



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS DE POSGRADO

REMOCION DE CROMO (VI) POR OCHO
BIOADSORBENTES NATURALES

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

Conrado Aurelio Gutiérrez Gutiérrez

ASESORADA POR: M. C. ISMAEL ACOSTA RODRIGUEZ

SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

1995

475

1

F
FD
G8
C.



1080076898

ABC

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS DE POSGRADO

REMOCION DE CROMO (VI) POR OCHO BIOADSORBENTES NATURALES

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

p r e s e n t a:

CONRADO AURELIO GUTIERREZ GUTIERREZ

ASESORADA POR: M.C. ISMAEL ACOSTA RODRIGUEZ

T
10/11/75
58





UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Av. Dr. Manuel Nava Núm. 6 Teléfono 13-62-04, Fax: 13-07-12
San Luis Potosí, S. L. P.

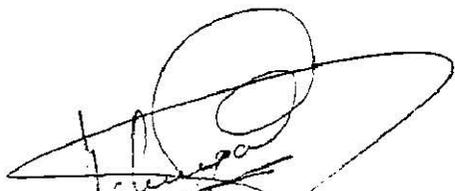
Diciembre 8 de 1995.

SR. CONRADO AURELIO GUTIERREZ GUTIERREZ
P R E S E N T E.

Por este conducto me permito informar usted, que el H. Consejo Técnico Consultivo, en sesión ordinaria de fecha 9 de Junio del presente año aprobó su protocolo de **TESIS PROFESIONAL**, y en sesión ordinaria del 29 de noviembre del mismo año aprobó su petición de cambio de título, acordando sea la planta de examen profesional quien defina cual es el título mas adecuado, habiendo acordado en revisión de Tesis Profesional el 6 de diciembre del mismo año, que el título de **"REMOCIÓN DE CROMO VI POR OCHO BIOADSORBENTES NATURALES"** es el mas adecuado a su trabajo.

Sin otro particular, me es grato reiterarle mi atenta y distinguida consideración.

"SIEMPRE AUTONOMA. POR MI PATRIA EDUCARE."



ING. ROGELIO A. COLUNGA REYNA
SECRETARIO DE LA FACULTAD.

phf.

D E D I C A T O R I A S

A MIS PADRES:

AUDELIA Y CONRADO.

POR TODO SU AMOR Y APOYO PARA LOGRAR TODAS MIS METAS EN LA VIDA

A MIS ABUELOS:

AURELIO Y LEONOR.

POR SU COMPRESION Y CARIÑO.

A MIS HERMANAS:

PATRICIA, CLAUDIA Y MONICA.

A MI ASESOR: M. C. J. ISMAEL ACOSTA RODRIGUEZ.

POR SU VALIOSA COLABORACION Y AYUDA PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.
POR BRINDARME SU AMISTAD Y CONFIANZA, GRACIAS.

A CARMELITA: POR ESTAR CONMIGO EN TODOS LOS MOMENTOS IMPORTANTES DE MI VIDA
CON TODO MI CARIÑO Y AMOR.

A MIS AMIGOS:

POR ESTAR CONMIGO EN LAS BUENAS Y EN LAS MALAS.
CON TODO AFECTO PARA TODOS ELLOS.

I N D I C E G E N E R A L

T I T U L O

P A G I N A

Resumen	1
1.0 Introducción	2
1.1 Generalidades	2
1.2 Fuentes de contaminación	3
1.2.1 Fuentes de contaminación en el ambiente ocupacional	3
1.2.2 Fuentes de contaminación en el ambiente general	4
1.2.3 Poblaciones expuestas	5
1.2.4 Exposición ocupacional	5
1.2.5 Exposición general	5
1.2.6 Poblaciones de alto riesgo	6
2.0 Antecedentes	9
3.0 Objetivos	13
4.0 Material y Métodos	14
4.1 Bioadsorbentes celulares	14
4.2 Lavado de quitina y quitosana	15
4.3 Lavado de material	15
4.4 Obtención del bioadsorbente celular	16
4.5 Determinación de la capacidad de bioadsorción de Cromo (VI)	16
4.6 Determinación del tiempo de incubación óptimo	16
4.7 Determinación del pH óptimo	17
4.8 Determinación de la temperatura óptima	17
4.9 Determinación de la concentración de Cromo hexavalente	18
4.10 Reactivos y soluciones	18
4.11 Metodología	18

T I T U L O	P A G I N A
5.0 Resultados	23
6.0 Discusión	29
7.0 Conclusiones	31
8.0 Bibliografía	32

I N D I C E D E C U A D R O S

T I T U L O	P A G I N A
Cuadro No. 1.- Ocupaciones con exposición potencial al cromo	6

I N D I C E D E T A B L A S

Tabla No. 1.- Curva de calibración para la determinación de cromo (VI).	21
Tabla No. 2.- Captación de cromo (VI) por los diferentes bioadsorbentes analizados.	24

I N D I C E D E F I G U R A S

Figura No. 1.- Reacción de cromo (VI) con la difenilcarbazida.	19
Figura No. 2.- Curva de calibración de Cromo (VI) por el método colorimétrico de la difenilcarbazida.	22
Figura No. 3.- Porcentaje de bioadsorción de cromo (VI) por diferentes bioadsorbentes analizados.	25
Figura No. 4.- Efecto del tiempo de incubación sobre la bioadsorción de cromo (VI) por <i>Helmintosporium sp.</i>	26
Figura No. 5.- Efecto del pH sobre la bioadsorción de cromo (VI) por <i>Helmintosporium sp.</i>	27
Figura No. 6.- Efecto de la temperatura sobre la bioadsorción de cromo (VI) por <i>Helmintosporium sp.</i>	28

RESUMEN

Los efectos tóxicos (dermatitis irritativa, dermatitis alérgica, corrosión del tabique nasal, asma bronquial, cáncer de pulmón y daños renales) causados por la presencia del cromo trivalente y hexavalente en el medio ambiente están bien documentados, siendo las principales fuentes de contaminación la minería, industria del cemento, colorantes y curtiduría. Dada esta situación, se han desarrollado procesos para remover el cromo de aguas residuales, como la precipitación química, coagulación, floculación, precipitación como hidróxido de cromo, adsorción con carbón activado y algunos bioadsorbentes celulares, por lo anterior el objetivo de este trabajo fue estudiar la bioadsorción de cromo (VI) por 8 diferentes bioadsorbentes naturales: *Helminthosporium sp*, *Mucor sp-1* y *Mucor sp-2* y *Cladosporium sp*, resistentes a zinc, cobre y plomo (se consideran resistentes debido a que se aislaron en presencia de cobre, y en los análisis realizados se encontró que crecen a 500 ppm de zinc, cobre y plomo); *Mucor rouxii* resistente a cobre y mercurio, el cual se obtuvo por mutagénesis con etilmetano sulfonato, *Mucor rouxii* IM-80 silvestre, así como dos componentes de la pared celular de los hongos quitinolíticos: quitina y quitosana comerciales. A estos bioadsorbentes fúngicos y a la quitina comercial se les ha estudiado su capacidad de captación de plomo, mercurio, cadmio, zinc, cobalto, flúor, cobre y arsénico, mientras que se ha reportado que la quitosana bioadsorbe eficientemente uranio y vanadio, pero no hay estudios relacionados con la remoción de cromo (VI) en solución por los hongos y los componentes celulares de los mismos mencionados anteriormente (34,37).

Se hizo el estudio con 80 miligramos de cada uno de los bioadsorbentes, los cuales se pusieron en contacto con una solución de 100 miligramos de cromo (VI)/100 ml, y se tomaron alícuotas a las 0 y 24 hrs., determinando la concentración de cromo en solución por el método colorimétrico de la difenilcarbazida.

De los 8 bioadsorbentes analizados, el *Helminthosporium sp* y la quitosana fueron los más eficientes para remover cromo (VI) en solución (65% y 63% respectivamente), seguidos del de *Cladosporium sp* y *Mucor rouxii* resistente a cobre y mercurio (33% ambos bioadsorbentes), mientras que los menos eficientes fueron la quitina comercial (13.15%) y *Mucor sp-1* (10.38%). Por otra parte, la mayor adsorción (utilizando el bioadsorbente de *Helminthosporium sp*) se obtuvo a pH de 4.0 +/- 0.2, a 28°C y a las 24 hrs. de incubación con agitación constante.

1. INTRODUCCION

1.1 GENERALIDADES

El cromo es un metal que se encuentra en la naturaleza en varias combinaciones con otras sustancias. Está distribuido por toda la corteza terrestre, pero presenta una concentración mayor en las rocas básicas, de donde es extraído para su utilización en diversas actividades industriales, principalmente en metalurgia, química y en la producción de pigmentos. Puede presentarse en la forma iónica con valencia +2, +3, ó +6. De éstas, las más importantes en cuanto a sus efectos sobre la salud humana, son la trivalente (+3) y la hexavalente (+6). La forma trivalente es una forma esencial para el metabolismo humano debido a que participa en los factores de tolerancia a la glucosa, y el cromo hexavalente es tóxico, ya que causa diferentes tipos de dermatitis, cáncer de pulmón y daños renales (29).

La producción mundial es de 8 millones 85 mil toneladas por año. El 11% de esta cantidad es producida en América Latina, principalmente por Brasil, con 829 mil toneladas por año y Cuba con 32 mil toneladas por año, que participan activamente en la extracción y producción de cromo, especialmente para la industria del acero, de materiales refractarios y de producción de vidrio y cemento (15).

La presencia de bajas concentraciones de cromo trivalente (óxido crómico o ion crómico), parece tener importancia para el metabolismo humano (elemento esencial), ya que éstos tendrían un papel en los factores de tolerancia a la glucosa (29).

La presencia de altas concentraciones de las formas trivalentes y hexavalentes de cromo en el ambiente, principalmente de trabajo, es dañina para la salud, ya que causan problemas de carácter local, tales como dermatitis irritativa, dermatitis alérgica, corrosión del tabique nasal y otros de carácter general, entre los que destacan el asma bronquial, el cáncer de pulmón y el daño renal (37).

La importancia del cromo, desde el punto de vista de sus efectos adversos sobre la salud, es mayor en la que se refiere a la exposición ocupacional que en aquella del ambiente general, ya que cuando no hay contaminación por fuentes antropogénicas, las concentraciones ambientales naturales son muy bajas. El número de trabajadores potencialmente expuestos al cromo hexavalente en los Estados Unidos de América, se ha calculado en 175 000 distribuidos en unas 104 actividades laborales distintas (15).

La asociación entre la exposición al cromo y el desarrollo de enfermedades ha sido descrita en varios estudios epidemiológicos ocupacionales, por ejemplo:

En un estudio realizado en trabajadores expuestos al cromo trivalente en industrias de producción de óxido crómico y de sulfato de cromo, se encontró que de 32 muertes, 10 fueron por cáncer, incluyendo 3 por tumores bronquiales. Los autores concluyeron, sin embargo, no haber logrado evidenciar un efecto carcinogénico del cromo trivalente (15).

Diversos autores han estudiado la exposición al cromo en Alemania, Estados Unidos de América e Inglaterra y han encontrado una mayor incidencia de cáncer pulmonar en los trabajadores expuestos al metal que en la población general, después de una exposición de entre 15 y 27 años. Confirmando estos estudios, la Internacional Agency for Research on cancer (IARC) hizo una evaluación de los datos existentes y concluyó que los productos derivados del cromo causan cáncer (29).

Otros efectos, tales como la necrosis del tabique nasal y las lesiones alérgicas, también han sido estudiados y se han encontrado fuertes asociaciones entre exposición y efecto. Se estudió a 107 trabajadores expuestos y se identificaron lesiones de laringe en 66% de ellos. Otro estudio evidenció una prevalencia del 24% de perforaciones del tabique nasal en trabajadores de galvanoplastia (15,37).

