

POTENCIAL DE BIOADSORCION DE METALES PESADOS POR EL HONGO
Mucor hiemalis

DIANA PATRICIA CALDERÓN TORRES
LEIDY EDDY MARTINEZ CÁRDENAS

UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA NACIONAL
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
BOGOTÁ 2014

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

POTENCIAL DE BIOADSORCION DE METALES PESADOS POR EL HONGO
Mucor hiemalis

DIANA PATRICIA CALDERÓN TORRES
LEIDY EDDY MARTINEZ CÁRDENAS

TRABAJO DE GRADO

DIRECTOR:

HUGO MAURICO JIMENEZ MELO
MICROBIOLOGO, M. Sc
UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA NACIONAL


UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA NACIONAL
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
BOGOTÁ 2014

DEDICATORIA

- *A Dios por la oportunidad de vivir; porque día a día me dio la sabiduría necesaria para lograr un escalafón más en mi vida.*
- *A mi abuela Aminta Rodríguez porque es la persona más importante de mi vida.*
- *A mi madre Eddy Cárdenas Rodríguez, porque a pesar de las dificultades siempre puedo contar con ella, guiándome y ayudándome en esta etapa que hoy finaliza; por su cariño y amor que todos los días me brinda. Además por formarme para ser la persona que hoy soy. (mil Gracias)*
- *A mi hermano José Camilo Martínez porque siempre me ha acompañado y ayudado en todo sentido. Además por cuidarme y de una u otra manera hacerse responsable de mí como si fuera mi papá.*
- *A Julián Castillo Ortiz por ser la persona más especial del mundo, porque desde que comparte su vida junto a mí ha estado ayudándome en cada proyecto que hago sin importar el cansancio.*
- *A mis tíos Gabino Cárdenas y Wilson Cárdenas por compartir momentos tan maravillosos de mi infancia.*
- *A mis compañeros de universidad Rocío Páez, Janet Celis y Juan Camilo Martín por compartir conmigo estos 5 años de estudios y experiencias maravillosas.*

AGRADECIMIENTOS

- A Dios por darnos la oportunidad de estudiar y abrirnos las puertas para la realización de este trabajo.
- Agradecemos a la Universidad Pedagógica Nacional por habernos permitido estudiar y brindarnos la oportunidad de crecer de manera profesional como personal.
- Agradecemos al Departamento de Biología y a la línea de investigación de Biotecnología, por permitirnos realizar esta investigación, porque con ella pudimos superar miedos o vacíos en la parte Química.
- Agradecemos al Departamento de Química por ayudarnos, prestarnos los instrumentos y el personal (analista) para poder realizar esta investigación.
- Al profesor Hugo Mauricio Jiménez porque nos guió durante todo el proceso de desarrollo de este trabajo, por sus recomendaciones, etc.
- A nuestras familias por acompañarnos permanentemente en este recorrido de 5 años en la universidad.

	FORMATO	
	RESUMEN ANALÍTICO EN EDUCACIÓN - RAE	
Código: FOR020GIB	Versión: 01	
Fecha de Aprobación: 10-10-2012	Página 6 de 96	

1. Información General	
Tipo de documento	Tesis de grado
Acceso al documento	Universidad Pedagógica Nacional. Biblioteca Central
Título del documento	POTENCIAL DE BIOABSORCION DE METALES PESADOS POR EL HONGO <i>Mucor hiemalis</i>
Autor(es)	Calderón Torres, Diana Patricia – Martínez Cárdenas, Leidy Eddy
Director	Jiménez, Hugo Mauricio
Publicación	Bogotá, Universidad Pedagógica Nacional. 2014. #pag: 95
Unidad Patrocinante	Universidad Pedagógica Nacional
Palabras Claves	Biorremediación, Metales pesados, Absorción atómica, Curtiembres, Bioensayos, Hongos

2. Descripción
<p>Investigación realizada en la Universidad Pedagógica Nacional, con el objetivo de identificar el potencial de bioabsorción de un microhongo (<i>Mucor hiemalis</i>) aislado previamente de los suelos aledaños a las curtiembres del Río Tunjuelito. Se utilizó absorción atómica para identificar las concentraciones de Cromo (Cr), Cobre (Cu) y Zinc (Zn) que tenían los suelos aledaños a las curtiembres de Villa Pinzon. Posteriormente, se realizaron bioensayos con distintas concentraciones de sales de estos metales pesados, para determinar la capacidad de bioabsorción de este hongo.</p>

3. Fuentes

Salazar W, APHA, Baretino, D. & Callaba, A, Campbell N, Reece J, Galán, H. & Romero, A, Greenpeace Research Laboratories, Gómez D, ICA, Jiménez M, H.M, Mier T, Toriello C, Ulloa M, Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial, Ruiz J, Soto C, Gutierrez S, Rey A, Gonzales E, Russi, O. A. I.

4. Contenidos

Esta investigación permitió determinar la capacidad de bioabsorción que tiene *Mucor hiemalis* con algunos metales como Cromo, Cobre y Zinc. Inicialmente se tomó la muestra del suelo aledaño a curtiembres, en este caso en Villa pinzón. Posteriormente se determinó la concentración de metales pesados usando espectrofotometría. Con estos resultados se realizaron medios de cultivo en diferentes concentraciones de metales, para determinar el crecimiento del hongo y así su potencial de bioabsorción.

5. Metodología

La metodología utilizada consta de seis etapas.

1. Recolección de material (muestra de suelo)

El proceso de recolección se realizó en las curtiembres localizadas a orillas de la carretera principal de la vía Bogotá - Tunja, en el kilómetro 70 Municipio de Villa Pinzón, Departamento de Cundinamarca; como muestra se tomó 1 Kg de suelo húmedo de las aguas residuales de dichas curtiembres.

2. Preparación de la muestra de suelo

Para el proceso de esterilización del suelo, se efectuó un secado en la plancha de calentamiento, la muestra fue tamizada para separar las partículas de mayor tamaño y utilizar la parte más fina;

por último se llevaron las muestras a autoclave a esterilización.

3. Identificación de sales presentes en la muestra de suelo

Para determinar los metales presentes en la muestra de suelo se inició por una lectura en la espectroscopia de absorción atómica, seguido de esto se prepararon las muestras y finalmente se realizaron titulaciones para determinar la concentración de sales presentes.

4. Bioensayos

Se realizaron procedimientos con el fin de determinar la biomasa del hongo con diferentes concentraciones de metales pesados.

6. Conclusiones

1. Se evidenció que la presencia de cloruros no alteró la concentración de los iones de fosfatos (PO_4^{-3}) sulfatos (SO_4^{-2}) y Nitratos (NO_3^{-1}) utilizados en el caldo de los bioensayos, manteniendo el equilibrio.
2. Los metales pesados presentes en los suelos aledaños a las curtiembres de Villa Pinzón, presentaron concentraciones 0,45ppm Cr, 0,738ppm Cu y 0,514ppm Zn, respectivamente, siendo el cobre el metal de mayor contenido en dicha muestra. Esto puede ser debido a que los tintes que se utilizan para los procesos de curtido contienen este metal.
3. De los resultados obtenidos en este trabajo, se observa que la capacidad de bioabsorción de los metales por el hongo *Mucor hiemalis*, está dada por un límite de absorción de 4ppm de los metales zinc y cobre, en ambos casos. Por otro lado, el hongo es capaz de absorber un punto máximo de 2 ppm de concentración para el cromo (Cr).
4. El hongo *Mucor hiemalis*, presenta una actividad biorremediante aceptable, ya que permite remover Cobre (Cu), Cromo (Cr) y Zinc (Zn) con unas concentraciones 0,45ppm, 0,738ppm y 0,514ppm, mediante la bioabsorción, siendo estas concentraciones relevantes para un posible

estudio.

5. Se puede concluir que al comparar el hongo estudiado con otros géneros, éste tiene menor capacidad de absorción y requiere de mayor tiempo para realizarlo.

6. Al comparar los resultados obtenidos con los referentes teóricos se puede evidenciar que el phylum Glomeromycota tiene capacidad de bioabsorción, debido a que cuentan con micelo ancho.

7. Este tipo de investigaciones aportan con la interdisciplinariedad que los licenciados en biología deben manejar en su quehacer docente, teniendo en cuenta las exigencias del campo laboral.

Elaborado por:	Calderón Torres, Diana Patricia – Martínez Cárdenas, Leidy Eddy
Revisado por:	Jiménez Hugo Mauricio

Fecha de elaboración del Resumen:	12	06	2014
--	----	----	------

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	14
2. PROBLEMA	17
3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	17
4. JUSTIFICACIÓN	18
5. OBJETIVOS	21
5.1 Objetivo general	21
5.2 Objetivos específicos	21
6. ANTECEDENTES	22
6.1 Antecedentes internacionales	22
7. MARCO REFERENCIAL	26
7.1 SUELO	26
7.1.1 Fracción inorgánica del suelo	28
7.1.2 Fracción orgánica del suelo	29
7.2 CURTIEMBRES	29
7.2.1 Etapa de curtido	33
7.2.2 Las curtiembres en Colombia y su problemática ambiental	34
7.3 METALES PESADOS	35
7.3.1 Origen de los elementos traza en los suelos	37
7.4 ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	38
7.5 HONGOS	40
7.5.1 Características generales	40
7.5.2 Importancia de los hongos	41
7.5.3 Principales Phylum	42
7.6 BIORREMEDIACIÓN O DEPURACIÓN BIOLÓGICA	45
8. DISEÑO METODOLÓGICO	47
8.1 <i>Microorganismo de estudio</i>	48
8.2 <i>Recolección de la muestra de suelo</i>	48

8.3	<i>Preparación de la muestra de suelo</i>	48
8.4.2	<i>Preparación de las soluciones:</i>	50
8.4.3	<i>Lectura en la espectroscopia de absorción atómica:</i> teniendo las soluciones.....	51
8.5	<i>Identificación de las sales presentes en la muestra de suelo</i>	52
8.5.1	<i>Determinación de sulfatos</i>	52
8.5.2	<i>Determinación de nitratos</i>	52
8.6	<i>Bioensayos</i>	53
8.6.1	<i>Inoculación del microhongo</i>	53
8.6.2	<i>Variando la concentración de los metales pesados</i>	54
8.6.3	<i>Determinación Biomasa Peso Seco del Microhongo</i>	54
9.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
9.1.1	Cobre (Cu):	56
9.1.2	Zinc (Zn):	57
9.1.3	Cromo (Cr):	60
9.2	<i>Identificación de sales presentes en los suelos de las curtiembres de Villa Pinzón Cundinamarca</i>	62
9.2.1	Sulfatos	63
9.2.2	NITRATOS	64
9.3	<i>Fase de bioensayos</i>	67
9.3.1	<i>Bioensayos de Zinc (Zn):</i>	67
9.3.1	<i>Bioensayos de Cobre (Cu):</i>	69
10.	CONCLUSIONES	74
11.	RECOMENDACIONES	75
12.	BIBLIOGRAFÍA	77

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1: clasificación y la textura del suelo</i>	26
<i>Figura 2 Cadena productiva del cuero</i>	27
<i>Figura 3 Tratamiento para pieles según el tiempo de almacenamiento</i>	28
<i>Figura 4: Manual de procedimientos para el manejo adecuado de los residuos de la curtiduría</i>	30
<i>Figura 5: Tipos de curtidos según su composición</i>	31
<i>Figura 6: Representación del funcionamiento del equipo para análisis cuantitativo</i>	36
<i>Figura 7. Chytridiomycota are the only fungi in which alternation of generations occurs.</i>	40
<i>Figura 8. Ascomycota have reproductive structures with many spore-producing asci.</i>	41
<i>Figura 9. Basidiomycota have reproductive structures with many spore-producing basidia.</i>	41
<i>Figura 10. Hyphae that produce a zigote</i>	42
<i>Figura 11. Mucor hiemalis. Microscópicamente 400x</i>	42
<i>Figura 12: Tipos de Biorremediación</i>	44
<i>Figura 13: Proceso de tamizado de suelo de curtiembres de Villa Pinzón (Cundinamarca)</i>	46
<i>Figura 14. Soluciones de diferentes concentraciones de la muestra de suelo y tratadas con la solución extractora; para llevar al espectrofotómetro de absorción atómica</i>	47
<i>Figura 15. Procedimiento y obtención de solución de cromo con la digestión acida</i>	508
<i>Figura 16: Espectrofotómetro-PERKIN-ELMER 2380</i>	49
<i>Figura 17: Incubadora WTC- binder N°989002</i>	51
<i>Figura 18: Procedimiento de diluciones para Bioensayos</i>	52
<i>Figura 19: Horno para secar la biomasa del hongo</i>	53
<i>Figura 20: Hongos secándose en el horno</i>	53
<i>Figura 21: proceso de pesado de la biomasa del hongo en la Balanza Sartorius</i>	54
<i>Figura 22: Curva de calibración de Cobre (Cu) a una longitud de onda de λ:270 nm</i>	54
<i>Figura 23: Curva de calibración de Zinc (Zn) a una longitud de onda de λ:213,9 nm</i>	56
<i>Figura 24: Curva de calibración de Cromo (Cr) a una longitud de onda de λ:357,9 nm</i>	58
<i>Figura 25: curva de calibración de Sulfatos a una longitud de onda de λ:420 nm</i>	60
<i>Figura 26: curva de calibración de Nitratos a una longitud de onda de λ:420 nm</i>	62
<i>Figura 27: curva de crecimiento del hongo Mucor hiemalis con el metal Zinc (Zn)</i>	65
<i>Figura 28: curva de crecimiento del hongo Mucor hiemalis con el metal Cromo (Cr)</i>	67
<i>Figura 29: curva de crecimiento del hongo Mucor hiemalis con el metal Cobre (Cu)</i>	68

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: los horizontes existentes en el suelo y sus características	25
Tabla 2: sub-etapas de la etapa Ribera	29
Tabla 3. Micronutrientes y macronutrientes para el óptimo funcionamiento de los Organismos Vivos	34
Tabla 4. Clasificación de los Elementos traza más abundantes en el suelo (Galán y Romero)	34
Tabla 5: Tipos de combustibles que se utilizan en la técnica de espectrofotometría de absorción atómica y sus características	38
Tabla 6: Características de los principales Phylums del reino Fungi	40
Tabla 7: condiciones necesarias para el Espectrofotómetro de absorción atómica	49
Tabla 8: Soluciones Estándar para la curva de calibración de cada metal estudiado	49
Tabla 9: Curva de calibración para Cobre	54
Tabla 10: Curva de calibración promedio para Cobre	54
Tabla 11: Absorbancia y concentración de la muestra de suelo	54
Tabla 12: Curva de calibración para Zinc	55
Tabla 13: Curva de calibración promedio para Zinc	55
Tabla 14: Absorbancia y concentración de la muestra de suelo	56
Tabla 15: Curva de calibración para Cromo	56
Tabla 16: Curva de calibración promedio para Cromo	57
Tabla 17: Absorbancia y concentración de la muestra de suelo	5861
Tabla 18: Curva de calibración de Sulfatos	60
Tabla 19: Curva de calibración de Nitratos	62
Tabla 20: titulación para determinación de cloro para la muestra de tierra de curtiembres de Villa Pinzón (Cundinamarca)	63
Tabla 21 resultados obtenidos en los bioensayos con Zinc (Zn)	64
Tabla 22: Curva de crecimiento del hongo Mucor hiemalis con el metal Zinc (Zn)	65
Tabla 23: resultados obtenidos en los bioensayos con Cromo (Cr)	66
Tabla 24: Curva de crecimiento del hongo Mucor hiemalis con el metal Cromo (Cr)	66
Tabla 25: resultados obtenidos en los bioensayos con Cobre (Cu)	67
Tabla26: Curva de crecimiento del hongo Mucor hiemalis con el metal Cobre (Cu)	70

1. INTRODUCCIÓN

El planeta Tierra ha sufrido constantes cambios desde su formación. Gran parte de esas transformaciones se han dado de forma natural, pero con el incremento de la población humana las necesidades han cambiado y por supuesto el uso de los recursos naturales ha aumentado, haciendo que la posibilidad de contaminación y agotamiento de recursos sea cada vez mayor. Las actividades industriales han aumentado los contaminantes emitidos al ambiente, razón por la cual se ha buscado mitigar las consecuencias de este tipo de actividades. Si bien el planeta es un sistema dinámico que se encuentra en constante cambio existen algunas sustancias que al acumularse resultan ser tóxicas, causando serias alteraciones al ecosistema.

