Biosorción de Cadmio mediante conidias de *Trichoderma Reesei*
Biosorption of Cadmium by conidia of *Trichoderma Reesei*

Ariel Álvarez-Ramírez-Hugo Romero-Bonilla

aalvarez3@utmachala.edu.ec

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de poder determinar la capacidad del hongo *Trichoderma Ressei* para la biosorción de Cadmio. Para ello se utilizó un cultivo del hongo el cual fue incubado por 8 días. Luego se procedió a poner el hongo incubado en contacto con Cadmio a una concentración de a 55,5 ppm (tomando la respectiva muestra) a un pH de 4,5. Al cabo de una hora, se tomó una muestra la cuales debieron ser tratadas adecuadamente, en esta hora obtuvimos una concentración de 27 ppm; es decir el hongo consumió 28,5 ppm del metal, las muestras obtenidas fueron medidas con el potenciostato aplicando la técnica de Voltoamperometría Lineal, para de esa manera hacer nuestra curva de calibrado y poder saber la confiabilidad de nuestro procedimiento la cual fue R^2=1. De esta manera se pudo concluir que nuestro microorganismo en estudio gracias a las funciones que cumple su membrana plasmática que es capaz de absorber Cadmio por medio de transporte pasivo, el desarrollo y estudio de la Trichoderma se vuelve de gran importancia ya que ayuda a la disminución de la contaminación ambiental por metales pesados.

Palabras clave: Cultivo, hongo, microorganismo.

ABSTRACT

This investigation has been carried out with the objective of being able to determine the biosorption of Cadmium by the fungus Trichoderma Ressei, for that it was possible to cultivate and incubate the bacterium for 8 days, then we proceeded to shake with a concentration of Cadmium at 55, 5 ppm (taking the respective sample) and with an optimum pH of 4.5, after one hour we took another sample which had to be treated properly, in this hour we obtained a concentration of 27 ppm; the fungus consumed 28.5 ppm of the metal, the samples obtained were measured with the potentiostat applying the Linear Voltoamperometry technique, in order to do our calibration curve and be able to know the reliability of our procedure, which was R ^ 2 = 1 In this way it was possible to conclude that our microorganism under study thanks to the functions that its plasmatic membrane fulfills that is capable of absorbing Cadmium by means of passive transport, the development and

study of the Trichoderma becomes of great importance since it helps the decrease of environmental pollution by heavy metals.

Keywords: Cultivation, fungus, microorganism.

INTRODUCCIÓN

La contaminación siempre se ha hecho presente en nuestro planeta y lamentablemente es partícipe en cada uno de los seres humanos. Las actividades del hombre, son las principales causas de la contaminación, como la generación de energía, en la cual se incluye a la debida explotación de los recursos naturales no renovables, la industria en general o la agricultura (Albert, 2016).

A nivel mundial se ha incrementado la contaminación debido a la existencia de los metales pesados (Beltrán, 2015). Si las aguas residuales metalúrgicas no son tratadas con anterioridad puede tener repercusiones negativas para el ambiente (López & Vásquez, 2002).

Las fuentes de Cadmio (Cd) son: actividades antropogénicas, fundición y refinación de metales, quema de combustibles fósiles, y aplicación de fertilizantes fosforados. Los efectos del cadmio en las plantas son: disminución de la tasa de germinación de semillas, contenido de lípidos y crecimiento general, incremento a la invasión de hongos. En los animales y seres humanos son: afectaciones gastrointestinales, respiratorias y efectos nocivos en el corazón, cerebro, riñón, hígado, huesos (Beltrán Pineda & Gómez Rodríguez, 2015).

El planeta tierra consta con microorganismos, que son los seres más diminutos y numerosos que tienen vida, y también que forman parte de los ecosistemas. En sí, cumplen con el funcionamiento de los sistemas biológicos y el desarrollo de la vida, e intervienen en muchos procesos tanto metabólicos, como ecológicos y biotecnológicos. Estos diminutos seres vivos tienen la particularidad de ser aprovechados para satisfacer la instancia de los alimentos, medicamentos y, también en resolver problemas ambientales y contaminación (Montaño, Sandoval, Camargo & Sánchez, 2010).