La importancia de este metal en los países de América Latina obedece a la existencia de grandes yacimientos y a su frecuente utilización en una gran variedad de industrias en estos países, tales como en las de vidrio, cemento, y en curtido de pieles, etc., (8).

1.2 FUENTES DE CONTAMINACION POR CROMO

Las fuentes importantes de contaminación por cromo (VI), son aquellas que están relacionadas con el ambiente ocupacional, principalmente debido a la presencia de cromo en los polvos metálicos. Con el crecimiento de las actividades industriales, las fuentes contaminantes del medio con este y otros metales han aumentado igualmente. Las fuentes no ocupacionales, naturales, generalmente son responsables del cromo trivalente que llega al organismo humano, el cual es de importancia fisiológica (29).

Los principales compuestos que tienen interés por su prevalencia en el ambiente son los trivalentes óxido crómico y sulfato crómico y los hexavalentes trióxido crómico, ácido crómico y dicromatos (de sodio, de potasio, etc.) (20).

1.2.1 FUENTES DE CONTAMINACION EN EL AMBIENTE OCUPACIONAL

Al hablar de fuentes de contaminación en el ambiente ocupacional es importante señalar que éstas son también responsables, en gran parte, de la contaminación del ambiente general, lo que determinará en gran medida la exposición de la población general. Así, los individuos que están expuestos ocupacionalmente, también pueden estarlo en el ambiente general (15).

Las concentraciones de cromo (VI) en el aire de ambientes ocupacionales puede llegar a varios cientos de microgramos por metro cúbico (6).

MINERIA

Las actividades mineras, principalmente la extracción de la cromita (FeOCr_2O_3), son la fuente más evidente y que puede causar las concentraciones más altas de polvo de cromo (VI). La exposición no sólo es importante para los mineros, sino también para otros individuos no mineros que trabajan en las mismas instalaciones o cercanos a éstas (10).

INDUSTRIA

La utilización industrial del cromo (VI) se hace principalmente con el objetivo de obtener protección por revestimiento de los metales, de fines estéticos y de decoración, de cambios de color en varios tipos de materiales; además, es un importante agente en los procesos de curtido de pieles (8,15).

Las industrias que presentan mayor riesgo por la presencia del cromo, según su rama o tipo, son las de:

- Cemento
- Colorantes
- Construcción
- Curtidurías
- Galvanoplastia
- Material fotográfico
- Material refractario
- Metalurgia (producción de acero y otras aleaciones metálicas)
- Pinturas, principalmente las anticorrosivas.
- Fertilizantes.

1.2.2 FUENTES DE CONTAMINACION EN EL AMBIENTE GENERAL

AIRE

En el aire no contaminado el cromo (VI) se encuentra normalmente en concentraciones entre $0.01-0.02 \mu\text{g}/\text{m}^3$, niveles que no causan daños a la salud (los niveles máximos permisibles son: de cromo (III) $5 \text{ mg}/\text{m}^3$ y $0.05 \text{ mg}/\text{m}^3$ de cromo (VI)).

La contaminación de origen industrial por plantas de cemento, de asbesto y por los gases de combustión de vehículos motorizados, puede elevar las concentraciones del cromo en la atmósfera hasta valores peligrosos para la salud (14).

AGUA

Por su baja solubilidad los niveles naturales de cromo (III) y (VI) en las aguas son bajos. En los ríos las concentraciones naturales de cromo (VI) varían de 0.1 a $5 \mu\text{g}/\text{lt}$. En el océano, las concentraciones son inferiores a $5 \mu\text{g}/\text{lt}$. Las actividades y efluentes industriales son los principales contaminantes de las aguas, llegando a elevar las concentraciones de cromo por sobre $25 \mu\text{g}/\text{lt}$ (27).

SUELO

El cromo (VI) se puede encontrar en concentraciones de hasta 250 mg/kg. En general, se encuentran concentraciones medias de 125 mg/kg, pero la concentración por el uso de fertilizantes puede elevarlas (29).

ALIMENTOS

Los alimentos constituyen para el hombre la fuente ambiental de cromo natural más importante. Aportes superiores proporcionados por otros medios como aire y agua, habitualmente se deben a contaminación artificial, correspondiendo ellos preferentemente a cromo hexavalente.

La presencia del cromo (III) en los alimentos es muy variable, con rangos entre 20 y 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Presenta valores de 20-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en las verduras, 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en las frutas, 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en los cereales y 20 a 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en algunos alimentos marinos. Se estima que la ingestión diaria de cromo en condiciones normales puede variar de 5 a 500 μg , con un valor promedio diario de 100-300 μg . Cantidades adicionales pueden ser causadas por la contaminación antropogénica del ambiente general (14).

TABACO

Se han constatado concentraciones de hasta 390 μg de cromo (VI) por kg de tabaco, o también, de 1.4 μg por cigarrillo, sin que se hayan hecho evaluaciones sobre la proporción que de este metal se absorbe por la vía respiratoria (15).

1.2.3 POBLACIONES EXPUESTAS

Tal como ocurre con otros compuestos que se encuentran en la naturaleza y que son lanzados al medio como consecuencia de las actividades industriales, todas las poblaciones están potencialmente expuestas al cromo. El riesgo está relacionado no solamente con la presencia del cromo en el ambiente, sino también con la valencia y con la forma fisicoquímica en que éste se presenta. Es importante señalar que como el cromo trivalente tiene un papel fisiológico en el organismo, especialmente en la tolerancia a la glucosa, su ausencia completa representa un riesgo para la salud humana (10).

1.2.4 EXPOSICION OCUPACIONAL

Aunque el riesgo de intoxicación por cromo tenga variaciones según la forma fisicoquímica del metal, el tiempo de exposición y las condiciones de trabajo, los trabajadores señalados en el cuadro 1 (página 6), conforman una población con riesgo de desarrollar enfermedades causadas por el cromo. Conviene destacar que, de este listado, las actividades que tienen mayor riesgo son aquellas ya mencionadas anteriormente.

1.2.5 EXPOSICION GENERAL

La exposición de la población en general se debe básicamente a la contaminación de los diversos componentes del ambiente. La mayoría de las veces ésta contaminación tiene su origen en una actividad humana, que puede

ser la extracción del cromo, la evacuación de desechos industriales de plantas que lo utilizan en su proceso de producción o la utilización de fertilizantes con cromo (14).

La presencia del cromo en concentraciones superiores a aquellas consideradas como normales en el ambiente, hace que se distribuya en él a través de aire, suelo y agua, y que llegue a producir efectos en el humano por contacto directo, mediante la inhalación o a través de la ingestión (29).

1.2.6 POBLACIONES DE ALTO RIESGO

Las poblaciones de alto riesgo son aquellas en donde es mayor la probabilidad de que existan exposiciones a niveles peligrosos o de que los efectos de la intoxicación sean más graves que en el resto de la población. Entre ellas podemos mencionar a las siguientes (14):

- a) Trabajadores en actividades donde haya cromo.
- b) Poblaciones de regiones en donde haya minería de cromo.
- c) Poblaciones de localidades donde haya contaminación ambiental por cromo.
- d) Personas con enfermedades broncopulmonares crónicas.
- e) Personas portadoras de eczema crónico u otras afecciones dérmicas crónicas.
- f) Fumadores.

Cuando se sobreponen algunas de las condiciones citadas, el riesgo aumenta.

Cuadro 1. OCUPACIONES CON EXPOSICION POTENCIAL AL CROMO, CLASIFICADAS SEGUN INTENSIDAD DE LA EXPOSICION.

Exposición alta (actividades de alto riesgo)

Cromadores
Trabajadores de cromatos
Trabajadores de cromo
Terminadores de cuero
Curtidores

Exposición mediana (actividades con mediano riesgo)

Trabajadores de alumbre de cromo
Electro galvanizadores
Fotograbadores
Fotógrafos
Procesadores de pieles
Fabricantes de pigmentos
Fabricantes de productos químicos fotográficos

Exposición baja (actividades de bajo riesgo)

Fabricantes de aleaciones
Trabajadores de aleaciones de cromo
Trabajadores de cemento
Trabajadores de la construcción (cemento)

Fabricantes de colorantes
Fabricantes de colorantes para madera
Fabricantes de colores secos
Fabricantes de fuegos artificiales
Trabajadores de inhibidores de corrosión
Trabajadores de inhibidores de oxidación
Joyeros
Trabajadores de laboratorios químicos
Perforadores de pozos de petróleo
Fabricantes de pinturas
Trabajadores de juegos pirotécnicos
Empavonadores de vidrio
Fabricantes de vidrio
Fabricantes de vidrios coloreados

Exposición muy limitada (actividades de muy bajo o nulo riesgo)

Fabricantes de abrasivos
Blanqueadores de aceite de palma
Purificadores de aceites
Trabajadores de acero inoxidable
Purificadores de acetileno
Trabajadores de adhesivos
Escarchadores de alfarería
Vidriadores de alfarería
Fabricantes de alizarina
Anodizadores de aluminio
Anodizadores
Pintores a pistola de aviones, automóviles y otros.
Fabricantes de baterías secas
Biólogos
Fabricantes de bujías (velas) coloreadas
Desincrustradores de calderas
Fabricantes de caucho
Blanqueadores de ceras
Trabajadores de cerámica
Grabadores de cobre
Limpiadores de planchas de cobre
Fabricantes de Cola (pegamento)
Copiadores de planos
Fabricantes de drogas
Trabajadores de esmaltes
Blanqueadores de esponjas
Fabricantes de explosivos
Maquinistas de ferrocarriles
Trabajadores de fábricas de fertilizantes
Fabricantes de fibra de vidrio
Fabricantes de fósforo
Purificadores de grasas
Impresores
Fabricantes de jabones
Fabricantes de ladrillos refractarios
Fabricantes de lápices de colores
Conservadores de leche

Trabajadores de linóleo
Litógrafos
Reparadores de locomotoras de diesel
Tintoreros de madera
Tratadores de magnesio
Cortadores, grabadores y limpiadores de metales
Fabricantes y aplicadores de mordientes
Pulidores de muebles
Fabricantes de negro de anilina
Trabajadores de ornamentos de cera
Fabricantes de pantallas de seda para serigrafía
Coloreadores e impermeabilizadores de papel
Fabricantes de papel matamoscas
Impresores de papel para murales
Fabricantes de perfumes
Pintores
Pulidores de platino
Fabricantes de pólvora sin humo
Decoradores de porcelana
Trabajadores de preservadores para madera
Sintetizadores de productos químicos orgánicos
Soldadores
Técnicos histólogos
Fabricantes de tejuelas
Impermeabilizadores, tintoreros e impresores de textiles
Fabricantes de tinta
Trabajadores de tinta de imprenta
Tintoreros
Fabricantes de tizas de colores
Fabricantes de vidriado para alfarería

Tomado de la bibliografía No. 15.

2.0 ANTECEDENTES

La remoción o separación del cromo (VI) presente en aguas residuales puede realizarse por varios procesos: Precipitación química, coagulación/floculación intercambio iónico y adsorción (28). En la actualidad, el proceso más frecuentemente usado es la reducción de cromo (VI) a cromo (III) por medio de algún reductor, generalmente bisulfito de sodio y posteriormente la precipitación como $\text{Cr}(\text{OH})_3$ por medio de una solución básica, principalmente lechada de cal (5,27).

Varios investigadores han estudiado la adsorción (fenómeno de retención de cationes en solución por diferentes compuestos, mientras que la bioadsorción, es el fenómeno de retención de cationes en solución por microorganismos muertos) de cromo (VI) de solución acuosa en diferentes tipos de adsorbentes:

ADSORBENTE

Carbón activado de concha de coco (19).
Coque calcinado (18).
Corteza de *Pinus silvestris* (4).
Cenizas de mosca (27).
Turba (35).
Carbón activado comercial (20,22).
Soluciones de pirita (39).
Alúmina sulfatada (17).