Teniendo en cuenta lo anterior, surge la preocupación entorno al impacto causado por la contaminación de ambientes cercanos a las curtiembres de Villa Pinzón (Cundinamarca), donde puede verse afectada la permanencia de especies que habitan estos ecosistemas, además de los posibles problemas de salud pública que pueden emerger. El desgaste de los suelos aledaños a las curtiembres de Villa Pinzón (Cundinamarca) se ha dado en gran medida por la interacción que ha tenido la industria de curtido en estas zonas, debido a que hace uso de diferentes químicos para la limpieza del cuero. Los curtidos son procesos mediante los cuales los cueros putrescibles se convierten en cueros no putrescibles.

Estos procesos de curtido dejan como resultado una serie de sólidos, los cuales se han convertido en una preocupación para las entidades encargadas del cuidado del ambiente, por lo cual un gran número de industrias de curtido han tomado las precauciones necesarias, ubicando plantas de tratamiento de aguas para que los residuos de los procesos de curtido no sean desechados al ambiente de forma directa. Pero aún existen establecimientos que no cuentan con las plantas de tratamiento, por lo tanto los desechos son descartados sin un previo tratamiento de los sólidos, haciendo que se acumulen altas concentraciones de metales pesados que resultan ser perjudiciales para los ecosistemas.

Como parte de las posibles soluciones, es necesario buscar alternativas que permitan reducir el impacto que tienen los contaminantes en este tipo de ambientes. Dentro de estas alternativas se encuentran procesos de mejoramiento mediante aplicación de la biotecnología, la cual se ha definido “como el uso de microorganismos vivos o parte de ellos (estructuras subcelulares, moléculas) para la producción de bienes y servicios” (BET, 2010).

Dentro de los estudios realizados a nivel biotecnológico se encuentran los relacionados con la bioremediación, entendida como una “técnica de descontaminación que se basa en el uso de organismos; plantas, levaduras, hongos, bacterias etc., para neutralizar sustancias tóxicas” (Guzmán, 2007) es considerada como una de las ramas de la biotecnología de mayor importancia en la recuperación de ambientes que han sido contaminados.

La Línea de Investigación Biotecnología y Educación del Departamento de Biología (DBI) de la Universidad Pedagógica Nacional, se ha encargado de realizar estudios de microorganismos que han sido aislados y conservados en su laboratorio. El material se encuentra en la actualidad en el cepario. Esto ha generado un interés en realizar investigaciones que aporten al conocimiento disciplinar, estudiando organismos que tengan potencial biotecnológico, dándole así continuidad a los Trabajos de Grado.

El proyecto que se presenta surge a partir del Trabajo de Grado realizado por Wilson Darío Salazar en el año 2012, “Identificación de microhongos aislados de suelos de curtiembres de la cuenca del río Tunjuelito San Benito en la ciudad de Bogotá”, en el que se identificaron 19 especies de hongos siendo el género *Mucor* el más frecuente con un porcentaje del 63,15%.

Por lo tanto, se considera importante analizar el potencial de biorremediación que pueda tener el género *Mucor*, además este hongo presenta hifa ancha, lo que podría significar una mayor absorción de contaminantes del suelo.

El objetivo principal de realizar esta investigación es evaluar el potencial de bioabsorción de metales pesados como el Cromo, Zinc y Cobre que pueda tener *Mucor hiemalis*.

Para cumplir con este objetivo se consiguió una muestra de suelo contaminado proveniente de las zonas aledañas a las curtiembres de Villa Pinzón Cundinamarca, en este caso la muestra se tomó en la Autopista Norte Km 70, debido a que en esta zona existe un gran número de establecimientos que se encargan de realizar los procesos de curtido de pieles.

Posteriormente se realizó una marcha analítica con la que se pudo identificar las sustancias químicas -sales de Cromo, Zinc y Cobre- y las concentraciones en las que se encontraban en las curtiembres de Villa Pinzón Cundinamarca. En la última fase de la investigación se realizaron bioensayos para determinar el potencial de biorremediación del hongo *Mucor hiemalis*.

Los estudios relacionados a los proceso de biorremediación resultan ser una alternativa económica en comparación con otros procesos, para la reducción de contaminantes. Además los resultados obtenidos durante la investigación podrán ser utilizados para realizar pruebas de campo y así evaluar en contexto la capacidad de biorremediación que tiene *Mucor hiemalis*.

2. PROBLEMA

Durante los procesos de curtido se utilizan diferentes tipos de sustancias, que al no ser descartadas de forma correcta puede generar problemas de contaminación. Las altas concentraciones de los metales que quedan en las aguas residuales después de realizar la limpieza de los cueros, son emitidas al ambiente sin tener un tratamiento previo que permita reducir estas concentraciones, las cuales pueden tener un impacto en el ambiente, poniendo en riesgo ecosistemas y por supuesto las especies que habitan allí.

La biorremediación resulta ser una estrategia viable para la reducción de contaminantes, en la medida que se trabaja con organismos, en este caso hongos capaces de biotransformar las concentraciones de metales. Para esta investigación se escogió el *Mucor hiemalis* para realizar bioensayos en diferentes concentraciones de Cromo, Zinc y Cobre y así poder evaluar el potencial de biorremediación que tiene esta especie. Se escogió el género *Mucor*, debido a que en una investigación realizada con anterioridad, se encontró que este género se presentaba con mayor frecuencia en los suelos aledaños al río Bogotá.

3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Qué potencial de bioabsorción de metales pesados como el Cromo, Zinc y Cobre presente en los suelos de las curtiembres de Villa Pinzón Cundinamarca tiene *Mucor hiemalis*?

4. JUSTIFICACIÓN

La contaminación ambiental es un problema que se está evidenciando en el planeta y que está ocasionando un desequilibrio biológico. Dentro de los contaminantes provenientes de actividades antropogénicas, están los metales pesados que se pueden encontrar como cationes, organolépticos, oxianiones, entre otros. En la industria, las curtiembres son unas de las principales fuentes contaminantes, puesto que en este proceso se emanan diferentes cantidades y concentraciones de metales.

El río Bogotá ha sido uno de los ecosistemas que ha tenido gran deterioro en los últimos años debido a la cantidad de sustancias contaminantes que son arrojadas sin tener un tratamiento. Parte de la contaminación es ocasionada por la industria de curtido que ubica sus fábricas en lugares estratégicos, donde pueden desechar sustancias residuales de los procesos. Estos establecimientos han adoptado medidas preventivas para el cuidado del ambiente, pero esto no es suficiente debido a que algunos locales no cuentan con sistema de tratamiento de aguas, por lo tanto sus residuos contienen altas concentraciones de metales pesados.

La utilización de sustancias curtidoras, de origen mineral o sintético, como las sales de Cromo tetravalente, Zinc, Magnesio, Plomo, Cobre, entre otros, son de gran importancia en los procesos biogeoquímicos, pero cuando se presentan en altas concentraciones toman un carácter tóxico y de difícil remoción. En la naturaleza existen organismos que tienen la capacidad de absorber estos compuestos.

Esta capacidad de remoción de sustancias por parte de microorganismos, se denomina bioabsorción, definida como “La capacidad de captación de contaminantes (metales pesados) desde una solución acuosa por un material biológico a través de mecanismos fisicoquímicos o metabólicos” (Reyes, Suárez & Cerino, 2006) .Por lo tanto es importante

llevar a cabo investigaciones que permitan evaluar la capacidad de bioabsorción que tienen algunos organismos, realizando bioensayos en diferentes concentraciones de los contaminantes.

Gran parte de las técnicas utilizadas para la recuperación de ecosistemas no son viables debido a los altos costos de gestión que requieren. Los hongos al ser organismos que se encuentran de forma natural, resultan ser una buena opción para investigar el potencial de biorremediación que tienen. Esto podría conducir a soluciones que realmente tengan un impacto en la conservación de hábitats, debido a que se utilizan los mismos organismos presentes allí pero ubicados de manera estratégica. Además existe una gran diversidad de estos organismos lo que podría significar la posibilidad de recuperar distintos tipos de ambientes.

Además este Trabajo de Grado que se propone, permite darle uso al material biológico presente en el cepario de la Universidad Pedagógica Nacional, el cual posee una colección de microorganismos aislados en otros Trabajos de Grado del DBI. Consiste en darle continuidad a los proyectos y mantener la investigación disciplinar en la línea “Biotecnología y Educación”. Esta propuesta de grado requiere de una interdisciplinariedad, por lo cual sus aportes en la formación investigativa serían bastante significativos, no solo para el desarrollo del proyecto, sino también para la práctica docente, debido a que una de las crisis que se presenta en la escuela, es la falta de integración de los componentes, tanto a nivel científico como humanístico. Si el maestro maneja la interdisciplinariedad en su quehacer docente, puede enriquecer los procesos de enseñanza en las aulas escolares.

Para el DBI es importante que los maestros realicen investigaciones relacionadas con su quehacer docente, pero también que puedan desarrollar propuestas, que aporten con los procesos formativos relacionados con la investigación académica, razón por la cual se considera pertinente la realización de la presente propuesta, debido a que no solamente afianza la formación del maestro como investigador, sino que además le da un valor agregado a la línea.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el potencial de absorción de metales pesados como el Cromo, Zinc y Cobre que tiene *Mucor hiemalis*.

5.2 Objetivos específicos

- Identificar la concentración de los metales pesados Cobre (Cu), Cromo (Cr) y Zinc (Zn) presentes en suelos de curtiembres de Villa Pinzón - Cundinamarca.
- Analizar las sales minerales presentes en los suelos de curtiembres de Villa Pinzón - Cundinamarca.
- Determinar la capacidad de absorción de *Mucor hiemalis* de metales pesados a diferentes concentraciones por medio de bioensayos.

6. ANTECEDENTES

6.1 Antecedentes internacionales

Durante la búsqueda de investigaciones a nivel internacional se encontraron varios estudios cuyo objetivo principal era estudiar organismos que tuvieran potencial para biodegradar metales pesados, el primero es una investigación “Remoción de Cromo mediante el uso de un biorreactor utilizando *Scenedesmus obliquus* inmovilizado” realizada por Pellón A, Rodríguez M, Gonzales O y Frades J en el año 2011 en la Habana. Lo que se hizo fue remover el cromo presente en las sustancias resultantes de la industria galvanoplástica, usando un reactor con *Scenedesmus obliquus*, dando como resultado un alto porcentaje de absorción de esta alga, con una eficiencia de 92,40%.

“Biosorción de Cobre en sistema por lote y continuo con bacterias aerobias inmovilizadas en zeolita natural (clinoptilolita)” fue una investigación realizada por Monge O, Valenzuela J, Acedo E, Certucha M, Almendáriz F, en la Universidad de Sonora en la ciudad de México en el 2008. Se aislaron 123 cepas de bacterias del río San Pedro y se escogieron las especies *Escherichia coli* y *Burkholderia cepacia*, para realizar bioensayos en cobre y determinar la capacidad de biosorción de estas bacterias. Dentro de los resultados se encontró que estas especies pueden captar el cobre en condiciones similares a las que tiene las aguas del Río San Pedro.

Otro de los trabajos encontrados “Remoción de Cromo hexavalente por el hongo *Paecilomyces sp.* Aislado del medio ambiente” por Cárdenas J y Acosta I. Esta investigación de posgrado se realizó Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en la ciudad de México en el año 2010. El objetivo fue determinar la capacidad de remoción de Cromo (VI) que tenía el hongo *Paecilomyces sp* en aguas resultantes de algunos procesos industriales. El método que se utilizó para llevar a cabo la investigación fue el de colorimétrico de la difenilcarbazida. Como resultado se obtuvo que esta especie de hongo

es eficiente en la remoción de Cromo (VI), debido a que “1 g de biomasa fúngica remueve 100 mg/200 mL del metal a las tres horas de incubación”.

En el trabajo de grado realizado por Núñez R, en el Instituto Tecnológico de Costa Rica en el año 2007, titulado “Técnicas *in vitro* para biorremediación de Cromo y Plomo”, se usó dos cepas del género *Penicillium* sp, que fueron ensayadas en medios líquidos que habían sido contaminados con estos dos metales pesados. Cuando el Cromo se encuentra de forma hexavalente - cromatos y dicromatos resulta ser contaminante y perjudicial para los ecosistemas. Con el Plomo incluso una cantidad pequeña de 5ppm puede ser peligroso. Se obtuvieron muestras contaminadas de industrias de curtidos, que generan altas emisiones de Cromo. Además se obtuvo el contenido de una batería de automóvil, el cual contenía altas concentraciones de plomo. En cuento a los resultados se obtuvo que las cepas de *Penicillium* sp, C1Cr y C2Pb, tienen un gran potencial de biorremediación.

Para los procesos de biorremediación se encontraron investigaciones con otros géneros de hongos, como por ejemplo la “Aplicación del hongo *Pleurotus ostreatus* como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados”. Este estudio fue realizado en la Escuela Superior Politécnica del Litoral, en Guayaquil, Ecuador en el año 2011 por Paredes J., para este estudio se tomaron 12 muestras de suelo, para hacer 3 réplicas por cada metal. Además se hizo espectrofotometría de absorción atómica, para determinar las concentraciones teniendo en cuenta el estándar de 1000 mg-LI (Merck) de cada uno de los metales (cadmio, cobalto, cobre y plomo). Como resultado se obtuvo que este género tiene un gran potencial de biorremediar metales pesados.

6.2 A nivel nacional

Rodríguez, 2005, en Núñez R, 2007, en su trabajo de grado “Técnicas *in vitro* para biorremediación de Cromo y Plomo”, menciona que los procesos de biorremediación pueden emplear varios organismos como algas, bacterias, protozoos y hongos, estos últimos presentan una ventaja en la medida en que pueden penetrar más área, debido al crecimiento de sus hifas. Los hongos tienen la capacidad de acumular varios tipos de

metales pesados como Cromo, Plomo, Mercurio, Zinc, Cadmio y Cobre. La contaminación por estos metales puede comprometer la fertilidad del suelo y en ambientes acuáticos puede afectar su potabilidad.

El trabajo de investigación “Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados” fue realizado por Vásquez M, Guerrero J y Quintero A. en el año 2010, en el laboratorio clínico de la universidad de Santander. En esta investigación analizaron lodos provenientes de lavaderos, los cuales contenían altas concentraciones de aceite usado (hidrocarburos) que resultaban perjudiciales no solo para el ambiente, sino también para la salud humana, y no tenían tratamientos de deposición adecuada. Para el proceso de biorremediación se aislaron los microorganismos nativos *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter spp.*, *Bacillus brevis*, *Micrococcus spp* y *Nocardia spp.* En total se aislaron 22 organismos con capacidad para biorremediar. Estos fueron agrupados en biopilas de consorcio microbiano con determinadas condiciones ambientales Como resultado se logró una remoción del 74% al 95%, de los contaminantes, en un periodo de tiempo de 40 a 20 días.