Trichoderma es un hongo filamentoso que pertenecen al Reino Mycetae (fungi), división Eumycota, subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes, orden Hyphales (Moniliales) y familia Moniliaceae (Argumedo Delira, Alarcón, Ferrera Cerrato (Peña Cabriales, 2009). Poseen un extraordinario enzima hidrolíticas y quitinolíticas permitiéndoles vivir en lugares donde son escaso los nutrientes (Gato Cárdenas, 2010).

Se desarrollan en temperaturas optimas de 25°C creciendo mayormente en lugares húmedos (Sivila & Alvarez, 2013) y sobreviven en un pH óptimo de 4.5 – 5 (Romero Arenas, Huertas Lara, Domínguez Hernández & Arellano Victoria, 2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este presenta presente investigación experimental se realizó en el laboratorio de Electroanalítica y Bioenergía de la Unidad de Ciencias Quimias y de la Salud.

Activación de especies fúngicas – trichoderma

1. Esta especie de hongo como es la trichoderma se mantuvo a una temperatura de 4°C.
2. Activación de trichoderma ressei se adiciona 2% de hongo en un medio de cultivo de 4% (p/v) de CMC (carboxí metil celulosa), agua desionizada, y citrato de sodio, luego de la mezcla la solución.

Reacción: $R_nOCH_2 - COOH + Na_3C_6H_5O_7 + Hongo\ Trichoderma \xrightarrow{H_2O\ destilada} Activación\ del\ Hongo$

3. Llevar al hongo activado a la incubadora a 30°C por 120 horas.
4. Después de la activación del hongo, se pone en agitación para luego añadir cadmio (Cd), para que se proceda la biosorción de dicho metal. Se calcula cada hora para poder tomar muestras experimentada teniendo en cuenta medir el pH del mismo.
5. Se experimentó con pH 7,5.
6. Luego se centrifugación a 1000 rpm durante 15min.
7. Se procede a filtrar con papel filtro para limpiar partículas del hongo de las muestras tomadas.
8. Para poder disminuir de 2,5 – 2,6 pH del analito se redujo con ácido acético al 99,9%. Esta disminución del mismo se hace debido a que se requiere analizar la toma de muestra para demostrar la experimentación de biosorción y en la cual no debe estar vivo el hongo ya que este se mantiene con vida con un (6- 9) pH, esto se realiza para que el hongo que está activado no siga absorbiendo metal y para poder controlar cuanto y a que tiempo atraído el Cd se la solución.

Preparación de soluciones, tratamiento y medición

Para determinar la medición de liosorción de metales pesados se utilizó el método de electroanalítico de voltometría de ready solution anódica.

1. Para poder realizar la medición del analito en el potenciostato se debe aforar la muestra tomada con un búfer de Cd, después de lo dicho se debe ajustar un pH 4,5, es decir debe estar ácido, se utilizó NaOH (2,5M) para el ajuste del pH en el medio preparado.
2. En este estudio, la solución preparada es de (55,5 ppm) de Cd y luego (27ppm) del mismo metal, esta fue la cantidad seleccionada para la determinación de la condición óptima de eliminación del metal por biosorción del hongo.
3. Los electrodos manejados sustituyen a técnicas como la espectroscopia de absorción atómica. En el potenciostato se utilizó tres tipos de electrodos como: electrodo de carbono estático de 3mm de diámetro, electrodo (Ag/AgCl) y un contraelectrodo de platino para la correcta medición de Cd.
4. También se realizó un burbujeo con nitrógeno molecular (N_2) por un lapso de 5 minutos a las muestra obtenidas.
5. Después de cumplir todos los parámetros requeridos por el potenciostato para su correcta lectura, donde las mismas fueron analizadas mediante un software de voltometría en la medición de cronoamperometría (Cd), con un potencial de -1,2 y PP. tiempo de duración de 100.
6. Se realizó voltamperometría lineal con un potencial de -1,2, un potencial final (v) 0,2 y un Rango de escaneo (v/s) de 0,02. En la cual los resultados fueron muy exitosos ya se demostró la biosorción de la trichoderma en metales pesados como el Cd.