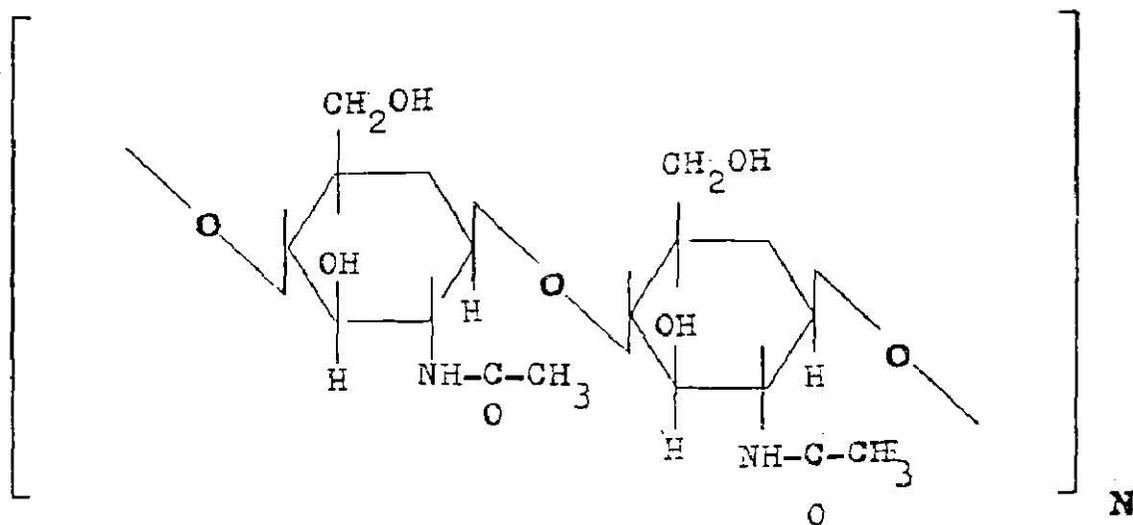
Por otra parte, también se han utilizado diferentes bioadsorbentes celulares para tratar de eliminar el cromo (VI) de soluciones acuosas:

MICROORGANISMO	TIPO DE MICROORGANISMO	REFERENCIA
<i>Bacillus sp</i>	Bacteria	(9)
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Hongo filamentoso	(36)
<i>Candida tropicalis</i>	Levadura	(24)
<i>Streptomyces nouresei</i>	Bacteria	(24)
<i>Penicillium crysogenum</i>	Hongo filamentoso	(28)
<i>Aspergillus flavus</i>	Hongo filamentoso	(3)
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Levadura	(12)
<i>Scenedesmus acutus</i>	Alga	(11)
<i>Cladosporium resinae</i>	Hongo dematiáceo	(14)

Se ha sugerido que la bioadsorción de los metales pesados por los diferentes bioadsorbentes difiere cuali y cuantitativamente dependiendo de las especies de microorganismos usadas, el origen del bioadsorbente, el procesamiento del mismo, el metal estudiado, el pH, la temperatura y el tiempo de incubación (37). Se ha postulado que la captación de los metales pesados se realiza por mecanismos complejos como: intercambio iónico, quelación, atrapamiento de iones por los carbohidratos estructurales de la pared celular de los microorganismos, pues en general, hay algunos grupos químicos que pueden atraer y secuestrar los metales en solución (28,37). Por ejemplo: grupos acetamido de la quitina, grupos hidróxilo y amino de la quitosana, grupos amino y fosfato de los ácidos nucleicos, grupos amido, amino, sulfhidrilo y carboxilo de las proteínas y los grupos hidroxilos de los Opolisacáridos (glucosa, glucosamina, manosa, ramnosa, ácido glucurónico) (14,18,24,28,37).

Por otra parte, se ha sugerido específicamente que los grupos carboxilos y sulfatos de los polisacáridos que forman parte de los alginatos pueden ser los responsables en las algas de la captación de cadmio, cobalto y cromo (VI) (28), mientras que en los hongos la presencia de ácido glucurónico y grupos fosfatos en la pared celular, grupos hidroxilos en la mananas, así como el grupo acetamido de la quitina, el grupo amino de la quitosana y algunos grupos SH de las proteínas, serían los responsables de la captación de los metales por los hongos, (9,24,26,28,34), mientras que en las bacterias se ha postulado que los responsables de la captura de los metales son los grupos fosfato extracelulares de la pared de las mismas (37).

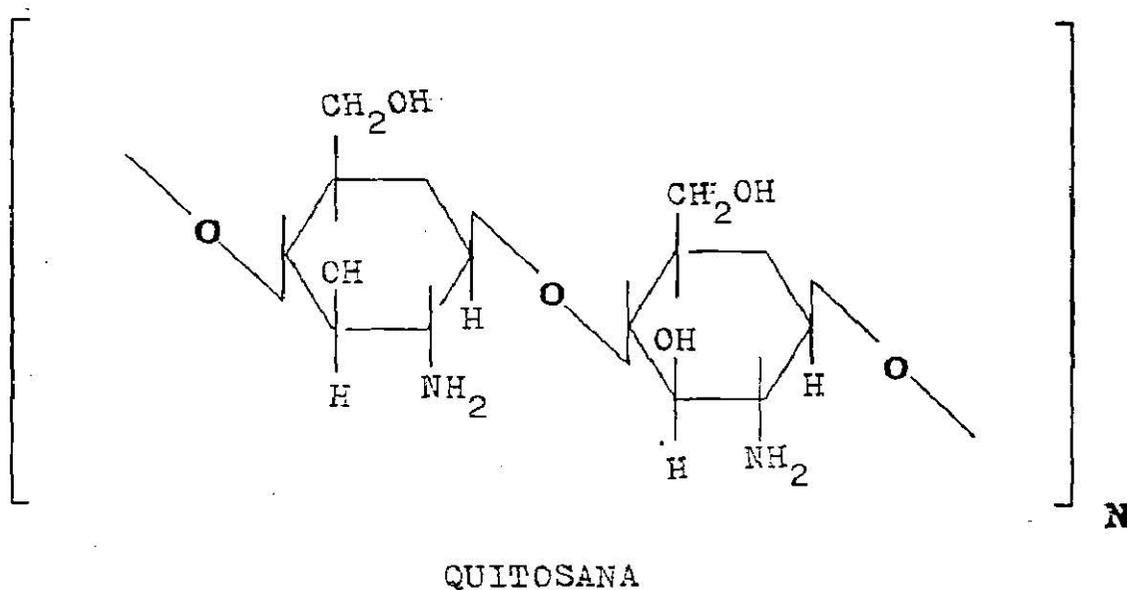
La quitina y la quitosana son componentes de la pared celular de la mayoría de los hongos. La quitina es un polisacárido formado por el azúcar N-acetilglucosamina (GlcNAC), que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, esta constituido por largas cadenas de monómeros de azúcar unidos covalentemente por enlaces de tipo Beta 1-4 (7), y presenta la siguiente fórmula:



QUITINA

La quitina se encuentra en toda la escala de los seres, las bacterias empero, carecen de ella. Entre los protozoarios, muchos ciliados utilizan la quitina para construir estructuras protectoras a semejanza de los corales; múltiples amebas, todas las parasitarias de animales, forman quistes de quitina. Este polisacárido se encuentra en las colonias de Hidrozoos, es un componente estructural de Anélidos y Moluscos, abunda menos en Nematódos y Celenterados, pero crea el exoesqueleto de los Artrópodos. Vuelve a faltar la quitina en equinodermos y cordados, indicio de que se produce un cambio brusco en la estrategia evolutiva de los animales (31).

Entre las algas, poseen quitina las diatomeas y los crisoflagelados. En los hongos, con excepción de los oomicetos, este polisacárido se erige en el principal compuesto del armazón de la pared celular. Como es sabido, la pared celular es la estructura externa que confiere protección, rigidez y forma a estos organismos. Las plantas superiores carecen de quitina, la cual aunada a la quitosana tienen un gran interés desde diferentes puntos de vista (33), presentando la fórmula siguiente:



La quitosana, existe en cantidades significativas sólo en la pared celular de los zigomicetos y es un polisacárido homólogo de la quitina, pero total o parcialmente desacetilado; se halla constituido fundamentalmente por glucosamina, en vez de acetil-glucosamina. La quitosana se forma in vivo por desacetilación enzimática de la quitina. Químicamente, la quitina puede desacetilarse por tratamiento con álcalis en caliente. El potencial anual de producción de quitina se ha calculado en 150 000 toneladas provenientes de residuos de las industrias de fermentación que emplean hongos (32 000 toneladas) y el resto de la industria pesquera (30).

Por sus características químicas y físicas, la quitina y la quitosana pueden substituir a materiales plásticos con la ventaja de que son biodegradables y, por consiguiente, no contaminan. Se investiga su aplicación como reactivos químicos para el análisis de metales, basándose en su capacidad de intercambiadores iónicos y de formar complejos con los mismos, su aprovechamiento en cosmetología por sus propiedades emulsificantes y nula alergenicidad y su mayor explotación en la industria alimentaria (32).

Ambas, quitina y quitosana se emplean ya en la industria alimentaria como fuente de fibra natural en la dieta, para fijar pigmentos artificiales y evitar su absorción en el intestino, como emulsificantes y para absorber

grasas. En forma de película, se ha empleado la quitosana para purificar el agua por medio de ósmosis revertida y se ha sugerido su uso para proteger alimentos, ya que tolera altas temperaturas y es ella misma comestible. La quitosana sirve también para concentrar material proteico presente en líquidos de desecho de diversas industrias. Presenta ésto una doble ventaja: el material concentrado se puede usar como aditivo en la alimentación animal y, en segundo lugar, purifica el líquido que puede verterse al medio ambiente. Por su propiedad floculante, el polisacárido puede depurar el agua potable de consumo humano (31).

En el ámbito médico de la quitosana se destacan sus propiedades hipocolesterémicas e hipolipidémicas, aparte de constituir un poderoso secuestrante de pigmentos biliares. La quitosana es hemostática y varios derivados suyos presentan capacidad anticoagulante. La quitina es un adyuvante y activador de macrófagos que promueve la producción de anticuerpos. Ambas quitina y quitosana, incrementan la defensa antitumoral y protegen contra diversos patógenos. En cirugía, el hilo de derivados de la quitosana aventaja al formado por otros materiales. El dominio de las aplicaciones se abre a la producción de textiles y membranas, recuperación y separación de metales, catálisis, purificación de enzimas y otros (30).

Finalmente, también hay reportes del uso de la quitina y la quitosana para la remoción de metales pesados en solución, aunque la quitina capta eficientemente plomo (91.5%), medianamente flúor (36.45%) y muy poco cadmio (10.5%), mercurio (9.6%), cobalto (13.3%) y nada de arsénico, zinc y cobre (37), mientras que la quitosana capta eficientemente uranio y vanadio (34).

Por lo anterior, sería interesante el tratar de eliminar el cromo (VI) de soluciones acuosas utilizando otros bioadsorbentes celulares fúngicos, así como por la quitina y la quitosana (que son componentes de la pared celular de la mayoría de los mismos), para tratar de utilizar los bioadsorbentes más eficientes en la captación de cromo (VI), para su eliminación de algunos mantos acuíferos contaminados.

Además, nosotros hemos considerado, que si los hongos son resistentes a metales pesados, tal vez sean más eficientes en la captación de los mismos, debido a que como han estado en contacto con el metal, desarrollan resistencia a metales pesados, secretando proteínas con afinidad por los metales llamadas metalotioneínas (37).

3.0 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar un análisis comparativo de la capacidad de bioadsorción de cromo (VI) por ocho bioadsorbentes naturales (seis bioadsorbentes fúngicos y 2 componentes de la pared celular de los mismos).