Otra parte de la industria donde se generan grandes cantidades de aguas residuales es la industria textil. Para estos procesos se utilizan tintes que en su gran mayoría terminan en los cuerpos de agua, generando altas concentraciones de contaminantes potenciales para los ecosistemas. Una investigación realizada por Cardona M, Osorio J y Quintero J, en la Universidad de Antioquia en la ciudad de Medellín en el año 2009 titulada “Degradación de colorantes industriales con hongos ligninolíticos”, evaluaron el potencial de biorremediación de colorantes industriales (Orange II Rojo Cibacrón®, Rojo Erionyl®, Azul Terasil® y Turquesa Erionyl®) por siete cepas de hongos *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete sordida*, *Polyporus ciliatus*, *Phlebia radiata*, *Lentinus tigrinus*, *Stereum hirsutum*, *Anthracophyllum discolor*. Las cepas fueron evaluadas en un medio semisólido y un medio líquido. Dentro de los resultados se observó que el género *Phanerochaete* muestra un gran potencial de biorremediación de estos colorantes

“Biotransformación de metales pesados presentes en lodos ribereños de los ríos Bogotá y Tunjuelo” (2010) fue un trabajo realizado por Soto C, Gutiérrez S, Rey A, González E, en la Universidad Antonio Nariño. Esta investigación utilizó la técnica de absorción atómica, para determinar la concentración de algunos metales pesados (cromo, plomo y mercurio), que se encontraban en los lodos ribereños de los ríos Tunjuelito y Bogotá procedentes de los desechos de la industria. El objetivo de la investigación fue determinar el grado de interacción que tienen algunos microorganismos con los metales pesados, y de esta forma analizar el potencial de biorremediación. Como resultado se encontró que el género de *Micrococcus sp* fue el más eficiente en los procesos de biotransformación.

Una de las investigaciones relacionadas con procesos de bioabsorción “Estudio para la remoción de metales pesados en los lixiviados de rellenos sanitarios”, fue realizada por Morales C en el año 2007 en la Universidad Nacional de Colombia – sede Manizales. Este documento fue resultado de un trabajo de especialización en ingeniería ambiental con énfasis en ingeniería sanitaria. Los lixiviados provenientes del relleno sanitario “La Esmeralda”, llegan a las aguas que se encuentran alrededor. Durante la primera parte se logró identificar la presencia de Plomo, Cromo, Mercurio y Cadmio. Todos a excepción del Mercurio estuvieron dentro de las concentraciones permitidas por la ley, pero el Mercurio se encontró en una concentración de 3,6 mg/L. Para el estudio se propone diferentes técnicas una de ellas es el uso de un reactor UASB con diferentes tipos de bacterias capaces de degradar compuestos orgánicos.

Por último “Bioabsorción de metales pesados por *Salvinia natans* de los lixiviados del relleno sanitario Combeima Ibagué” realizado por Flórez Y en el año 2006. Este proyecto se llevó a cabo en la universidad del Tolima. El objetivo fue evaluar la capacidad de bioabsorción que tenía esta planta con metales pesados como Pb, Zn, Cu, Cd y Hg, usando diferentes concentraciones. Se concluyó que esta especie tiene un gran potencial de absorber Plomo, el cual es probablemente alojado en la pared celular.

7. MARCO REFERENCIAL

7.1 SUELO

El suelo es la parte más superficial de la capa sólida de la tierra *La litosfera*, está constituido por una mezcla entre partículas minerales, materia orgánica, aire y una disolución acuosa. El suelo se formó a través de una serie de procesos tanto físicos, biológicos, como químicos, sobre un medio rocoso original (**meteorización**).

En cuanto a la estructura del suelo se diferencian distintos horizontes, los cuales tienen características y propiedades físicas y químicas, dependiendo del proceso de formación del suelo. Los horizontes que se conocen en el suelo son:

Tabla 1: *los horizontes existentes en el suelo y sus características*

Fuente: Doménech, 1997

Horizonte	Características
Horizonte A	Constituido por partículas minerales y materia orgánica fresca y particularmente descompuesta. En esta zona se produce mucha lixiviación, principalmente de sales de hierro, aluminio y manganeso. En este horizonte, predominan los materiales silíceos.
Horizonte B	Se produce la acumulación de los compuestos de lixiviación, procedentes del horizonte A; además hay oxidación de materia orgánica. Este horizonte es rico en óxidos de Hierro (III), generando una tonalidad amarilla y marrón.
Horizonte C	Es la zona más profunda, lo que genera que el proceso de lixiviación y meteorización sea nulo.

7.1.1 Fracción inorgánica del suelo

La fracción inorgánica del suelo constituye el 45% de la composición edáfica. Según el tamaño de las partículas minerales, se pueden diferenciar tres fracciones: La fracción más gruesa o **arena**, con un diámetro de 2 a 0.05 mm, la fracción fina o **limo**, con tamaño promedio de partículas entre 0.05 y 0.002mm y para finalizar la fracción muy fina o **arcilla**, con tamaño inferior a 0.002mm. (Alexander, 1980). La fracción con partículas de tamaño superiores a 2mm, se denomina **arena gruesa** o **grava**.

Al mezclar en diferentes proporciones las anteriores fracciones, se obtiene la **textura** del suelo. A su vez, la textura del suelo da una idea de su **porosidad**, los cuales determinan la **permeabilidad**, es decir, la velocidad con que el fluido acuoso y el aire se mueven en las diferentes fracciones del suelo. (Doménech, 1997)



Figura 1: clasificación y la textura del suelo
Fuente: Alexander, 1980

7.1.2 Fracción orgánica del suelo

Está formada por restos vegetales, restos animales y algunas proporciones de materia orgánica amorfa llamada *humus*. Esta fracción tiene un porcentaje de 2 al 5% del suelo superficial en las regiones húmedas (Ortiz, 2000).

7.2 CURTIEMBRES

Se habla de curtido, como el proceso mediante el cual se transforma la piel en cuero, a partir de una reacción química entre el colágeno de la piel con agentes curtientes, ocasionando la estabilidad de las fibras, dado que, hay una formación de complejos de tipo quelatos, que evita la descomposición y facilita el uso. El producto final es utilizado en manufactura de calzado, artesanías, vestimenta, marroquinería, entre otros. (Alzate y Tobón, 2004)

En el proceso de curtación se ven integradas etapas como el pre-tratamiento y almacenamiento; para la primera etapa se debe tener en cuenta el almacenamiento o no de las pieles, es decir, cuando se sacrifica el animal, en ocasiones se deja varios días para empezar a tratarlo, lo que genera la putrefacción por los microorganismos. Para ello se realizan dos técnicas diferentes dependiendo del tiempo.



Figura 2 Cadena productiva del cuero

Fuente: (Alzate y Tobón, 2004)

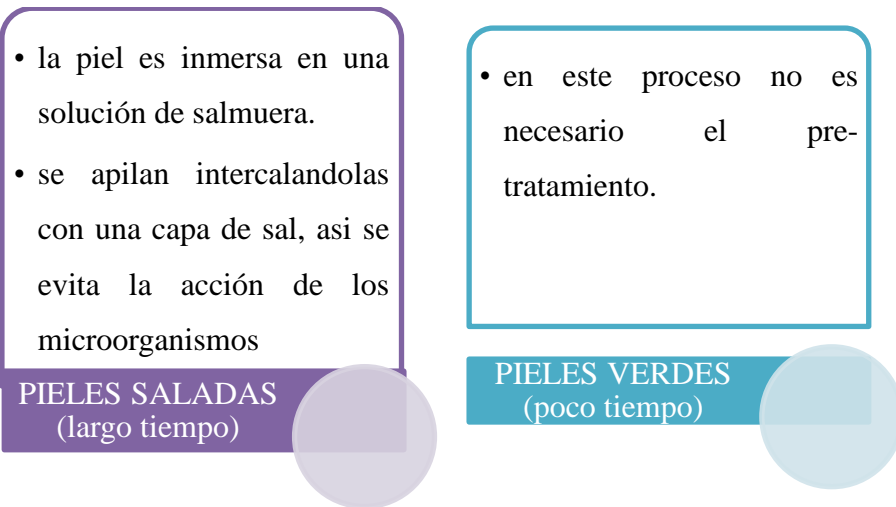


Figura 3 *Tratamiento para pieles según el tiempo de almacenamiento*
Fuente: (Alzate y Tobón, 2004)

Otra etapa es la *RIBERA*, donde se prepara y limpia la piel para su posterior etapa de curtido. En ésta se hace el remojo, encalado y pelambre, descarnado y dividido; de manera que, se eliminan gran cantidad de efluentes líquidos con valores de pH altos, con concentraciones de cal, sulfatos, sulfuros y demanda biológica de Oxígeno DBO elevados. (Alzate y Tobón, 2004)

Según Alzate (2004) en la etapa de Ribera hay cuatro sub-etapas que son:

Tabla 2: sub-etapas de la etapa Ribera

Fuente: (Alzate, 2004)

REMOJO	Rehidratan los cueros	Aclarando que si el cuero es salado se deben remojar varias veces en agua enriquecida con humectantes, bactericidas, detergentes y desinfectantes; pero si, es el cuero verde simplemente se lava, para quitar sangre y materia orgánica. La operación dura 24 horas, en tambores rotativos	Sal Sangre Tierra Heces Sebo Grasas Que aumenta la demanda biológica de oxígeno
PELAMBRE	Se hincha la epidermis, para retirar el pelo del cuero y saponificar las grasa naturales	La piel es sumergida en una mezcla de sulfuro de sodio (Na_2S) y cal hidratada ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), durante 17 a 20 horas	Gran concentración de solidos suspendidos y sulfuros. pH elevado (mayores a 11). Cebo Carnaza Pelo Sulfuros Proteínas solubles
DESCARNE	Remoción de tejidos adiposos, subcutáneos, musculares y el sebo; permitiendo fácil penetración de los productos curtientes	Mezcla de cal , sulfuro de sodio y agua	Concentraciones altas de sólidos en suspensión pH ácido
DIVIDIDO	Se divide en dos capas la piel hinchada y depilada.		

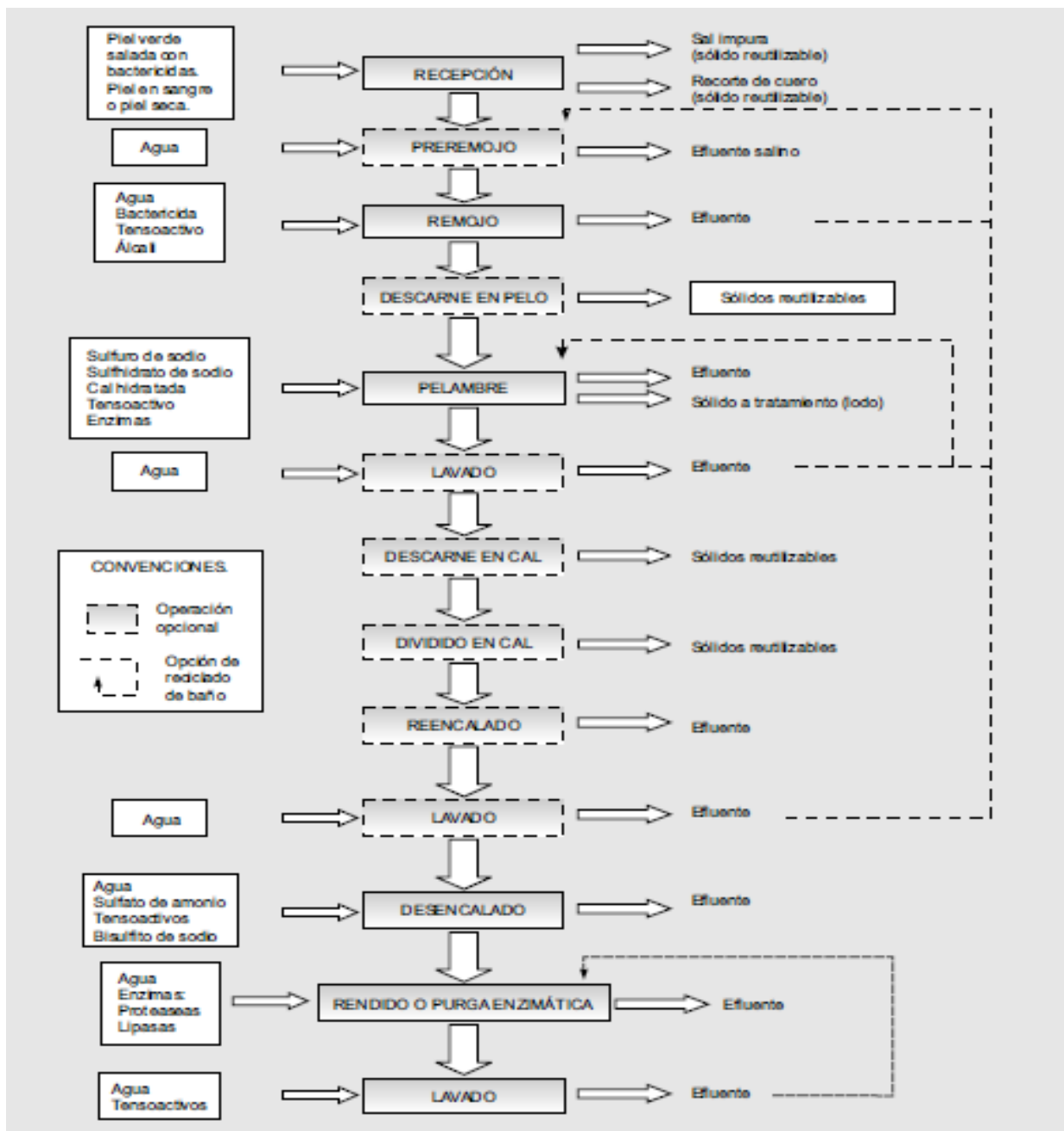


FIGURA 4: Manual de procedimientos para el manejo adecuado de los residuos de la curtiduría

FUENTE: Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial TOMADO DE: Instituto Nacional de Ecología –SEMARNAP MEXICO 2000

7.2.1 Etapa de curtido

Para esta etapa hay pasos a realizar, como el desencalado y purga, donde se prepara las pieles para la curtición, lavándola con agua limpia que disminuye la alcalinidad y desecha residuos sólidos que se quedaron en las anteriores etapas; para esto se utilizan mezclas de sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄) y ácidos. (Min. Ambiente; 2006)

El piquelado que consiste en la acidulación de las pieles, evitando el hinchamiento y así poder pegar las sales de cromo entre las células; aclarando que si se utiliza un curtido vegetal este paso no se debe realizar. (Alzate y Tobón, 2004)

Cabe señalar que existen tres tipos de procesos de curtido, que son:

