

**TABLA 1.** Mecanismos de fitorremediación (Mahmood, Malik, Hussain, Qamar, & Mateen, 2007).

PROCESO	MECANISMO	CONTAMINANTES
Fitoestabilización	Complejación	Orgánicos inorgánicos
Fitoextracción	Hiperacumulación	Inorgánicos
Fitovolatilización	Volatilización a través de las hojas	Orgánicos inorgánicos
Fitoimmobilización	Acumulación en la rizósfera	Orgánicos inorgánicos
Fitodegradación	Uso de las plantas y microorganismos asociados para degradar contaminantes	Orgánicos inorgánicos
Rizofiltración	Uso de raíces para absorber y adsorber contaminantes del agua	Orgánicos inorgánicos

### 1.3. *Chenopodium album* L. (LICCHA)

#### Clasificación taxonómica

**Reino:** *Plantae*

**División:** *Magnoliophyta*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Orden:** *Caryophyllales*

**Familia:** *Chenopodiaceae*

**Género:** *Chenopodium*

**Especie:** *Chenopodium album*

*Chenopodium album*, conocida con diversos nombres comunes como cenizo, quihuilla o liccha, es un especie de hierba de la familia Chenopodiaceae (Al-Snafi, 2015).

La Liccha (*Chenopodium album* L.) es una planta anual con tallos de 10 – 150 cm, generalmente erectos, verdes o rojizos, muy ramificados y cubiertos de una pilosidad harinosa grisácea.

Presentan hojas alternas, algo carnosas, de un tamaño de 1-8 x 0.3-5.5 cm, de forma rómbica, ovada a lanceolada; tiene un borde irregular, ligeramente dentado; como se observa en la **FIGURA 4**. Tiene inflorescencias de tipo panícula, formada por numerosos glomérulos; siendo dimórficas, ya que las terminales son masculinas y las laterales femeninas. El perianto está formado por 5 piezas con una quilla poco marcada, farinosos. El androceo consta de 5 estambres libres y el gineceo de un ovario del que surge un estilo que finaliza en 2 estigmas.

El fruto es un aquenio, con una semilla en su interior de 1.2 - 1.6 mm, de color negro, de contorno subovado, con surcos radiales tenues o casi lisa.

Crece en zonas ruderales, como cunetas, bordes de caminos, campos, huertas, campos de cultivo, desde el nivel del mar a los 1000 m de altitud (Linneo, 1753).



**FIGURA 4.** *Chenopodium album* L. (Liccha)

Fuente: SEINet, Symbiota and several of the specimen databases.

#### 1.4. ESPECTROFOTOMETRÍA DE PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP – OES).

El plasma de acoplamiento inductivo (ICP) es una fuente de ionización que junto a un espectrofotómetro de emisión óptico (OES) constituye el equipo de ICP-OES.

##### Fundamento de la técnica analítica

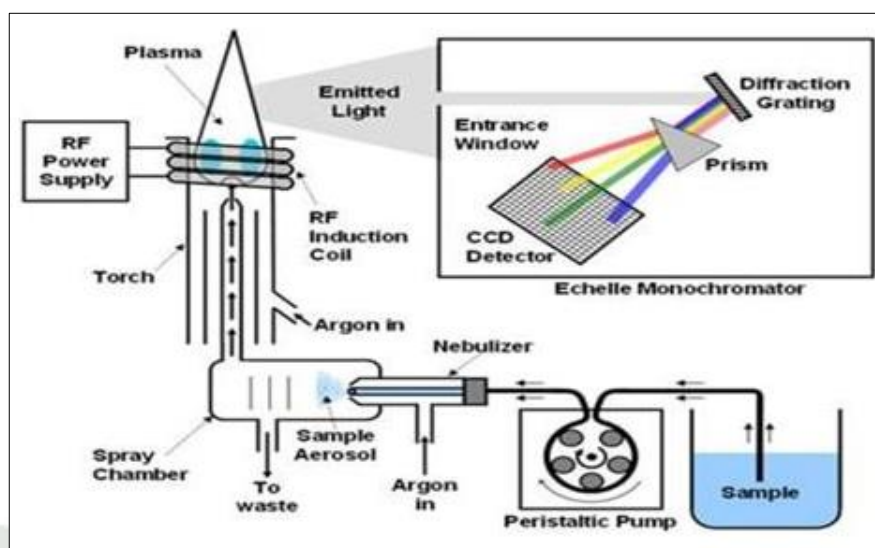
El esquema del fundamento del equipo de espectrofotometría de plasma acoplado inductivamente (ICP – OES), se muestra en la **FIGURA 5**.

La introducción continua de muestra líquida y un sistema de nebulización, forman un aerosol que es transportado por el argón a la antorcha del plasma ionizado, acoplado inductivamente por radio frecuencia. En el plasma, debido a las altas temperaturas generadas, que alcanzan 10000 K, los analitos son atomizados e ionizados (UVA, 2016). Cuando los átomos excitados vuelven a la posición de baja energía, se liberan los rayos de emisión (rayos del espectro) y se miden los rayos de emisión que corresponden a la longitud de onda del fotón.

El tipo de elemento se determina en función de la posición de los rayos de fotones, y el contenido de cada elemento se determina en función de la intensidad de los rayos (RoHS, 2014).

La información es procesada por el sistema informático.

Con ésta técnica, se cuantifica la radiación emitida por los átomos excitados por el plasma y que se relaciona con su concentración (Montoro, Pujol, Velayos, & González, 2010)



**FIGURA 5.** Esquema del equipo ICP.OES

Fuente: Inductively coupled plasma -optical emission spectrometer (ICP-OES) (RoHS, 2014)



## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. MATERIALES

##### 2.1.1. EQUIPOS

Balanza analítica OHAUS Pioneer® PA-214 (220 g, 0.0001 g), Digestor microondas MARS6 230/60 CEM One Touch™, Equipo Simplicity UV Merck™ (agua 18.2 MΩ), Espectrofotómetro de plasma acoplado inductivamente (ICP – OES) Perkin Elmer 5300, Micropipetas automáticas de 2-20 µL, 20-200 µL y 100-1000 µL Eppendorf® Research, pHmetro digital Metrohm® 827 pH Lab, Refrigeradora, Sistema de digestión UV 705 UV Digester Metrohm™.

### 2.1.2. MATERIAL VEGETAL

*Chenopodium album* L. (Liccha), recolectada de los campos de cultivo agrícola del distrito de Cayma, departamento de Arequipa.

### 2.1.3. MATERIAL DE VIDRIO

Bagueta, Fiolas (10 mL, 25 mL y 500 mL), Pipetas graduadas (1 mL, 2 mL y 10 mL), Pipetas volumétricas (1 mL y 10 mL), Probeta graduada (50 mL), Recipientes rectangulares de vidrio (12 x 25 x 30 cm), Vasos de precipitados (50 mL, 100 mL y 250 mL).

### 2.1.4. REACTIVOS

Ácido nítrico 65%. Merck®, Agua destilada, Agua ultrapura (18.2 MΩ), Cloruro de mercurio. Grado analítico. Movilab®, Nitrato de cadmio. Grado analítico, Movilab®, Nitrato de plomo. Grado analítico. Riedel-de Haën AG®, Solución estándar de cadmio. Grado HPLC Merck®, Solución estándar de mercurio. Grado HPLC Merck®, Solución estándar de plomo. Grado HPLC Merck®, Solución hidropónica de Hoagland La Molina® (Solución A y B). Universidad Agraria La Molina.

### 2.1.5. OTROS

Bandejas de poliestireno expandido (tecnopor), Bombas difusoras de peceras, Espátula de plástico, Filtros de membrana de acetato de celulosa 0.22 µm, Gradilla para tubo de ensayo, Guantes de látex, Jeringas de 10 mL, Micropipetas (0.2 mL, 1 mL), Papel aluminio, Papel kraft, Porta filtro JH 1355, Recipientes de plástico pequeños, Tips de 5-20 µL y de 100-1000 µL, Vasos de digestión de teflón de 20 mL.

## 2.2. METODOLOGÍA

### 2.2.1. RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL

La especie vegetal para el estudio fue recolectada de los campos de cultivo de Cayma. Se cortaron fragmentos de tallos de plantas sanas y jóvenes, y se reservaron para la propagación.

### 2.2.2. IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL

Después de la recolección, se llevó al HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA), para su identificación y respectiva caracterización taxonómica.

### 2.2.3. PROPAGACIÓN DE *Chenopodium album* L.

Se realizó la propagación vegetativa por esquejes. Para esto, se seleccionaron las plantas más sanas, y se lavaron con hipoclorito de sodio al 5% para la eliminación de bacterias y hongos impregnados. Luego, se procedió al corte de fragmentos de tallo (esquejes), sembrándolos en bandejas con tierra húmeda estéril, para su propagación durante 20 días, hasta el desarrollo completo de la plántula.

### 2.2.4. ADAPTACIÓN DE *Chenopodium album* L.

Para la adaptación, se empleó la solución hidropónica La Molina<sup>®</sup>, una solución nutritiva de Hoagland elaborada por la Universidad Nacional Agraria La Molina. Compuesta por 2 soluciones concentradas, denominadas A y B; con una proporción de: 5 ml de solución concentrada A y 2 ml de la solución concentrada B en un litro de agua.

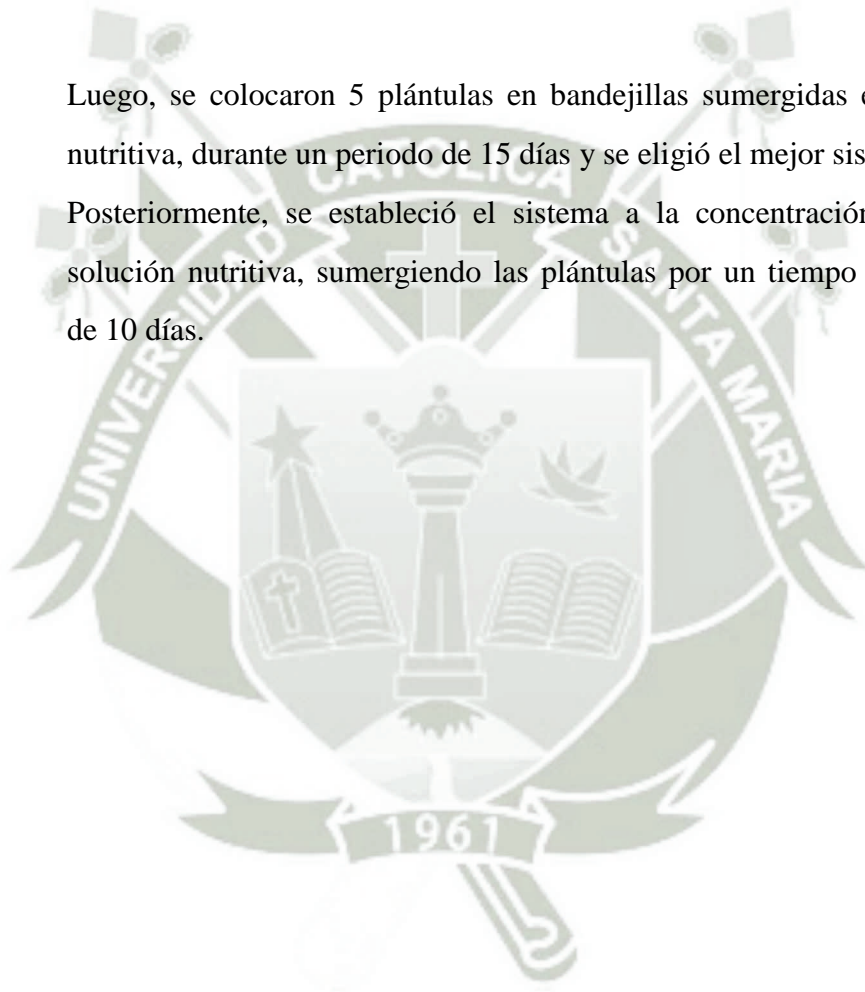
La solución hidropónica de Hoagland contiene: 210 mg.L<sup>-1</sup> de potasio, 190 mg.L<sup>-1</sup> de nitrógeno, 150 mg.L<sup>-1</sup> de calcio, 70 mg.L<sup>-1</sup> de sodio, 45 mg.L<sup>-1</sup> de magnesio, 35 mg.L<sup>-1</sup> de fósforo, 1 mg.L<sup>-1</sup> de hierro, 0.50 mg.L<sup>-1</sup> de

manganeso y boro,  $0.15 \text{ mg.L}^{-1}$  de zinc,  $0.10 \text{ mg.L}^{-1}$  de cobre y  $0.05 \text{ mg.L}^{-1}$  de molibdeno (*Solución hidropónica La Molina*, 2015).

Se probaron 3 tratamientos, con concentraciones diferentes de solución nutritiva de Hoagland: T1 (solución al 25%), T2 (solución al 50%) y T3 (solución al 100%). En la **TABLA 2** se muestra la composición de la solución de Hoagland, para preparar 1L de solución nutritiva de los 3 tratamientos, considerando las proporciones de solución A y B.

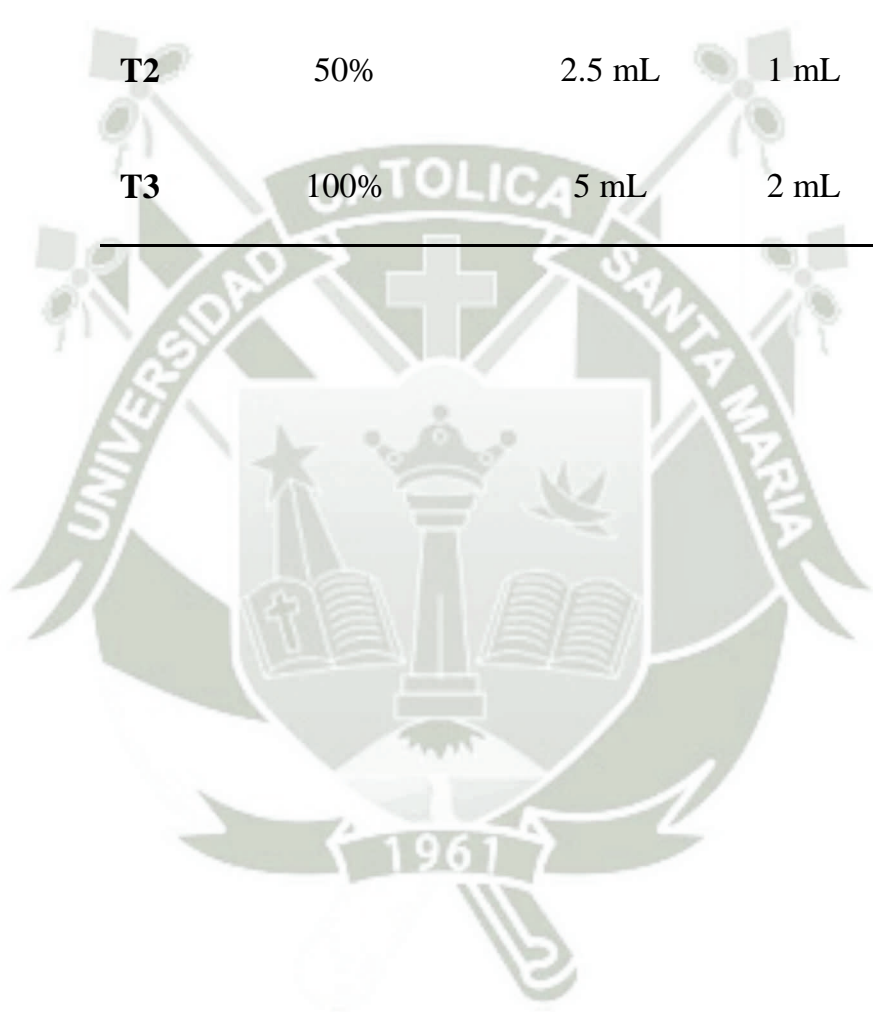
Luego, se colocaron 5 plántulas en bandejas sumergidas en la solución nutritiva, durante un periodo de 15 días y se eligió el mejor sistema.

Posteriormente, se estableció el sistema a la concentración escogida de solución nutritiva, sumergiendo las plántulas por un tiempo de adaptación de 10 días.



**TABLA 2.** Sistema de adaptación

	<b>SOL. HOAGLAND</b>	<b>SOL. A</b>	<b>SOL. B</b>
<b>T1</b>	25%	1.25 mL	0.5 mL
<b>T2</b>	50%	2.5 mL	1 mL
<b>T3</b>	100%	5 mL	2 mL



### 2.2.5. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Se empleó el método analítico de espectrofotometría de plasma acoplado inductivamente (ICP – OES), el análisis se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad de la Universidad Católica de Santa María.

Se creó un método para la determinación de mercurio, plomo y cadmio. Los parámetros evaluados para la validación del método fueron: linealidad, precisión, exactitud, y límite de detección y cuantificación; según los lineamientos ICH (ICH, 1994).

- **LINEALIDAD**

Se construyó una curva de calibración de absorbancia vs concentración, utilizando 6 puntos de concentraciones de mercurio, plomo y cadmio, respectivamente.

Cada punto se evaluó por duplicado, los datos se procesaron estadísticamente con la prueba de regresión lineal; así mismo, se determinó el coeficiente de correlación lineal ( $r$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), el intercepto ( $a$ ) y la pendiente ( $b$ ) para el 95% de confianza.

- **PRECISION**

Se tomó en cuenta la repetitividad, se registraron 6 mediciones de una concentración de  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  de plomo y cadmio, y  $0.04 \text{ mg.L}^{-1}$  de mercurio, bajo las mismas condiciones (operador, aparato, laboratorio y en corto intervalo de tiempo).

Se calculó la desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación.

- **EXACTITUD**

La exactitud se expresó en términos de porcentaje de recuperación analítico absoluto promedio, para esto, se realizaron 3 mediciones de una concentración de 0.1 mg.L<sup>-1</sup> de mercurio y 3 mg.L<sup>-1</sup> de plomo y cadmio.

Para determinar el porcentaje de recuperación se utilizó la siguiente fórmula:

$$R = \frac{\bar{X}}{X} \times 100, \text{ donde:}$$

R: Recuperación (%)

$\bar{X}$ : Valor práctico (mg.L<sup>-1</sup>)

X: Valor teórico verdadero (mg.L<sup>-1</sup>)

- **LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION**

- **Límite de detección:**

Se refiere a la mínima concentración de analito que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse en una muestra. Para ello se utilizó la siguiente ecuación:

$$LD = \frac{Y_{bl} + 3S_{bl}}{b \times \sqrt{n}}, \text{ donde:}$$

$Y_{bl}$ : Respuesta del blanco.

$S_{bl}$ : Desviación estándar del blanco.

b: pendiente de la recta.

n: número de muestras.

- **Límite de cuantificación:**

Se refiere a la mínima concentración de analito que puede ser detectada con fiabilidad, y cuantificada en una muestra. Para ello, se empleó la siguiente ecuación:

$$LC = \frac{Y_{bl} + 10S_{bl}}{b \times \sqrt{n}}, \text{ donde:}$$

$Y_{bl}$ : Respuesta del blanco.

$S_{bl}$ : Desviación estándar del blanco.

b: pendiente de la recta.

n: número de muestras.