OBJETIVOS PARTICULARES

- Comparar la capacidad de captación de cromo (VI) en solución por los seis bioadsorbentes celulares y dos componentes de la pared celular de los mismos.
- Determinar cual bioadsorbente es el más eficiente para remover el cromo (VI) en solución.
- Determinar si la quitina o la quitosana (o ambas) son responsables de la remoción de cromo (VI).
- Analizar el efecto del tiempo de incubación, pH y temperatura sobre la remoción de cromo (VI) por el bioadsorbente que tenga mayor porcentaje de captación del mismo metal.

4.0 MATERIAL Y METODOS

4.1 BIOADSORBENTES CELULARES

Las cepas de hongos utilizadas fueron las siguientes:

BIOADSORBENTE UTILIZADO	FENOTIPO
<i>Mucor rouxii</i> IM-80 *	Cepa silvestre (a)
<i>Mucor rouxii</i>	Mutante resistente a cobre y mercurio, obtenida por mutagénesis con etilmetano sulfonato (a)
<i>Mucor sp-1</i> *	Resistente a zinc, plomo y cobre (b)
<i>Mucor sp-2</i> *	Resistente a zinc, plomo y cobre (b)
<i>Helminthosporium sp</i> *	Resistente a zinc, plomo y cobre (b)
<i>Cladosporium sp</i>	Resistente a zinc, plomo y cobre (b)
Alfa-quitina	Componente de la pared celular de los hongos (c)
Quitosana	Componente de la pared celular de los hongos (c)

(a) Cepas proporcionadas por el Dr. Luis Sosa (Instituto de Investigación en Biología Experimental/Facultad de Química/Universidad Autónoma de Guanajuato).

(b) Cepas aisladas de zonas aledañas a la planta de zinc de esta ciudad, en presencia de 200 ppm de cobre, y que presentan resistencia a 500 ppm de zinc, cobre y plomo, así como a 100 ppm de mercurio (18). Se cree que los hongos desarrollan resistencia a metales pesados debido a que en presencia de los mismos secretan proteínas con afinidad por los metales llamadas metalotioneínas (37).

(c) Productos comerciales (Sigma Chemical Company)

* *Mucor rouxii* es un hongo Zygomyceto, que se considera un contaminante ambiental, que no presenta rizoides ni estolones, raras veces causa infecciones en humanos y los estudios relacionados con este hongo están enfocados a su propiedad dimórfica. Su pared celular está constituida principalmente de quitina y quitosana tanto en su forma levaduriforme como micelial, por lo que está considerado en el grupo IV (quitina-quitosana) en la clasificación taxonómica de los hongos basada en la composición de la pared celular (7).

El hongo * *Cladosporium* es un Deuteomiceto, que pertenece a la familia de los Dematiaceos (porque tienen un pigmento melanoide oscuro difusible al medio), tiene una distribución mundial y es uno de los contaminantes ambientales más frecuentes, y se han descrito alrededor de 500 especies, algunas de las cuales son patógenas para el hombre y animales, principalmente *Cladosporium carrionii*, el cual causa cromomicosis (enfermedad producida por hongos Dematiaceos) e infecciones cutáneas. Su pared celular contiene cantidades mayoritarias de galactosa, quitina y proteínas, por lo que se ha sugerido que pertenece al grupo V (quitina-glucana) de la clasificación taxonómica propuesta por Bartnicki García (7).

Helminthosporium es un hongo Hyphomyceto de la familia de los Dematiaceos, que causa diferentes enfermedades a los cereales de granos pequeños en su desarrollo. En el trigo, es el causante de las enfermedades llamadas: Punta Negra y la Mancha Amarilla. Raramente se aísla de granos de maíz, no se considera toxigénico, aunque en humanos puede causar enfermedades óticas y oculares. Algunos autores (7,32,33), lo clasifican en cualquiera de los siguientes géneros: *Bipolaris*, *Dreschlera* y *Exerohilum*. No hay reportes de la composición química de su pared celular, por lo que no está clasificado en ninguno de los ocho grupos propuestos en la literatura (7).

La cepa silvestre de *Mucor rouxii* IM-80 se conserva y subcultiva en Agar Sabouraud Dextrosa (Bioxon), mientras que las mutantes lo son en el siguiente medio mínimo:

COMPONENTE	CONCENTRACION (g/lt)
Agar bacteriológico	20
Dextrosa	20
Fosfato ácido de potasio	6
Nitrato de amonio	1.8
Sulfato de magnesio-heptahidratado	1.0
Sulfato de fierro-heptahidratado	0.001
Sulfato de zinc-heptahidratado	0.0018

A este medio se le agregan 200 miligramos de sulfato de cobre heptahidratado/lt (se añade esta sal, como fuente de cobre, pues como los hongos son resistentes a este metal, es necesario su adición para que sigan expresando las metalotioneínas, las cuales son proteínas, que se expresan cuando hay resistencia a metales pesados, y por consiguiente seguir siendo resistentes a cobre), ya que los hongos pueden perder su resistencia a metales pesados si se mantienen en medios sin metal (14).

4.2 LAVADO DE QUITINA Y QUITOSANA

Con objeto de eliminar el exceso de níquel contenido en estos componentes celulares, ambos se lavan con ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) al 5% (p/v) durante una semana con agitación constante a 28°C, cambiando la solución de EDTA cada 24 hrs.

4.3 LAVADO DE MATERIAL

Con el fin de evitar al máximo problemas por contaminación, todo el material tanto de vidrio como de plástico se debe someter al siguiente tratamiento: se lava de manera común con agua corriente y un detergente neutro (Extran) previo remojo, se enjuaga con agua destilada y se le pasa a un recipiente que contiene ácido nítrico al 10% (v/v) en agua desionizada), se deja reposar 24 horas y se enjuaga con agua tridesionizada. Por último, se seca en un horno (Felisa) a 80°C durante 1 hr (el material de vidrio) y a 37°C durante 24 hrs (el material de plástico). Se enfría e inmediatamente se tapa con papel aluminio y se guarda protegido del polvo.

El agua utilizada en este trabajo fue tridesionizada y ajustada al pH deseado con ácido clorhídrico 0.2 N ó hidróxido de sodio 0.2 N.

4.4 OBTENCION DEL BIOADSORBENTE CELULAR

Se toma una asada en condiciones estériles de las esporas crecidas en los medios anteriores (dependiendo de la cepa), y se coloca en un tubo de ensaye conteniendo 1 ml de solución salina estéril al 0.85%. Se hacen diferentes diluciones (1:100 y 1: 1 000) en la misma solución salina y se cuentan las esporas en un hematocitómetro. Posteriormente, se siembran 1×10^6 esporas en 200 ml de medio de caldo tioglicolato y se incuban a 28°C en un baño con agitación constante durante 12 hrs (Yamato constant temp. shaking batch model 131-25). El bioadsorbente obtenido se separa del medio de cultivo mediante filtración (papel filtro), después se lava con agua tridesionizada (obtenida en un desionizador Sybron/Barnstead Water Purificated Cartridge), se deseca a 80°C durante 20 min., se muele manualmente en un mortero, y se guarda hasta su uso en un frasco color ambar.

4.5 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD DE BIOADSORCION DE CROMO (VI)

Se prepara una solución estándar de cromo (VI) (71.86 mg/l), en agua tridesionizada; se ajusta a un pH de 4.0 +/- 0.2 (Potenciómetro de bolsillo PS-15, Corning) donde se obtiene la mayor captación de metal (2). Después, se añaden a cada uno de los 8 matraces Erlenmeyer de 200 ml, 200 ml de solución estándar de cromo (VI). Posteriormente, se le añaden a cada matraz, 80 mg de cada uno de los 8 bioadsorbentes a analizar (esta es la concentración de bioadsorbente a la cual se obtuvieron mejores resultados (23)), y se incuban a 28°C durante 24 hrs (siendo este el tiempo de incubación al cual se obtuvieron mejores resultados ver punto 4.6) en un baño con agitación constante (Yamato constant temp. shaking batch model 131-25), tomando alícuotas a las 0 y 24 hrs, removiendo el bioadsorbente celular por centrifugación (3 000 rpm/5 min. Centrífuga clínica Solbat) y al sobrenadante se le determina la concentración y/o porcentaje de cromo (VI) no adsorbido por los diferentes bioadsorbentes (ver metodología en página No. 18), y por diferencia se determina la cantidad adsorbida por los bioadsorbentes. El valor obtenido en el sobrenadante debe ser la diferencia de la concentración total del metal. Los resultados se presentan en la página No. 24.

4.6 DETERMINACION DEL TIEMPO DE INCUBACION OPTIMO

Se prepara una solución estándar de cromo (VI) (71.86 mg/l), en agua tridesionizada; se ajusta a un pH de 4.0 +/- 0.2 (Potenciómetro de bolsillo PS-15, Corning) donde se obtiene la mayor captación de metal (2). Después, se toman 200 ml de la solución patrón de cromo (VI), y se colocan en un matraz Erlenmeyer de 200 ml y se le añaden 80 mg (esta es la concentración de bioadsorbente a la cual se obtuvieron mejores resultados (23)), del bioadsorbente fúngico *Helminthosporium sp* (que fue el bioadsorbente más eficiente en la remoción de cromo (VI), ver resultados en la página No. 24) y se incuban a 28°C en un baño con agitación constante (Yamato constant temp. shaking batch model 131-25), tomando alícuotas de 10 ml a las 0, 2, 4, 24 y 48 hrs, y la bioadsorbente celular se remueve por centrifugación (3 000 rpm/5 min. Centrífuga clínica Solbat) y al sobrenadante se le determina la concentración y/o porcentaje de cromo (VI) no adsorbido por la biomasa de *Helminthosporium sp* (ver metodología en página No. 18), y por diferencia se

determina la cantidad adsorbida por la misma. El valor obtenido en el sobrenadante debe ser la diferencia de la concentración total del metal. El tiempo óptimo de incubación se determinó comparando los porcentajes de remoción del metal a los diferentes tiempos analizados, siendo el óptimo a las 24 hrs. de incubación, pues con una incubación de 48 hrs. se obtiene el mismo porcentaje de remoción (65% en ambos tiempos estudiados). Los resultados se presentan en la página No. 26.

4.7 DETERMINACION DEL pH OPTIMO

Se preparan siete soluciones estándar de cromo (VI) (71.86 mg/l), en agua tridesionizada; se ajustan a los siguientes pH: 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 y 8.0 +/- 0.2 (Potenciómetro de bolsillo PS-15, Corning). Después, se toman 200 ml de las diferentes soluciones patrón de cromo (VI), y se colocan en un matraz Erlenmeyer de 200 ml y se le añaden 80 mg (esta es la concentración de bioadsorbente a la cual se obtuvieron mejores resultados (23)), del bioadsorbente fúngico *Helminthosporium sp* (que fue el bioadsorbente más eficiente en la remoción de cromo (VI), ver resultados en la página No. 24) y se incuban a 28°C durante 24 hrs. en un baño con agitación constante (Yamato constant temp. shaking batch model 131-25), y se tomaron alícuotas de 10 ml a 0 y 24 hrs, y el bioadsorbente (ver metodología en página No. 18), se remueve por centrifugación (3 000 rpm/5 min. Centrífuga clínica Solbat) y al sobrenadante se le determina la concentración y/o porcentaje de cromo (VI) no adsorbido por *Helminthosporium sp* (ver metodología en la página No. 19), y por diferencia se determina la cantidad adsorbida. El valor obtenido en el sobrenadante debe ser la diferencia de la concentración total del metal. El pH óptimo de incubación se determinó comparando los porcentajes de remoción del metal a los diferentes pH analizados, siendo el óptimo el de 4.0, pues fue en el que se obtuvo mayor porcentaje de captación (65%). Los resultados se presentan en la página No. 27.