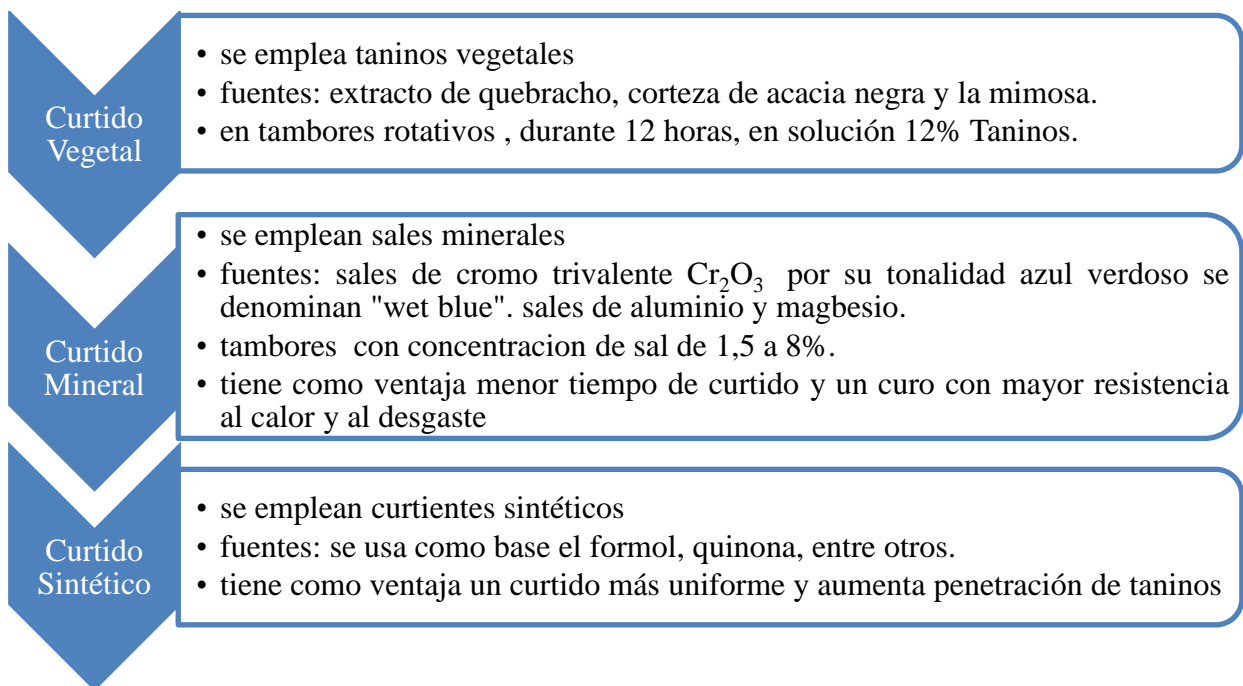


Figura 5: *Tipos de curtidos según su composición*

Fuente: Alzate, 2004

7.2.2 Las curtiembres en Colombia y su problemática ambiental

Las curtiembres en Colombia son tomadas como microempresas, que están ubicadas en los departamentos de Antioquia, Atlántico, Cundinamarca, Nariño, Norte de Santander, Quindío, Risaralda, Santander, Valle del Cauca y el Distrito Capital (MinDesarrollo, 2001).

Las curtiembres se establecieron en los municipios de Chocontá y Villapinzón en el departamento de Cundinamarca a mediados de los cincuenta; que posteriormente se fueron instalando en las afueras de Bogotá cerca al río Tunjuelito, actualmente se conoce como San Benito (Alzate, 2004).

Estas industrias mayoritariamente son de patrimonio familiar y son transmitidas de generación a generación, estas microempresas no tienen gran cantidad de empleados, éstos oscilan entre 10 a 15; aunque existen empresas de curtiembres con un número de personal 51 a 200 personas.

Basándose en lo anterior, debido a la naturaleza del proceso de curtición, se han venido presentando problemas ambientales como: contaminación en recursos hídricos, debido a la alta carga de contaminantes orgánicos e inorgánicos; además por la variación en el cambio de pH, que se vierten normalmente con las aguas residuales a la red de alcantarillado o a los cuerpos de agua.

El componente aire también se ve impactado por estas microempresas, dado que la utilización de combustibles para la generación de vapor, que presentan impurezas y alto contenido de azufre, generando emisiones atmosféricas con cargas por encima de los máximos permitidos por la normatividad ambiental vigente; por otra parte los vapores orgánicos generados en las operaciones de acabado, donde se utilizan pinturas de base solvente por aspersion, que se van a la atmosfera sin ningún control; para finalizar estos procesos emanan olores generados en las operaciones de limpieza de las trampas de sólidos y grasas, que generan efectos en el pH ocasionando gases sulfurosos.

El suelo se ve afectado por los sólidos procedentes de las trampas de sólidos y grasas, que se originan en las diferentes etapas de las curtiembres; haciendo que el pH y la

concentración de los metales y minerales se vean influenciados, aumentando o disminuyendo, lo que ocasionan daños o la muerte en los seres vivos que habitan en estos suelos. (Pérez, 2004)

7.3 METALES PESADOS

Los metales son elementos químicos, que se ubican en la parte izquierda de la tabla periódica; presentan propiedades físicas y químicas, como la tonalidad opaca o de brillo metálico, la alta densidad, son dúctiles y maleables, tienen un punto de fusión alto, son duros, y son buenos conductores (calor y electricidad); además tienen tendencia policromismo. (BROWN, 1931)

Dentro de los 70 elementos metálicos que se encuentran en la Tabla Periódica, se reconocen 59 de ellos como “*metales pesados*”, debido a que poseen un peso molecular mayor a 55,85 g/mol y densidad superior a 5 g/mL cuando se encuentran en forma elemental, pero esta propiedad excluye a elementos contaminantes con bajo peso molecular, como lo son el manganeso (Mn) y el cromo (Cr), por lo cual se les ha acondicionado el nombre de elementos traza; los cuales son elementos que se encuentran en pocas concentraciones (mg.Kg^{-1}) en la corteza terrestre, los suelos y las plantas.

Estos elementos traza son necesarios para el crecimiento de los organismos, entre algunos tenemos, el Sodio (Na), Potasio (K), Magnesio (Mg), Calcio (Ca), Vanadio (V), Manganeso (Mn), Hierro (Fe), Cobalto (Co), Níquel (Ni), Cobre (Cu), Zinc (Zn) y Molibdeno (Mo), que a su vez poseen efectos tóxicos sobre las células, debido a que tienen la capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas.

Tabla 3. Micronutrientes y macronutrientes para el óptimo funcionamiento de los Organismos Vivos

FUENTE: (Galán y Romero)

CARACTERÍSTICA	METAL									
Metales pesados que son micronutrientes esenciales (mg o µg/día)	As	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Mo	Se	V	Zn
Otros Micronutrientes esenciales	F			I			Si			
Macronutrientes (100g o más por día)	Ca	Cl	Mg	P	K	Na	S			
Metales pesados no esenciales	Be	Cd	Hg	(Ni)	Pb	Sb	(Sn)	Ti		

Los elementos traza que se localizan en los suelos se pueden clasificar en 5 grandes grupos, dependiendo de la forma química en que se encuentran en el suelo; (ver tabla 2) de estos elementos hay 17 que son considerados muy tóxicos y de fácil disponibilidad en los suelos, sobrepasando los niveles de toxicidad. Estos son: Ag, As, Bi, Cd, Co, Cu, Hg, Ni, Pb, Pd, Pt, Sb, Se, Sn, Te, Tl y Zn.

Tabla 4. Clasificación de los Elementos traza más abundantes en el suelo (Galán y Romero)

CATIONES									METALES NATIVOS		HALOGENUROS			
Ag ⁺	Cd ⁺²	Co ⁺²	Cr ⁺³	Cu ⁺²	Hg ⁺²	Ni ⁺²	Pb ⁺²	Zn ⁺²	Hg	V	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	I ⁻
OXIANIONES									ORGANOCOMPLEJOS					
AsO ₄ ⁻³	CrO ₄ ⁻²	MnO ₄ ⁻²	HSeO ₃ ⁻		SeO ₄ ⁻²				Ag	As	Hg	Se	Te	Tl

La EPA ((US Environmental Protection Agency) incluye 13 elementos de la tabla periódica como contaminantes tóxicos, entre estos están: Antimonio, Arsénico, Berilio, Cadmio, Cromo, Cobre, Mercurio, Níquel, Plata, Plomo, Selenio, Talio y Zinc.

7.3.1 Origen de los elementos traza en los suelos

Los elementos traza pueden tener diferentes orígenes, unos pueden ser *geogénicos* y otros *antropogénicos*, los primeros son “un elemento o compuesto químico de un material terrestre es aquella porción de su contenido total que puede liberarse a la superficie o cerca de la superficie(o biosfera) por procesos mecánicos, químicos, o biológicos” (Plumlee, 1994); es decir. Los metales pesados geodisponibles son los que sufren una transformación desde la roca madre a los suelos debido a la meteorización, y constituyen, junto a otros que resultan de procesos como la lixiviación y volcanización, los geogénicos; en otras palabras los metales pesados y elementos traza son de origen natural o geogénica cuando se atribuyen a la composición de distintos minerales presentes en el suelo. Al contrario los metales o elementos traza de origen antropogénicos, son cuando estos están presentes en el suelo en altas concentraciones, causados por el resultado de las actividades del hombre, entre las que destacamos:

Actividad industrial: En esta actividad los suelos pueden ser contaminados por medio del aire, cuando existe emanación gaseosa, como ocurre en las fábricas de hierro y acero, la fabricación de baterías que producen cantidades considerables de plomo, las industrias de productos químicos, pigmentos y tintes, entre otros.

Actividad Agrícola: la aplicación de fertilizantes y plaguicidas que contienen trazas de metales pesados hacen que se contaminen los suelos.

Dichos metales pesados o elementos traza, están biodisponibles en el suelo dependiendo de las asociaciones que hacen con otras sustancias en: “ (1) en solución, como iones de metal libre y complejos metálicos solubles, (2)adsorbida en los sitios de intercambio de los constituyentes inorgánicos del suelo, (3) ligada a la materia orgánica, (4) precipitados como óxidos, hidróxidos y carbonatos, y (5) residual en las estructuras de los minerales silicatados” (Rieuwerts, 1998; Lassat, 2001). Para que las plantas u otros organismos los puedan extraer, estos deben estar en solución, como iones de metal libre y complejos metálicos solubles, de lo contrario no están biodisponibles.

7.4 ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Para explicar esta técnica se puede descomponer su nombre y analizarlo; entonces:

Espectro: Se fundamenta en las radiaciones electromagnéticas o luz monocromática, en otras palabras elementos que tienen un solo color; que se caracterizan por una frecuencia o longitud de onda.

Fotometría: “medición de luz o energía radiante en cuanto a su intensidad. El término opuesto es la espectroscopia basada en el estudio de distribución de espectro.”

Absorción: permite medir la cantidad de luz que absorbe una muestra. El concepto opuesto es la emisión. Y obedece a la ley de Lambert- Beer; el cual relaciona la concentración y espesor del medio absorbente, planteando la siguiente

A: la absorbancia o absorción K: constante
T: la transmisión o transmitancia c: la concentración
Z: el espesor de la celda

ecuación: $A = -\log T = K \cdot c \cdot Z$

Atómica: son los causantes de la absorción de luz monocromática.

El equipo:

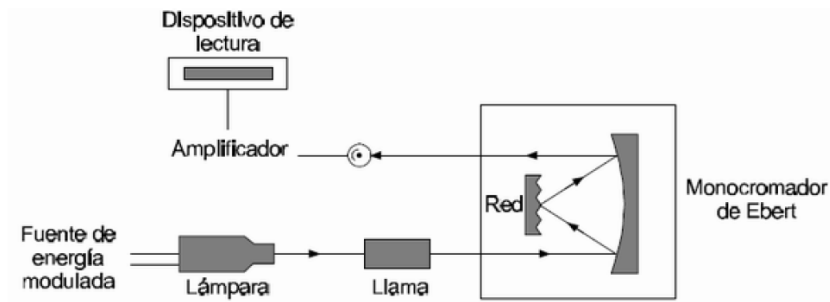


Figura 6: Representación del funcionamiento del equipo para análisis cuantitativo
Fuente: Gomez.2011

El funcionamiento del equipo en manera general, presenta tres variantes; la variación que llega al monocromador, está formada por la procedente del cátodo hueco, más la emisión de la llama que genera inestabilidad; para evitar dicho inconveniente lo que se hace es alternar el haz de radiación monocromática que genera la modulación del detector y amplificador en corriente alterna, ganando estabilidad y sensibilidad.

Para Skoog, 2008 hay que tener en cuenta:

<p>Tipo de atomizador</p>	<p>Los dispositivos de atomización se clasifican en dos clases: <i>atomizadores continuos</i> y <i>atomizadores discretos</i>. Con los primeros como plasmas y llamas, las muestras se introducen de manera constante. Con los atomizadores discretos, las muestras se introducen de manera discontinua con un dispositivo como una jeringa o un tomador de muestras automático.</p>
<p>Método de inyección</p>	<p>El método de introducción de muestra más común es la nebulización directa, en este caso la muestra se introduce como una fina dispersión de pequeñas gotas, llamada aerosol. La introducción continua de muestra en una flama o plasma produce una población de átomos, en estado estable. Para sólidos: no es necesario descomponer ni disolver la muestra; para su introducción la mejor manera es la nebulización, que consiste en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inserción directa de la muestra. • Vaporizadores electrotérmicos. • Ablación de la muestra. • Descarga luminisente

Atomización de la muestra: la solución de la muestra se nebuliza mediante un flujo de oxidante gaseoso mezclado con un combustible también gaseoso y se lleva hacia una llama donde ocurre la atomización. Cuando la muestra está en la llama, se llevan a cabo un conjunto complejo de procesos interconectados. El primero es la *desolvatación*, en la que el disolvente se evapora para producir un aerosol molecular finamente dividido. Luego, este se *volatiliza* para formar moléculas de gas. *La disociación* de la mayor parte de dichas moléculas produce un gas atómico. Algunos de los átomos del gas se *ionizan* para formar cationes y electrones. Una fracción de las moléculas, átomos e iones se *excitan* también por el calor de la llama para producir espectros de emisión atómicos, iónicos y moleculares.

Tabla 5: *Tipos de combustibles que se utilizan en la técnica de espectrofotometría de absorción atómica y sus características*

Fuente: Skoog, D.; Holler, F. & Crouch, S (2008)

Combustible	Oxidante	Temperatura, °C	Velocidad de combustión máxima, cm s ⁻¹
Gas natural	Aire	1700-1900	39-43
Gas natural	Oxígeno	2700-2800	370-390
Hidrógeno	Aire	2000-2100	300-440
Hidrógeno	Oxígeno	2550-2700	900-1400
Acetileno	Aire	2100-2400	158-266
Acetileno	Oxígeno	2600-2800	1100-2480
Acetileno	Óxido nitroso	2600-2800	285

Monocromador: Es la fuente de energía que genera líneas suficientemente separadas. El detector son lámparas fotomultiplicadoras que traducen la señal luminosa a señal eléctrica, la cual es ampliada y medida.

7.5 HONGOS

7.5.1 Características generales

Los hongos son organismos eucariotas, es decir que tienen núcleo y organelos con membranas bien definidas. Pueden ser unicelulares o pluricelulares. Son un grupo muy variado que puede colonizar diferentes tipos de ambientes. Además, son fundamentales para los procesos de descomposición que ocurren en los ecosistemas. Dentro de su estructura presentan pared celular conformada por quitina, la cual se encuentra asociada con otros polisacáridos, pero a diferencia de las plantas no poseen clorofila. Teniendo en cuenta esto se ha clasificado a este grupo de organismos dentro de los heterótrofos, es decir que requieren de compuestos que ya han sido sintetizados.