#### **2.2.6. ENSAYO DE FITOTOXICIDAD**

Se realizaron ensayos de fitotoxicidad por triplicado; analizando concentraciones de 0, 1, 5 y 10 mg.L<sup>-1</sup> para mercurio, empleando cloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>); y de 0, 5, 10 y 15 mg.L<sup>-1</sup> para plomo y cadmio, empleando nitrato de plomo (Pb (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) y nitrato de cadmio (Cd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) respectivamente. Las diluciones se prepararon con la solución de Hoagland elegida, en envases de plástico por separado.

Luego, se colocó una plancha de poliestireno con 3 plantas de *Chenopodium album* L., previa adaptación de las mismas; en cada envase, durante un periodo de 20 días.

Para determinar el grado de toxicidad de los metales, se realizaron observaciones periódicas, caracterizando los niveles de resistencia y los tamaños de las plantas influenciados por los metales en estudio.

### 2.2.7. ENSAYO DE BIOACUMULACIÓN

Para el ensayo de bioacumulación fue necesario tener en cuenta el nivel de tolerancia de la planta a los metales en estudio, y determinar la concentración apropiada de cada metal para el ensayo.

El experimento se realizó por triplicado en 16 recipientes de vidrio (12 x 25 x 30 cm); cada recipiente de vidrio contenía la concentración tolerante respectiva de cada metal por separado, en la solución nutritiva de Hoagland elegida. Así también se evaluaron, por triplicado, los 3 metales juntos en solución nutritiva de Hoagland.

En el fondo de cada recipiente, se colocaron tubos difusores conectados a bombas peristálticas para burbujear aire y mantener en movimiento constante. Finalmente, se sumergieron bandejillas de tecnopor con 10 plántulas de *Chenopodium album L.*, de 20 días de adaptación, para cada recipiente.

### 2.2.8. TRATAMIENTO Y DIGESTIÓN DE MUESTRAS.

- Pre-secado de muestras:

Las plantas fueron colectadas de los sistemas hidropónicos, lavadas con abundante agua destilada y colocadas en papel kraft bajo sombra por 24h. Luego del pre-secado, las plantas se seccionaron en parte aérea y radicular para proceder al pesado y digestión.

- Secado de muestras:

Por cada muestreo (cada 5 días), se llevó a estufa sólo una planta y se secó a 60° C durante 24 horas, para así, poder calcular el peso seco.

- Digestión por microondas:

Las muestras fueron picadas con ayuda de un bisturí, se pesaron 100 mg de la parte aérea y de la parte radicular, y se colocaron en los tubos

de digestión; luego, se agregaron 2 mL de ácido nítrico supra puro ( $\text{HNO}_3$ ) y finalmente, se llevó al Digestor microondas MARS 6.

### 2.2.9. DETERMINACIÓN DE MERCURIO, PLOMO Y CADMIO POR EL MÉTODO ICP - OES.

La determinación se realizó por duplicado cada 5 días, durante 30 días. Las plantas a analizar, se seleccionaron al azar.

Las muestras se llevaron a analizar al laboratorio de Control de calidad de la Universidad Católica de Santa María.

### 2.2.10. DISEÑO EXPERIMENTAL

- **BIOACUMULACION**

Como se muestra en la **TABLA 3**, el experimento constó de 5 tratamientos: T0, T1, T2, T3 y T4, por triplicado.

Teniendo así un total de 15 unidades experimentales; cada unidad experimental estuvo constituida por 10 plántulas de *Chenopodium album L.* (Liccha).

Para el análisis de los datos, se aplicó la prueba estadística de Fisher, para determinar la existencia de diferencia significativa.

**TABLA 3.** Tratamiento de bioacumulación de mercurio, plomo y cadmio.

TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN
<b>T0</b>	Solución nutritiva de Hoagland
<b>T1</b>	Solución nutritiva de Hoagland + “x” mg.L <sup>-1</sup> de mercurio.
<b>T2</b>	Solución nutritiva de Hoagland + “x” mg.L <sup>-1</sup> de plomo
<b>T3</b>	Solución nutritiva de Hoagland + “x” mg.L <sup>-1</sup> de cadmio.
<b>T4</b>	Solución nutritiva de Hoagland + “x” mg.L <sup>-1</sup> de mercurio, plomo y cadmio.

### CAPÍTULO III

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 3.1. IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL

La especie vegetal fue identificada en el HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; donde, mediante la constancia N° 16- 2017-HUSA (**ANEXO 1**) se determinó que la especie vegetal presentada corresponde a *Chenopodium album* L. (Liccha).

##### 3.2. PROPAGACIÓN DE *Chenopodium album* L.

En las plantas, existen dos tipos de propagación: sexual (por semilla) y asexual (vegetativamente) (Miller, 1967). La propagación asexual o vegetativa consiste en la reproducción de individuos a partir de una célula, un tejido, u órganos o porciones vegetativas de la planta (raíces, tallos, ramas, hojas) (Rojas González, García Lozano, & Alarcón Rojas, 2004); esto es

posible por la capacidad de regeneración de estos órganos debido a dos características de la célula vegetal. Por un lado, la totipotencialidad, que es la propiedad de la célula vegetal que contiene información genética necesaria y es capaz de generar una nueva planta (Bulavin, 2015); por otro lado, la desdiferenciación, llamada organogénesis, que es la capacidad que tienen las células maduras de transformarse en una nueva planta u órgano (Hartmann & Kester, 1998). Las plantas de *Chenopodium album* tienen una reproducción sexual y asexual; en este trabajo se realizó la propagación asexual o vegetativa, porque es práctica y sobre todo de un desarrollo rápido (Chamba, 2002).

El método de propagación escogido fue por esquejes; los esquejes son fragmentos de plantas separados con una finalidad reproductiva, así se introducen en la tierra, para generar raíces adventicias (Hartman & Kester, 1987). Éste método es uno de los más utilizados; a través de la propagación de esquejes se puede cultivar distintas especies vegetales en un espacio limitado a partir de una planta madre. Es un método poco costoso, rápido y sencillo, ya que no se necesita técnicas especiales.

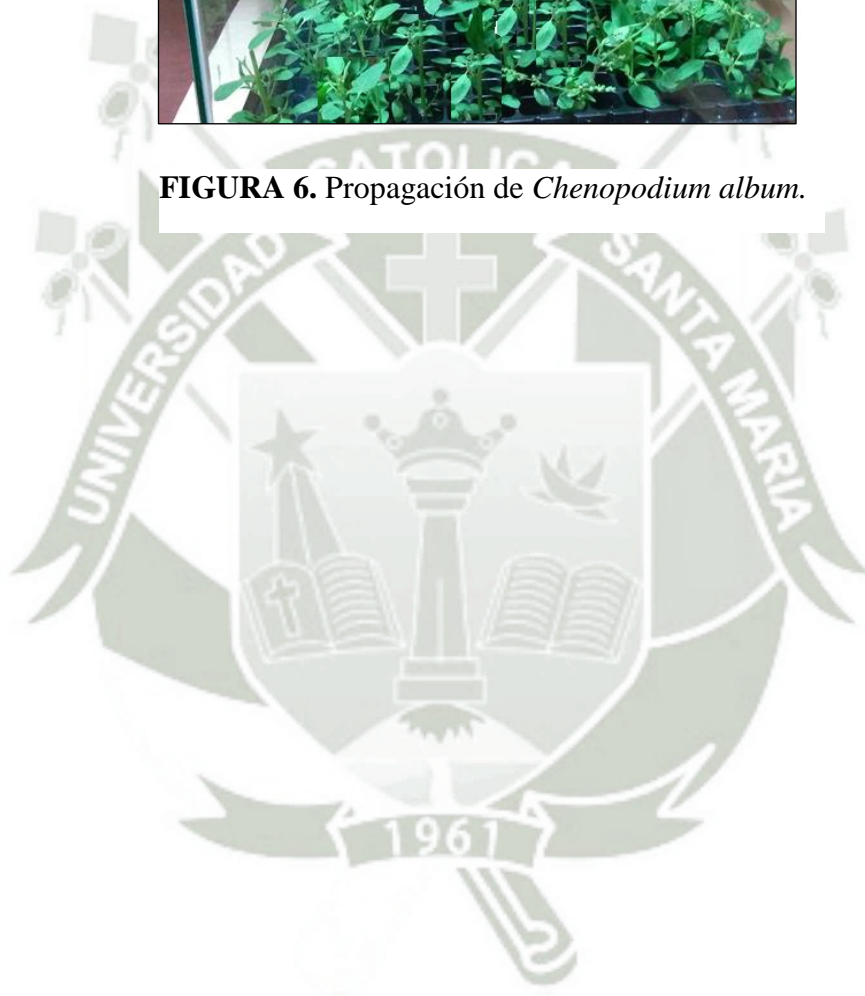
Así, se sembraron 250 esquejes, observando el crecimiento completo de todas las plántulas (**FIGURA 6**); los esquejes por lo general responden bien al trasplante, tienen un porcentaje elevado de supervivencia, y se consideran como una de las mejores bases para alcanzar plantas de calidad (López & Carazo, 2005).

Se obtuvieron así, gran cantidad de nuevas plantas homogéneas, éstas se consideran clones, que conservan las características genéticas (Rojas González et al., 2004); generadas a partir de la duplicación del genotipo de una planta madre individual mediante divisiones mitóticas de la célula, perpetuando de ésta forma sus características específicas (Hartmann & Kester, 1998).

Sin embargo, en la actualidad; no existen trabajos que hayan realizado la propagación de *Chenopodium album* L., por esquejes.



**FIGURA 6.** Propagación de *Chenopodium album*.



### 3.3. ADAPTACIÓN DE *Chenopodium album* L.

La hidroponía es una técnica de producción de cultivos sin suelo, ya que éste es remplazado por agua con elementos indispensables disueltos en ella (Malca, 2001), en donde los nutrientes minerales esenciales están disueltos en agua y se pueden emplear sustratos inertes para la movilización de los mismos a través de la raíces (Amador, 2000); o también pueden ser llevados en contacto con las raíces directamente, llamada así la técnica de la solución nutritiva recirculante (NFT) o aeroponía (Resh, 1997).

Se realizó la adaptación de *Chenopodium album* en solución nutritiva hidropónica de Hoagland, debido a que los siguientes ensayos de fitotoxicidad y bioacumulación de mercurio, plomo y cadmio se efectuaron en solución y debían realizarse en medio líquido, por la facilidad y para lograr homogeneidad y la correcta concentración de los metales en estudio para aplicar las respectivas evaluaciones. Así también, los cultivos sin tierra son considerados como una forma sencilla, limpia y de bajo costo para producir vegetales de rápido crecimiento (Castañeda, Valverde, & García, 1997) como *Chenopodium album* (Liccha), que es considerada en realidad una mala hierba. Es una maleza de localidades cultivadas, que generalmente crecen por encima de los 1000 m de altitud en zonas templadas y subtropicales; es allí donde ofrece la competencia más seria a las cosechas (Schmelzer & Gurib-Fakim, 2013)

En Arequipa, las temperaturas llegan por la noche a 8°C y durante el día a 21 °C en verano y otoño, la amplia distribución de *Chenopodium album* como mala hierba nos indica una amplia tolerancia de los climas con temperaturas medias que van de 5-30 °C, tolerando también las heladas nocturnas (Schmelzer & Gurib-Fakim, 2013). Es por eso, que no fue necesario

implementar un sistema invernadero para la adaptación y los ensayos de fitotoxicidad y bioacumulación, corroborando las ventajas de la técnica de fitorremediación y facilitando el escalamiento a nivel industrial, debido al costo.

Para producir el cultivo hidropónico de forraje verde se emplea la cuarta parte de la dosis normal de la solución de Hoagland de la Universidad Nacional Agraria La Molina (*Solución hidropónica La Molina*, 2015); ya que *Chenopodium album* es una planta herbácea de pocos requerimientos nutritivos, asemejándose al forraje, se probaron diferentes diluciones de la solución.

Se evaluaron tres tratamientos, con concentraciones diferentes de solución nutritiva de Hoagland, durante un periodo de 15 días; siendo T1 la solución al 25%, T2 la solución al 50% y T3 la solución al 100%.

Como se observa en la **FIGURA 7:**

El tratamiento T1 presentó mejores resultados, a los 15 días se observó el crecimiento de la planta con la estructura completa sin observar cambios relevantes.

En el tratamiento T2, se observaron inicios de clorosis a los 5 días de tratamiento, y marchitamiento a los 15 días.

Y por último, en el tratamiento T3, las plántulas mostraron marchitamiento en la parte inferior del tallo y senescencia a los 6 días, con necrosis en las raíces. Esto probablemente a causa de un exceso de nutrientes.

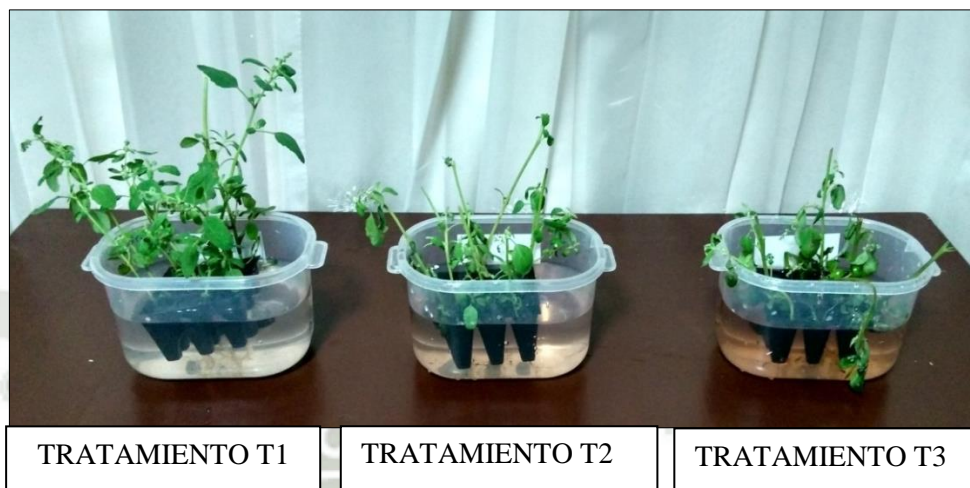
La anomalía visible causada por la deficiencia o el exceso de un determinado elemento, (síntomas) es el diagnóstico visual del estado nutricional de las plantas.

El diagnóstico foliar es considerado como un método destinado a evaluar el estado nutricional de las plantas y la necesidad de fertilizante de los cultivos, se sostiene que el diagnóstico foliar puede ser usado tanto como un medio para recomendar dosis de fertilizantes a aplicar, como para ajustar programas de fertilización, particularmente en cultivos perennes (Malavolta, Vitti, & Oliveira, 1992), como es el caso de *Chenopodium album*. El efecto nocivo de estos elementos se puede concentrar fácilmente en la zona de las raíces, cuando no existe un drenaje adecuado o cuando el agua de riego contiene también elementos tóxicos a la planta (Goñi, 1995).

Actualmente, no existen trabajos que hayan realizado el cultivo hidropónico de *Chenopodium album*, ni de alguna otra maleza.

Como se obtuvieron mejores resultados con el tratamiento T1, se procedió a la adaptación de las plántulas en solución al 25%.





**FIGURA 7.** Tratamientos de adaptación de *Chenopodium album*.



### 3.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

La validación de un método analítico es un paso fundamental para asegurar que los resultados obtenidos por dicho método sean confiables. Se validó el método analítico de ICP-OES, según la normativa ICH (ICH, 1994).

Para ésta técnica se creó un método que incluía los tres metales: mercurio, plomo y cadmio. ; preparando seis estándares diferentes (**TABLA 4**).

- **LINEALIDAD**

La linealidad es la capacidad de un método analítico de dar un resultado proporcional a la concentración del analito ha determinar en la muestra.

Con los datos de las intensidades del ICP-OES, registradas en el informe del Laboratorio de Control de Calidad de la UCSM (**ANEXO 2**), mostrados en la **TABLA 5**; se procedió a construir una curva de calibración en función de la concentración de mercurio, plomo y cadmio ( $\text{mg.L}^{-1}$ ).

En la **FIGURA 8**, se muestra la representación gráfica de la linealidad del método para cada metal; mercurio, plomo y cadmio.

Luego, se realizó el análisis de regresión lineal, obteniendo los datos presentados en la **TABLA 6**:

Para el mercurio se obtuvo la ecuación  $y = 23410x - 20.5$ , donde el intercepto (a) y la pendiente (b) tienen valores de -20.5 y 23410 respectivamente. Así, el coeficiente de correlación (r) tiene un valor de 0,9997, también se obtuvo el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) con un valor de 0,9995.

Para el plomo se obtuvo la ecuación  $y = 85170x - 292.7$ , donde el intercepto (a) y la pendiente (b) tienen valores de -292.7 y 85170

respectivamente. El coeficiente de correlación ( $r$ ) tiene un valor de 0,9999, y el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) un valor de 0,9999 demostrándose la correlación.

Y por último, para el cadmio se obtuvo la ecuación  $y = 5229x - 28.5$ , donde el intercepto (a) y la pendiente (b) tienen valores de -28.5 y 5229 respectivamente. Así, el coeficiente de correlación ( $r$ ) tiene un valor de 0,9999, y el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) un valor de 0,9999.

El coeficiente de correlación ( $r$ ) indica el grado de relación entre la variable X y la variable respuesta (Y) de la curva de calibración. El valor máximo de 1 indica una correlación positiva perfecta (entre X e Y) con una pendiente positiva; así, el coeficiente de determinación cercano a la unidad, indica mayor significación estadística ya que expresa la proporción de la variación total en base al modelo.

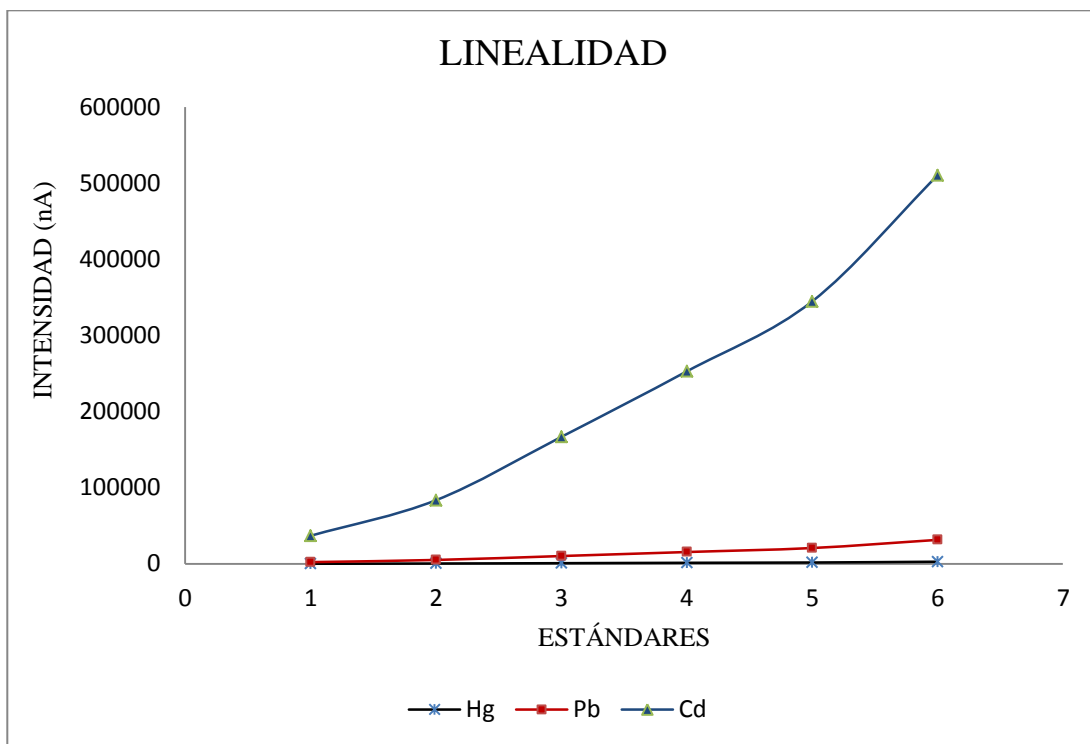
Según la normativa ICH se debe cumplir  $r \geq 0.999$  y  $r^2 \geq 0.980$  para dar validación del método, así mismo se verificó el cumplimiento de los requerimientos de linealidad para el método de análisis de los tres metales.