4.8 DETERMINACION DE LA TEMPERATURA OPTIMA

Se prepara una solución estándar de cromo (VI) (71.86 mg/l), en agua tridesionizada; se ajusta a un pH de 4.0 +/- 0.2 (Potenciómetro de bolsillo PS-15, Corning) donde se obtiene la mayor captación de metal (2). Después, se añaden 200 ml de la solución patrón de cromo (VI), a cada uno de 3 matraces Erlenmeyer de 200 ml. Posteriormente, se añaden 80 mg (esta es la concentración de bioadsorbente a la cual se obtuvieron mejores resultados (23)), del bioadsorbente fúngico *Helminthosporium sp* (que fue el bioadsorbente más eficiente en la remoción del cromo (VI), ver resultados en la página No. 24). Posteriormente los matraces se incuban a 28°C, 37°C y 42°C durante 24 hrs. en un baño con agitación constante (Yamato constant temp. shaking batch model 131-25), tomando alícuotas de 10 ml a 0 y 24 hrs y el bioadsorbente se remueve por centrifugación (3 000 rpm/5 min. Centrífuga clínica Solbat) y al sobrenadante se le determina la concentración y/o porcentaje de cromo (VI) no adsorbido por el bioadsorbente (ver metodología en la página No. 18), y por diferencia se determina la cantidad adsorbida por el bioadsorbente. El valor obtenido en el sobrenadante debe ser la diferencia de la concentración total del metal. El sobrenadante debe ser inverso al adsorbido por la biomasa. La temperatura óptima de incubación se determinó comparando los porcentajes de remoción del metal a las diferentes temperaturas analizadas, siendo la óptima de 28°C, pues es la temperatura a la cual se obtiene el mayor porcentaje de bioadsorción (65%). Los resultados se presentan en la página No. 27.

4.9 DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE CROMO HEXAVALENTE (Cr(VI))

FUNDAMENTO:

La concentración del Cr(VI) en solución acuosa se determina por un método colorimétrico indirecto. El método se basa en la reacción del Cr(VI) y difenilcarbazida que produce un complejo de color rojo violeta de composición desconocida (13) (figura No. 1). La reacción es sensible y específica. Todos los experimentos se realizaron mínimo 2 veces y por duplicado.

4.10 REACTIVOS Y SOLUCIONES

- 1.- Solución de ácido sulfúrico (Productos Químicos Monterrey) 1:1.
Mezclar volúmenes iguales de ácido sulfúrico concentrado y agua tridesionizada.
- 2.- Acido fosfórico al 85%.
Esta solución reactivo es de la marca Merck.
- 3.- Solución de difenilcarbazida (Fisher Scientific Co.)
Se disuelven 0.2 g de 1,5-difenilcarbazida en 100 ml de alcohol etílico, esta solución se agrega a una solución previamente preparada mezclando 40 ml de ácido sulfúrico concentrado con 36 ml de agua tridesionizada. El reactivo debe refrigerarse para mantener la estabilidad.
- 4.- Solución stock de Cromo.
Se seca el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) durante 2 hrs. en estufa (Felisa) a $110^{\circ}C$. Se pesan 203.3 mg de dicromato de potasio, se agregan a un matraz volumétrico de 1 lt y se adiciona agua tridesionizada aforando hasta la marca. Esta Solución tiene una concentración de 71.86 mg de Cr(VI)/lt.
- 5.- Solución patrón de Cromo.
Se pipetea 5 ml de la solución stock de cromo a un matraz volumétrico de 50 ml y se afora con agua tridesionizada. La concentración de esta solución patrón es de 7.186 mg de Cr(VI)/lt.

4.11 METODOLOGIA

- 1.- Se colocan 5 ml de muestra en un matraz volumétrico de 50 ml. La muestra debe tener una concentración en el rango de 0.154 a 0.616 mg/lt. En caso de que la concentración sea mayor se deberán hacer las diluciones adecuadas.
- 2.- Se adicionan 0.5 ml de una solución de ácido sulfúrico y se agita levemente durante 1 min.
- 3.- Se adicionan 0.1 ml de ácido fosfórico al 85%, y se afora a la marca con agua tridesionizada del pH deseado y se agita levemente durante 30 segundos.
- 4.- Se agrega 1 ml de solución de difenilcarbazida y se agita levemente durante 1 min.

- 5.- Se deja reposar por espacio de 10 min. para que se desarrolle completamente el color.
- 6.- La absorbancia de la muestra se mide en un Espectrofotómetro de doble haz (Espectrofotómetro de luz UV Shimadzu modelo 160-A) a una longitud de onda de 540 nm y usando como referencia un blanco preparado con agua tridesionizada de acuerdo al procedimiento anterior. La concentración de la muestra se determina por medio de una curva de calibración.

NOTA: Una mayor exactitud se obtiene si las muestras se realizan por duplicado y si el Espectrofotómetro se calibra a 0 con un blanco que se prepara siguiendo el procedimiento anterior, pero usando agua tridesionizada.

La curva de calibración concentración de Cr(VI) contra Absorbancia, que se usa para calcular la concentración de la muestra a partir de la Absorbancia, se hace cada vez que se prepara una nueva solución de difenilcarbazida (mínimo 2 veces y por duplicado), y se obtiene por el siguiente procedimiento:

- 1.- Se pipetea de 1 a 4 ml de la solución patrón de Cr(VI) de concentración de 7.711 mg/lit en matraces volumétricos de 50 ml.
- 2.- Se desarrolla el color y se mide la Absorbancia de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente.
- 3.- Los datos de concentración contra Absorbancia se grafican para observar si son lineales.
- 4.- Los datos de concentración Contra Absorbancia se correlacionan por medio de la ecuación (tabla No. 1, figura No. 2):

$$\text{CONCENTRACION} = K * \text{ABSORBANCIA} + B$$

donde: K= Pendiente

B= Ordenada al origen

Tabla No. 1.- CURVA DE CALIBRACION PARA LA DETERMINACION DE CROMO (VI)

Concentración de Cromo (mg/lt)	Absorbancia	Absorbancia promedio	Concentración calculada (mg/lt)
0.1540	0.097	0.101	0.1432
0.1540	0.104		
0.3080	0.205	0.208	0.3205
0.3080	0.211		
0.4620	0.340	0.342	0.4642
0.4620	0.344		
0.6160	0.411	0.410	0.6068
0.6160	0.409		

K=1.4364

B=0.0056

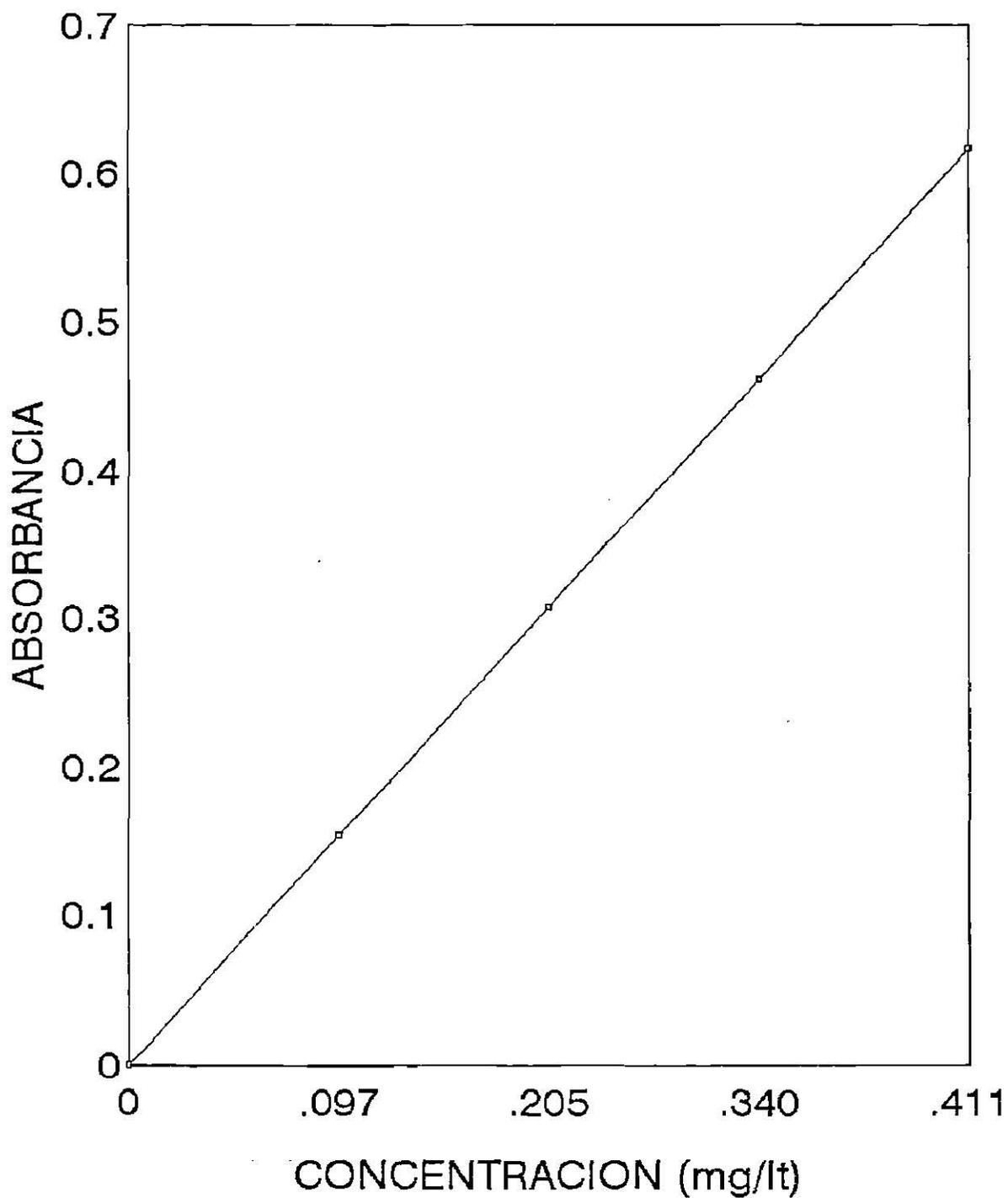


Figura No.2.- CURVA DE CALIBRACION DE CROMO (VI) POR EL METODO DE LA DIFENILCARBAZIDA.

5.0 RESULTADOS

En este trabajo, se probó la capacidad de 6 diferentes hongos, así como la quitina y quitosana comerciales, para bioadsorber cromo hexavalente en solución mediante el método de la difenilcarbazida, encontrando que el *Helminthosporium sp* y la quitosana captan más eficientemente dicho metal (65% y 63% respectivamente) (tabla No. 2, figura No. 3), seguidos de los demás bioadsorbentes analizados en porcentajes más bajos, siendo los menos eficientes la quitina (13.15%) y *Mucor sp-1* (10.4%) (figura No. 3).

Por otro lado, se estudió el efecto de diferentes parámetros sobre la captación de cromo (VI) por *Helminthosporium sp* (por ser este bioadsorbente el que captó más eficientemente el metal), encontrando que la mayor captación se obtiene a las 24 hrs. de incubación (65%) (figura No. 4), a un pH de 4.0 +/- 0.2 (figura No. 5) y a una temperatura de incubación de 28°C (figura No. 6). Estos parámetros fueron determinados en el orden en el que se mencionan.

Tabla No. 2.- CAPTACION DE CROMO (VI) POR LOS BIOADSORBENTES ANALIZADOS

BIOADSORBENTE UTILIZADO	% DE BIOADSORCION
<i>Helmintosporium</i>	64.82
Quitosana	63.00
<i>Cladosporium</i>	33.00
<i>Mucor</i> mutante	33.00
<i>Mucor sp-2</i>	27.00
<i>Mucor rouxii</i> IM-80	22.50
Quitina	13.15
<i>Mucor sp-1</i>	10.40

20 ppm Cr(VI)/100ml. 80 mg de bioadsorbente. pH=4.0, t=28°C,
Tiempo=24 h de incubación. Agitación constante.