La mayoría de hongos son saprofitos, lo que quiere decir que absorben los nutrientes que obtienen de la materia orgánica que se encuentra en proceso de descomposición. Existe

también en el grupo parásitos y simbioses mutualistas. Los parásitos “*absorben los nutrientes de las células de huéspedes vivos. Algunos hongos parásitos son patógenos*” (Campbell N, Reece J, 2007). Por otro lado los simbioses mutualistas se encuentran ubicados en células de huéspedes vivos, pero a diferencia de los parásitos no son patógenos con sus hospederos, sino que al contrario le brindan algún tipo de beneficio.

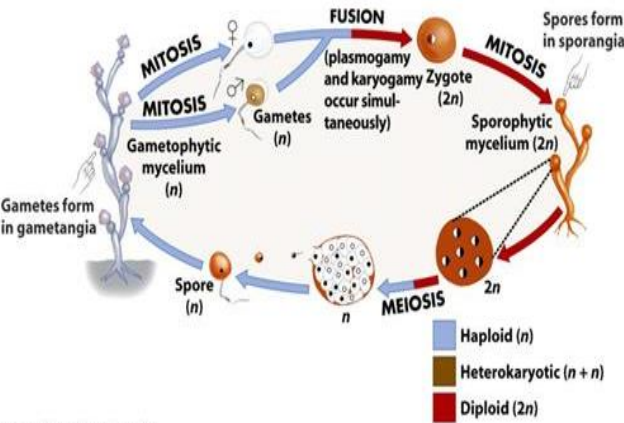
Aunque existe un grupo de hongos unicelulares la mayoría se caracteriza por ser organismos pluricelulares. La estructura morfológica de estos últimos se encuentra constituida por hifas, que son una red de filamentos que forman el micelio. Su reproducción se da de forma sexual o asexual. Presentan estructuras de reproducción que varían de acuerdo al Phylum.

7.5.2 Importancia de los hongos

Los hongos establecen relaciones importantes con el ambiente, con otros organismos y con el hombre. Por ejemplo en la parte industrial los hongos han sido utilizados para obtener diferentes sustancias como vitaminas, antibióticos, enzimas, proteínas etc. (Ruiz, 2008). Pero también existen relaciones ecológicas, dentro de las cuales se encuentra un proceso que es fundamental para la continuidad de la vida; la descomposición de materia orgánica. Esta característica permite que estos organismos puedan descomponer necromasa, reduciendo esta materia a compuestos o elementos que puedan ser utilizados por los organismos, tal como lo menciona (Primack, 2010).

7.5.3 Principales Phylum

Tabla 6: Características de los principales Phylum del reino Fungi

Phylum	Características principales
<p style="text-align: center;"><u>Chytridiomycota</u></p>  <p>Figura 7. Chytridiomycota are the only fungi in which alternation of generations occurs. Fuente: Pearson Prentice hall, Inc Tomado de la web: http://www.micomania.rizoazul.com/micologia%20e1%20reino%20fungi.html</p>	<p>Su pared celular se encuentra compuesta por quitina y glucano. Son organismos que habitan en aguas fresca, marinas, pantanos, ambientes húmedos etc. Pueden ser saprofitos o parásitos de algas y de algunas plantas. Se caracterizan por ser organismos unicelulares, con micelo cenocítico. Su reproducción es mediante zoosporas, además presenta estructuras de movimiento (flagelos), los cuales le facilitan su movilidad (Salazar, 2012)</p>

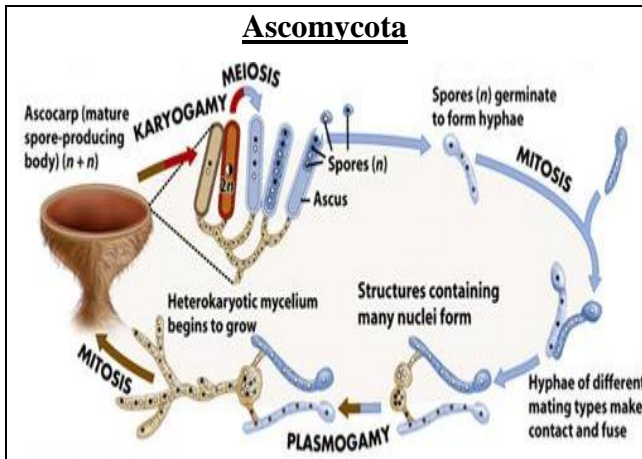


Figura 8. Ascomycota have reproductive structures with many spore-producing asci.

Fuente: Pearson Prentice hall, Inc

Tomado de la web:

<http://www.micomania.rizoazul.com/micologia%20el%20reino%20fungi.html>

Su pared celular está compuesta por quitina y glucano. Generalmente presentan una forma esférica y su micelo es septado. Las hifas pueden ser heterotálicas o homotálicas. Son organismos cosmopolita encontrándose en suelos y en aguas tanto dulces como saladas. Algunos son patógenos en plantas y animales.

Se reproducen asexualmente por conidios, que pueden presentarse de forma unicelular o pluricelular. También presentan reproducción sexual donde se da origen a hifas ascógenas. (Montoya, 2008).

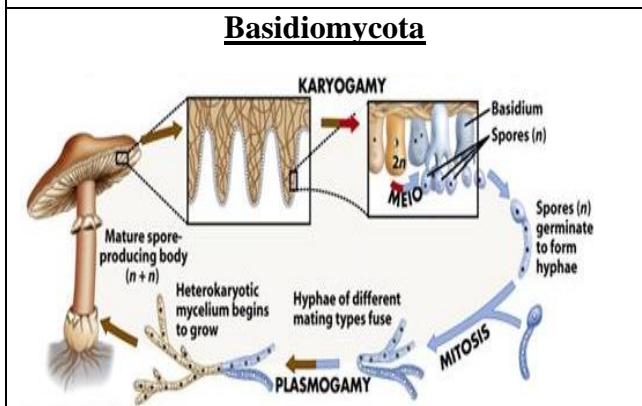


Figura 9. Basidiomycota have reproductive structures with many spore-producing basidia.

Fuente: Pearson Prentice hall, Inc

Tomado de la web:

<http://www.micomania.rizoazul.com/micologia%20el%20reino%20fungi.html>

Se caracterizan por ser organismos saprofitos, que presentan colores vivos. Tienen hifas septadas dicarióticas. En este grupo se encuentran los hongos macroscópicos con forma de sombrilla. Pueden crecer en diferentes partes de los vegetales, como las flores, frutos, tallos y raíces. (Salazar, 2012).

Su reproducción sexual se da mediante basidiosporas y su reproducción asexual se da mediante artrosporas u oídios (Montoya, 2008).

Glomeromycota- Subphylum

Mucoromicotina

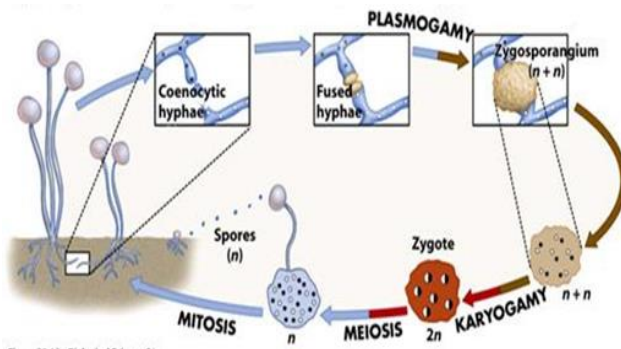


Figura 10. Hyphae that produce a zygote

Fuente: Pearson Prentice hall, Inc

Tomado de la web:

<http://www.micomania.rizoazul.com/micologia%20el%20reino%20fungi.html>

La pared celular de este tipo de hongos se encuentra constituida principalmente por quitina. El micelio es cenocítico, ancho y aseptado. Se encuentran ampliamente distribuidos, son Cosmopolitan. Pueden ser organismos saprofitos o patógeno. La mayoría de estas especies se caracterizan por realizar simbiosis con vegetales o en algunos casos con otros hongos. Las hifas no presentan septos (Salazar, 2012). Tiene reproducción tanto sexual como asexual. Presentas micelos abundantes, las hifas poseen esporangios, los cuales contienen las esporangiosporas y “la hifa que sostiene el esporangio es el esporangióforo” (Montoya, 2008).

Mucor hiemalis



Reino: Fungi

Phylum: Glomeromycota

Subphylum: Mucoromicotina

Clase: Glomeromycetes

Orden: Mucorales

Familia: Mucoraceae

Género: *Mucor*

Especie: *Mucor hiemalis*

Figura 11. *Mucor hiemalis*. Microscópicamente 400x

Fuente: Kubátová, 2009

Tomado de la web:

<https://botany.natur.cuni.cz/en/node/776>

Este hongo se caracteriza por presentar un micelo con apariencia algodonosa, que inicialmente tiene una coloración blanca, pero con el tiempo esta se va transformando a una tonalidad gris. Sus esporangiofóros son largos y generalmente ramificados. Los esporangios son redondos, además contienen una columela y esporangiosporas, que son redondas o un poco oblongas. Los esporangios se caracterizan por tener una pared que se rompe con facilidad, lo cual permite la liberación de esporas. (Salazar, 2012).

Este es un hongo que se encuentra comúnmente en suelos. Su crecimiento óptimo se da a temperaturas de 15 a 25 grados Celsius, es decir que pueden denominarse mesofílicos. Este es uno de los hongos más representativos de los Mucorales. Las colonias de este género presentan un crecimiento rápido que llega a cubrir el agar fácilmente. Generalmente utilizan oxígeno como fuente de energía, pero en bajas concentraciones de este elemento pueden utilizar nitratos como oxidantes. (Chaparro, 2010).

7.6 BIORREMEDIACIÓN O DEPURACIÓN BIOLÓGICA

Esta técnica se basa en la utilización de microorganismos, quienes favorecen los procesos microbiológicos, dados de manera natural en el suelo; con el fin de degradar los contaminantes. Cuando estos procesos no son suficientes para llevar a cabo la depuración, lo que se realiza es una introducción de otros microorganismos específicos o aumentar la concentración de los existentes con el fin de favorecer los procesos de biodegradación. (Doménech, 1997)

Los seres vivos que se utilizan para estos procesos son las plantas y los microorganismos; los primeros realizan una descomposición fotoquímica, que se produce por efecto del espectro de luz ultravioleta de la luz solar. Las fuentes de luz y su intensidad regulan el grado de descomposición de un compuesto.

Descomposición microbiana, la acción de los microorganismos del suelo sobre los contaminantes es probablemente el mecanismo de descomposición más importante. Los

microorganismos del suelo, bacterias, algas y hongos, obtienen alimento y energía para su crecimiento por descomposición de estos compuestos orgánicos sobre todo cuando carecen de otras fuentes. (Doménech,1997)

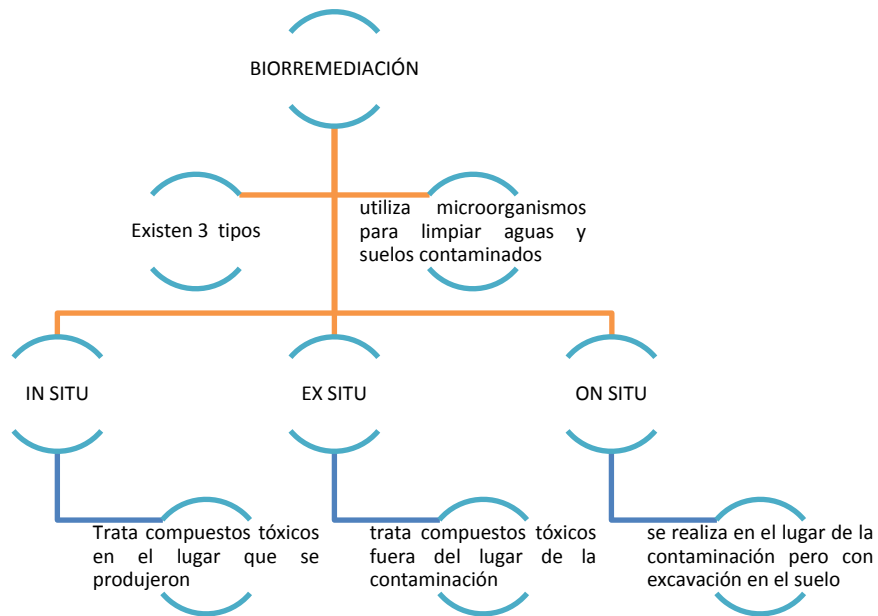
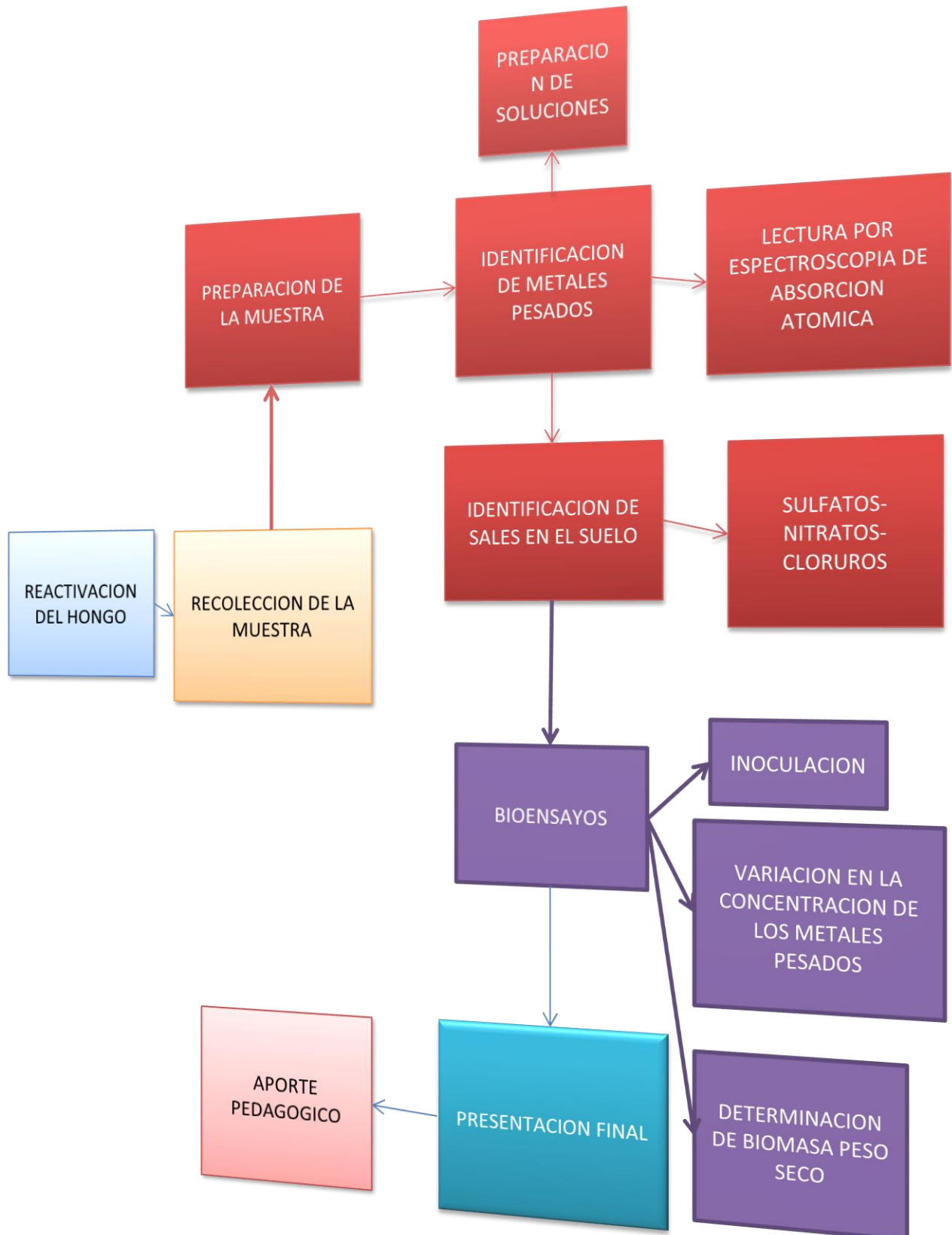


Figura 12: Tipos de Biorremediación
Fuente: (Doménech,1997)

8. DISEÑO METODOLÓGICO



El desarrollo de esta investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Pedagógica Nacional (Laboratorio de Biotecnología y Laboratorio de Química); utilizando la especie de *Mucor hiemalis*, siguiendo los pasos que se describen a continuación.