**TABLA 5.** Intensidad de estándares para mercurio, plomo y cadmio.

	ESTÁNDAR 1	ESTÁNDAR 2	ESTÁNDAR 3	ESTÁNDAR 4	ESTÁNDAR 5	ESTÁNDAR 6
<b>MER CURIO</b>	175.450 ± 10.536	433.850 ± 6.576	911.000 ± 9.334	1399.550 ± 5.303	1788.050 ± 0.353	2827.450 ± 0.636
<b>PLOMO</b>	2293.700 ± 12.445	5131.950 ± 1.768	10279.100 ± 10.182	15556.400 ± 10.247	20786.000 ± 10.516	31513.550 ± 4.560
<b>CADMIO</b>	36835.700 ± 10.675	83529.550 ± 9.320	166741.400 ± 7.336	252737.500 ± 3.443	344640.600 ± 9.743	510254.000 ± 8.264

*n=2 (análisis por duplicado)*

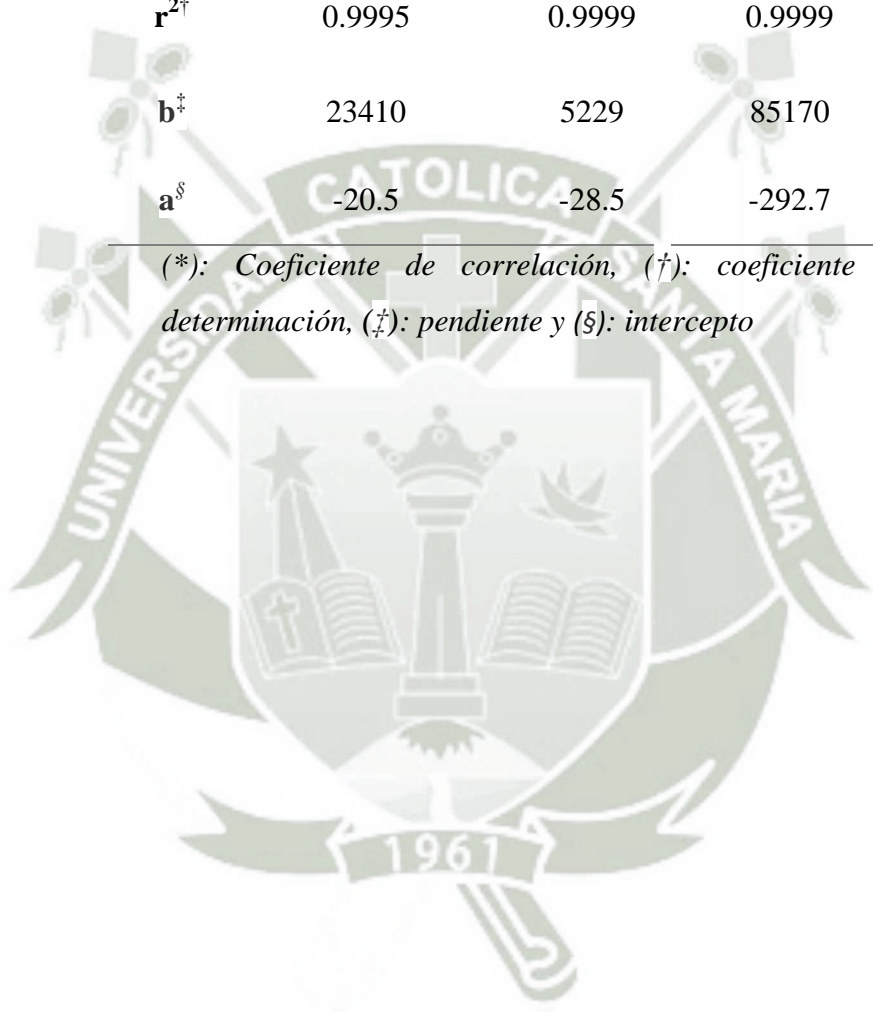


**FIGURA 8.** Representación gráfica de la linealidad del método para la determinación de mercurio, plomo y cadmio.

**TABLA 6.** Análisis de regresión lineal

	MERCURIO	PLOMO	CADMIO
$r^*$	0.9997	0.9999	0.9999
$r^{2\dagger}$	0.9995	0.9999	0.9999
$b^{\ddagger}$	23410	5229	85170
$a^{\S}$	-20.5	-28.5	-292.7

( $*$ ): Coeficiente de correlación, ( $\dagger$ ): coeficiente de determinación, ( $\ddagger$ ): pendiente y ( $\S$ ): intercepto



- **PRECISION**

La precisión podría establecerse en términos de repetibilidad. El grado de precisión se expresa habitualmente en términos de imprecisión y se calcula como desviación estándar de los resultados.

Se determinó la repetibilidad, registrando seis mediciones bajo las mismas condiciones (mismo operador, mismo equipo, mismo laboratorio y en cortos intervalos de tiempo). Así se calculó la desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación.

De acuerdo con el método de validación ICH, el criterio de aceptación para repetibilidad es que el % RSD sea menor al 2 %.

Los resultados muestran (**TABLA 7**):

Para mercurio, se calculó una desviación estándar de 0.001 y un %RSD de 1.230. Para el plomo, se calculó una desviación estándar de 0.023 y un %RSD de 1.160. Y por último, para el cadmio, se calculó una desviación estándar de 0.007 y un %RSD de 0.330. Por lo tanto nuestro método resulta ser repetible y preciso por cumplir el requerimiento ICH.

**TABLA 7.** Precisión: desviación estándar y porcentaje de coeficiente de variación.

MEDICIONES	MERCURIO*	PLOMO*	CADMIO*
1	0.039	2.017	1.997
2	0.040	1.981	2.002
3	0.039	2.004	2.001
4	0.040	1.956	2.008
5	0.040	1.992	1.990
6	0.040	1.990	2.000
<b>Promedio</b>	0.039	1.990	1.999
<b>SD</b>	0.001	0.023	0.007
<b>%RSD</b>	1.230	1.160	0.330

(\*): Concentración del metal expresada en  $\text{mg.L}^{-1}$

- **EXACTITUD**

La exactitud se define como el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia. Una manera para determinar la exactitud es el porcentaje de recuperación analítico absoluto promedio (% R), éste se determinó realizando 3 mediciones de una concentración de  $0.06 \text{ mg.L}^{-1}$  para mercurio y  $3 \text{ mg.L}^{-1}$  para plomo y cadmio.

Los datos obtenidos, se muestran en la **TABLA 8**. Así se obtuvo un % R de 97.537 % para mercurio; 98.987 % para plomo y 101.210 % para cadmio.

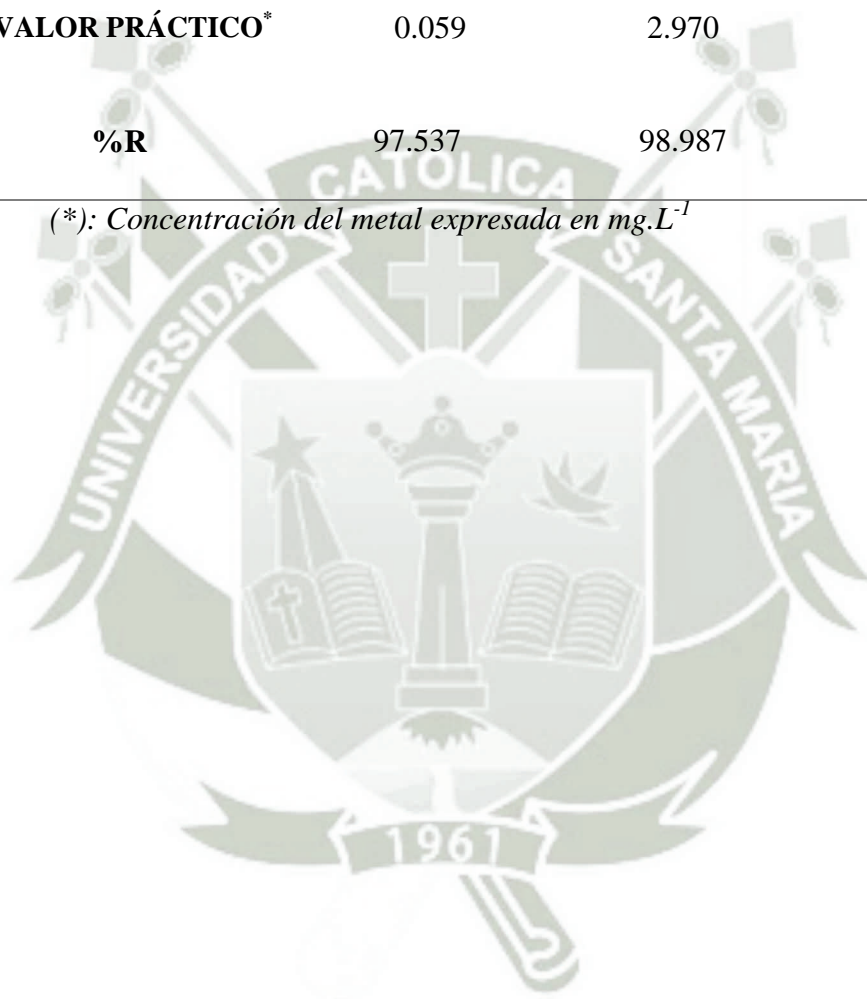
De acuerdo con el método de validación ICH, el criterio de aceptación para la exactitud es un valor de  $95\% < \% \text{ Recuperación} < 103\%$ .

Por lo tanto, se validó que el método analítico es exacto para la determinación de mercurio, plomo y cadmio.

**TABLA 8.** Exactitud: porcentaje de recuperación analítico absoluto promedio

	MERCURIO	PLOMO	CADMIO
<b>VALOR TEÓRICO*</b>	0.06	3	3
<b>VALOR PRÁCTICO*</b>	0.059	2.970	3.036
<b>%R</b>	97.537	98.987	101.210

(\*): *Concentración del metal expresada en mg.L<sup>-1</sup>*



- **LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION**

El límite de detección (LD) es la mínima concentración o masa del analito que puede ser detectada en un método dado. Mientras que el límite de cuantificación (LC) es la mínima concentración o masa del analito de un método determinado que se puede cuantificar.

En la **TABLA 9**, se muestran el LD y LC para mercurio:  $0.0001 \mu\text{g.L}^{-1}$  y  $0.0002 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente; para plomo:  $0.0146 \mu\text{g.L}^{-1}$  y  $0.0442 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente y por último para cadmio:  $0.0003 \mu\text{g.L}^{-1}$  y  $0.0008 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente.

Con esto, se deduce que el método es capaz de detectar mínimas cantidades de mercurio, plomo y cadmio en determinadas muestras.



**TABLA 9.** Límite de detección y cuantificación.

	MERCURIO	PLOMO	CADMIO
<b>LD*</b>	0.0001	0.0146	0.0003
<b>LC†</b>	0.0002	0.0442	0.0008

(\*) y (†): Límite de detección y cuantificación, expresados en unidades de  $\mu\text{g.L}^{-1}$



### 3.5. ENSAYO DE FITOTOXICIDAD

El diagnóstico visual de las plantas es determinado por los síntomas visibles causadas por la presencia de determinados elementos tóxicos; por lo tanto, la evaluación foliar puede ser usado para determinar la toxicidad de un elemento, especialmente en cultivos perennes (Malavolta et al., 1992). El análisis foliar, es el criterio más seguro para detectar el estado nutricional de especies perennes (Avellán-Zumbado, Murillo-Cruz, Alvarado-Hernández, & Ávila-Arias, 2015), dado que su propia naturaleza le confiere características diferenciales al de las plantas anuales (Faust, 1989). Los síntomas de toxicidad de todos los elementos aparecen primero en las hojas de los cultivos mayores, verificando así el daño de la planta (Seebold et al., 2015).

Para emplear este método, primero, se aseguró que los cultivos de *Chenopodium album* se adecuaron a la solución nutritiva mediante los ensayos previos de adaptación; y que los nutrientes minerales disueltos en ella sean suficientes para proporcionarle el óptimo crecimiento. Así, los síntomas foliares y daños en la estructura solamente serían a causa de los metales (mercurio, plomo y cadmio) puestos en solución.

El ensayo de toxicidad se realizó con la finalidad de determinar la concentración adecuada de cada metal, para llevar a cabo el ensayo de bioacumulación; ésta, se refiere a la máxima concentración de metal que la planta puede resistir y a la cual, tiene la capacidad de acumular la mayor cantidad del mismo en su interior.

Para esto, se plantearon tres tratamientos con diferentes concentraciones de cada metal, considerando un blanco (de concentración nula) como el cuarto

tratamiento; evaluando 3 plántulas (de 20 días de crecimiento y 10 días de adaptación), como se observa en la **FIGURA 9**.

En este ensayo, se evaluó la toxicidad, mediante un diagnóstico visual, plasmando los resultados en base a una escala de grados de toxicidad descrita en la **TABLA 10**.

Así también, al finalizar los 19 días de tratamiento, se determinó la concentración de cada metal acumulado en la parte radicular y aérea de las plantas tratadas, considerando el peso seco de las mismas; no se procedió al secado de todas las plantas, solo de una muestra, ya que el mercurio se volatiliza a 39°C (Macorra García, 1982).



**FIGURA 9.** Ensayo de fitotoxicidad.

**TABLA 10.** Escala de grados de toxicidad.

<b>GRADOS DE TOXICIDAD</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
Grado 1 (G1)	P. radicular: No se observaron síntomas. P. aérea: No se observaron síntomas.
Grado 2 (G2)	P. radicular: No se observaron síntomas. P. aérea: Tercio inferior con áreas cloróticas, tercio medio y superior no se observaron síntomas.
Grado 3 (G3)	P. radicular: No se observaron síntomas. P. aérea: Tercio inferior con clorosis y/o arrugamiento de hojas, tercio medio con áreas cloróticas.
Grado 4 (G4)	P. radicular: No se observaron síntomas. P. aérea: Tercio inferior con inicios de senescencia, tercio medio con clorosis y arrugamiento, tercio superior sin síntomas.
Grado 5 (G5)	P. radicular: No se observaron síntomas. P. aérea: Tercio inferior con senescencia en su totalidad y abscisión de hojas. El tercio medio con senescencia y formación de nuevos brotes axilares, tercio superior con brotes.
Grado 6 (G6)	P. radicular: No se observaron síntomas. P. aérea: Tercio inferior con senescencia en su totalidad y abscisión de hojas, tercio medio con senescencia y formación de nuevos brotes axilares, tercio superior con senescencia en su totalidad y abscisión de hojas.

### 3.5.1. MERCURIO

Para el mercurio, se evaluaron concentraciones de 0, 1, 5 y 10 mg.L<sup>-1</sup>, obteniendo así los resultados mostrados en la **TABLA 11**.

Al comparar los tratamientos; se observó que el tratamiento T0 con grado 1 (G1), no presentó síntomas de toxicidad en la parte radicular y aérea de la planta durante un periodo de 19 días, ya que fue el blanco y no se incluyeron los metales en estudio.

En los tres tratamientos, las raíces no mostraron cambios, en los 19 días.

El tratamiento T1 mostró cambios leves como ligera clorosis a los 16 días, manteniéndose así hasta el final. Con el tratamiento T2 empezaron los síntomas de clorosis a los 13 días, continuando hasta la senescencia del tercio inferior del tallo y arrugamiento de hojas. Por el contrario, con el tratamiento T3 empezaron la clorosis a los 4 días, siguiendo la parte inferior, media e inicios de senescencia a los 10 días, finalmente a los 16 días mostró senescencia completa y necrosis en la parte inferior.

Concluyéndose, que a la mayor concentración de mercurio, las plantas presentaron síntomas de toxicidad foliar y de tallo; causando senescencia temprana, producida por la concentración elevada de mercurio.

Al finalizar el tratamiento, se analizó la concentración de mercurio acumulado en las plantas (**TABLA 12**). Para realizar el ensayo final de bioacumulación, se tomó en cuenta la mayor cantidad de mercurio acumulado en la parte radicular y aérea de las plantas. Se halló una acumulación máxima de  $220.968 \pm 0.014$  mg.Kg<sup>-1</sup> de mercurio en la parte aérea, en el tratamiento T2; y  $8402.778 \pm 0.001$  mg.Kg<sup>-1</sup> en la parte radicular en el tratamiento T3. Valorando la escala de toxicidad, se determinó que la concentración apropiada para llevar a cabo el ensayo de bioacumulación final sería la del tratamiento T2 (5 mg.L<sup>-1</sup> Hg), ya que se obtuvo la mayor acumulación de mercurio y la mayor resistencia al mismo.

**TABLA 11.** Escala de toxicidad a diferentes concentraciones de mercurio en *Chenopodium album*.

<b>MERCURIO</b>								
<b>TIEMPO</b>	<b>T0<sup>(*)</sup></b>		<b>T1<sup>(†)</sup></b>		<b>T2<sup>(‡)</sup></b>		<b>T3<sup>(§)</sup></b>	
<b>(Días)</b>	<b>P. radicular</b>	<b>P. aérea</b>	<b>P. radicular</b>	<b>P. aérea</b>	<b>P. radicular</b>	<b>P. aérea</b>	<b>P. radicular</b>	<b>P. aérea</b>
<b>0</b>	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
<b>1</b>	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
<b>4</b>	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G3
<b>7</b>	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G3
<b>10</b>	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G4
<b>13</b>	G1	G1	G1	G1	G1	G2	G1	G5
<b>16</b>	G1	G1	G1	G2	G1	G3	G1	G6
<b>19</b>	G1	G1	G1	G2	G1	G4	G1	G6

(<sup>\*</sup>): 0 mg.L<sup>-1</sup>, (<sup>†</sup>): 1 mg.L<sup>-1</sup>, (<sup>‡</sup>): 5 mg.L<sup>-1</sup>, (<sup>§</sup>): 10 mg.L<sup>-1</sup>.

**TABLA 12.** Bioacumulación de mercurio en la parte radicular y aérea de *Chenopodium album*.

MERCURIO	P. RADICULAR <sup>(*)</sup>	P. AÉREA <sup>(†)</sup>
<b>T0</b>	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
<b>T1</b>	41.667 ± 0.012	31.935 ± 0.001
<b>T2</b>	2701.389 ± 0.003	220.968 ± 0.014
<b>T3</b>	8402.778 ± 0.001	138.710 ± 0.010

*n= 3 (3 muestras), (\*) y (†): concentración del metal en la planta expresada en mg.kg<sup>-1</sup>.*

### 3.5.2. PLOMO

En el caso del plomo, se evaluaron concentraciones de 0, 5, 10 y 15 mg.L<sup>-1</sup>.

En la **TABLA 13**, se observa que en los tres tratamientos, las raíces no mostraron cambios, en los 19 días.