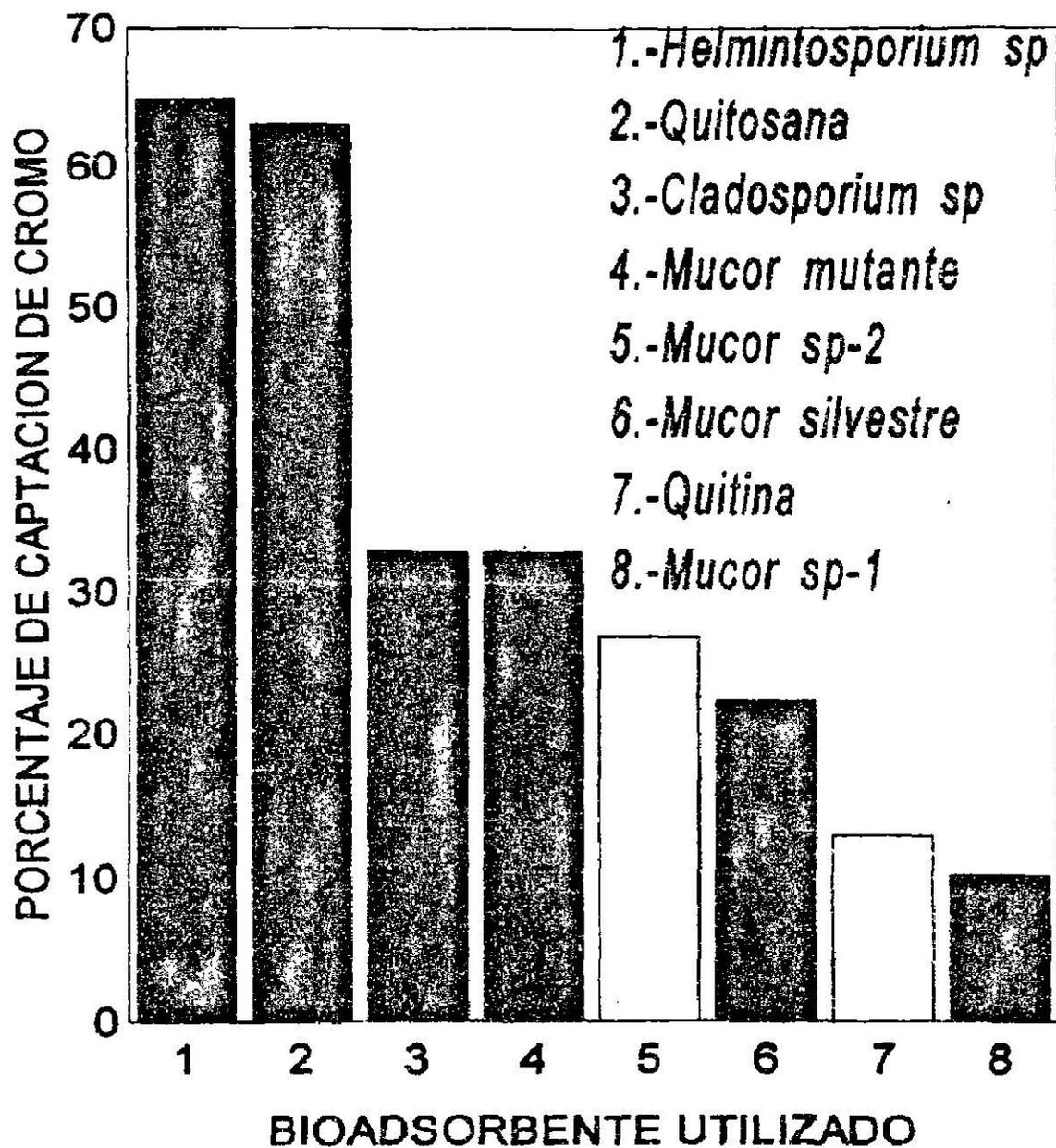


Figura No.3.-PORCENTAJE DE BIOADSORCION DE CROMO VI POR LOS DIFERENTES BIOADSORBENTES ESTUDIADOS (20ppm/100ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. de incubación. Agitación constante)

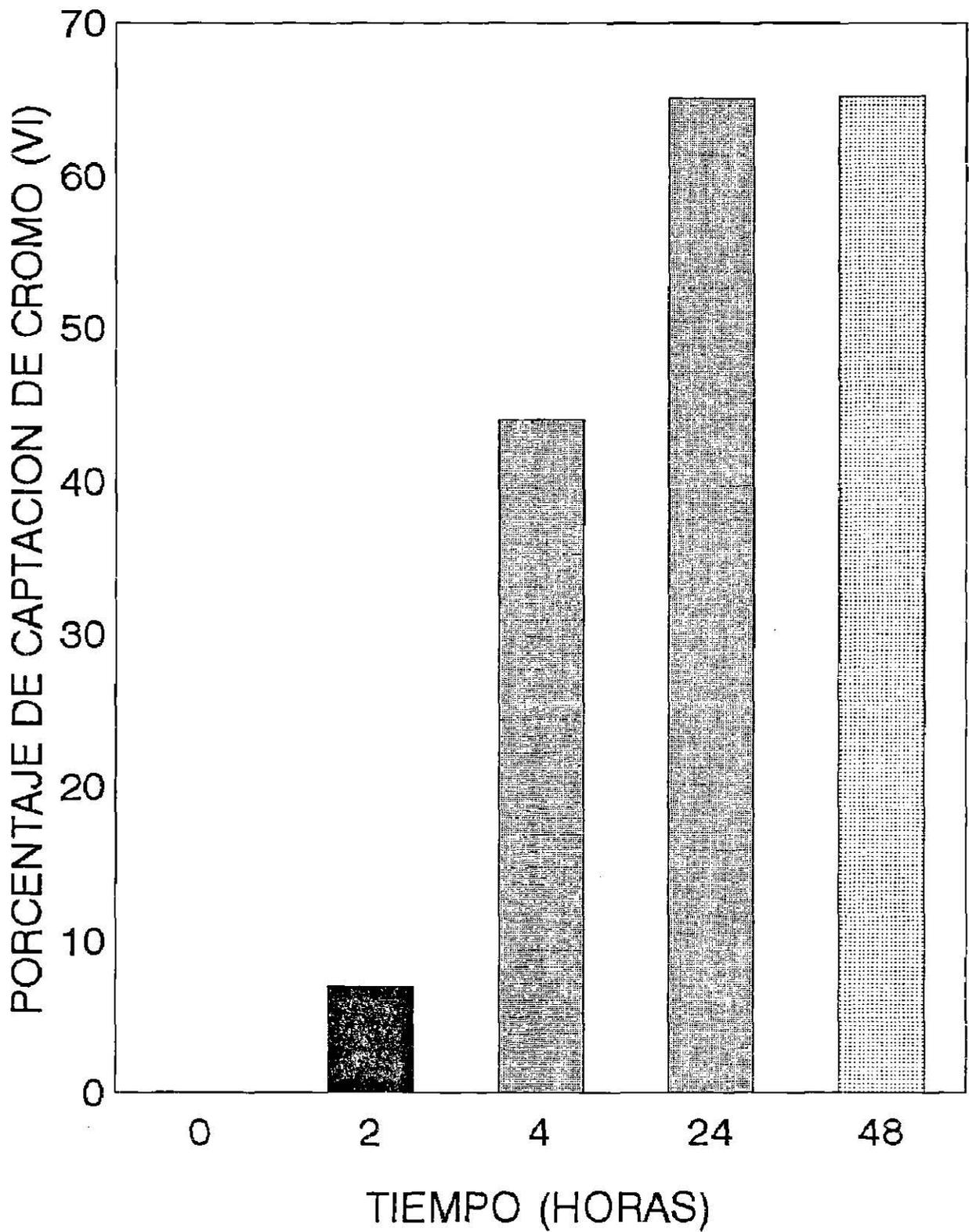


Figura No.4.-EFECTO DEL TIEMPO DE INCUBACION SOBRE LA BIOADSORCION DE CROMO VI POR *Helmintosporium sp* (20ppm/100ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. de incubación. Agitación constante)

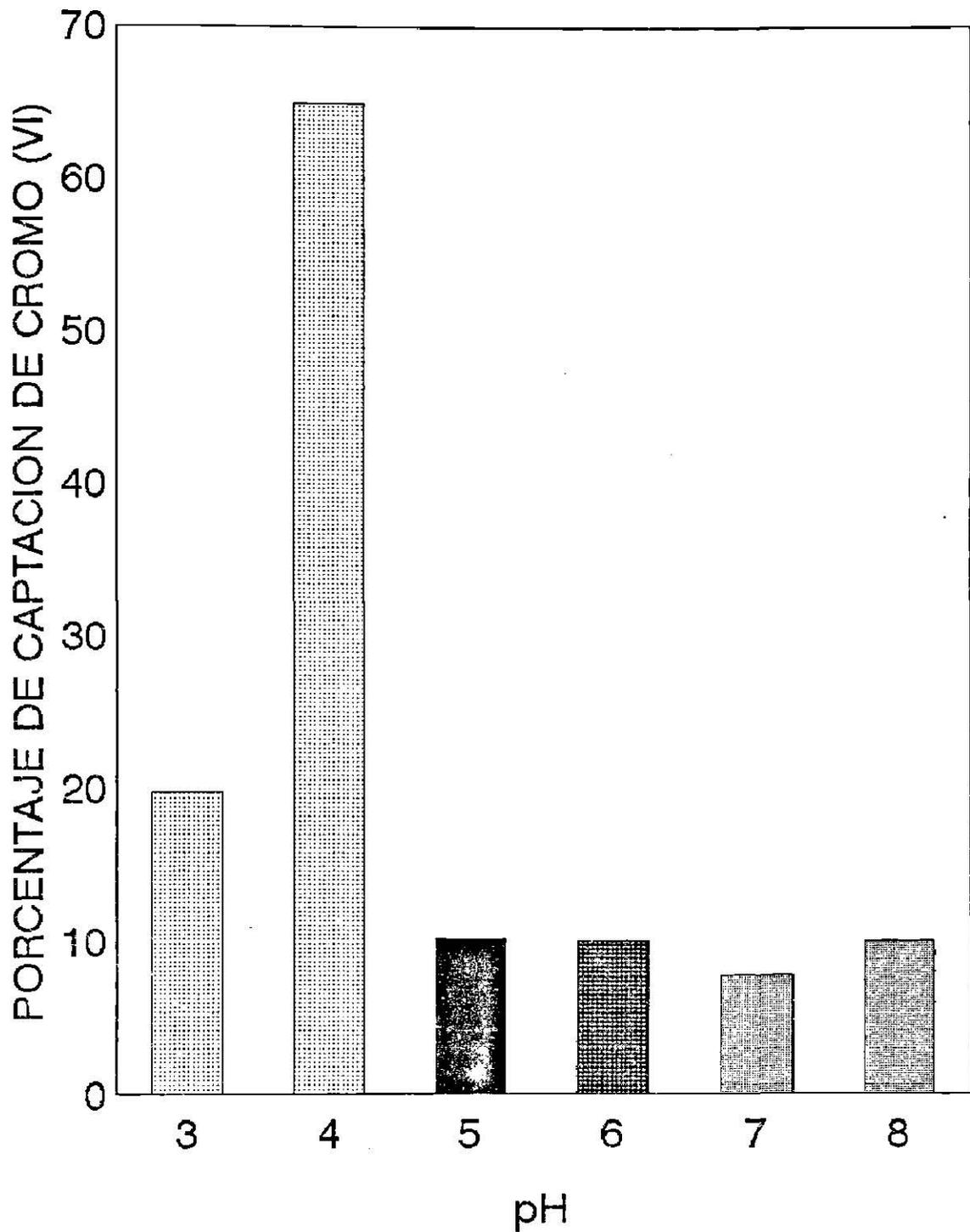


Figura No.5.- EFECTO DEL pH SOBRE LA BIOADSORCION DE Cr (VI) POR *Helminthosporium sp* (20 ppm/100 ml. 80 mg de bioadsorbente.28°C. 24 hrs. de incubación. Agitación constante)