8.1 Microorganismo de estudio

Se reactivó y utilizó la cepa de *Mucor hiemalis* existente en el Cepario de Microhongos del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Pedagógica Nacional.

8.2 Recolección de la muestra de suelo.

El proceso de recolección se realizó en las curtiembres localizadas a orillas de la carretera principal de la vía Bogotá - Tunja, en el kilómetro 70 Municipio de Villa Pinzón, Departamento de Cundinamarca; tomando 3 puntos estratégicos donde se veía lixiviado de las curtiembres.

Con una pala se tomó como muestra 1 Kg de suelo húmedo de las aguas residuales de dichas curtiembres; con una profundidad aproximada de 50 cm, el material se colocó en una bolsa plástica negra, para evitar oxidación de algunos componentes.

8.3 Preparación de la muestra de suelo

Para el proceso de esterilización del suelo, se efectuó un secado en la plancha de calentamiento, durante dos horas a 40°C para evaporar la parte líquida de la muestra; posteriormente la muestra fue tamizada para separar las partículas de mayor tamaño y utilizar la parte más fina; por último se colocó la muestra en frascos transparentes y se llevaron a autoclave a esterilización por 15 minutos a 15 p.s.i. y 121 °C.

Figura 13: *Proceso de tamizado de suelo de curtiembres de Villa Pinzón (Cundinamarca)*



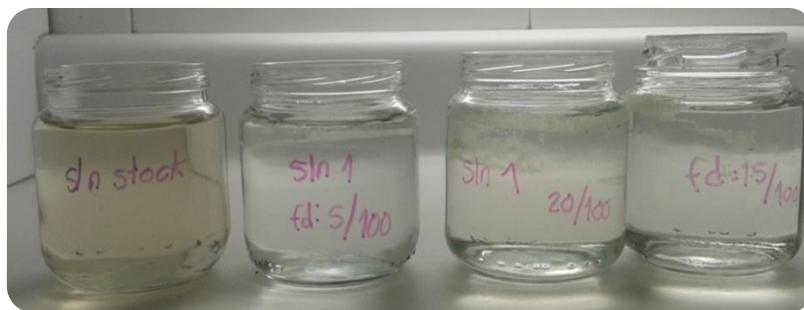
8.4 Identificación de los Metales Pesados, Cromo, Cobre, Zinc.

8.4.1 Preparación de la Solución Extractora:

Se utilizaron métodos analíticos e instrumentales, en los que la muestra se trabajó con una solución extractora de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y poliacrilamida, los cuales cumplen la función de coagulante y floculante respectivamente, que atrapan las partículas coloidales existentes en la solución de suelo, generando aglomeraciones de mayor tamaño y peso específico.

Posteriormente al agregar el floculante de alto peso molecular, como lo es la poliacrilamida que busca generar partículas de mayor tamaño a partir de los coloides coagulados, para que exista una precipitación (Andía; 2000); y es así como se obtiene cuatro (4) soluciones con diferentes factores de dilución 5/100mL, 15/100mL y 20 /100mL, como se observa en la Figura 19.

Figura 14. Soluciones de diferentes concentraciones de la muestra de suelo y tratadas con la solución extractora; para llevar al espectrofotómetro de absorción atómica



Preparación: Para esta fase se preparó una sustancia extractora utilizando 21 g de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) en 50 mL de agua, 1,86 g EDTA en 75 mL de agua, 0,05 g de poliacrilamida, se agitó *cada solución* durante 1 hora. Luego se mezcló las tres soluciones con agua y se llevó a volumen de 500 mililitros en balón aforado de fondo plano, y se ajustó el pH a 8.5.

8.4.2 Preparación de las soluciones:

Para las muestras de Zinc (Zn) y Cobre (Cu), se colocó 2.5 g de suelo en un balón aforado y se adicionó 25 mL de solución extractora. Se agitó a una velocidad lenta durante 10 min. Se filtró la solución usando papel de filtro Watman No. 45; este procedimiento se le realizó a 4 soluciones de diferente concentración cada una y se repitió el procedimiento para cada uno de los elementos a determinar. (ICA; 1993)

Los metales estudiados Cobre (Cu), Cromo (Cr) y Zinc (Zn), se encuentran normalmente en la naturaleza de diferentes formas, ya sea como compuestos inorgánicos o asociados a material orgánico, haciéndolos muy estables; para poderlos cuantificar en su totalidad hay que liberarlos, convirtiéndolos a su estado elemental (Gómez; 2011). Por este motivo se tuvo que variar la metodología en el caso de Cromo (Cr), debido a que para llevar a absorción atómica de llama es necesario tener el analito en solución; es por ello se realizó una digestión ácida, que según González se emplea para reducir la interferencia causada por la presencia de material orgánica y convertir el metal particulado a una forma que pueda ser determinado por el espectrofotómetro; para logara minimizar la interferencia se utiliza ácido nítrico (HNO_3), que según estudios dirige en forma adecuada la mayoría de las muestras que como se observa en la Figura 3. (González; Torneo y Ángeles: 2002)

Procedimiento: Para la preparación de la muestra de Cromo se realizó una digestión ácida con 9,8770 g de muestra y 5 mL de ácido nítrico al 65%, se colocó a temperatura de 40°C , se dejó enfriar para filtrar y posteriormente se agregó 5 mL de cloruro de amonio al 2%. (ICA; 1993).



Figura 15. Procedimiento y obtención de solución de cromo con la digestión ácida

8.4.3 *Lectura en la espectroscopia de absorción atómica:* teniendo las soluciones preparadas, se les realizó la lectura en el espectroscopio de absorción atómica del Departamento de Química de la Universidad Pedagógica Nacional; para cada elemento fue necesario las siguientes condiciones: (ICA; 1993).



Figura 13: Espectrofotómetro-PERKIN-ELMER 2380

Fuente: Autor

Tabla 7: condiciones necesarias para el Espectrofotómetro de absorción atómica

ELEMENTO	TIPO DE LAMPARA	LONGITUD DE ONDA	TIPOS DE COMBUSTIBLE	OXIDANTE	TIPO DE FUEGO
Cr	Cátodo hueco	357,9nm	Acetileno	Aire	Oxidante
Cu	Cátodo hueco	324,7nm	Acetileno	Aire	Oxidante
Zn	Cátodo hueco	213,9nm	Acetileno	Aire	Oxidante

Se preparó una serie de 5 puntos para cada curva de calibración, con estándares de Cromo (Cr), Cobre (Cu), y Zinc (Zn), respectivamente.

Tabla 8: Soluciones Estándar para la curva de calibración de cada metal estudiado

Metal	[] 1	[] 2	[] 3	[] 4	[] 5	[] 6
	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)

Cr	0,25	0,5	1	2	3	5
Cu	0,5	1	2	3	5	8
Zn	0,1	0,25	0,5	0,8	1	

8.5 Identificación de las sales presentes en la muestra de suelo

8.5.1 **Determinación de sulfatos:** para hallar la curva de calibración se prepararon diluciones a partir de una solución de 100ppm de Na₂SO₄ con las siguientes concentraciones en ppm 10, 15, 20, 30 y 35.

Se tomaron 25 mL de la muestra, luego se adicionaron 2 mL de solución acondicionadora y algunos cristales de BaCl₂, se agitaron utilizando un agitador magnético durante 1 minuto; posteriormente se mide en un espectrofotómetro la absorbancia a 420 nm. (APHA, 1992)

8.5.2 **Determinación de nitratos:** para hallar la curva de calibración se prepararon diluciones a partir de una solución de 100 ppm de KNO₃, con las siguientes concentraciones en ppm 2, 4, 6, 8 y 10.

Tomamos 10 mL de muestra, se agrega 3 mL de NaOH, hidróxido de sodio a 0.1 N y un mililitro de salicilato, este se somete a calentamiento hasta su evaporación y se deja enfriar. Luego se adiciona 2 mL de H₂SO₄ concentrado y se espera 10 minutos, después se agregan 15 mL de agua destilada y 15 mL de tartrato doble. Si ésta vira a un color amarillo indica que hay presencia de nitratos y se lleva a medir en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 420nm. (APHA, 1992).

8.5.3 **Determinación de cloro:** Tomamos 5 mL de una solución de Fosfatos y 5 mL del indicador DPD en un Erlenmeyer y luego se adiciona 25 mL de la solución con la muestra de suelo. Después se titula con FAS $2,38 \times 10^{-3}$ hasta que vire de fucsia a incoloro y se agita. Este procedimiento se repite 3 veces. (Romero; 1996)

8.6 Bioensayos

Para los bioensayos se inició con la siembra del microhongo *Mucor hiemalis*; en tubos de ensayo tapa rosca – posición inclinada utilizando el Medio de Cultivo Agar Extracto de Malta de composición g/L Extracto de Malta 20 g, Glucosa 20 g, Peptona 1 g, Agar 20, Cloranfenicol 0.05 g, y se dejaron en incubadora a 25 °C por 8 días.



Figura 14: Incubadora WTC- binder N°989002

Fuente: Autor

8.6.1 **Inoculación del microhongo:** para el inóculo con el hongo *Mucor hiemalis*, se preparó utilizando agua destilada y esterilizada, se agregaron 3 mL de esta a cada tubo de ensayo tapa rosca donde se encontraba hongo y con un asa se realizó un raspado del hongo, esta mezcla se agregó a un envase totalmente esterilizado y es de allí donde se obtuvo el volumen necesario que se adicionó a cada dilución para el bioensayo. Se realizó conteo de esporangiosporas del hongo cada vez que se hizo el procedimiento, utilizando la cámara de Neubauer.

Para el análisis de la bioacumulación de los metales pesados por el hongo *Mucor hiemalis*; se tuvo en cuenta la concentración del metal:

8.6.2 **Variando la concentración de los metales pesados:** se preparó un medio de cultivo líquido de 1000 mL que contenía 2,84g de fosfato ácido de potasio (KH_2PO_4), 2.12 g de cloruro de amonio (NH_4Cl), 0.2678 g de sulfato de sodio (Na_2SO_4), 0.756 g de nitrato de potasio (KNO_3), 2.12 g de cloruro de calcio hexahidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 0.2678 g de sulfato de magnesio (MgSO_4), 0,2678 g de sulfato de hierro (FeSO_4) y 20 g de levadura.

Teniendo ya el caldo, se agregó en el Erlenmeyer cada uno con 100 mL de este, posteriormente se adicionó la sal del metal de la siguiente manera;

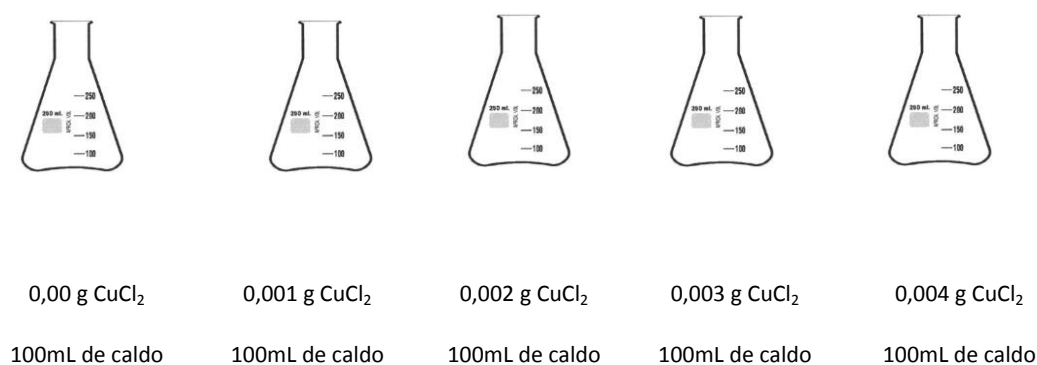


FIGURA 18: procedimiento de diluciones para bioensayos

FUENTE: AUTOR

Este procedimiento se duplica para tener una mayor exactitud y se repitió con cada uno de los metales; para los demás metales se utilizó cloruro de zinc (ZnCl_2) y cloruro de cromo ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Después se agregó a cada Erlenmeyer 2 mL de inóculo del hongo mencionado anteriormente y se usaron tapones de gasa y algodón a cada dejándolos durante 20 días a 25 °C para crecimiento del hongo.

8.6.3 Determinación Biomasa Peso Seco del Microhongo.

Después de los 20 días de crecimiento del hongo se procede a determinar su biomasa peso seco, para esto es necesario pesar un papel filtro para cada muestra, se lleva el contenido de

cada Erlenmeyer a filtración al vacío uno por uno, cada papel filtro con la biomasa del hongo se coloca en una caja de Petri, que posteriormente se lleva a un horno durante 6 horas a 70 °C. Por último se hace el pesado del papel filtro con la biomasa del hongo y se hace la diferencia (Jiménez, 2013).



Figura 19: Horno para secar la biomasa del hongo

Fuente: Autor



Figura 20: Hongos secándose en el horno

Fuente: Autor



Figura 21: Proceso de pesado de la biomasa del hongo en la Balanza Sartorius

Fuente: Autor

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1.1 Cobre (Cu):

Tabla 9: Curva de calibración para Cobre

Dato	Conc. (mg/L)	Abs 1	Abs 2	Abs 3
1	0,5	0,008	0,007	0,008
2	1	0,014	0,012	0,013
3	2	0,029	0,030	0,300
4	3	0,039	0,039	0,038
5	5	0,064	0,064	0,064
6	8	0,110	0,110	0,110

Tabla 10: Curva de calibración promedio para Cobre

Conc. (mg/L)	Absorbancia
0	0
0,5	0,008
1	0,013
2	0,120
3	0,039
5	0,064
8	0,110

Figura 22: Curva de calibración de Cobre (Cu) a una longitud de onda de λ :270 nm

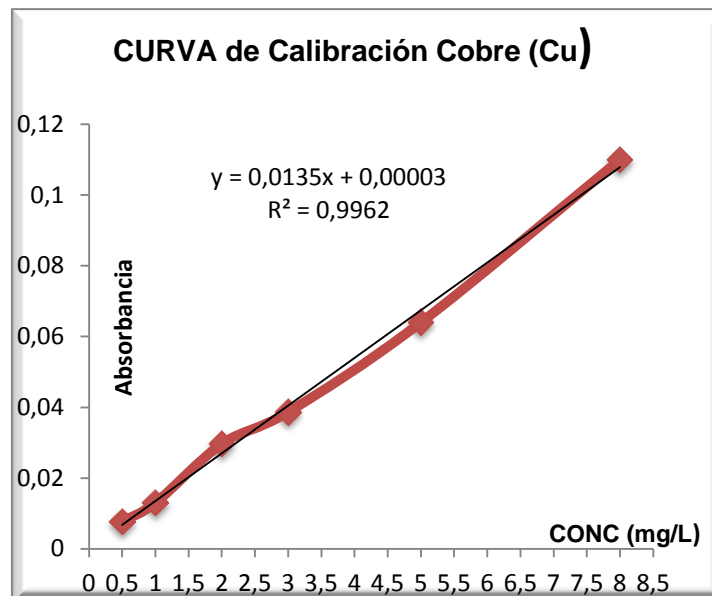


Tabla 11: Absorbancia y concentración de la muestra

Muestra

de suelo

Dato	Conc. (mg/L)	Abs 1	Abs 2	Abs 3
1	0,738	0,010	0, 11	0 010

De acuerdo a la gráfica de la curva de calibración las absorbancias estaban dentro de un rango de 0,007 y 0,011 y la muestra de suelo entro en la curva porque dio una absorbancia de 0,010; que al despejar la ecuación $y=mx + c$ nos da una concentración de 0,738 mg/L.