El tratamiento T1 no mostró cambios, demostrando la resistencia de las plántulas a niveles bajos de plomo. Con el tratamiento T2, a los 13 días empezaron a mostrar cambios leves, presentando pequeñas zonas cloróticas en el tercio inferior y poco arrugamiento de las hojas a los 19 días.

En el tratamiento T3, a los 10 días se observaron inicios de clorosis, y de los 13 a 19 días, se observó un marchitamiento progresivo, terminando en senescencia parcial.

Así se observó que a la mayor concentración de plomo, las plantas presentaron síntomas tempranos de toxicidad foliar y de tallo, producidos por la concentración elevada del metal en estudio.

Al finalizar el tratamiento, se analizó la concentración de plomo acumulado en las plantas (**TABLA 14**).

La mayor cantidad de plomo acumulado en la parte radicular fue de  $5805.556 \pm 0.001$  mg.Kg<sup>-1</sup> de plomo en el tratamiento T3, al igual que en la parte aérea, con  $20.968 \pm 0.002$  mg.Kg<sup>-1</sup> de plomo.

Al contrastar con la escala de toxicidad, se determinó que el tratamiento T2 (10 mg.L<sup>-1</sup> Pb) sería el adecuado, debido a la resistencia mostrada de la planta a esa concentración de plomo.

**TABLA 13.** Escala de toxicidad a diferentes concentraciones de plomo en *Chenopodium album*.

PLOMO								
TIEMPO	T0 <sup>(*)</sup>		T1 <sup>(†)</sup>		T2 <sup>(‡)</sup>		T3 <sup>(§)</sup>	
(Días)	P. radicular	P. aérea	P. radicular	P. aérea	P. radicular	P. aérea	P. radicular	P. aérea
0	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
4	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
7	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
10	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G2
13	G1	G1	G1	G1	G1	G2	G1	G4
16	G1	G1	G1	G1	G1	G2	G1	G5
19	G1	G1	G1	G1	G1	G3	G1	G5

(\*):  $0 \text{ mg.L}^{-1}$ , (†):  $5 \text{ mg.L}^{-1}$ , (‡):  $10 \text{ mg.L}^{-1}$ , (§):  $15 \text{ mg.L}^{-1}$ .

**TABLA 14.** Bioacumulación de plomo en la parte radicular y aérea de *Chenopodium album*.

PLOMO	P. RADICULAR <sup>(*)</sup>	P. AÉREA <sup>(†)</sup>
T0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
T1	1064.931 ± 0.003	15.054 ± 0.004
T2	1819.792 ± 0.002	15.054 ± 0.001
T3	5805.556 ± 0.001	20.968 ± 0.002

(n= 3 (3 muestras), (\*) y (†): concentración del metal en la planta expresada en mg.kg<sup>-1</sup>.

### 3.5.3. CADMIO

Con respecto al cadmio; se evaluaron concentraciones de 0, 5, 10 y 15 mg.L<sup>-1</sup>, obteniendo los siguientes resultados mostrados en la **TABLA 15**.

Se observó que en los tres tratamientos, las raíces no mostraron cambios, en el periodo de tratamiento.

El tratamiento T1 mostró brotes de clorosis a los 10 días, y a los 13 - 19 días, inicios de senescencia en el tercio inferior, tercio medio con clorosis y arrugamiento de las hojas. Con el tratamiento T2, de los 10 a 16 días, las plantas presentaron clorosis leve y una senescencia continua, terminando a los 19 días con la misma hasta la parte intermedia. Con el tratamiento T3, los síntomas se detectaron a los 4 días, a los siguientes 3 días el tercio inferior presentó clorosis y arrugamiento de hojas, a los 13 días se empezó con la senescencia inferior, media y finalmente el tercio superior con abscisión de hojas.

Comprobándose que a la mayor concentración de cadmio, las plantas presentaron síntomas tempranos de toxicidad foliar y de tallo, producidos por la concentración elevada de cadmio.

Al finalizar el tratamiento, se analizó la concentración de cadmio acumulada en las plantas (**TABLA 16**).

La máxima concentración de cadmio acumulada en la parte radicular de la planta, se presentó en el tratamiento T3 con  $4142.361 \pm 0.000$  mg.Kg<sup>-1</sup>; y en la parte aérea en T2 con  $18.011 \pm 0.002$  mg.Kg<sup>-1</sup>. Así, se determinó que la concentración apropiada para el ensayo de bioacumulación de cadmio sería T2 (10 mg.L<sup>-1</sup>), ya que en la escala de toxicidad, mostró mayor resistencia durante mas días de tratamiento.

**TABLA 15.** Escala de toxicidad a diferentes concentraciones de cadmio en *Chenopodium album*.

CADMIO								
TIEMPO	T0 <sup>(*)</sup>		T1 <sup>(†)</sup>		T2 <sup>(‡)</sup>		T3 <sup>(§)</sup>	
(Días)	P. radicular	P. aérea	P. radicular	P. aérea	P. radicular	P. aérea	P. radicular	P. aérea
0	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
4	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G2
7	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G3
10	G1	G1	G1	G2	G1	G2	G1	G4
13	G1	G1	G1	G4	G1	G3	G1	G5
16	G1	G1	G1	G4	G1	G4	G1	G5
19	G1	G1	G1	G4	G1	G5	G1	G6

(\*): 0 mg.L<sup>-1</sup>, (†): 5 mg.L<sup>-1</sup>, (‡): 10 mg.L<sup>-1</sup>, (§): 15 mg.L<sup>-1</sup>.

**TABLA 16.** Bioacumulación de cadmio en la parte radicular y aérea de *Chenopodium album*.

CADMIO	P. RADICULAR <sup>(*)</sup>	P. AÉREA <sup>(†)</sup>
<b>T0</b>	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
<b>T1</b>	1500.347 ± 0.002	16.667 ± 0.001
<b>T2</b>	3352.083 ± 0.001	18.011 ± 0.002
<b>T3</b>	4142.361 ± 0.001	11.290 ± 0.001

*n= 3 (3 muestras), (\*) y (†): concentración del metal en la planta expresada en mg.kg<sup>-1</sup>.*

### 3.6. ENSAYO DE BIOACUMULACIÓN

Se instaló un sistema de aeroponía en recipientes de vidrio, colocando piedras difusoras para generar circulación de aire en el medio líquido donde se sumergieron las raíces, y se colocaron a temperatura ambiente.

Se realizaron cuatro tratamientos por triplicado, para el ensayo de bioacumulación.

Tres tratamientos en donde se evaluó la bioacumulación de las plántulas en solución pura de cada metal, por separado; y un cuarto tratamiento evaluado en una solución mixta de los 3 metales.

#### 3.6.1. MERCURIO

En la bioacumulación de mercurio, se emplearon plántulas de 7 cm de alto, en solución pura del metal, mostrando los resultados en la **TABLA 11**.

En el tratamiento T1 (**TABLA 17** y **FIGURA 10**), en la parte radicular se observó que existe una absorción considerable de  $1867.538 \pm 1.356 \text{ mg.kg}^{-1}$  ya a los 5 días de iniciado el ensayo, ascendiendo a los 10 días; a los 15 días, se presentó la mayor acumulación de  $21808.046 \pm 3.982 \text{ mg.kg}^{-1}$ ; iniciándose un decaimiento a los 20 días.

Por otro lado, en la parte aérea, se observó una acumulación creciente, también desde el día 5; acumulando la mayor cantidad de mercurio  $167.910 \pm 1.759 \text{ mg.kg}^{-1}$  a los 25 días, mostrando decaimiento a los 30 días.

El decaimiento de concentración en las raíces y hojas, podría deberse a un proceso de desorción de la planta debido al saturamiento de la misma.

Al comparar el efecto de cuatro plantas acuáticas como *Eichornia crassipes*, *Pistia stratiotes*, *Scirpus tabernaemontani* y *Colocasia esculenta*; la que

presentó una mayor concentración de mercurio fue la lechuga acuática (*Pistia stratiotes*) con una acumulación de  $53.450 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Skinner, Wright, & Porter-Goff, 2007), siendo aun así, *Chenopodium album*, la de mayor acumulación.

Así también, se realizó la prueba estadística de Fisher (F), comparando los valores de acumulación de la parte radicular y aérea. Los resultados se observan en la **TABLA 18**.

Del día 5 al 30, se muestra que el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , y el valor P de la prueba F es menor que 0.05; por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, afirmando que las varianzas son heterogéneas. Se demostró que existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de 95% de confianza.

Así, la parte radicular presentó mayor capacidad de acumulación de mercurio que la parte aérea; concluyendo que la planta *Chenopodium album*, emplea el proceso de rizofiltración y fitoextracción para remover mercurio de agua contaminada (Wuana & Okieimen, 2010; Yadav et al., 2011)

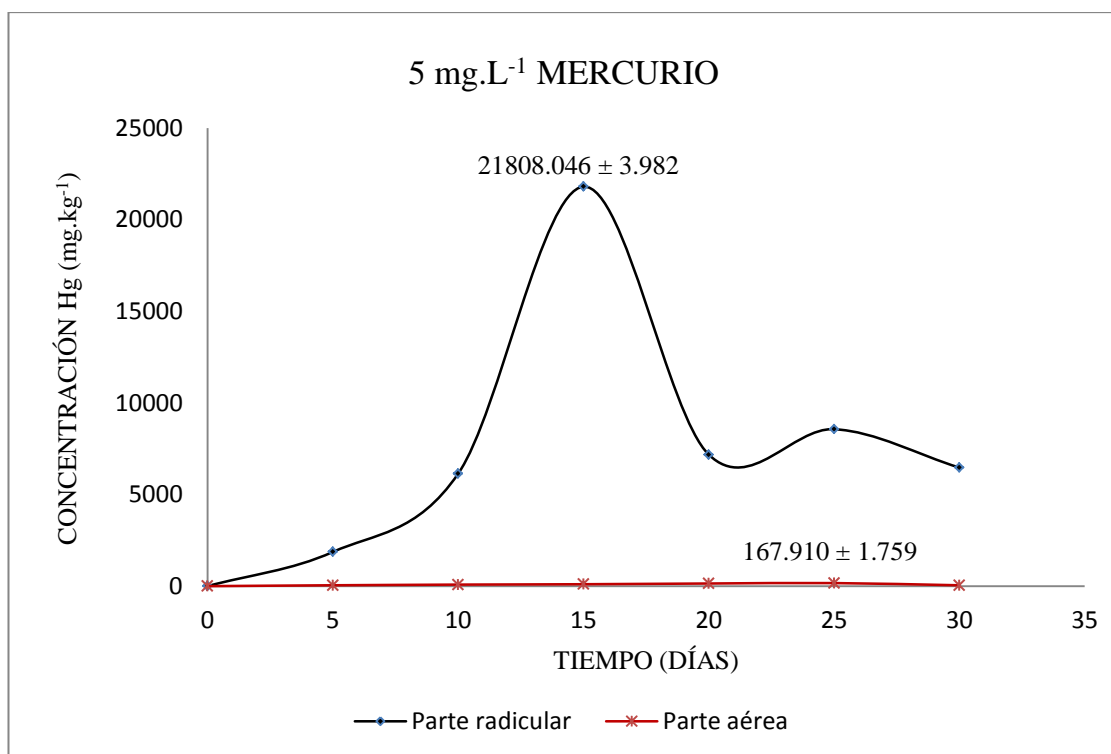
A los 15 días se obtuvo la máxima acumulación en la parte radicular, y en la parte aérea a los 25 días, esta diferencia de tiempo se debió a la translocación del metal hacia la parte aérea; sin embargo fue mayor la acumulación en la parte radicular, considerando así, 15 días para la absorción máxima de mercurio.

Al finalizar el tratamiento, las plantas crecieron hasta los 16 cm, mostrando clorosis en las hojas (**FIGURA 11**)

**TABLA 17.** Bioacumulación de mercurio en *Chenopodium album*.

TIEMPO <sup>(*)</sup>	P. RADICULAR <sup>(†)</sup>	P. AÉREA <sup>(‡)</sup>
0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
5	1867.538 ± 1.356	48.106 ± 0.011
10	6140.328 ± 0.745	84.619 ± 0.072
15	21808.046 ± 3.982	105.369 ± 1.388
20	7177.970 ± 0.350	144.279 ± 1.759
25	8567.368 ± 1.489	167.910 ± 1.759
30	6471.053 ± 3.721	46.667 ± 0.002

$n= 3$  (3 muestras), (\*): tiempo expresado en días, (†) y (‡): concentración del metal en la planta expresada en  $\text{mg.kg}^{-1}$ .

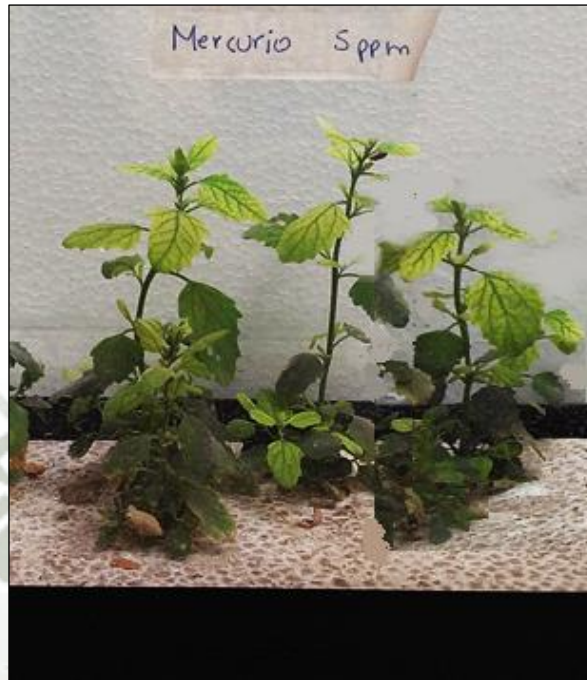


**FIGURA 10.** Curva de bioacumulación de mercurio de la parte radicular y aérea de *Chenopodium album*, en solución pura del metal.

**TABLA 18.** Análisis estadístico para el tratamiento T1 (parte radicular y aérea).

<b>TIEMPO<sup>(*)</sup></b>	<b>F CALCULADO</b>	<b>F CRÍTICO A=0.05</b>	<b>VALOR P</b>
<b>5</b>	5.909 E+05	18.513	1.692 E-06
<b>10</b>	8.663 E+07	18.513	1.154 E-08
<b>15</b>	3.532 E+07	18.513	2.832 E-08
<b>20</b>	3.076 E+07	18.513	3.251 E-08
<b>25</b>	2.657 E+07	18.513	3.763 E-08
<b>30</b>	5.960 E+06	18.513	1.678 E-07

*(\*): Tiempo expresado en días.*



**FIGURA 11.** Plantas de *Chenopodium album* a los 30 días de bioacumulación de mercurio.

Para determinar si existía interferencia de otros metales en la capacidad de bioacumulación de mercurio de la planta, se realizó el tratamiento T4 en una solución mixta con los tres metales (mercurio, plomo y cadmio).

Como se muestra en la **TABLA 19** y **FIGURA 12**, en el tratamiento T4 en la parte radicular se observó una máxima acumulación de  $16671.839 \pm 2.634$  mg.kg<sup>-1</sup> a los 15 días y el mismo comportamiento de decaimiento que T1 a los 20 días. En la parte aérea, se observó un comportamiento irregular, presentando una máxima acumulación de  $283.333 \pm 0.004$  mg.kg<sup>-1</sup> a los 30 días.

También se realizaron pruebas estadísticas diferenciando la acumulación en la parte radicular y aérea.

Como se observa en la **TABLA 20**, puesto que el valor P de la prueba F es menor que 0.05 y el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, afirmando que las varianzas son heterogéneas y existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza. Al igual que en T1, la parte radicular mostró mayor capacidad de acumulación de mercurio que la parte aérea.

En la solución mixta de los tres metales, el tiempo de máxima acumulación de mercurio en la parte radicular fue a los 15 días y en la parte aérea a los 30 días; esta diferencia se debió al tiempo de translocación del metal hacia la parte aérea; sin embargo fue mayor la acumulación en la parte radicular, al igual que en la solución pura, se consideró la máxima absorción a los 15 días.

Por último; se realizó una comparación entre los tratamiento T1 y T4 para mercurio, diferenciando la parte radicular y aérea en cada tratamiento.

Como se observa en la **TABLA 21**, el valor P de la prueba F es menor que 0.05 y el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , por lo tanto, existe una diferencia

estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza entre la acumulación en la parte radicular de T1 y T4.

A los 5 y 10 días, en el tratamiento T4 existió una absorción mayor que en T1, presentando la mayor concentración a los 15 días al igual que T1, pero con una menor acumulación.

Como se observa en la **TABLA 22**, el valor P de la prueba F es menor que 0.05 y el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , por lo tanto, existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza entre la acumulación en la parte aérea de T1 y T4.

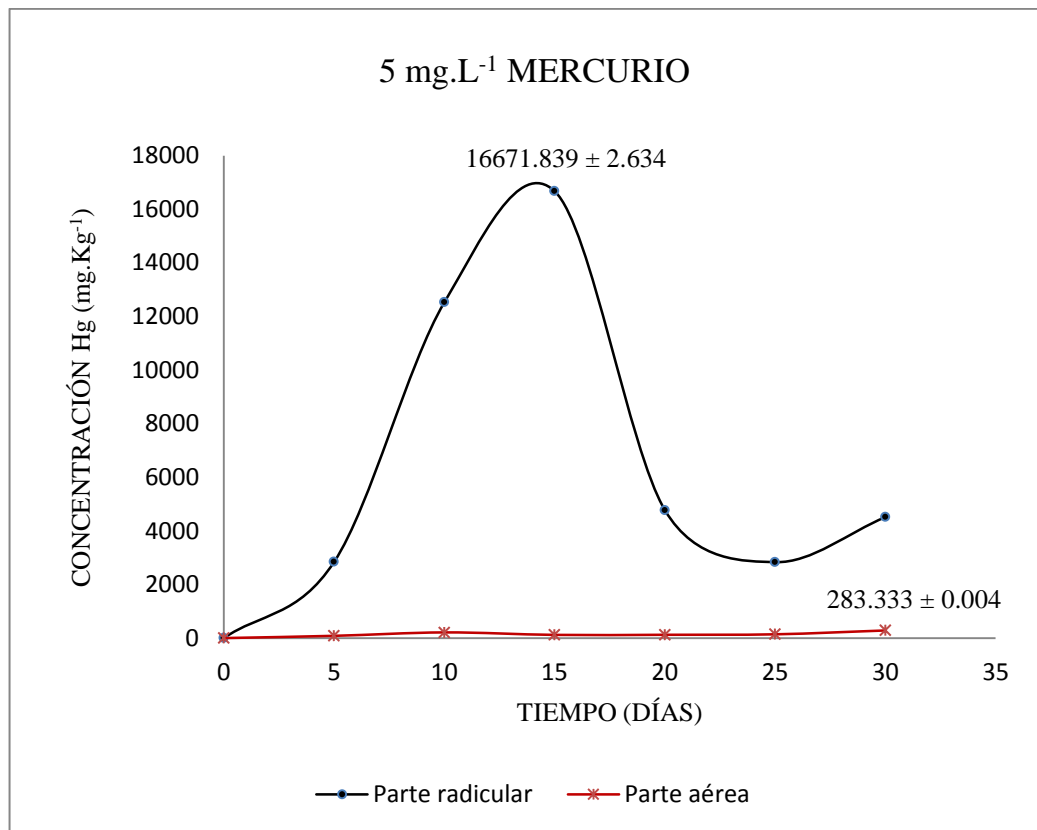
Durante los 30 días de tratamiento, las plantas de T4 presentaron mayor acumulación de mercurio en la parte aérea (el doble) denotando el incremento de la translocación; pero aun así, mucho menor que en la parte radicular.