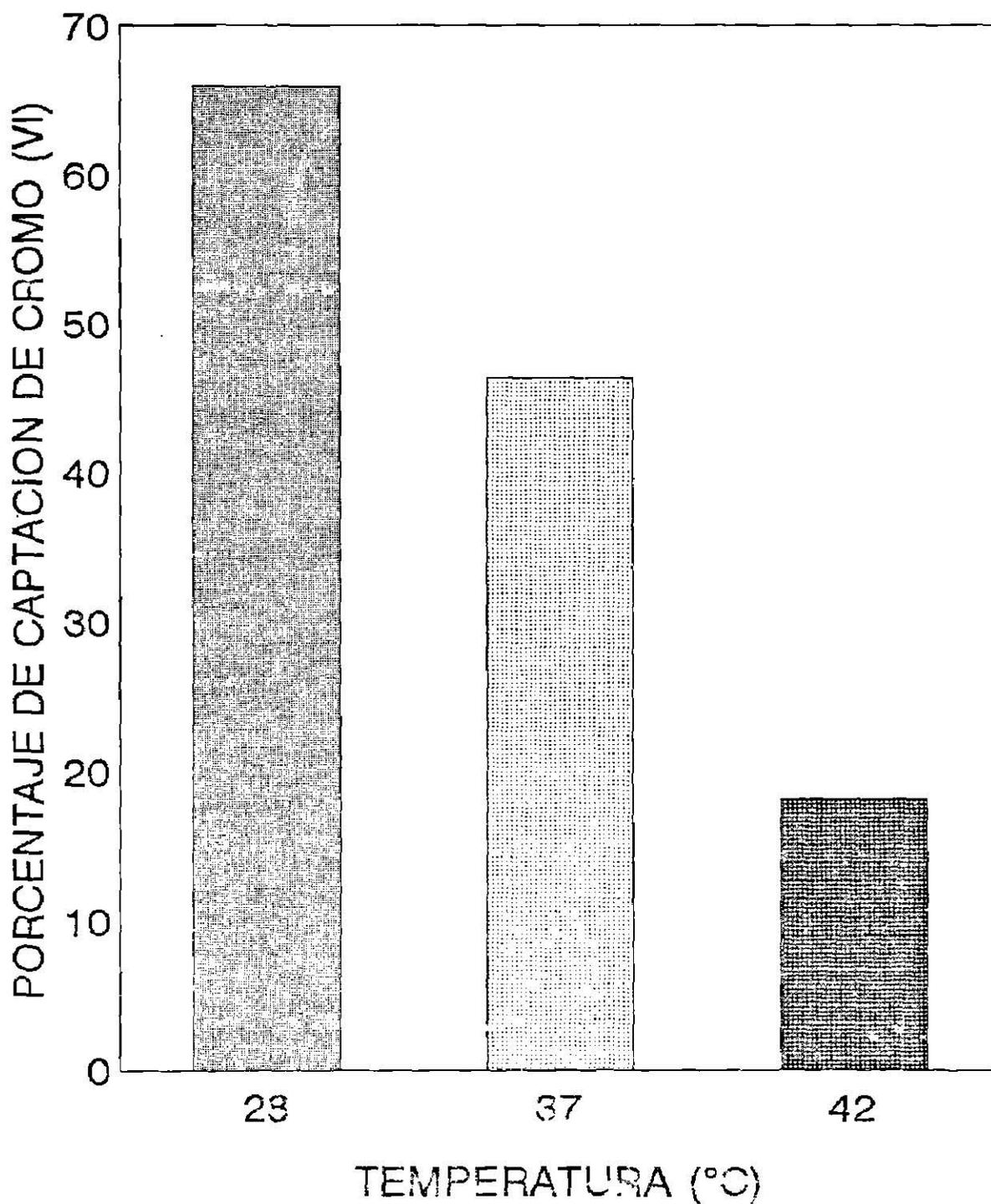


Figura No.6.-EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA BIOADSORCION DE CROMO VI POR *Helmintosporium sp* (20ppm/100ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. de incubación. Agitación constante)

6.0 DISCUSION

En este trabajo, se probó la capacidad de captación de cromo (VI) por 6 diferentes hongos y 2 componentes de la pared celular de los mismos, encontrando los siguientes porcentajes de bioadsorción: *Helminthosporium sp* (65%), quitosana (63%), *Cladosporium sp* y *Mucor mutante* (33%), *Mucor sp-2* (27%), *Mucor rouxii* IM-80 (22.5%), quitina (13.15%) y *Mucor sp-1* (10.4%), lo cual concuerda (porque todos captan cromo (VI) en mayor o menor grado) con la capacidad de captación de cromo (VI) por otros bioadsorbentes de diferentes tipos como: Carbón activado (22), Pirita (38), el hongo filamentoso *Rhizopus arrhizus* (35), la levadura *Candida tropicalis* (24), con porcentajes de captación del metal entre 23% y 88%.

Con respecto al *Helminthosporium sp*, que fue el hongo que captó más eficientemente cromo (VI) (65%), ya se ha reportado su capacidad de captación de diferentes metales como: mercurio (54%), cadmio (43%), cobre (37%) y arsénico (7.%) (1,3), y en comparación con otros estudios, el porcentaje encontrado es menor al reportado por Carro y cols., (12) con la levadura capsulada *Cryptococcus neoformans* (95%). Leyva y cols. (22) con carbón activado (88%), Guzmán y cols., (17) utilizando alumina sulfatada (70%), y mayor a lo reportado por Brierley y Brierley (9) (59%) utilizando la bacteria *Bacillus sp*, por Zouboulis y cols., (38) usando pirita (40-60%), por Cañizares y cols., (11) con el alga clorofita *Scenedesmus acutus* (50%), también a lo encontrado por Acosta y cols., (1) con 2 cepas de *A. flavus* I y II resistentes a diferentes metales pesados (28.4% y 32.13% respectivamente) por Mattuschka y cols., (24) quienes estudiaron la levadura *Candida tropicalis* (23%), Tobin y cols., (35), los cuales reportan un 15.5% de captación del metal por el bioadsorbente fúngico *Rhizopus arrhizus*, Mattuschka y cols., (24) con la bacteria filamentosa *Streptomyces nouresei* (9%) y Paknikar y cols., (26) reportan los menores porcentajes de bioadsorción de cromo (VI) (2%) con el hongo *Penicillium crysogenum*.

En relación al tiempo de incubación, en este trabajo se encontró que a mayor tiempo de incubación mayor bioadsorción de cromo (VI), con un óptimo de 24 hrs. (65% de captación), pues a 48 hrs. el porcentaje de bioadsorción es similar, coincidiendo con la mayoría de reportes de la literatura (1,23,36,38) especialmente con los de Cañizares y cols., (11), quienes también reportan un tiempo óptimo de 24 hrs con una captación de 24% de cromo (VI) utilizando como bioadsorbente el alga clorofita *Scenedesmus acutus*, y son diferentes a los reportados por Guzmán y cols., (17) con alumina sulfatada, pues encuentran que a mayor tiempo de incubación la captación de cromo (VI) disminuye, tal vez debido a que las propiedades químicas (unión de sulfatos) de la alumina se ven afectadas con el tiempo de incubación. (17). Las diferencias en el tiempo de incubación óptimo encontradas en la literatura, se ha sugerido que pueden deberse a cambios aún no conocidos en la permeabilidad de la pared celular de los hongos, que dan como resultado la mayor o menor exposición de los grupos amino de la quitosana, lo cual produce los diferentes porcentajes de captación de cromo (VI) reportados en la literatura, y este fenómeno también puede llevarse a cabo en el *Helminthosporium sp* (6,14,24,29,36,37).

Por otro lado, el pH óptimo de bioadsorción fue de 4.0 +/- 0.2, pues a otros valores de pH el porcentaje de captación disminuye (lo cual puede deberse a que a pH menores de 4.0, el H⁺ de la solución compite con los

metales para unirse a los sitios de unión de los bioadsorbentes, mientras que a pH mayores de 5.0 se pueden formar óxidos y/o hidróxidos metálicos (en este caso de cromo (VI)) los cuales se precipitan en la solución (14,37). Estos resultados son similares a lo reportado por Martínez y cols. (23), quienes reportan un pH óptimo de 4.0 para la captación de plomo por una cepa mutante de *Mucor rouxii*, con los de Zouboulis y cols., (38) (pH óptimo entre 4.0-5.0 usando pirita) y con los de Namasivayan y Ranganathan (25) (pH óptimo de 3.80 en la captación de cadmio con residuos que contienen hidróxidos de fierro férrico y cromo (III)), y difieren ligeramente con los estudios de Leyva y cols., (20,22), quienes reportan un pH óptimo de 5.0 en la captación de cromo (VI) usando carbón activado, y los de Carro y cols., (12), quienes reportan excelentes porcentajes de captación de cromo (VI) en un rango de pH de 2.0 a 8.0, lo cual puede deberse a la cápsula de polisacáridos que tiene la levadura *Cryptococcus neoformans*.

En cuanto al efecto de la temperatura sobre la bioadsorción del cromo (VI) en este estudio se encontró que la temperatura óptima es de 28°C, y el porcentaje de captación disminuye conforme se aumenta la temperatura, coincidiendo con lo reportado por Guzmán y cols., (17) con alúmina sulfatada, (aunque ellos utilizaron temperaturas superiores a los 40°C), pero, no concuerdan con lo reportado por Leyva y Cols., (20,21,22), quienes utilizando diferentes tipos de carbón activado comercial, reportan que a medida que se aumenta la temperatura aumenta la captación de Cromo (III) y cromo (VI), ni tampoco con los estudios de Namasivayan y Ranganathan (25) utilizando como bioadsorbente residuos que contienen hidróxidos de fierro férrico y cromo (III), ya que también reportan mayor captación de metal (en este caso cadmio) a medida que se aumenta la temperatura. Estos cambios en los porcentajes de remoción de cromo III y VI pueden ser debido a que la temperatura desestabiliza los sitios de unión que tienen los diferentes adsorbentes utilizados para acomplejar los metales (5,6,24), mientras que otros autores indican que aún no hay una explicación al respecto (21,22,28,37).

Con respecto a la quitina y quitosana, en este trabajo se encontró que la quitosana remueve eficientemente el cromo (VI) en solución (63%), aunque menor a lo reportado por Carro y cols., (12) con la levadura capsulada *Cryptococcus neoformans* (95%) Leyva y cols. (22) con carbón activado (88%), Guzmán y cols., (17) utilizando alúmina sulfatada (70%), y mayor a lo reportado por Brierley y Brierley (9) (59%) utilizando la bacteria *Bacillus sp*, por Zouboulis y cols., (38) usando pirita (40-60%), por Cañizares y cols., (11) con el alga clorofita *Scenedesmus acutus* (50%), también a lo encontrado por Acosta y cols., (1) con 2 cepas de *A. flavus* I y II resistentes a diferentes metales pesados (23.4% y 32.13% respectivamente) por Mattuschka y cols., (24) quienes estudiaron la levadura *Candida tropicalis* (23%), Tobin y cols., (35), los cuales reportan un 15.5% de captación del metal por el bioadsorbente del hongo *Rhizopus arrhizus*, Mattuschka y cols., (24) con la bacteria filamentosa *Streptomyces nouresei* (9%) y Paknikar y cols., (26) con los menores porcentajes de bioadsorción de cromo (VI) (2%) con el hongo *Penicillium crysogenum*, por lo que la quitosana puede utilizarse para la remoción de metales pesados en solución.

El mayor porcentaje de captación de cromo (VI) encontrado cuando se utilizó la quitosana (en relación con la quitina) como bioadsorbente celular para la captación de metal puede deberse a que el grupo amino de la quitosana tiene más afinidad por el cromo (VI), que el grupo acetamido de la quitina (34).