Donde;

Y= Absorbancia

X= concentración

C= el corte en y

M= la pendiente

Al comparar estos resultados con la investigación realizada por *Green peace (2010)* donde se analizaron metales como Plomo (Pb), Mercurio (Hg), Zinc (Zn) y Cobre (Cu) presentes en las curtiembres de la cuenca Matanza Riachuelo de Reino Unido, se obtuvo como resultado una concentración de 105 mg/Kg de Cobre (Cu); al compararlo con los resultados obtenidos de 0,738 mg/ L es una cantidad muy mínima debido posiblemente a que algunos metales son altamente móviles, debido a que se desplazan fácilmente por causa de las lluvias; generando lixiviados hacia los acuíferos o ser transportados a otras zonas por escorrentías superficial.

9.1.2 Zinc (Zn):

Tabla 12: Curva de calibración para Zinc

Tabla 13: Curva de calibración promedio para Zinc

Dato	Conc. (mg/L)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Conc. (mg/L)	Absorbancia
1	0,100	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000
2	0,250	0,019	0,020	0,019	0,100	0,001
3	0,500	0,054	0,054	0,054	0,250	0,019
4	0,800	0,088	0,088	0,088	0,500	0,054
5	1,000	0,107	0,107	0,107	0,800	0,088
					1,000	0,107

Figura 23: Curva de calibración de Zinc (Zn) a una longitud de onda de λ :213,9 nm

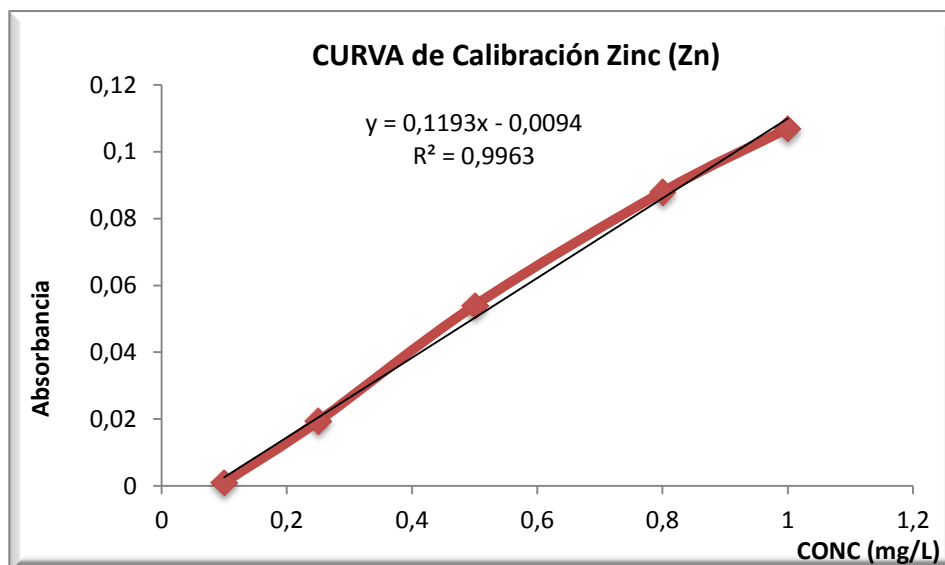


Tabla 14: Absorbancia y concentración de la muestra de suelo

Muestra				
Dato	Conc. (mg/L)	Abs 1	Abs 2	Abs 3
1	0,514	0,05	0,052	0,052

Para la muestra de suelo de Zinc se trabajó con una curva de calibración, hecha con soluciones estándar de concentraciones de 1 ppm hasta 5 ppm, al momento de correr la muestras de suelo la única que entro dentro de la curva es la solución stock, es decir a la que no se le había hecho ninguna dilución, dándonos como resultado una absorbancia de 0,050, lo que indica presencia de este metal en nuestra muestra, debido a que entra en el rango de 0,001 a 0,107 de absorbancia.

La presencia del zinc en concentraciones más altas (con respecto a los otros metales) en el suelo, se debe a que este queda atrapado en las arcillas o material orgánico contenidos en los horizontes superiores del suelo, ya que según Roca (n.d) a diferencia de otros metales no emigra a horizontes inferiores.

9.1.3 Cromo (Cr):

Para saber la concentración de nuestra muestra se hace el mismo ejercicio que con el cromo se despeja en la ecuación de la recta, dándonos una concentración de 0,514 mg/L.

Para culminar esta fase del trabajo se realiza la curva de calibración de Cromo, trabajando con muestras estándares de las siguientes concentraciones (0,25 ppm- 0,5 ppm -1 ppm – 2 ppm – 3 ppm y 5 ppm); dándonos los siguientes resultados:

Tabla 15: Curva de calibración para Cromo

Dato	[] (mg/L)	Abs 1	Abs 2	Abs 3
1	0,25	0,08	0,08	0,08
2	0,5	0,019	0,019	0,019
3	1	0,038	0,038	0,038
4	2	0,076	0,076	0,076
5	3	0,114	0,114	0,114

Tabla 16: Curva de calibración promedio para Cromo

[] (mg/L)	Absorbancia
0	0
0,25	0,08
0,5	0,019
1	0,038
2	0,076
3	0,114

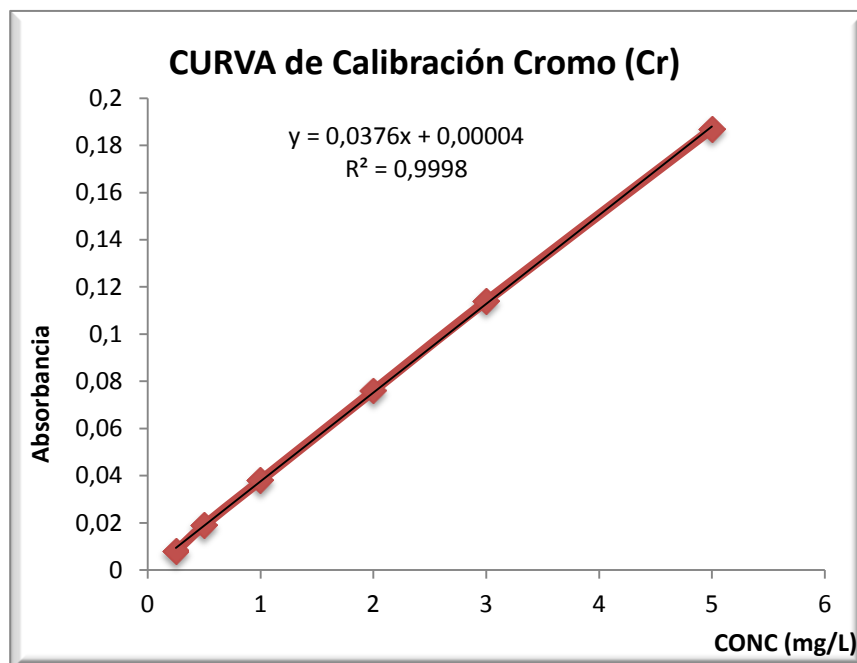


Figura 24: Curva de calibración de Cromo (Cr) a una longitud de onda de λ :357,9 nm

Al observar la curva de calibración del Cromo se evidencia que el rango de absorbancia esta entre 0,008 y 0,187 y al colocar la absorbancia de nuestra muestra problema que es de 0,018 entra en los rangos de la curva y nos da una concentración de 0,451 mg /L, como se observa en la tabla número 17.

Tabla 17:
Absorbancia y
concentración de la
muestra de suelo

Muestra					
Dato	[] (mg/L)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	
1	0,451	0,017	0,018	0,018	

La presencia de este metal se debe posiblemente a su utilización en forma de sales que favorece un proceso de curtido más rápido y uniforme, al compararlo con otras sales como la de aluminio. (Alzate;2004)

Cabrera et al (2008) analizaron las concentraciones de nueve elementos traza entre los que encontraron Arsénico (As), Cadmio (Cd), Cromo (Cr) y Plomo (Pb) de suelos de Natividad, obteniendo resultados bajos en Cromo (Cr) con una concentración de 32 mgKg^{-1} ; que al compararlo con el resultado obtenido para este metal (0,451ppm) es una cantidad mínima, posiblemente porque la muestra no fue tomada en época seca; según Hernández (2011) en época de lluvia la concentración de Cromo (Cr) está en un rango de 0,005- 0,110 mgKg^{-1} ; con este valor nuestra muestra de suelo si tiene una cantidad fuera del rango establecido. Este cambio de concentración de metales pesados en el suelo se debe al pH, porque actúa como un factor esencial en el comportamiento de los metales pesados en el suelo. (García y Dorronsoro (n.d)

En el caso de Cromo (Cr) es importante tener en cuenta la especiación Química, porque el Cromo VI es mucho más tóxico que el Cromo III para animales, plantas y microorganismo (Krimbrough et al... 2009 citado por Shi et al 2002), hay que tener claro que no se sabe en qué estado de oxidación se encuentra el metal.

9.2 Identificación de sales presentes en los suelos de las curtiembres de Villa Pinzón Cundinamarca

La identificación de las sales se realizó en la Universidad Pedagógica Nacional en el espectrofotómetro del departamento de Biología, este procedimiento es necesario debido a que los metales no se encuentran como elementos puros en la naturaleza sino como sales, hidróxidos, carbonatos, silicatos, entre otros, (Rieuwerts, 1998; Lassat, 2001), por consiguiente se realiza la determinación las sales presentes en el suelo de las curtiembres de Villa Pinzón (Cundinamarca) para así diseñar los bioensayos.

9.2.1 Sulfatos

Tabla 18: Curva de calibración de Sulfatos

[] (mg/L)	Absorbancia
0	0,0000
10	0,0861
15	0,1426
20	0,1549
25	0,2636
30	0,3010
35	0,3925

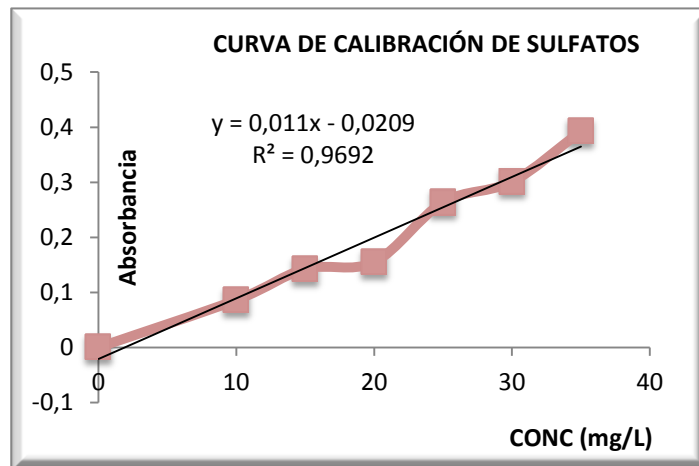


Figura 25: curva de calibración de Sulfatos a una longitud de onda de λ :420 nm

Para la muestra de suelo de las curtiembres de Villa Pinzón, se obtuvo una transmitancia de 30%, como se sale del rango, se hizo una dilución 1:1 y se volvió a medir dando una transmitancia de 55%.

La pendiente de la recta es (r): 0,9692

$$A = 2 - \log T\%$$

$$A = 2 - \log 55\%$$

$$A = 0,259$$

$$\text{Concentración de } \text{SO}_4^{2-} = \frac{A}{r}$$

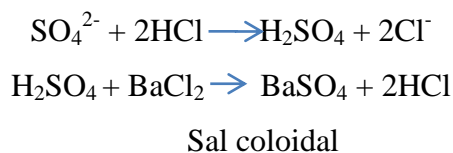
$$\text{Concentración de } \text{SO}_4^{2-} = \frac{0,259}{0,9692}$$

0,2678 mg/L de SO_4^{2-}

Concentración de SO_4^{2-} :

De acuerdo a la gráfica de la curva de calibración la absorbancia de la muestra de las curtiembres de Villa Pinzón fue de 0,259, lo que indica la presencia de esta sal.

A la muestra fue necesario adicionarle una solución acondicionadora para que ésta se acidificara, debido a que los sulfatos (SO_4^{2-}) reaccionaron con el ácido para formar ácido sulfúrico (H_2SO_4) y así cuando se adiciona cloruro de bario éste precipita formando una solución coloidal, debido a la formación de sulfato de bario (BaSO_4); como se observan en las siguientes reacciones:



Al comparar este resultado con los procesos de curtidos se evidencia que la existencia de sulfuros se debe a la etapa de pelambre porque se utiliza sulfatos o sulfuros sódicos para eliminar el material hecho de queratina como son las raíces capilares, la epidermis y el pelo y dejar limpio el lado flor para las siguientes etapas. *Estos compuestos son utilizados porque sus características reductoras los hacen útiles para este proceso como lo indica:* (Gavilanes; 2011)

La presencia reductora de los sulfuros (HS^- o H_2SO_4) genera la ruptura de los puentes de disulfuro de la cistina y la hidrólisis de la queratina. En muchas ocasiones se suele combinar sulfuro sódico y el sulfato sódico en el baño, porque el sulfato es menos reductor que el sulfuro y además se añade primero el NaHS para llegar a obtener valores de $\text{pH} = 12-13$ antes de añadir la cal. (Gavilanes; 2011)

9.2.2 NITRATOS

Para la determinación de Nitratos (NO_3), se utilizó también el espectrofotómetro de la Universidad Pedagógica Nacional, dando los siguientes resultados:

Tabla 19: Curva de calibración de Nitratos

[] (mg/L)	Absorbanci a
2	0,450
4	0,561
6	0,725
8	0,856
10	0,950

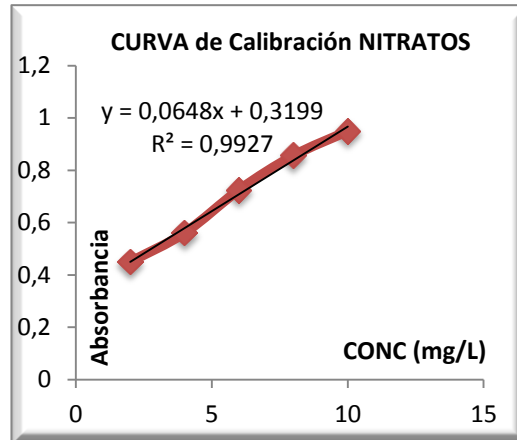


Figura 26: curva de calibración de Nitratos a una longitud de onda de λ :420 nm

La pendiente de la recta es (r) = 0,9927

$$\text{Concentración de NO}_3 = \frac{A}{r}$$

$$\text{Concentración de NO}_3 = \frac{0,75}{0,9927}$$

Concentración de NO₃: 0,756 mg/L de NO₃

La muestra de suelo de las curtiembres de Villa Pinzón presento una absorbancia de 0,75 que al reemplazar en la ecuación de la recta da una concentración de nitratos (NO₃) de 0,756 mg/L.