Así, la mejor acumulación se dió a los 15 días; se hizo un análisis de la planta completa, sumando las cantidades acumuladas en la parte radicular y aérea, para poder determinar la influencia de los metales en la acumulación. La capacidad de acumulación de mercurio de *Chenopodium album*, en presencia de otros metales contaminantes como plomo y cadmio, fue de un 77%.

**TABLA 19.** Bioacumulación de mercurio en *Chenopodium album*, en solución mixta de metales.

TIEMPO <sup>(*)</sup>	P. RADICULAR <sup>(†)</sup>	P. AÉREA <sup>(‡)</sup>
0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
5	2842.424 ± 1.312	83.409 ± 0.001
10	12529.793 ± 2.591	210.614 ± 1.436
15	16671.839 ± 2.634	118.589 ± 0.689
20	4769.307 ± 0.700	122.512 ± 0.875
25	2832.895 ± 3.349	139.925 ± 0.865
30	4511.579 ± 0.744	283.333 ± 0.004

*n* = 3 (3 muestras), (\*): tiempo expresado en días, (†) y (‡): concentración del metal en la planta expresada en mg.kg<sup>-1</sup>.



**FIGURA 12.** Curva de bioacumulación de mercurio en la parte radicular y aérea de *Chenopodium album*, en solución mixta de metales.

**TABLA 20.** Análisis estadístico para el tratamiento T4 para mercurio (parte radicular y aérea), en solución mixta de metales.

TIEMPO <sup>(*)</sup>	F CALCULADO	F CRÍTICO A=0.05	VALOR P
5	5.898 E+08	18.513	1.696 E-09
10	4.705 E+07	18.513	2.125 E-08
15	2.482 E+08	18.513	4.029 E-09
20	3.418 E+07	18.513	2.926 E-08
25	1.209 E+06	18.513	8.268 E-07
30	7.073 E+05	18.513	1.414 E-06

(\*): *Tiempo expresado en días.*

**TABLA 21.** Análisis estadístico para los tratamientos T1 y T4 (parte radicular).

<b>TIEMPO<sup>(*)</sup></b>	<b>F CALCULADO</b>	<b>F CRÍTICO A=0.05</b>	<b>VALOR P</b>
<b>5</b>	6.736 E+05	18.513	1.484 E-06
<b>10</b>	5.725 E+06	18.513	1.747 E-07
<b>15</b>	1.419 E+06	18.513	7.045 E-07
<b>20</b>	1.894 E+07	18.513	5.280 E-08
<b>25</b>	4.895 E+06	18.513	2.043 E-07
<b>30</b>	5.331 E+05	18.513	1.876 E-06

(\*): *Tiempo expresado en días.*

**TABLA 22.** Análisis estadístico para los tratamientos T1 y T4 (parte aérea).

<b>TIEMPO<sup>(*)</sup></b>	<b>F CALCULADO</b>	<b>F CRÍTICO A=0.05</b>	<b>VALOR P</b>
<b>5</b>	5.184 E+04	18.513	1.929 E-05
<b>10</b>	1.017 E+04	18.513	9.836 E-05
<b>15</b>	1.210 E+02	18.513	8.163 E-03
<b>20</b>	2.450 E+02	18.513	4.057 E-03
<b>25</b>	4.050 E+02	18.513	2.460 E-03
<b>30</b>	2.240 E+03	18.513	4.460 E-04

(\*): *Tiempo expresado en días.*

### 3.6.2. PLOMO

Para el ensayo de bioacumulación de plomo, también se emplearon plántulas de 7 cm.

En el tratamiento T2 (**TABLA 23** y **FIGURA 13**), la parte radicular presentó una absorción de plomo de  $469.242 \pm 1.025 \text{ mg.kg}^{-1}$  a los 5 días, incrementándose a los 10 días, llegando a una máxima acumulación de  $17112.069 \pm 4.562 \text{ mg.kg}^{-1}$  a los 15 días de tratamiento; iniciándose un decaimiento a los 20 días. El decaimiento de concentración en las raíces, se debió probablemente, a un proceso de desorción por saturamiento del metal.

Por otro lado, en la parte aérea, se observó una acumulación creciente a lo largo del tratamiento, también desde el día 5; acumulando la mayor cantidad de plomo  $186.667 \pm 0.001 \text{ mg.kg}^{-1}$  a los 30 días. La tasa de translocación de plomo está relacionada con el crecimiento de la planta, así lo comprobó Grubor en plantas de *Sedum spectabile* y *Urtica dioica* (Grubor, 2008).

A comparación del pasto *Rye Grass* que acumuló  $2438.890 \text{ mg.kg}^{-1}$  en su tejido vegetal; *Chenopodium album*, presenta mayor capacidad de acumulación.

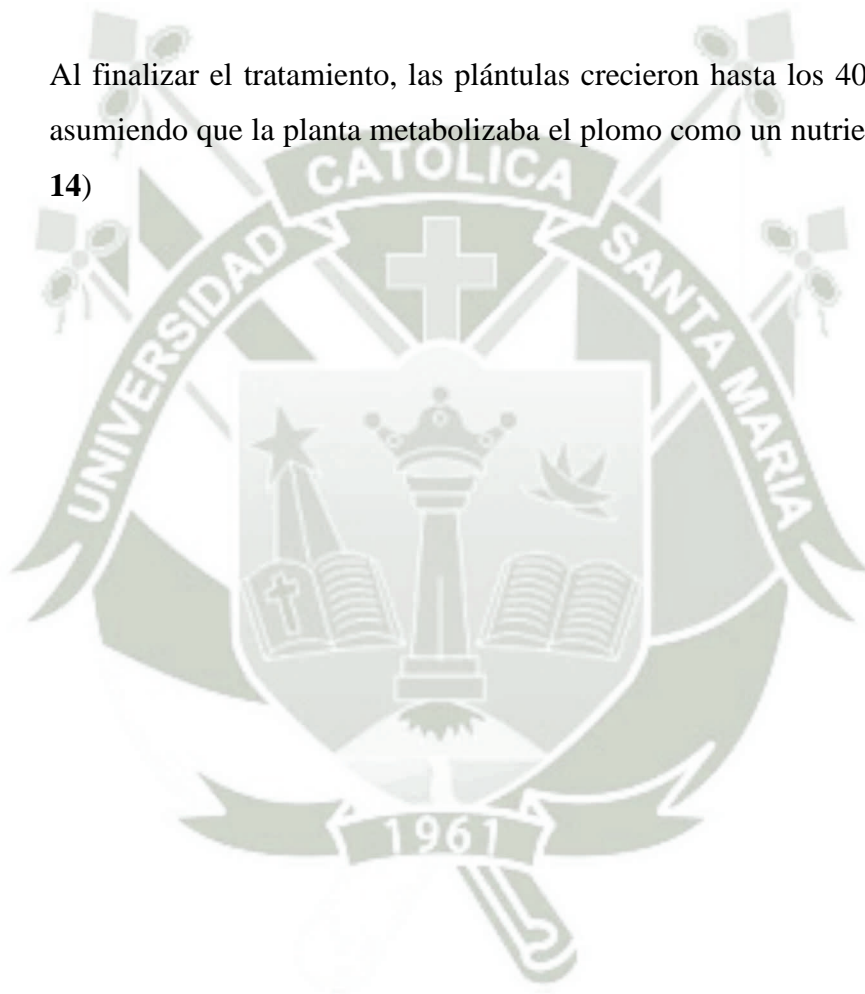
También, se realizó la prueba estadística de Fisher (F), comparando los valores de acumulación de la parte radicular y aérea (**TABLA 24**).

Del día 5 al 30, se muestra que el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , y el valor P de la prueba F es menor que 0.05; por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, afirmando que las varianzas son heterogéneas y existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de 95% de confianza. Así se comprobó que la parte radicular presentó mayor capacidad de acumulación de plomo que la parte aérea; a causa de la difusión lenta de este elemento; esto concuerda con Kadukova, quien evaluó plantas de *Nerium oleande* (Kadukova, Manousaki, & Kalogerakis, 2006),

Se concluyó, que la planta *Chenopodium album* emplea procesos de rizofiltración y fitoextracción (Wuana & Okieimen, 2010; Yadav et al., 2011) para descontaminar aguas con plomo.

Se obtuvo la máxima acumulación en la parte radicular a los 15 días, y en la parte aérea a los 30 días, esta diferencia de tiempo, debido a la translocación hacia las hojas; sin embargo la acumulación en la parte radicular fue mucho mayor, considerando 15 días para la absorción máxima de plomo en la planta.

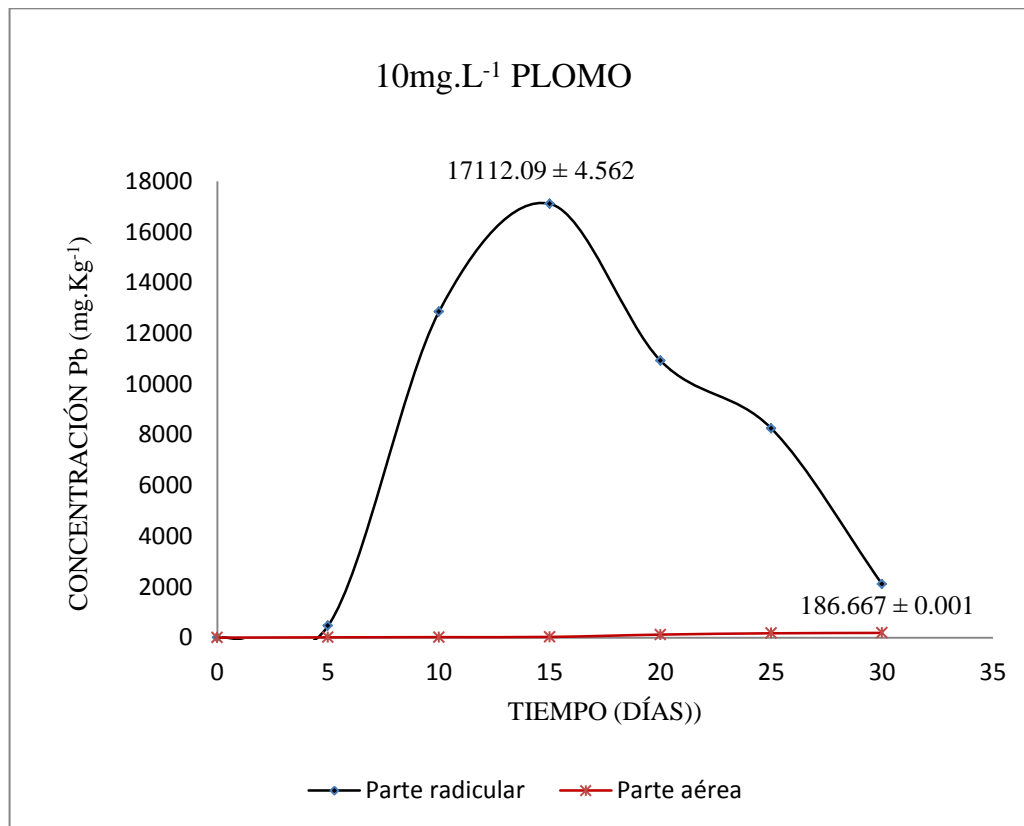
Al finalizar el tratamiento, las plántulas crecieron hasta los 40 cm de altura, asumiendo que la planta metabolizaba el plomo como un nutriente (**FIGURA 14**)



**TABLA 23.** Bioacumulación de plomo en *Chenopodium album*.

TIEMPO <sup>(*)</sup>	P. RADICULAR <sup>(†)</sup>	P. AÉREA <sup>(‡)</sup>
0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
5	469.242 ± 1.025	12.045 ± 0.001
10	12852.547 ± 2.082	20.336 ± 0.864
15	17112.069 ± 4.562	29.247 ± 0.693
20	10923.267 ± 3.501	120.025 ± 2.638
25	8250.000 ± 3.722	171.953 ± 0.440
30	2105.000 ± 4.838	186.667 ± 0.001

*n= 3 (3 muestras), (\*): tiempo expresado en días, (†) y (‡): concentración del metal en la planta expresada en mg.kg<sup>-1</sup>.*



**FIGURA 13.** Curva de bioacumulación de plomo en la parte radicular y aérea de *Chenopodium album*, en solución pura del metal.

**TABLA 24.** Análisis estadístico para el tratamiento T2 (parte radicular y aérea).

<b>TIEMPO<sup>(*)</sup></b>	<b>F CALCULADO</b>	<b>F CRÍTICO A=0.05</b>	<b>VALOR P</b>
5	5.570 E+05	18.513	1.795 E-06
10	6.273 E+07	18.513	1.594 E-08
15	2.382 E+07	18.513	4.198 E-08
20	1.215 E+07	18.513	8.232 E-08
25	9.293 E+06	18.513	1.076 E-07
30	3.144 E+05	18.513	3.180 E-06

(\*): *Tiempo expresado en días.*



**FIGURA 14.** Plantas de *Chenopodium album* a los 30 días de bioacumulación de plomo.

Para determinar si existía interferencia de otros metales en la capacidad de bioacumulación de plomo de la planta, se realizó el tratamiento T4 en una solución mixta con los tres metales (plomo, mercurio y cadmio).

Como se muestra en la **TABLA 25** y **FIGURA 15**, en el tratamiento T4, en la parte radicular se observó un comportamiento irregular, con una máxima acumulación de  $1574.195 \pm 0.099 \text{ mg.kg}^{-1}$  a los 15 días y el mismo decaimiento que T1 a los 20 días. Por otro lado, la parte aérea presentó una absorción de  $24.461 \pm 0.717 \text{ mg.kg}^{-1}$  a los 10 días, manteniéndose constante hasta los 25 días, incrementando a una máxima acumulación de  $34.167 \pm 0.001 \text{ mg.kg}^{-1}$  a los 30 días.

También se realizaron pruebas estadísticas diferenciando la acumulación en la parte radicular y aérea (**TABLA 26**). Como se observa, ya que el valor P de la prueba F es menor que 0.05 y el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, afirmando que las varianzas son heterogéneas y existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza. Al igual que en T2, la parte radicular mostró mayor capacidad de acumulación de plomo que la parte aérea.

En la solución mixta, el tiempo de máxima acumulación en la parte radicular fue a los 15 días y en la parte aérea a los 30 días; esta diferencia se debió al tiempo de translocación del metal hacia la parte aérea; sin embargo es mayor la acumulación en la parte radicular, al igual que en la solución pura, se consideró la máxima absorción a los 15 días.

Por último; se realizó una comparación entre los tratamiento T2 y T4 para plomo, diferenciando la parte radicular y aérea en cada tratamiento.

Como se observa en la **TABLA 27**, el valor P de la prueba F es menor que 0.05 y el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , por lo tanto, existe una diferencia

estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza entre la acumulación en la parte radicular de T2 y T4.

El tratamiento T4 presentó una concentración de plomo 10 veces menor que T1, demostrando que si existe interferencia de los otros metales, en la capacidad de acumulación de plomo de la planta.

Como se muestra en la **TABLA 28**, se consideró el promedio de las 6 mediciones para determinar la comparación. El valor P de la prueba F es menor que 0.05 y el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , por lo tanto, existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza entre la acumulación en la parte aérea de T2 y T4.

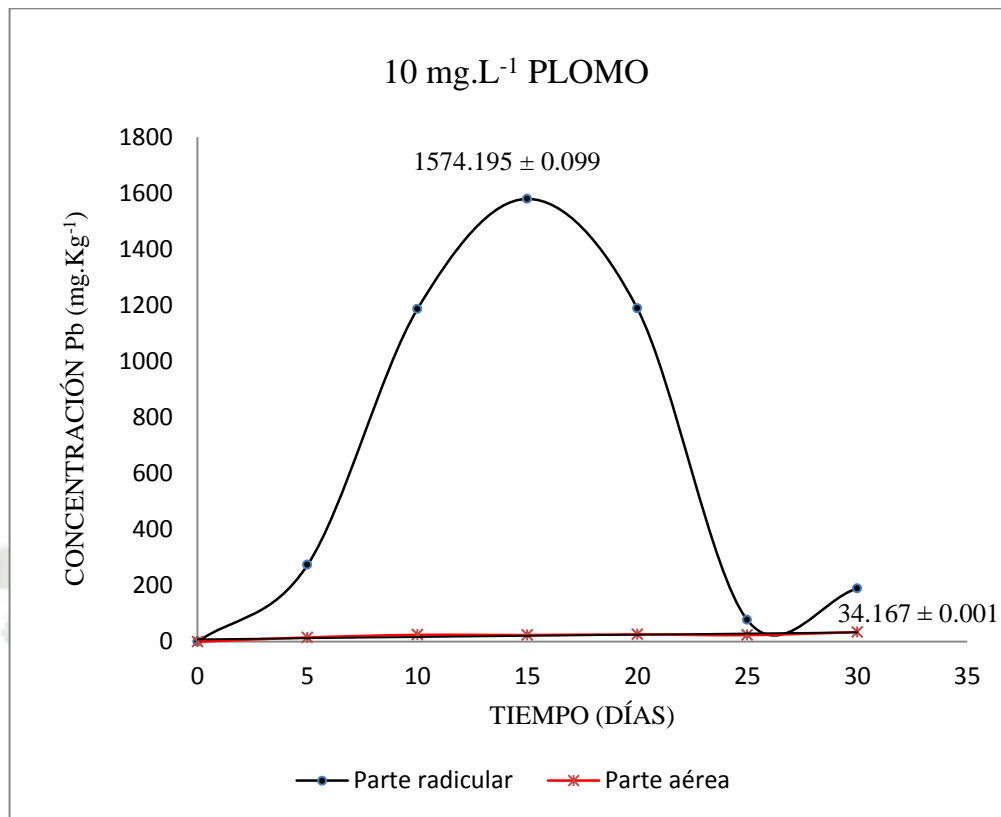
Al igual que en la parte radicular, las plantas del tratamiento T4 presentaron menor acumulación de plomo en la parte aérea.

Como se determinó, la mejor acumulación se dió a los 15 días; se hizo un análisis de la planta completa, sumando las cantidades acumuladas en la parte radicular y aérea, para poder determinar la influencia de los metales en la acumulación, La capacidad de acumulación de plomo de *Chenopodium album*, en presencia de otros metales contaminantes como mercurio y cadmio, fue de un 9%.

**TABLA 25.** Bioacumulación de plomo en *Chenopodium album*, en solución mixta de metales.

TIEMPO <sup>(*)</sup>	P. RADICULAR <sup>(†)</sup>	P. AÉREA <sup>(‡)</sup>
0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
5	271.894 ± 1.389	15.303 ± 0.003
10	1183.074 ± 0.754	24.461 ± 0.717
15	1574.195 ± 0.099	24.038 ± 2.404
20	454.208 ± 1.050	26.119 ± 1.759
25	77.632 ± 0.381	23.632 ± 1.760
30	190.000 ± 0.001	34.167 ± 0.001

*n= 3 (3 muestras), (\*): tiempo expresado en días, (†) y (‡): concentración del metal en la planta expresada en mg.kg<sup>-1</sup>.*



**FIGURA 15.** Curva de bioacumulación de plomo en la parte radicular y aérea de *Chenopodium album*, en solución mixta de metales.