Análisis estadístico

En el estudio realizado, las variables independientes son pH de la solución de la toma de muestra de diferentes concentraciones de cadmio, bismuto y de la especies de Trichoderma ressei. La variable dependiente es la eficiencia de eliminación de cadmio en cada una de las soluciones requeridas. Los datos obtenidos se analizaron utilizando el software de voltometría en la medición de cronoamperometría en el potenciostato.

RESULTADOS

El efecto de pH en la eliminación de Cd, la capacidad máxima utilizada para eliminación del cadmio fue de un pH = 7.5 en la trichoderma ressei, la eliminación óptima del metal se obtuvo en un 95% de biosorción en 55 y 27 ppm de Cd. En comparación con remoción de metales

de las especies de hongos, pues la Trichoderma Ressei tiene una gran capacidad de absorber metales pesados como es el Cd.

Figura 1. Voltamperometría lineal con un potencial de -1,2, un potencial final (v) 0,2 y un Rango de escaneo (v/s) de 0,02. Biosorción de Cd por medio de trichoderma

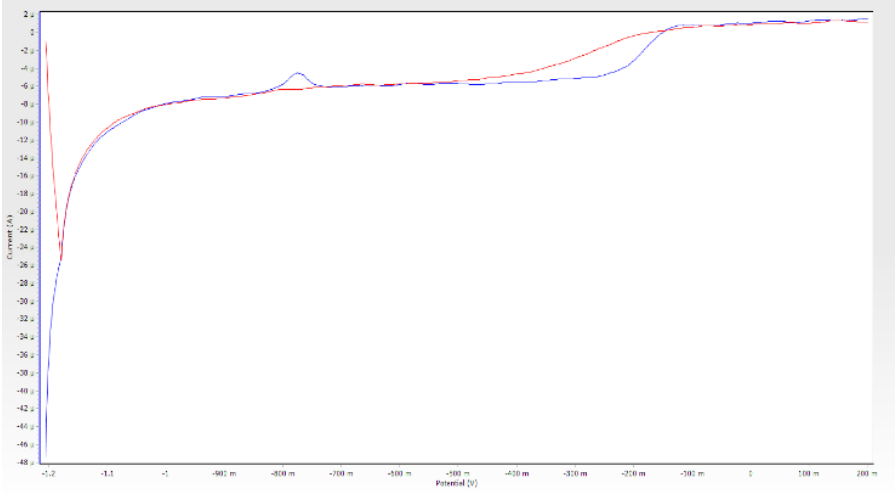
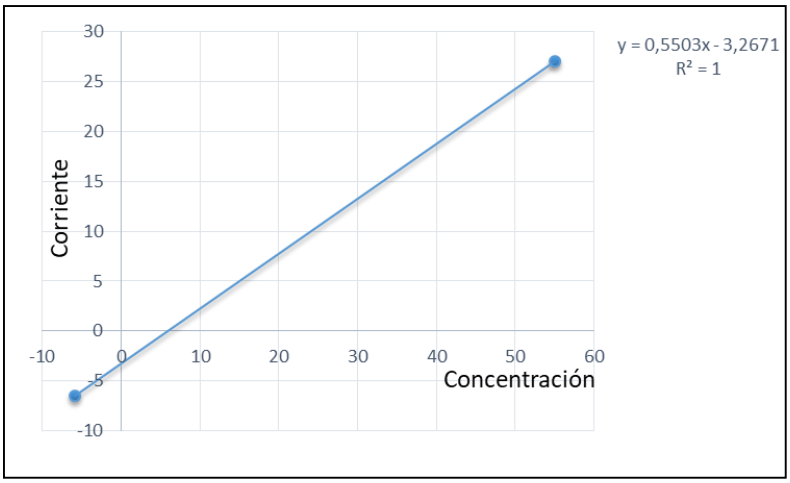