7.0 CONCLUSIONES

- 1.- De los 8 bioadsorbentes analizados, el *Helminthosporium sp* y la quitosana fueron los más eficientes en la captación de cromo (VI), con 65% y 63%, respectivamente. Aunque no hay reportes de la composición química de la pared celular de este hongo, por los resultados obtenidos, se sugiere que el *Helminthosporium sp* tiene quitosana como componente mayoritario de su pared celular. Además, estos bioadsorbentes pueden ser utilizados solos o mezclados (entre sí ó con otros bioadsorbentes) para remover el cromo (VI) de zonas que presenten altos índices de contaminación por el mismo metal (en la literatura no hay reportes que utilicen mezclas de bioadsorbentes y, en base a los resultados obtenidos se piensa que se puede obtener una mayor eficiencia en la captación de cromo (VI)) si se utilizan mezclas de los bioadsorbentes más eficientes en la captación del metal.
- 2.- Los bioadsorbentes menos eficientes fueron la quitina (13.15%) y *Mucor sp-1* (10.4%). Como los hongos Mucorales tienen quitina como componente mayoritario de su pared celular(7), y están clasificados en el grupo IV (quitina-quitosana) (7), la similitud en los porcentajes de captación de estos bioadsorbentes, sugiere que la quitina, al menos en *Mucor sp-1*, es la principal responsable de la captación del Cromo (VI).
- 3.- El pH más eficiente para la eliminación del metal fue el de 4.0 +/- 0.2, el tiempo óptimo de incubación fue de 24 hrs y la temperatura más eficiente para la remoción del cromo (VI) fue de 28°C. Además, los bioadsorbentes fúngicos resistentes a metales pesados utilizados son más eficientes en la remoción del cromo (VI) que la cepa silvestre de *Mucor rouxii*, (a excepción del *Mucor sp-I*), lo cual sugiere que los bioadsorbentes resistentes a metales pesados son más eficientes en la remoción de cromo (VI), que los silvestres (cepa silvestre de *Mucor rouxii* IM-80), aunque se requieren más estudios al respecto.
- 4.- Los bioadsorbentes analizadas presentaron diferentes porcentajes de remoción del cromo (VI), por lo que las más óptimas se pueden utilizar para la eliminación de los metales pesados que contaminan más frecuentemente los nichos ecológicos del Estado de San Luis Potosí. Estos bioadsorbentes también se pueden utilizar para la recuperación y/o purificación de metales preciosos (como oro y plata) a partir de soluciones acuosas ricas en los mismos. Actualmente, se está desarrollando un proyecto denominado "ELIMINACION SELECTIVA DE COBRE EN UNA SOLUCION RICA EN ORO, PLATA Y COBRE PROCEDENTE DE UNA PLANTA DE LIXIVIACION" donde se utilizarán estos bioadsorbentes. Dicho proyecto fue solicitado por la empresa minera de Peñoles, y se está realizando en colaboración con la M.C. María de Guadalupe Moctezuma Zárate del Centro de Investigación y de Estudios de Posgrado de esta Facultad y con el Dr. Marcos Gustavo Monroy Fernández del Instituto de Metalurgia de la Facultad de Ingeniería de esta Universidad.

8.0 BIBLIOGRAFIA

1. Acosta, I., Gutiérrez, C., Nava, V., Díaz, P., Navarro, R., Alvarez, N., Méndez, G., Robles, A., Adame, G., Mendoza, J., Fuentes, L. y Moctezuma, M.G. (1995). Eliminación de metales pesados y flúor en solución por la biomasa celular de algunos hongos filamentosos. *Revista de la Asociación de Ingenieros de Minas Metalurgistas y Geólogos de México, A.C.* pp 1-15.
2. Acosta, I. y Martínez, V. (1993). Bioadsorción de metales pesados por la fase micelial del hongo *Mucor rouxii*. *Avances en Ingeniería Química.* 1992. 14-16.
3. Acosta, I., García, M.G., Torre, M.E., Zacarías, C., Olivares, J., Vázquez, E. y Moctezuma, M.G. (1995). Capacidad de bioadsorción de metales pesados por la biomasa celular de cuatro hongos resistentes a algunos iones metálicos en solución. *Memorias del V Congreso Iberoamericano de Química Inorgánica.* 24-28.
4. Alves, M., González, C.G., Guedes, R., Castanheira, J.M., Sol Pereira, M.C. and Vasconcelos, L.A.T. (1993). Chromium removal in tannery Wastewaters "Polishing" by *Pinus silvestris* Bark. *Water Res.* 27: 1333-1338.
5. Aoki, T. and Munemori, M. (1982). Recovery of chromium (VI) from Wastewater with iron (III) hidroxide-I. *Water Res.* 16: 793-796.
6. Babich, H. y Stotzky, G. (1980). Enviromental factors that influence the toxicity of heavy metals and gaseus pollutants to microorganism. *Critical Reviews in Microbiology* 8, 99-145.
7. Bartnicki García, S. (1968). Cell wall chemistry, morphogenesis, and taxonomy of fungi. *Ann. Rev. Microbiol.* Vol. 22. pp 87-108.
8. Berber Mendoza M. S. (1991). Difusión del cromo a través de piel de bovino durante el proceso de curtición. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Químicas. UASLP.
9. Brierley, C.L. and Brierley, J.A. (1993). Immobilization of biomass for industrial application of biosorption. In: *Biohydrometallurgical Technologies*: Torma, A.E., Apel, M.L. Brierley, C.L. Eds; The minerals, metals and materials Society: Warrendale, P.A. 2: 35-44.
10. Cairns, J. (1991). The status of the theoretical and applied science of restauration ecology. *The Enviromental Proffesional*, 13, 186-194.
11. Cañizares, R., Cruz, M. y Domínguez, A. (1995). Remoción de cromo por *Scenedesmus acutus*. XXVI Congreso Nacional de Microbiología. Veracruz, Ver. W107.
12. Carro, B., Moctezuma, M.G. y Acosta, I. (1995). Remoción de cromo (VI) por la biomasa celular de la levadura capsulada *Cryptococcus neoformans*. Primer Verano de la Ciencia. UASLP. En Prensa.

13. Clesceri, L.S., Greenberg, A.E. and Eaton, A.D. (1992). Standard Methods for the examination of waster and wastewater. 18th. Academic Press. 3:59-3:60.
14. Gadd, G.M. (1992). Microbial control of heavy metal pollution. In: Fry, J.C., Gadd, G.M., Herbert, R.A., Jones, C.W., Watson-Crick. Microbial Control of Enviromental Pollution. 59-88.
15. Galvao, L.A.C. y Corey, G.,(1987). Serie Vigilancia. 5 Cromo, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Mundial de la Salud, Mextepec, México.
16. García Martínez, M.G. (1993). Aislamiento de hongos contaminantes ambientales resistentes a metales pesados y su potencial uso como bioadsorbentes naturales. Tesis Licenciatura. Q.F.B. Fac. de Ciencias Químicas. UASLP.
17. Guzmán, J., Anguiano, P., Reyes, V., Sandoval, C. y Cuesta, J.R. (1995). Régimen de activación de alúmina sulfatada y efectos en la adsorción de Cr(VI) Memorias del V Congreso Iberoamericano de Química Inorgánica. 37-40.
18. Huang, C.P. and Wu, M.H. (1975). Chromium removal by carbon adsorption. J. Water Pollution Control Federation. 47(10): 2437-2446.
19. Huang, C.P. and Wu, M.H. (1977). Removal of Chromium (VI) from dilute aqueous solution by activated carbon. Water Res. 11: 673-679.
20. Leyva Ramos, R., Juárez Martínez, A. y Guerrero Coronado R.M. (1992). Adsorción de cromo (VI) en solución acuosa en carbón activado. Avances en Ingeniería Química, 13, 294-296.
21. Leyva-Ramos, R., Fuentes-Rubio, L., Guerrero-Coronado, R.M. y Mendoza Barrón, J. (1995). Adsorption of trivalent chromium from aqueous solutions onto activated carbon. J. Chem. Tech. Biotechnol., 62, 64-67.
22. Leyva-Ramos, R., Juárez-Martínez, A. and Guerrero-Coronado, R.M. (1994) Adsorption of chromium (VI) from aqueous solutions on activated carbon. Wat. Sci. Tech.. 30(9), 191-197.
23. Martínez Juárez, V.M., Moctezuma Zárata, M.G. y Acosta Rodríguez, I. (1994) Captación de metales pesados por la biomasa celular del hongo *Mucor rouxii*. Biotecnología. 4(1): 17-20.
24. Mattuschka, B., Junghaus, K. and Straube, G. (1993). Biosorption of metals by waste biomass. In: Biohydrometallurgical Technologies: Torma, A.E., Apel, M.L. Brierley, C.L. Eds; The minerals, metals and materials Society: Warrendale, P.A. 2: 35-44.
25. Namasivayam, C. and Ranganathan, K. (1995). Removal of Cd (II) from wastewater by adsorption on "waste" Fe(III)/Cr(III) hydroxide. Water Res. 29(7) 1737-1744.

26. Paknikar, K.M., Palnitkar, U.S. and Puranik, P.R. (1993). Biosorption of metals from solution by mycelial waste of *Penicillium chrysogenum*. In: Biohydrometallurgical Technologies: Torma, A.E., Apel, M.L. Brierley, C.L. Eds; The minerals, metals and materials Society: Warrendale, P.A. 2: 35-44.
27. Panday, K.K., Prasad, G. y Singh, V.M., (1984), Removal of Cr(VI) from Aqueous Solutions by Adsorption on Fly Ash-Wollastonite, Chem. Tech Biotechnol., 34A, 367-374.
28. Peters, R.W., Ku, Y. and Bhattacharya, D., (1985), Evaluation of Recent treatment techniques for Removal of Heavy Metals from Industrial Wastewaters, AIChE Symp. Ser., 81(243), 165-203.
29. Richard, F.C. y Bourg, A.C.M., (1991). Aqueous Geochemistry of Chromium a Review, Wat. Res., 25(7), 807-816.
30. Ruíz Herrera, J. (1992). Fungal cell wall. Structure, synthesis and assembly. CRC Press. Boca Raton.
31. Ruíz Herrera, J. (1993). La quitina. Investigación y Ciencia. 42-49.
32. Ruíz Herrera, J. (1990). La síntesis de quitina en los hongos. En: Microbiología: Dirigida por F. Ruíz Berraquero y J. Casadesús. Publicaciones de la Universidad de Sevilla; Sevilla. España.
33. Ruíz Herrera, J. and Sentandreu, R. (1989). Fungal cell wall synthesis and assembly. In: Current topics in Medical Mycology. Vol. 3. Dirigido por M.R. McGinnis y M. Borgers. Springer Verlag. Nueva York.
34. Saucedo, I., Guival, E., Jansson-Charrier, M., Delanghe, B. and Le Cloirec, P. (1994). Uranium and vanadium sorption by chitosan and derivatives. Wat. Sci. Tech. Vol. 30. No. 9. pp 183-190.
35. Sharma, D.C. and Foster, C.F. (1993). Removal of hexavalent chromium using sphagnum Moss Peat. Water Res. 27(7): 1202-1208.
36. Tobin, J.M., Cooper, D.G and Neufeld, R.J. Uptake of metals ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. Appl. Environ. Microbiol. 47: 821-824.
37. Volesky, B. and Holan, Z.R. (1995). Biosorption of Heavy Metals. Biotechnol. Prog. 11, 235-250.
38. Zacarias, C. (1994). Análisis comparativo de la captación de metales pesados en solución por dos cepas de *Mucor rouxii* y la quitina comercial. Tesis Licenciatura. Q.F.B. Fac. de Ciencias Químicas. UASLP.
39. Zouboulis, A.I., Kydros, K.A. and Matis, K.A. (1995). Removal of hexavalent chromium anions from solutions by pyrite fines. Water Res. 29(7). 1755-1760.

AL FINAL EL AMOR QUE TE LLEVAS
ES IGUAL AL AMOR QUE TU CREAMOS

(THE BEATLES, 1970)