**TABLA 26.** Análisis estadístico para el tratamiento T4 para plomo (parte radicular y aérea), en solución mixta de metales.

TIEMPO <sup>(*)</sup>	F CALCULADO	F CRÍTICO A=0.05	VALOR P
5	9.736 E+04	18.513	1.027 E-05
10	3.470 E+06	18.513	2.882 E-07
15	4.158 E+05	18.513	2.405 E-06
20	8.733 E+04	18.513	1.145 E-05
25	1.804 E+03	18.513	5.538 E-04
30	3.497 E+04	18.513	2.860 E-05

(\*): *Tiempo expresado en días.*

**TABLA 27.** Análisis estadístico para los tratamientos T2 y T4 (parte radicular).

<b>TIEMPO<sup>(*)</sup></b>	<b>F CALCULADO</b>	<b>F CRÍTICO A=0.05</b>	<b>VALOR P</b>
<b>5</b>	1.892 E+04	18.513	5.284 E-05
<b>10</b>	5.195 E+07	18.513	1.925 E-08
<b>15</b>	3.215 E+08	18.513	3.110 E-09
<b>20</b>	1.641 E+07	18.513	6.093 E-08
<b>25</b>	9.549 E+06	18.513	1.047 E-07
<b>30</b>	3.133 E+05	18.513	3.191 E-06

*(\*)*: Tiempo expresado en días.

**TABLA 28.** Análisis estadístico para los tratamientos T2 y T4 (parte aérea).

<b>TIEMPO<sup>(a)</sup></b>	<b>F CALCULADO</b>	<b>F CRÍTICO A=0.05</b>	<b>VALOR P</b>
<b>5</b>	2.250 E+01	18.513	4.169 E-02
<b>10</b>	1.382 E+01	18.513	6.536 E-02
<b>15</b>	2.420 E+01	18.513	3.893 E-02
<b>20</b>	1.754 E+03	18.513	5.697 E-04
<b>25</b>	1.338 E+04	18.513	7.471 E-05
<b>30</b>	3.349 E+04	18.513	2.986 E-05
Promedio	8.115 E+03	18.513	2.444 E-02

*(a): Tiempo expresado en días.*

### 3.6.3. CADMIO

Para el ensayo de bioacumulación de cadmio, también se emplearon plántulas de 7 cm.

En el tratamiento T3 (**TABLA 29** y **FIGURA 16**), la parte radicular, presentó una absorción de cadmio considerable desde los 5 días ( $1031.288 \pm 2.160$  mg.kg<sup>-1</sup>), llegando a una máxima acumulación de  $9771.839 \pm 3.590$  mg.kg<sup>-1</sup> a los 15 días de tratamiento; con un comportamiento irregular a partir de los 20 días.

Por otro lado, en la parte aérea, se observó una absorción creciente a lo largo del tratamiento, también desde el día 5; con la mayor acumulación de cadmio  $278.045 \pm 0.694$  a los 15 días, presentando el mismo comportamiento irregular que las raíces.

El decaimiento de concentración, podría deberse a un proceso de desorción de la planta por un mecanismo de excreción, como lo menciona Uraguchi (Uraguchi et al., 2009).

Al comparar con una acumulación de  $235.230$  mg.kg<sup>-1</sup> en *Lupinus albus* (Costa & Morel, 1993), se demuestra que *Chenopodium album* tiene una mayor capacidad de acumulación.

Así también, se realizó la prueba estadística de Fisher (F), comparando los valores de acumulación de la parte radicular y aérea.

En la **TABLA 30**, del día 5 al 30, se muestra que el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , y el valor P de la prueba F es menor que 0.05; por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, afirmando que las varianzas son heterogéneas y existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de 95% de confianza.

Comprobándose, que la parte radicular presentó mayor capacidad de acumulación de cadmio que la parte aérea, demostrando que la planta *Chenopodium album* emplea procesos de rizofiltración y fitoextracción (Wuana & Okieimen, 2010; Yadav et al., 2011) para descontaminar aguas con cadmio.

Ya que la máxima acumulación de cadmio en la parte radicular y aérea fue a los 15 días, se consideró ese tiempo para la absorción máxima de cadmio en la planta.

Al finalizar el tratamiento, las plántulas tuvieron un ligero crecimiento de hasta los 10 cm (**FIGURA 17**).

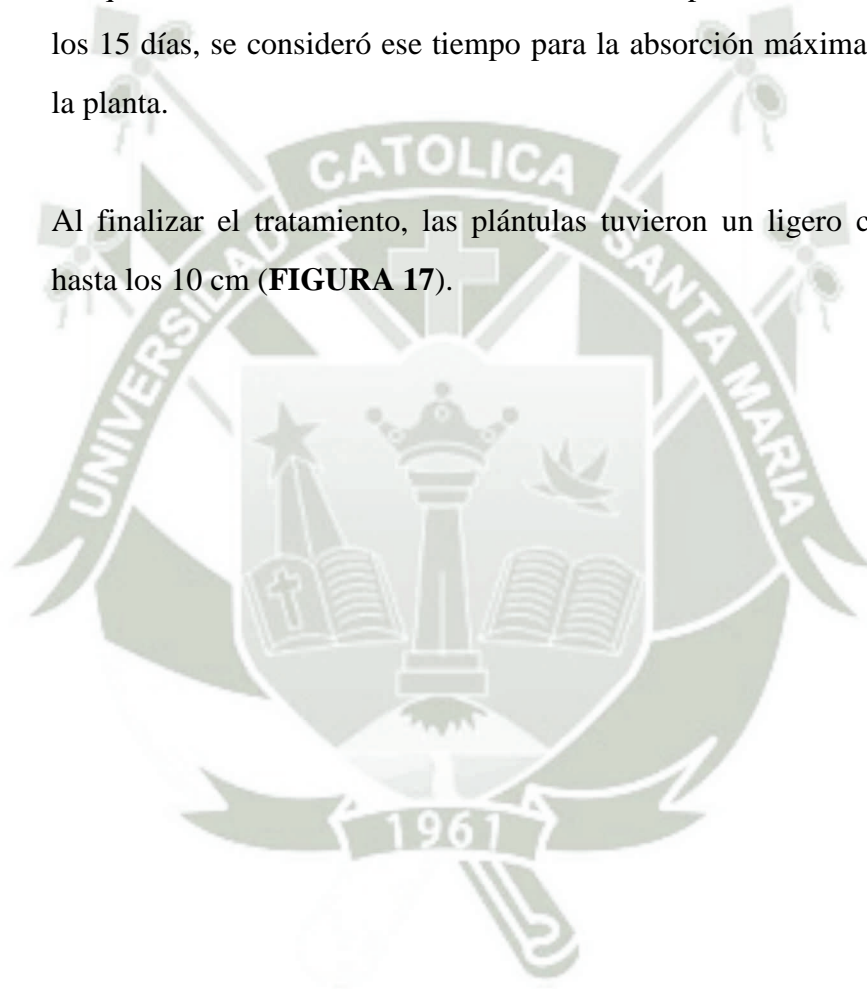
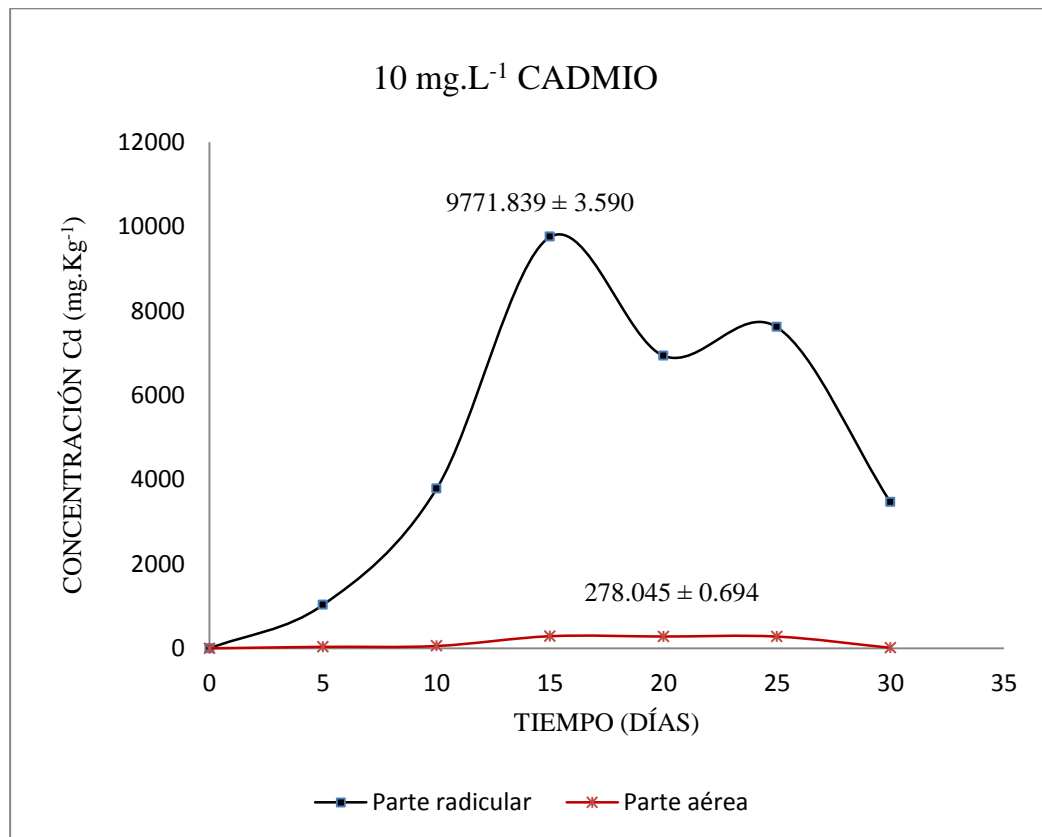


TABLA 29. Bioacumulación de cadmio en *Chenopodium album*.

TIEMPO <sup>(*)</sup>	P. RADICULAR <sup>(†)</sup>	P. AÉREA <sup>(‡)</sup>
0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
5	1031.288 ± 2.160	35.697 ± 0.004
10	3791.019 ± 0.750	55.141 ± 0.718
15	9771.839 ± 3.590	278.045 ± 0.694
20	4392.822 ± 1.750	42.289 ± 0.001
25	7916.316 ± 0.744	250.622 ± 0.880
30	3473.421 ± 0.372	13.333 ± 0.001

*n* = 3 (3 muestras), (\*): tiempo expresado en días, (†) y (‡): concentración del metal en la planta expresada en mg.kg<sup>-1</sup>.



**FIGURA 16.** Curva de bioacumulación de cadmio en la parte radicular y aérea de *Chenopodium album*, en solución pura del metal.

**TABLA 30.** Análisis estadístico para el tratamiento T3 (parte radicular y aérea).

TIEMPO <sup>(*)</sup>	F CALCULADO	F CRÍTICO A=0.05	VALOR P
5	1.934 E+05	18.513	5.170 E-06
10	3.609 E+07	18.513	2.771 E-08
15	1.279 E+07	18.513	7.819 E-08
20	1.236 E+07	18.513	8.093 E-08
25	8.853 E+07	18.513	1.130 E-08
30	1.729 E+08	18.513	5.784 E-09

(\*): *Tiempo expresado en días.*



**FIGURA 17.** Plantas de *Chenopodium album* a los 30 días de bioacumulación de cadmio.

Para determinar si existía interferencia de otros metales en la capacidad de bioacumulación de cadmio de la planta, se realizó el tratamiento T4 en una solución mixta con los tres metales (plomo, mercurio y cadmio).

En el tratamiento T4 para cadmio (**TABLA 31** y **FIGURA 18**), en la parte radicular se observó un comportamiento ascendente, con una máxima acumulación de  $2986.207 \pm 1.724 \text{ mg.kg}^{-1}$  a los 15 días y un decaimiento a los 20 días, manteniendo el mismo comportamiento irregular que T3, hasta finalizado el tratamiento. La parte aérea presentó una absorción máxima de  $503.773 \pm 0.088 \text{ mg.kg}^{-1}$  a los 10 días, con un comportamiento decreciente desde los 15 días; el decaimiento de cadmio en la parte aérea, podría deberse al proceso de desorción de la planta causado por la saturación del metal en la misma.

También se realizaron pruebas estadísticas diferenciando la acumulación en la parte radicular y aérea. Como se observa en la **TABLA 32**, ya que el valor P de la prueba F es menor que 0.05 y el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, afirmando que las varianzas son heterogéneas y existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza. Al igual que en el tratamiento T3, la parte radicular mostró mayor capacidad de acumulación de cadmio que la parte aérea.

El tiempo de máxima acumulación en la parte radicular fue a los 15 días y en la parte aérea a los 10 días; esta diferencia se debió al tiempo de translocación; sin embargo es mayor la acumulación en la parte radicular; al igual que en la solución pura, se consideró la máxima absorción a los 15 días.

Por último; se realizó una comparación entre los tratamiento T3 y T4 para cadmio, diferenciando la parte radicular y aérea en cada tratamiento.

En la **TABLA 33**, se muestra que el valor P de la prueba F es menor que 0.05 y el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , por lo tanto, existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza entre la acumulación en la parte radicular de T3 y T4.

El tratamiento T3 presentó una concentración de cadmios mayor que el tratamiento T4, demostrando que si existe interferencia de los otros metales en la capacidad de acumulación de cadmio en la planta.

En la **TABLA 34**, el valor P de la prueba F es menor que 0.05 y el  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , por lo tanto, existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza entre la acumulación en la parte aérea de T3 y T4.

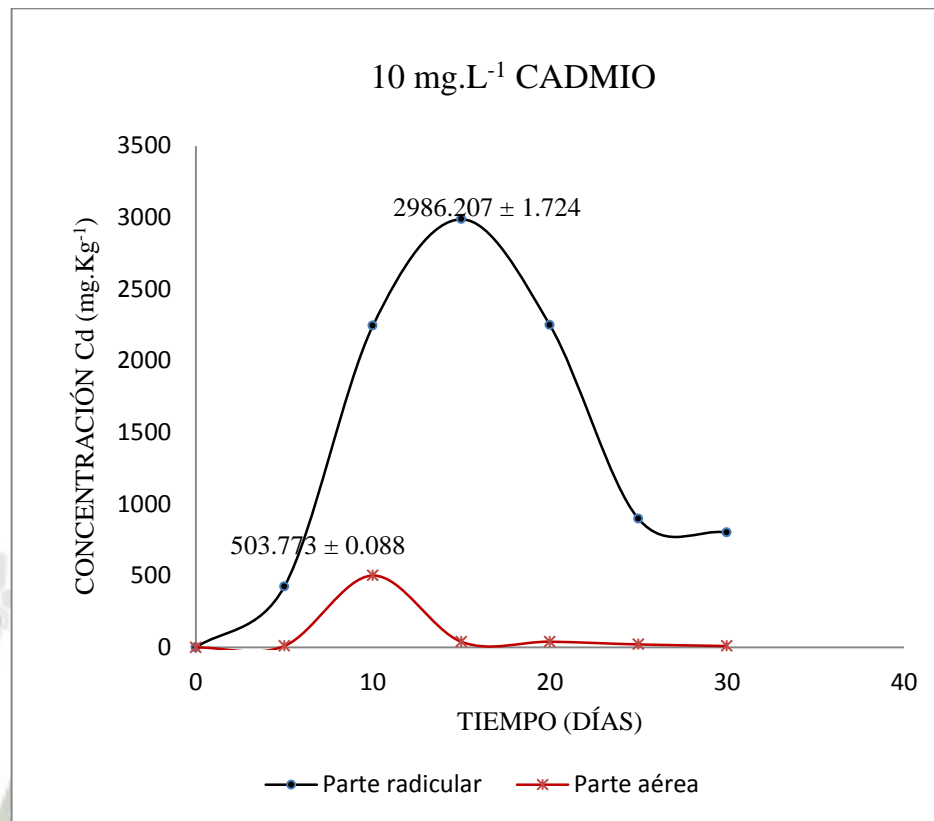
Al contrario que en la parte radicular, las plantas del tratamiento T4 presentaron mayor acumulación de cadmio en la parte aérea. Notándose que *Chenopodium album*, en presencia de otros metales, incrementa su capacidad de translocación y transporte hacia las hojas, acumulando mayor cantidad de cadmio en la parte aérea de la planta.

Como se determinó, la mejor acumulación se dio a los 15 días; se hizo un análisis de la planta completa, sumando las cantidades acumuladas en la parte radicular y aérea para poder determinar la influencia de los metales en la acumulación. La capacidad de acumulación de cadmio, de *Chenopodium album*, en presencia de otros metales contaminantes como mercurio y plomo, fue de un 30%.

**TABLA 31.** Bioacumulación de cadmio en *Chenopodium album*, en solución mixta de metales.

TIEMPO <sup>(*)</sup>	P. RADICULAR <sup>(†)</sup>	P. AÉREA <sup>(‡)</sup>
0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
5	420.917 ± 0.781	10.227 ± 0.001
10	2242.659 ± 1.979	503.773 ± 0.088
15	2986.207 ± 1.724	39.664 ± 1.201
20	859.901 ± 2.800	40.423 ± 0.880
25	898.684 ± 0.372	21.144 ± 0.001
30	802.632 ± 0.001	10.000 ± 0.001

*n* = 3 (3 muestras), (\*): tiempo expresado en días, (†) y (‡): concentración del metal en la planta expresada en mg.kg<sup>-1</sup>.



**FIGURA 18.** Curva de bioacumulación de cadmio en la parte radicular y aérea de *Chenopodium album*, en solución mixta de metales.

**TABLA 32.** Análisis estadístico para el tratamiento T4 para cadmio (parte radicular y aérea), en solución mixta de metales.

TIEMPO <sup>(*)</sup>	F CALCULADO	F CRÍTICO A=0.05	VALOR P
5	3.536 E+05	18.513	2.828 E-06
10	8.466 E+04	18.513	1.181 E-05
15	7.854 E+06	18.513	1.273 E-07
20	1.559 E+05	18.513	6.415 E-06
25	1.112 E+07	18.513	8.993 E-08
30	6.554 E+04	18.513	0.000 E+00

(\*): *Tiempo expresado en días.*

**TABLA 33.** Análisis estadístico para los tratamientos T3 y T4 (parte radicular).

TIEMPO <sup>(*)</sup>	F CALCULADO	F CRÍTICO A=0.05	VALOR P
5	7.261 E+04	18.513	1.377 E-05
10	5.726 E+06	18.513	1.746 E-07
15	6.200 E+06	18.513	1.613 E-07
20	2.289 E+06	18.513	4.369 E-07
25	1.422 E+08	18.513	7.031 E-09
30	1.030 E+08	18.513	9.712 E-09

(\*): Tiempo expresado en días.

**TABLA 34.** Análisis estadístico para los tratamientos T3 y T4 (parte aérea).

<b>TIEMPO<sup>(*)</sup></b>	<b>F CALCULADO</b>	<b>F CRÍTICO A=0.05</b>	<b>VALOR P</b>
<b>5</b>	1.344 E+03	18.513	7.432 E-04
<b>10</b>	5.234 E+05	18.513	1.910 E-06
<b>15</b>	7.841 E+04	18.513	1.275 E-05
<b>20</b>	9.000 E+00	18.513	9.547 E-02
<b>25</b>	1.362 E+05	18.513	7.344 E-06
<b>30</b>	4.312 E+03	18.513	2.318 E-04

(\*): *Tiempo expresado en días.*

Los metales esenciales (cobalto, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, níquel y zinc) sirven como micronutrientes críticos para el desarrollo normal y el crecimiento de organismos. Dado que estos elementos pueden llegar a ser tóxicos en niveles más altos, las plantas han desarrollado una regulación estricta para absorber, trasladar y almacenar dentro de rangos fisiológicos.