Figura 1. Concentración de analito (Cd) Vs Corriente



DISCUSIONES

Como se pudo observar en las gráficas obtuvimos una disminución de concentración de Cadmio, de 55,5 ppm a 27 ppm, gracias a la capacidad de las membranas plasmática de la Trichoderma, que es absorber metales pesados mediante un transporte pasivo. Nuestra concentración final de Cadmio en la Trichoderma fue reducida después de 1 hora de agitación, obteniendo de esa manera 28,5 ppm absorbidos gracias al hongo. El método queda validado gracias a nuestra curva de calibrado la cual nos dio un $R^2 = 1\%$ de confiabilidad.

Según lo establecido por los artículos científicos leídos para la realización del presente proyecto, se cumplieron todos los parámetros establecidos por los autores, pero la innovación del trabajo de investigación trabajar con un pH ácido con la batería de 4,5 a 5, ya que en la mayoría de artículos se trabajaba con un pH alcalino de 7 a 9.

Otra comparación y a la vez conclusión que se llegó, el hongo según los artículos leídos se incubó en un período de tiempo de 24 horas, el proyecto está basado en la incubación de 8 días, es decir 192 horas, dándole mayor rendimiento al momento de absorber el Cadmio.

CONCLUSIONES

Se propuso como técnica biológica la biosorción, utilizando Cd que se encuentra en los residuos metalúrgicos, para así posteriormente verificar la disminución por medio de la bacteria de especie trichoderma reesei. La información recopilada en base a la contaminación, metales pesados en específico el Cd, los hongos y la bacteria son muy eficientes en la absorción de metales esto es debido a la capacidad de las membranas plasmática, fue de gran ayuda ya que nos brindó el mayor conocimiento para realizar el experimento y así obtener un excelente resultado al momento de realizar la experimentación. Por medio de biosorción y técnicas electroanalíticas, se pudo obtener como resultado primordial, que la utilización de la bacteria disminuyó la concentración al metal Cadmio (Cd) con un porcentaje alto pasando el 90% dando una alta confiabilidad en el método empleado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albert, L. (2016). Contaminacion Ambiental. *Sociedad Mexicana de Toxicología AC*.

Argumedo Delira, R., Alarcón , A., Ferrera Cerrato, R. & Peña Cabriales, J. (2009). El género fungico Trichoderma y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Scielo.*

Beltrán Pineda, M. & Gómez Rodríguez, A. (2015). Metales pesados (Cd, Cr y Hg): su impacto en el ambiente y posibles estrategias biotecnológicas para su remediación. *Universidad de Boyacá*, 86-89.

Beltrán, M. (2015). Metales pesados (Cd, Cr y Hg): su impacto en el ambiente y posibles estrategias biotegnológicas para su remediación. *Investigacion, Innovacion, Ingeniería*, 84.

Gato Cárdenas, Y. (2010). Métodos de conservación y formulación de trichoderma harzianum rifai. *Scielo.*

López, E. & Vásquez, C. (2002). Tolerance and uptake of heavy metals by trichoderma atroviride isolated from sludge. *Pergamon*, 138.

Montaño, N., Sandoval, A., Camargo, S. & Sánchez , J. (2010). Los microorganismos: pequeños gigantes. *Elementos 77*, 15.

Romero Arenas, O., Huerta Lara , M., Damián Huato, M., Domínguez Hernández, F. & Arellano Victoria, D. (2009). Caracterostocas de Trichoderma Harzianum, como agente limitante en el cultivo de Hongos Comestibles. *Scielo.*

Sivila, N. & Álvarez, S. (2013). Producción artesanal de la Trichoderma. *CEDAF*.

Zhang, J. R., Jin, B. K. & Zhang, Z. X. (1996). Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of fast electrode kinetics at microdisk electrode. *Chinese Journal of Chemistry*.