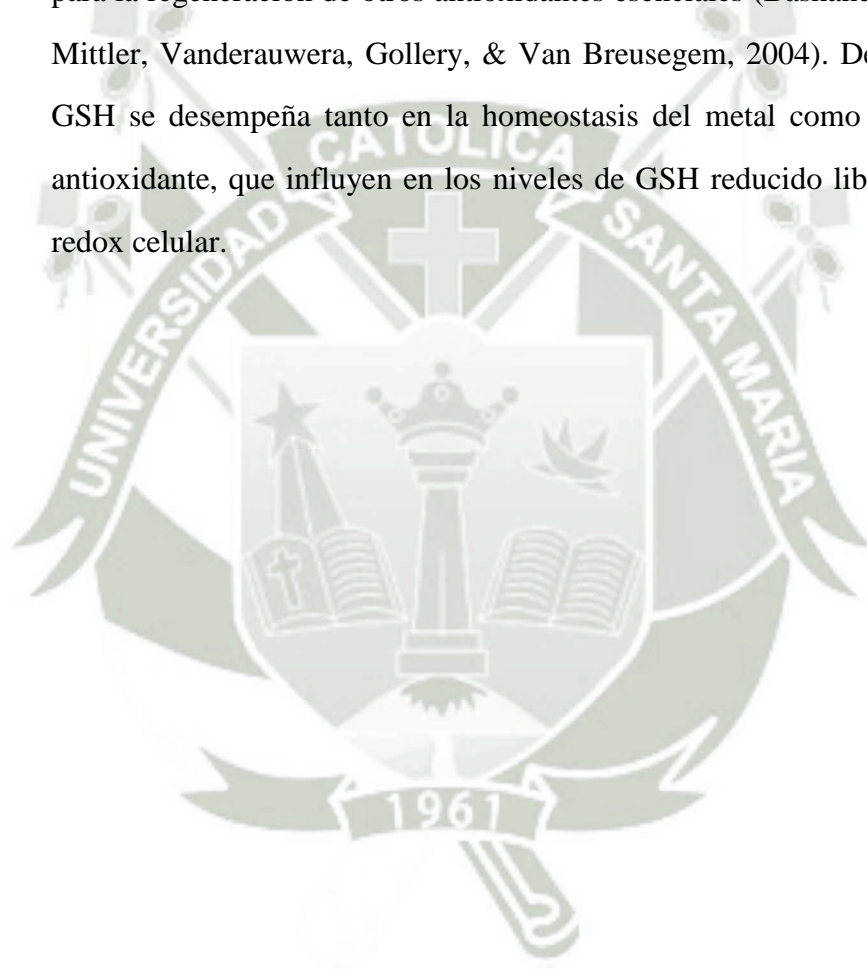
A pesar de la selectividad de los sistemas de transporte, los metales no esenciales y metaloides como el arsénico (As), el cadmio (Cd), el cromo (Cr), el plomo (Pb) y el mercurio (Hg) también hacen uso de estos mecanismos de absorción.

Las principales amenazas ambientales se asocian a estos elementos no esenciales, ya que las plantas, como productores primarios, constituyen una vía de entrada importante para las sustancias potencialmente tóxicas en la cadena alimentaria (Chary et al., 2008; Zhou, Burchiel, Hudson, & Liu, 2015). Independientemente de este conocimiento, las emisiones de metales continúan, especialmente en los países menos desarrollados (Eze, Udeigwe, & Stietiya, 2010; Järup & Åkesson, 2009).

Con el fin de hacer frente a diferentes tipos de metales, las plantas poseen estrategias de defensa relacionadas con el contenido de metal libre celular (por ejemplo, la exclusión de metal, vinculante de la pared celular, quelación y secuestro y la regulación de las respuestas celulares (por ejemplo, la reparación de las proteínas estresadas por el daño, la defensa antioxidante (Kushwaha, Rani, Kumar, & Gautam, 2015).

Para limitar las concentraciones de metales libres, la síntesis de quelantes específicos y el posterior secuestro de complejos metálicos son de gran importancia.

El glutatión (GSH) es un componente clave en la eliminación de metales debido a la alta afinidad de los metales con su grupo tiol (-SH) y como precursor de las fitoqueatinas (PC). Además de la homeostasis del metal, las plantas poseen un sistema de defensa antioxidante bien equipado para manejar el desafío oxidativo impuesto por el metal (Cuypers et al., 2010). El residuo de cisteína en GSH lo convierte en un antioxidante importante que, además de sus capacidades antioxidantes primarias, actúa como un sustrato para la regeneración de otros antioxidantes esenciales (Bashandy et al., 2010; Mittler, Vanderauwera, Gollery, & Van Breusegem, 2004). De esta manera, GSH se desempeña tanto en la homeostasis del metal como en la defensa antioxidante, que influyen en los niveles de GSH reducido libre y su estado redox celular.



## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES

- Las condiciones óptimas de crecimiento de *Chenopodium album* L. (Liccha), establecidas bajo condiciones ambientales fueron: un rango de temperatura de 8 - 21°C, una humedad relativa de 31 – 58 %, en medio hidropónico al 25 % y pH de 6.8.
- El método analítico de espectrofotometría de plasma acoplado inductivamente (ICP – OES) fue validado para la determinación de mercurio, plomo y cadmio. Siendo lineal ( $r^2=0.999$ ), preciso y exacto según las normas ICH; con límites de detección y cuantificación para mercurio: 0.0001  $\mu\text{g.L}^{-1}$  y 0.0002  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente; para plomo: 0.0146  $\mu\text{g.L}^{-1}$  y 0.0442  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente y por último para cadmio: 0.0003  $\mu\text{g.L}^{-1}$  y 0.0008  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente.

- En el ensayo de fitotoxicidad, se determinaron las concentraciones óptimas de bioacumulación, a las que la planta presenta mayor resistencia y acumulación:  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  para mercurio, y  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  para plomo y cadmio; a la máxima concentración de cada metal, mostraron síntomas de clorosis y senescencia temprana.
- Se determinó la máxima acumulación a los 15 días, en la parte radicular y aérea: para mercurio (Hg)  $21808.046 \pm 3.982 \text{ mg.Kg}^{-1}$  y  $105.360 \pm 1.388 \text{ mg.Kg}^{-1}$ , respectivamente; para plomo (Pb)  $17112.069 \pm 4.562 \text{ mg.Kg}^{-1}$  y  $29.247 \pm 0.693 \text{ mg.Kg}^{-1}$ , respectivamente y por último, para cadmio (Cd)  $9771.839 \pm 3.590 \text{ mg.Kg}^{-1}$  y  $278.045 \pm 0.694 \text{ mg.Kg}^{-1}$ , respectivamente. Presentando mayor cantidad bioacumulada de cada metal en la parte radicular; ésta planta, tiene la capacidad de fitoextracción y rizofiltración de mercurio, plomo y cadmio.
- La capacidad de acumulación de cada metal, de *Chenopodium album*, fue influenciada por la presencia de los metales en estudio. Acumulando un 77 % para mercurio (Hg), un 9 % para plomo (Pb) y un 30 % para cadmio (Cd).

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Aisien, F. A., Faleye, O., & Aisien, E. T. (2010). Phytoremediation of heavy metals in aqueous solutions. *Leonardo J. Sci*, 17, 37-46.
2. Akerstrom, M., Barregard, L., Lundh, T., & Sallsten, G. (2013). The relationship between cadmium in kidney and cadmium in urine and blood in an environmentally exposed population. *Toxicology and applied pharmacology*, 268(3), 286-293.
3. Al-Snafi, A. (2015). The chemical constituents and pharmacological effects of *Chenopodium album*-An overview. *International J of Pharmacological Screening Methods*, 5(1), 10-17.
4. Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881. doi:<http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
5. Amador, D. (2000). *Hidroponía, principios y métodos de cultivo*. USAC, Guatemala.
6. Avellán-Zumbado, M. J., Murillo-Cruz, R., Alvarado-Hernández, A., & Ávila-Arias, C. (2015). Variación del contenido foliar de nutrientes de *Gmelina arborea* en los cantones de Osa, Golfito y Corredores, Costa Rica. *Revista de Ciencias Ambientales*, 49(1), 1-15.
7. Bashandy, T., Guillemint, J., Vernoux, T., Caparros-Ruiz, D., Ljung, K., Meyer, Y., & Reichheld, J.-P. (2010). Interplay between the NADP-linked thioredoxin and glutathione systems in *Arabidopsis* auxin signaling. *The Plant Cell*, 22(2), 376-391.
8. Behrens, A., Giljum, S., Kovanda, J., & Niza, S. (2007). The material basis of the global economy: Worldwide patterns of natural resource extraction and their implications for sustainable resource use policies. *Ecological Economics*, 64(2), 444-453.
9. Bolan, N. S., Park, J. H., Robinson, B., Naidu, R., & Huh, K. Y. (2011). 4 Phytostabilization: A Green Approach to Contaminant Containment. *Advances in agronomy*, 112, 145.

10. Bulavin, I. (2015). Rhizogenesis in vitro as a model for plant space biology. *Annals of RSCB*, 19(3), 1-8.
11. Caravanos, J., Dowling, R., Téllez-Rojo, M. M., Cantoral, A., Kobrosly, R., Estrada, D., . . . Rivera, A. (2014). Niveles de Plomo en Sangre en México y su Implicación para la Carga Pediátrica de la Enfermedad. *Annals of global health*, 80(4), e1-e11.
12. Carpena, R., & Bernal, M. P. (2007). Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. *Revista Ecosistemas*, 16(2).
13. Castañeda, F., Valverde, C. d., & García, L. (1997). Manual de Cultivos Hidropónicos Populares: Producción de Verduras sin usar la tierra *Manual de cultivos hidropónicos populares: producción de verduras sin usar la tierra*: INCAP.
14. Clarkson, T. W., Vyas, J. B., & Ballatori, N. (2007). Mechanisms of mercury disposition in the body. *American Journal of Industrial Medicine*, 50(10), 757-764.
15. Costa, G., & Morel, J. L. (1993). Cadmium uptake by *Lupinus albus* (L.): Cadmium excretion, a possible mechanism of cadmium tolerance. *Journal of Plant Nutrition*, 16(10), 1921-1929. doi:10.1080/01904169309364661
16. Cuypers, A., Plusquin, M., Remans, T., Jozefczak, M., Keunen, E., Gielen, H., . . . Artois, T. J. (2010). Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biometals*, 23(5), 927-940.
17. Chamba, J. (2002). *Propagación en vivero de seis especies forestales promisorias de la zona seca de la provincia de Loja*. Tesis de Grado de Ingeniero Forestal. UNL.
18. Chary, N. S., Kamala, C., & Raj, D. S. S. (2008). Assessing risk of heavy metals from consuming food grown on sewage irrigated soils and food chain transfer. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69(3), 513-524.
19. Cherian, S., & Oliveira, M. M. (2005). Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environmental science & technology*, 39(24), 9377-9390.

20. Cho, C., Corapcioglu, M. Y., Park, S., & Sung, K. (2008). Effects of grasses on the fate of VOCs in contaminated soil and air. *Water, air, and soil pollution*, 187(1-4), 243-250.
21. Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R., & Acevedo-Sandoval, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14, 597-612.
22. Dus, M. J. L., Viedma, E. C., Gutiérrez, J. B., Bayo, A. L., & Aldás, J. L. S. (2007). Embolia pulmonar por mercurio elemental. *Archivos de Bronconeumología*, 43(10), 585-587.
23. Echarri, L. (2007). Contaminación del agua. *Población, Ecología y Ambiente, Universidad de Navarra, Madrid-España*, 11-20.
24. Ellenhorn, M. J., Schonwald, S., Ordog, G., & Wasserberger, J. (1997). *Ellenhorn's medical toxicology: diagnosis and treatment of human poisoning*: Williams & Wilkins.
25. Eze, P. N., Udeigwe, T. K., & Stietiya, M. H. (2010). Distribution and potential source evaluation of heavy metals in prominent soils of Accra Plains, Ghana. *Geoderma*, 156(3), 357-362.
26. Farré, M., Martínez, E., & Barceló, D. (2007). Validation of interlaboratory studies on toxicity in water samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(4), 283-292.
27. Faust, M. (1989). *Physiology of temperate zone fruit trees*: John Wiley & Sons, Inc.
28. Gaioli, M., Amoedo, D., & González, D. (2012). Impacto del mercurio sobre la salud humana y el ambiente. *Archivos argentinos de pediatría*, 110(3), 259-264.
29. Garbisu, C., Becerril, J., Epelde, L., & Alkorta, L. (2007). Bioindicadores de la calidad del suelo: herramienta metodológica para la evaluación de la eficacia de un proceso fitorremediador. *Revista Ecosistemas*, 16(2).
30. Garcia, F. P., & Sandoval, O. A. A. (2011). Phytoremediation: an alternative to eliminate pollution. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(2), 597-612.

31. García Rico, L., Robles Burgueño, M. d. R., & Valenzuela Soto, E. M. (1999). Las metalotioneínas y su relación con la toxicidad del cadmio en los mamíferos. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 15(2).
32. Giljum, S., Behrens, A., Hinterberger, F., Lutz, C., & Meyer, B. (2008). Modelling scenarios towards a sustainable use of natural resources in Europe. *Environmental Science & Policy*, 11(3), 204-216.
33. Gleny, M. P. (2013). Nivel de conocimiento sobre medidas preventivas y efectos tóxicos del Mercurio en trabajadores de la mina La Rinconada, Puno-2012.
34. González-Mendoza, D. (2008). Los elementos potencialmente tóxicos en las plantas de manglar: una revisión de los mecanismos de tolerancia involucrados. *Interciencia*, 33(11), 817-820.
35. Goñi, C. (1995). *Evaluación del estado nutricional de durazneros*. Retrieved from Montevideo, Uruguay:
36. Grubor, M. (2008). Lead uptake, tolerance, and accumulation exhibited by the plants *Urtica dioica* and *Sedum spectabile* in contaminated soil without additives. *Archives of Biological Sciences*, 60(2), 239-244.
37. Gupta, A., & Sinha, S. (2007). Phytoextraction capacity of the *Chenopodium album* L. grown on soil amended with tannery sludge. *Bioresource Technology*, 98(2), 442-446.
38. Hartman, H. T., & Kester, D. E. (1987). *Propagación de plantas: principios y prácticas*: CECSA.
39. Hartmann, H., & Kester, D. (1998). Propagación de plantas: principios y prácticas. México DF. MX. *Continental*, 757.
40. HEA, H. a. E. A. (2016). Mercury Retrieved from <http://www.env-health.org/policias/mercury/>
41. Harmonised Tripartite Guideline Validation Analytical Methodology. , (1994).
42. Järup, L., & Åkesson, A. (2009). Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicology and applied pharmacology*, 238(3), 201-208.

43. Juan-Aracil, I. R., Parra, J. G., & García, A. M. M. (2010). *Capacidad de amortiguación de la contaminación por plomo y por cadmio en suelos de la comunidad de Madrid*: Universidad Complutense de Madrid.
44. Kadukova, J., Manousaki, E., & Kalogerakis, N. (2006). Lead and cadmium accumulation from contaminated soils by Nerium oleander. *Acta Metallurgica Slovaca*, 12, 181-187.
45. Kushwaha, A., Rani, R., Kumar, S., & Gautam, A. (2015). Heavy metal detoxification and tolerance mechanisms in plants: implications for phytoremediation. *Environmental Reviews*, 24(1), 39-51.
46. Lango-Reynoso, F. (2010). Bioacumulación de cadmio (Cd), plomo (Pb) y arsénico (As) en *Crassostrea virginica* del sistema lagunar Tamiahua, Veracruz, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 26(3), 201-210.
47. Linneo, P. (1753). *Chenopodium album L.*, Sp. (1 ed. Vol. 219).
48. López, D., & Carazo, N. (2005). La producción de esquejes. *Revista extra, CEU Área de Horticultura EUITAB (ESAB)*. Pp, 23.
49. Loredó, J., Soto, J., Álvarez, R., & Ordóñez, A. (2007). Atmospheric monitoring at abandoned mercury mine sites in Asturias (NW Spain). *Environmental monitoring and assessment*, 130(1), 201-214.
50. Lozada-Zarate, E. J., Monks, S., Pulido-Flores, G., Gordillo-Martínez, A. J., & Prieto-García, F. (2007). Determinación de metales pesados en *Cyprinus carpio* en la Laguna de Metztlán, Hidalgo, México. *Pulido-Flores, G. y López-Escamilla, A. L (editoras)*, 91-94.
51. Llantoy, P., Raúl, V., & Valderrama Negrón, A. C. (2014). Estudio de los parámetros fisicoquímicos para la fitorremediación de Cadmio (II) y Mercurio (II) con la especie *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 80(3), 164-173.
52. Macek, T., Uhlík, O., Jecna, K., Novakova, M., Lovecka, P., Rezek, J., . . . Pavlikova, D. (2009). Advances in phytoremediation and rhizoremediation *Advances in Applied Bioremediation* (pp. 257-277): Springer.
53. Macorra García, J. L. C., JA García Barbero, J. (1982). El mercurio: su toxicidad en la clínica estomatológica. Estado del problema. Su

- prevención. *Boletín de Información Dental del Ilustre Colegio General de Colegios de Odontólogos y Estomatólogos de España*, 318, 53-58.
54. Mahmood, T., Malik, S., Hussain, Z., Qamar, I., & Mateen, H. (2007). A Review of Phytoremediation Technology for Contaminated Soil and Water. *Mahmood, SA Malik, Z. Hussain, I. Qamar, HA Mateen–Abbottabad, Pakistan*.
  55. Malavolta, E., Vitti, G., & Oliveira, S. (1992). Evaluación del estado nutricional de las plantas. Principios y aplicaciones. *Boletín de PROMECAFE. Guatemala*.
  56. Malca, G. (2001). Seminario de agronegocios, lechugas hidropónicas Retrieved from [www.upbusiness.net](http://www.upbusiness.net).
  57. Martín-Lara, M. d. I. Á. (2008). Caracterización y aplicación de biomasa residual a la eliminación de metales pesados.
  58. Martínez, G. R. (2010). *Determinación de metales pesados cadmio y plomo en suelos y granos de cacao frescos y fermentados mediante espectroscopia de absorción atómica de llama*. Retrieved from
  59. Mason, L. H., Harp, J. P., & Han, D. Y. (2014). Pb neurotoxicity: neuropsychological effects of lead toxicity. *BioMed research international*, 2014.
  60. Méndez, J., Ramírez, C. A. G., Gutiérrez, A. D. R., & García, F. P. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 10(1), 29-44.
  61. Mercury, W. I. (1991). Environmental Health Criteria 118. *Geneva: World Health Organization*, 107.
  62. Miller, E. V. (1967). Fisiología vegetal. traducción al español Francisco Latorre. Biblioteca Técnica de Agricultura y Ganadería.
  63. Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science*, 9(10), 490-498.
  64. Montoro, L., Pujol, T., Velayos, J., & González, J. (2010). *Comparativa entre la ferrografía analítica y las técnicas espectrométricas de análisis de*

- aceites lubricantes usados*. Paper presented at the XVIII congreso nacional de ingeniería mecánica, Catalán.
65. Montoya, N. P. M., Casas, P. A., & Wandurraga, C. C. (2010). Plomo, cromo III y cromo VI y sus efectos sobre la salud humana. *Ciencia & Tecnología para la Salud Visual y Ocular*, 8(1), 77-88.
  66. Navarro-Aviñó, J. P., Alonso, I. A., & López-Moya, J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Revista Ecosistemas*, 16(2).
  67. Nriagu, J. O., & Pacyna, J. M. (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *nature*, 333(6169), 134-139.
  68. Palacios, P. P. (2015). *Biotechnología Ambiental: Desarrollo de estrategias biotecnológicas para la remediación de metales pesados*. Universidad de Sevilla, Sevilla.
  69. Paz-Ferreiro, J., Lu, H., Fu, S., Méndez, A., & Gascó, G. (2014). Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: a review. *Solid Earth*, 5(1), 65.
  70. Peña Fernández, A. (2011). Presencia y distribución medioambiental de metales pesados y metaloides en Alcalá de Henares, Madrid. Evaluación del riesgo para la población y biomonitorización de la población escolar.
  71. Peralta Jimenez, A. J. (2015). *Afectación de plomo en los trabajadores del área de mantenimiento de la empresa metalmecánica Seysu SA en el año 2013*. Universidad de Guayaquil, Facultad Ingeniería Industrial, Carrera de Ingeniería Industrial.
  72. Pernía, B., De Sousa, A., Reyes, R., & Castrillo, M. (2008). Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. *Interciencia*, 33(2).
  73. Ramírez, A. (2002). *Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos*. Paper presented at the Anales de la Facultad de Medicina.
  74. Ramírez, A. V. (2005). *El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo*. Paper presented at the Anales de la Facultad de Medicina.

75. Ramírez, A. V. (2008). *Intoxicación ocupacional por mercurio*. Paper presented at the Anales de la Facultad de Medicina.
76. Resh, H. M. H. M. (1997). *Cultivos hidropónicos: nuevas técnicas de producción: una guía completa de los métodos actuales de cultivo sin suelo para técnicos y agricultores profesionales, así como para los aficionados especializados*: Mundi-Prensa.
77. Rodríguez Rey, A., Cuéllar Luna, L., Maldonado Cantillo, G., & Suardiaz Espinosa, M. E. (2016). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(3), 251-271.
78. RoHS, T. L. (2014). INDUCTIVELY COUPLED PLASMA -OPTICAL EMISSION SPECTROMETER(ICP-OES).
79. Rojas González, S., García Lozano, J., & Alarcón Rojas, M. (2004). Propagación asexual de las plantas: conceptos básicos y experiencias con especies amazónicas.
80. Rubio, C., Gutiérrez, A., Martín Izquierdo, R., Revert, C., Lozano, G., & Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Revista de toxicología*, 21(2-3).
81. Sakakibara, M., Watanabe, A., Inoue, M., Sano, S., & Kaise, T. (2010). *Phytoextraction and phytovolatilization of arsenic from as-contaminated soils by Pteris vittata*. Paper presented at the Proceedings of the annual international conference on soils, sediments, water and energy.
82. Schmelzer, G., & Gurib-Fakim, A. (2013). Plant resources of tropical Africa 11 (2): medicinal plants 2. *Plant resources of tropical Africa 11 (2): medicinal plants 2*.
83. Seebold, K. W., Coolong, T., Jones, T., Strang, J., Bessin, R., & Kaiser, C. A. (2015). Guía de Monitoreo de MIP para Plagas Comunes de los Cultivos Cucurbitáceos en Kentucky.
84. Sepúlveda, T. V. (2005). *Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación*: Instituto Nacional de Ecología.

85. Skinner, K., Wright, N., & Porter-Goff, E. (2007). Mercury uptake and accumulation by four species of aquatic plants. *Environmental pollution*, 145(1), 234-237.
86. Socha, C. M., Colmenares, M. G., & Chaparro, P. (2017). Determinación electroquímica de plomo y cadmio en agua superficiales. *Revista Luna Azul*(44), 27-38.
87. *Solución hidropónica La Molina*. (2015). Retrieved from <http://www.lamolina.edu.pe/hidroponia/solucion1.htm>
88. Tang, C., Li, A., Huang, H., Cheng, X., Gao, Y., Chen, H., . . . Zuo, Q. (2012). Effects of lead pollution in SY River on children's intelligence. *Life Science Journal*, 9(3), 458-464.
89. Torres Rodríguez, D., Cumana, A., Torrealba, O., & Posada, D. (2010). Uso del vetiver para la fitorremediación de cromo en lodos residuales de una tenería. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 1(2), 175-188.
90. Uraguchi, S., Mori, S., Kuramata, M., Kawasaki, A., Arao, T., & Ishikawa, S. (2009). Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice. *Journal of experimental botany*, 60(9), 2677-2688.
91. UVA, L. d. T. I. (2016). Espectroscopía de Plasma ICP-OES. Retrieved from <http://laboratorioteccnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/espectroscopa-de-plasma-icp-oes>
92. Vidal, A. M. (2009). *Evaluación de los mecanismos de adsorción y acumulación intracelular de plomo (Pb+2), en sistemas continuos de fitorremediación con Salvinia minima*. Retrieved from Veracruz:
93. Walker, D. J., Clemente, R., & Bernal, M. P. (2004). Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste. *Chemosphere*, 57(3), 215-224.
94. Wångstrand, H., Eriksson, J., & Öborn, I. (2007). Cadmium concentration in winter wheat as affected by nitrogen fertilization. *European Journal of Agronomy*, 26(3), 209-214.

95. Wuana, R., & Okieimen, F. (2010). Phytoremediation potential of maize (*Zea mays* L.). A review. *African Journal of General Agriculture*, 6(4), 275-287.
96. Yadav, B. K., Siebel, M. A., & van Bruggen, J. J. (2011). Rhizofiltration of a heavy metal (lead) containing wastewater using the wetland plant *Carex pendula*. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 39(5), 467-474.
97. Yarto, M., Gavilán, A., & Castro, J. (2004). La contaminación por mercurio en México. *Gaceta ecológica*(72).
98. Zazouli, M. A., Mahdavi, Y., Bazrafshan, E., & Balarak, D. (2014). Phytodegradation potential of bisphenolA from aqueous solution by *Azolla Filiculoides*. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 12(1), 66.
99. Zhou, X., Burchiel, S. W., Hudson, L. G., & Liu, K. J. (2015). Conference summary and recent advances: the 8th Conference on Metal Toxicity and Carcinogenesis. *Biological trace element research*, 166(1), 1-6.



## ANEXOS

### 1. IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA  
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



#### CONSTANCIA 16- 2017-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Se hace constar que las muestras frescas de hojas y tallos de la planta traída al laboratorio por la Srta: SUSAN SOFIA FLORES CALLA para el análisis botánico corresponde a la especie *Chenopodium álbum* L. "liccha" de la familia Amaranthaceae. Dicha muestra fue obtenida de los campos de cultivo de Cayma, provincia de Arequipa, Departamento de Arequipa para el estudio de la Tesis de postgrado titulada: **Evaluación de la capacidad de Fitoremediación de *Chenopodium álbum* L. "liccha" en aguas contaminadas con Cadmio, Plomo y Mercurio,** de la Maestría en química del Medio ambiente de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

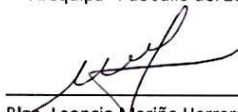
Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA  
CLASE: MAGNOLIOPSIDA  
SUBCLASE: CARYOPHYLLIDAE  
ORDEN: CARYOPHYLLALES  
FAMILIA: AMARANTHACEAE  
GENERO: *Chenopodium*  
ESPECIE: *Chenopodium álbum* L.

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que se estime conveniente.

Arequipa 4 de Julio del 2017



  
Bigo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado  
Teléfono: (054) 237755 / 984248674  
Apartado Postal: 0028  
AREQUIPA – PERÚ

## 2. DATOS DE LINEALIDAD ICP - OES

Method: MQA metales PLANTAS Page 1 Date: 31/03/2017 12:49:23 p.m.

### Analysis Begun

Start Time: 31/03/2017 10:32:50 a.m. Plasma On Time: 31/03/2017 10:31:31 a.m.  
 Logged In Analyst: Administrador Technique: ICP Continuous  
 Spectrometer: Optima 8000 Autosampler: S10

### Sample Information File:

Batch ID:  
 Results Data Set: curva planta 31-03-17  
 Results Library: C:\Users\Public\PerkinElmer\ICP\Data\Results\Results.mdb

### Method Loaded

Method Name: MQA metales PLANTAS Method Last Saved: 31/03/2017 10:24:43 a.m.  
 IEC File: MSP File:  
 Method Description: MQA Plantas 2017

### Sequence No.: 1

Sample ID: Calib Blank 1 Autosampler Location: 1  
 Date Collected: 31/03/2017 10:38:07 a.m.  
 Analyst: Data Type: Original  
 Initial Sample Wt: Initial Sample Vol:  
 Dilution: Sample Prep Vol:  
 Wash Time:

### Replicate Data: Calib Blank 1

Repl#	Analyte	Net Intensity	Corrected Intensity	Calib. Conc. Units	Analysis Time
1	Hg 194.168	-14.5	-14.5	[0.00] mg/L	10:41:22 a.m.
1	Pb 220.353	9.5	9.5	[0.00] mg/L	10:40:29 a.m.
1	Cd 226.502	-22.8	-22.8	[0.00] mg/L	10:40:53 a.m.
2	Hg 194.168	-37.0	-37.0	[0.00] mg/L	10:41:33 a.m.
2	Pb 220.353	18.8	18.8	[0.00] mg/L	10:40:41 a.m.
2	Cd 226.502	-7.5	-7.5	[0.00] mg/L	10:41:03 a.m.

### Mean Data: Calib Blank 1

Analyte	Mean Corrected Intensity	Std.Dev.	RSD	Calib Conc. Units
Hg 194.168	-25.8	15.94	61.87%	[0.00] mg/L
Pb 220.353	14.1	6.57	46.60%	[0.00] mg/L
Cd 226.502	-15.1	10.85	71.68%	[0.00] mg/L

### Sequence No.: 2

Sample ID: st1 Autosampler Location: 2  
 Date Collected: 31/03/2017 10:42:38 a.m.  
 Analyst: Data Type: Original  
 Initial Sample Wt: Initial Sample Vol:  
 Dilution: Sample Prep Vol:  
 Wash Time:

### Replicate Data: st1

Repl#	Analyte	Net Intensity	Corrected Intensity	Calib. Conc. Units	Analysis Time
1	Hg 194.168	157.1	182.9	[0.008] mg/L	10:45:39 a.m.
1	Pb 220.353	2299.1	2284.9	[0.400] mg/L	10:44:54 a.m.
1	Cd 226.502	37211.4	37226.5	[0.400] mg/L	10:45:16 a.m.
2	Hg 194.168	142.2	168.0	[0.008] mg/L	10:45:49 a.m.
2	Pb 220.353	2316.6	2302.5	[0.400] mg/L	10:45:05 a.m.
2	Cd 226.502	36429.8	36444.9	[0.400] mg/L	10:45:24 a.m.

### Mean Data: st1

Analyte	Mean Corrected Intensity	Std.Dev.	RSD	Calib Conc. Units
---------	--------------------------	----------	-----	-------------------

Method: MQA metales PLANTAS Page 2 Date: 31/03/2017 12:49:23 p.m.

Hg 194.168	175.4	10.55	6.01%	[0.008] mg/L
Pb 220.353	2293.7	12.43	0.54%	[0.400] mg/L
Cd 226.502	36835.7	552.65	1.50%	[0.400] mg/L

Sequence No.: 3	Autosampler Location: 3
Sample ID: st2	Date Collected: 31/03/2017 10:46:52 a.m.
Analyst:	Data Type: Original
Initial Sample Wt:	Initial Sample Vol:
Dilution:	Sample Prep Vol:
Wash Time:	

Replicate Data: st2

Repl#	Analyte	Net Intensity	Corrected Intensity	Conc. Units	Calib. Units	Analysis Time
1	Hg 194.168	412.7	438.5	[0.020] mg/L		10:48:44 a.m.
1	Pb 220.353	5144.8	5130.7	[1.000] mg/L		10:49:09 a.m.
1	Cd 226.502	84434.0	84449.1	[1.000] mg/L		10:49:28 a.m.
2	Hg 194.168	403.4	429.2	[0.020] mg/L		10:49:59 a.m.
2	Pb 220.353	5147.3	5133.2	[1.000] mg/L		10:49:18 a.m.
2	Cd 226.502	82594.9	82610.0	[1.000] mg/L		10:49:35 a.m.

Mean Data: st2

Analyte	Mean Corrected Intensity	Std.Dev.	RSD	Conc. Units	Calib. Units
As 193.696	1120.9	3.40	0.30%	[1.000] mg/L	
Hg 194.168	433.8	6.60	1.52%	[0.020] mg/L	
Pb 220.353	5131.9	1.82	0.04%	[1.000] mg/L	
Cd 226.502	83529.5	1300.45	1.56%	[1.000] mg/L	

Sequence No.: 4	Autosampler Location: 4
Sample ID: st3	Date Collected: 31/03/2017 10:51:03 a.m.
Analyst:	Data Type: Original
Initial Sample Wt:	Initial Sample Vol:
Dilution:	Sample Prep Vol:
Wash Time:	

Replicate Data: st3

Repl#	Analyte	Net Intensity	Corrected Intensity	Conc. Units	Calib. Units	Analysis Time
1	As 193.696	2187.0	2202.1	[2.000] mg/L		10:52:55 a.m.
1	Hg 194.168	878.6	904.4	[0.040] mg/L		10:53:57 a.m.
1	Pb 220.353	10286.0	10271.9	[2.000] mg/L		10:53:17 a.m.
1	Cd 226.502	166207.6	166222.7	[2.000] mg/L		10:53:38 a.m.
2	As 193.696	2222.0	2237.2	[2.000] mg/L		10:53:06 a.m.
2	Hg 194.168	891.8	917.6	[0.040] mg/L		10:54:08 a.m.
2	Pb 220.353	10300.4	10286.3	[2.000] mg/L		10:53:27 a.m.
2	Cd 226.502	167245.0	167260.1	[2.000] mg/L		10:53:44 a.m.

Mean Data: st3

Analyte	Mean Corrected Intensity	Std.Dev.	RSD	Conc. Units	Calib. Units
As 193.696	2219.7	24.79	1.12%	[2.000] mg/L	
Hg 194.168	911.0	9.35	1.03%	[0.040] mg/L	
Pb 220.353	10279.1	10.23	0.10%	[2.000] mg/L	
Cd 226.502	166741.4	733.57	0.44%	[2.000] mg/L	

Sequence No.: 5	Autosampler Location: 5
Sample ID: st4	Date Collected: 31/03/2017 10:55:12 a.m.
Analyst:	Data Type: Original
Initial Sample Wt:	Initial Sample Vol:
Dilution:	Sample Prep Vol:
Wash Time:	

Method: MQA metales PLANTAS Page 3 Date: 31/03/2017 12:49:23 p.m.

Replicate Data: st4

Repl#	Analyte	Net Intensity	Corrected Intensity	Calib. Conc. Units	Analysis Time
1	Hg 194.168	1377.5	1403.3	[0.060] mg/L	10:57:57 a.m.
1	Pb 220.353	15658.7	15644.6	[3.000] mg/L	10:57:24 a.m.
1	Cd 226.502	250287.8	250302.9	[3.000] mg/L	10:57:41 a.m.
2	Hg 194.168	1370.1	1395.8	[0.060] mg/L	10:58:07 a.m.
2	Pb 220.353	15482.3	15468.2	[3.000] mg/L	10:57:33 a.m.
2	Cd 226.502	255157.0	255172.2	[3.000] mg/L	10:57:45 a.m.

Mean Data: st4

Analyte	Mean Corrected Intensity	Std.Dev.	RSD	Calib Conc. Units
Hg 194.168	1399.6	5.29	0.38%	[0.060] mg/L
Pb 220.353	15556.4	124.78	0.80%	[3.000] mg/L
Cd 226.502	252737.5	3443.10	1.36%	[3.000] mg/L

Sequence No.: 6  
Sample ID: st5  
Analyst:  
Initial Sample Wt:  
Dilution:  
Wash Time:  
Autosampler Location: 6  
Date Collected: 31/03/2017 10:59:10 a.m.  
Data Type: Original  
Initial Sample Vol:  
Sample Prep Vol:

Replicate Data: st5

Repl#	Analyte	Net Intensity	Corrected Intensity	Calib. Conc. Units	Analysis Time
1	Hg 194.168	1762.0	1787.8	[0.08] mg/L	11:01:01 a.m.
1	Pb 220.353	20692.9	20678.8	[4.00] mg/L	11:01:58 a.m.
1	Cd 226.502	347277.1	347292.2	[4.00] mg/L	11:01:25 a.m.
2	Hg 194.168	1762.5	1788.3	[0.08] mg/L	11:01:44 a.m.
2	Pb 220.353	20907.3	20893.2	[4.00] mg/L	11:02:10 a.m.
2	Cd 226.502	341973.9	341989.0	[4.00] mg/L	11:01:34 a.m.

Mean Data: st5

Analyte	Mean Corrected Intensity	Std.Dev.	RSD	Calib Conc. Units
Hg 194.168	1788.0	0.33	0.02%	[0.08] mg/L
Pb 220.353	20786.0	151.56	0.73%	[4.00] mg/L
Cd 226.502	344640.6	3749.93	1.09%	[4.00] mg/L

Sequence No.: 7  
Sample ID: st6  
Analyst:  
Initial Sample Wt:  
Dilution:  
Wash Time:  
Autosampler Location: 7  
Date Collected: 31/03/2017 11:03:15 a.m.  
Data Type: Original  
Initial Sample Vol:  
Sample Prep Vol:

Replicate Data: st6

Repl#	Analyte	Net Intensity	Corrected Intensity	Calib. Conc. Units	Analysis Time
1	Hg 194.168	2801.2	2827.0	[0.12] mg/L	11:06:01 a.m.
1	Pb 220.353	31559.9	31545.8	[6.00] mg/L	11:05:29 a.m.
1	Cd 226.502	512080.4	512095.5	[6.00] mg/L	11:05:48 a.m.
2	Hg 194.168	2802.1	2827.9	[0.12] mg/L	11:06:13 a.m.
2	Pb 220.353	31495.4	31481.3	[6.00] mg/L	11:05:38 a.m.
2	Cd 226.502	508397.4	508412.5	[6.00] mg/L	11:05:51 a.m.

Mean Data: st6

Method: MQA metales PLANTAS Page 4 Date: 31/03/2017 12:49:23 p.m.

Analyte	Mean Corrected Intensity	Std.Dev.	RSD	Calib Conc. Units
Hg 194.168	2827.4	0.61	0.02%	[0.12] mg/L
Pb 220.353	31513.5	45.61	0.14%	[6.00] mg/L
Cd 226.502	510254.0	2604.28	0.51%	[6.00] mg/L

Calibration Summary

Analyte	Stds.	Equation	Intercept	Slope	Curvature	Corr. Coef.	Reslope
Hg 194.168	6	Lin, Calc Int	-20.5	23410	0.00000	0.999459	
Pb 220.353	6	Lin, Calc Int	-28.5	5229	0.00000	0.999914	
Cd 226.502	6	Lin, Calc Int	-292.7	85170	0.00000	0.999884	