9.2.3 CLORUROS

En la determinación de cloro en la muestra de suelo de curtiembres de Villa Pinzón (Cundinamarca), se adiciona el N,N-dietil-P- fenilendiamina (DPD), para que reaccione rápidamente con el cloro presente en el agua, puesto que ésta reacciona en su forma reducida para producir el DPD oxidado de color rojo, el cual se vuelve a reducir valorando con sulfato ferroso amoniacal hasta que el color rojo se desaparece.

La adición posterior de yoduro de potasio actúa catalíticamente produciendo la liberación de cloro de las cloraminas, el cual vuelve a ser valorado en el sistema DPD/Fe (II). La adición se realiza de manera gradual para poder determinar las fracciones correspondientes a mono, dicloroaminas y tricloruro de nitrógeno.

Los resultados obtenidos son:

Tabla 20: *titulación para determinación de cloro para la muestra de tierra de curtiembres de Villa Pinzón (Cundinamarca)*

Titulación	Volumen de FAS
1	0,7 mL
2	0,7 mL
3	0,6 mL
4	0,5 mL

Los cálculos para hallar cloro libre o combinado son:

$$X = \frac{0,7 \text{ ml} + 0,7 \text{ ml} + 0,6 \text{ ml} + 0,5 \text{ ml}}{4} = 0,625 \text{ ml}$$

$$6,25 \times 10^{-4} \text{ L FAS} \times \frac{2,38 \times 10^{-3} \text{ eq}}{1 \text{ L}} = 1,4875 \times 10^{-6} \text{ equivalentes de FAS}$$

$$1,4875 \times 10^{-6} \text{ eq FAS} \times \frac{1 \text{ eq Cl}_2}{1 \text{ eq FAS}} \times \frac{35,45 \text{ g Cl}_2}{1 \text{ eq Cl}_2} = 0,053 \text{ g Cl}_2$$

$$\frac{1 \text{ eq FAS}}{1 \text{ eq FAS}} \frac{1 \text{ eq Cl}_2}{1 \text{ eq Cl}_2}$$

$$0,053 \text{ g Cl}_2 \times \frac{1000 \text{ mg Cl}_2}{1 \text{ g Cl}_2} = 53 \text{ mg Cl}_2 =$$

$$1 \text{ g Cl}_2$$

$$0,025 \text{ L}$$

$$2120 \text{ ppm de Cl}_2$$

Según literatura los cloruros son utilizados en dos etapas del proceso de curtido en el rendido o purga, que consiste en el aflojamiento y peptización de la estructura química del colágeno, además se realiza una limpieza de proteínas de la piel y pelo; para estos procedimientos se utilizan enzimas proteasas y agentes descencalantes como el cloruro de amonio (NH_4Cl). Por otra parte en el piquelado se utiliza soluciones de Cromo para disminuir o eliminar el álcali que queda en la piel. Para ello también se utilizan sales como cloruro y sulfato de sodio.

Al comparar los resultados obtenidos con la investigación de Arango (2004) “*Diagnostico Ambiental del Sector Curtiembre en Colombia Proyecto Gestion Ambiental en la Industria de Curtiembre*”, que nos muestra como resultado de cloruros una concentración de 31000 ppm en las curtiembres de Quindío Colombia; en cambio en los suelos de las curtiembres de Villa Pinzó Cundinamarca el valor de la concentración arrojo 2120ppm, lo que nos muestra que el valor obtenido está por encima de los valores legalmente establecidos que son de 300ppm.

Hay que tener en cuenta que el valor obtenido para cloro es muy elevado, posiblemente debido a que en el momento de lavado del suelo se utilizó agua destilada la cual contiene una concentración de estos; por lo cual se recomienda utilizar como blanco agua destilada y realizar la diferencia con el valor obtenido, para saber la concentración real de esta especie.

9.3 Fase de bioensayos

Para los bioensayos se realizaron pruebas por duplicado para tener mayor exactitud, por ende por cada uno de los metales trabajados Cobre (Cu), Cromo (Cr) y Zinc (Zn), se hicieron 10 montajes, y los resultados obtenidos fueron:

9.3.1 Bioensayos de Zinc (Zn):

Tabla 21: Resultados obtenidos en los bioensayos con Zinc (Zn)

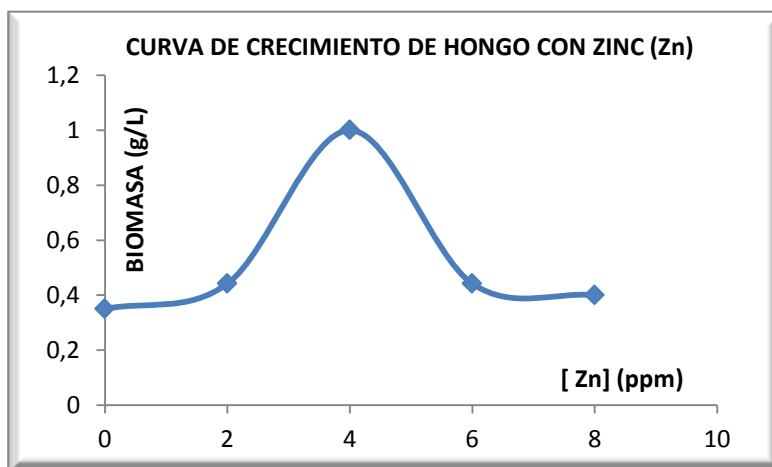
MATRAZ	A			PROMEDIO A (g)	B			PROMEDIO B (g)	HONGO (g)
	PESO PAPEL FILTRO SOLO (g)				PESO PAPEL FILTRO +HONGO (g)				
1	0,436	0,437	0,434	0,436	0,793	0,794	0,794	0,794	0,350
2	0,435	0,435	0,434	0,435	0,774	0,774	0,774	0,774	0,350
3	0,433	0,433	0,432	0,432	0,740	0,741	0,740	0,740	0,442
4	0,435	0,437	0,435	0,436	0,952	0,949	0,950	0,950	0,442
5	0,439	0,439	0,439	0,439	1,537	1,530	1,535	1,534	1,000
6	0,414	0,413	0,413	0,413	1,328	1,326	1,327	1,327	1,000

7	0,437	0,437	0,436	0,437	0,804	0,806	0,805	0,805	0,440
8	0,432	0,430	0,430	0,431	0,940	0,9500	0,949	0,946	0,440
9	0,415	0,417	0,415	0,416	0,821	0,823	0,822	0,822	0,400
10	0,442	0,443	0,442	0,442	0,824	0,824	0,824	0,824	0,400

Tabla 22: Curva de crecimiento del hongo *Mucor hiemalis* con el metal Zinc (Zn)

[Zn] (ppm)	Biomasa Peso Seco g/L
0 ppm	0,350
2 ppm	0,442
4 ppm	1,000
6 ppm	0,440
8 ppm	0,400

Figura 27: curva de crecimiento del hongo *Mucor hiemalis* con el metal Zinc (Zn)



Como se visualiza en la curva, *Mucor hiemalis* tiene la capacidad de absorción de Zn hasta 4 ppm y partir de esta concentración hay efecto tóxico como se observa en la disminución de su crecimiento (biomasa peso seco g/L). Lo que indica que en suelos de curtiembres con una concentración hasta de 4 ppm de Zn, *Mucor hiemalis* sería una alternativa de biorremediación en estos tipos de suelos.

De acuerdo a los resultados, el zinc es uno de los metales pesados más absorbidos en estos ensayos, posiblemente por un elemento esencial para los seres vivos, entre ellos los hongos.

9.3.1 Bioensayos de Cobre (Cu):

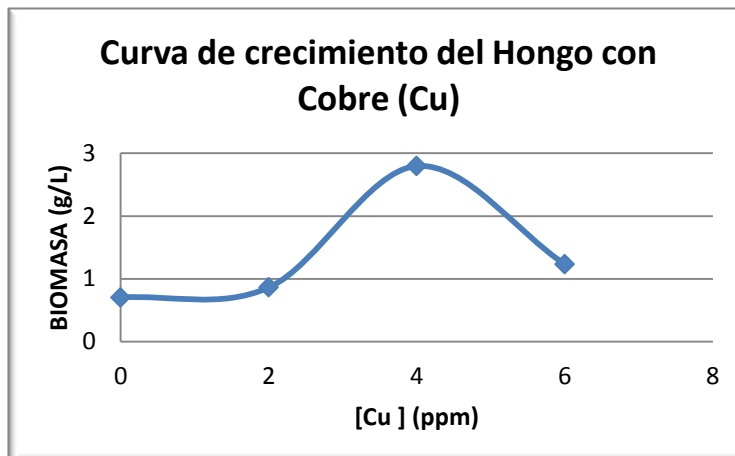
Tabla 25: resultados obtenidos en los bioensayos con Cobre (Cu)

MATRAZ	A			PROMEDIO A (g)	B			PROMEDIO B (g)	HONGO (g)
	PESO PAPEL FILTRO SOLO (g)				PESO PAPEL FILTRO +HONGO (g)				
1	0,410	0,412	0,412	0,411	1,205	1,186	1,180	1,190	0,703
2	0,426	0,427	0,426	0,426	1,060	1,056	1,046	1,054	0,703
3	0,447	0,459	0,445	0,450	1,306	1,303	1,304	1,304	0,863
4	0,437	0,438	0,438	0,438	1,308	1,312	1,313	1,311	0,863
5	0,441	0,441	0,441	0,441	3,279	3,260	3,253	3,264	2,796
6	0,421	0,421	0,421	0,421	3,212	3,196	3,188	3,189	2,796
7	0,414	0,416	0,415	0,415	1,371	1,370	1,375	1,372	1,232
8	0,438	0,434	0,435	0,436	1,952	1,943	1,939	1,944	1,232
9	0,437	0,439	0,437	0,438	2,047	2,024	2,021	2,030	1,565
10	0,430	0,428	0,430	0,429	1,990	1,980	1,995	1,988	1,565

Tabla 26: Curva de crecimiento
del hongo *Mucor hiemalis* con
el metal Cobre (Cu)

[Cu] (ppm)	Biomasa Peso Seco (g/L)
0 ppm	0,703
2 ppm	0,863
4 ppm	2,796
6 ppm	1,232

Figura 28: curva de crecimiento del hongo *Mucor hiemalis* con el metal Cobre (Cu)



Como se visualiza en la curva, *Mucor hiemalis* tiene la capacidad de absorción de Cu hasta 4 ppm y partir de esta concentración hay efecto toxico como se observa en la disminución de su crecimiento (biomasa peso seco g/L). Lo que indica que en suelos de curtiembres con un concentración hasta de 4 ppm de Cu, *Mucor hiemalis* sería una alternativa de biorremediación en estos tipos de suelos.

9.3.2 Bioensayos de Cromo (Cr):

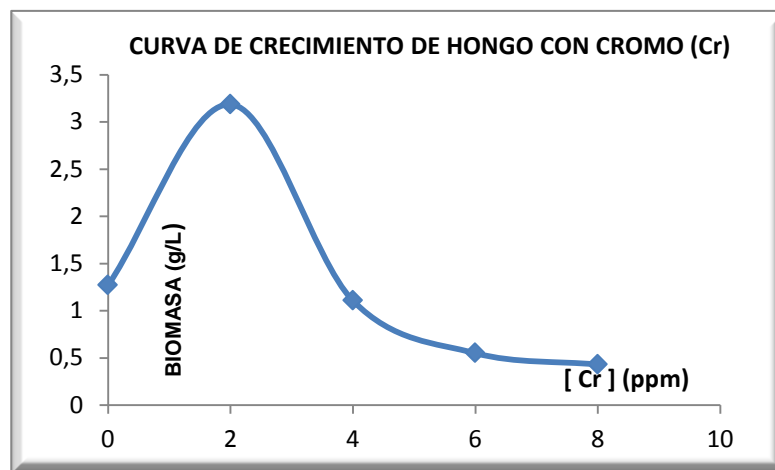
Tabla 27: resultados obtenidos en los bioensayos con Cromo (Cr)

MATRAZ	A				B				
	PESO PAPEL FILTRO SOLO (g)			PROMEDIO A (g)	PESO PAPEL FILTRO +HONGO (g)			PROMEDIO B (g)	HONGO (g)
1	0,436	0,437	0,436	0,436	1,816	1,764	1,748	1,776	1,271
2	0,422	0,421	0,422	0,421	1,618	1,633	1,623	1,624	1,271
3	0,433	0,433	0,432	0,432	3,778	3,768	3,763	3,770	3,186
4	0,426	0,425	0,426	0,425	3,456	3,462	3,458	3,460	3,186
5	0,421	0,425	0,423	0,423	1,769	1,764	1,765	1,766	1,106
6	0,426	0,427	0,425	0,426	1,293	1,296	1,298	1,296	1,106
7	0,431	0,429	0,430	0,430	0,894	0,890	0,890	0,891	0,550
8	0,440	0,439	0,439	0,439	1,072	1,068	1,070	1,070	0,550
9	0,429	0,428	0,429	0,429	0,854	0,855	0,855	0,855	0,430
10	0,427	0,428	0,427	0,427	0,859	0,855	0,855	0,856	0,430

Tabla 28: Curva de crecimiento del hongo *Mucor hiemalis* con el metal Cromo (Cr)

[Cr] (ppm)	Biomasa Peso Seco (g/L)
0 ppm	1,271
2 ppm	3,186
4 ppm	1,106
6 ppm	0,550
8 ppm	0,430

Figura 29: curva de crecimiento del hongo *Mucor hiemalis* con el metal Cromo (Cr)



Como se visualiza en la curva, *Mucor hiemalis* tiene la capacidad de absorción de Cr hasta 2 ppm y partir de esta concentración hay efecto toxico como se observa en la disminución de su crecimiento (biomasa peso seco g/L). Lo que indica que en suelos de curtiembres con un concentración hasta de 2 ppm de Cr, *Mucor hiemalis* sería una alternativa de biorremediación en estos tipos de suelos.

Al hacer una comparación entre los resultados obtenidos en esta investigación y la realizada por Cárdenas J y Acosta I. “Remoción de cromo hexavalente por el hongo *Paecilomyces sp.* Aislado del medio ambiente” se encuentra que los hongos pertenecientes a diferentes géneros tienen capacidad de remoción de metales pesados como el Cromo. Sin embargo se observa que el hongo *Paecilomyces sp.* Tiene una mayor capacidad de absorción que

Mucor hiemalis, “ya que 1 g de biomasa fúngica remueve 100 y 1000 mg/100 mL del metal a una y tres horas de incubación, y elimina totalmente 297 mg Cr (VI)/g de tierra contaminada”. Si bien los tiempos de crecimiento variaron en las dos investigaciones, con el *Mucor hiemalis* el máximo crecimiento se presentó con la concentración de 2 ppm, dando como resultado un peso total de 3,186 (g/L).

La biomasa de *Mucor hiemalis* “posee la capacidad de unir cromo pasivamente”, lo cual significa que la remoción de metales se da por la biosorción de la biomasa de microorganismo vivos o muertos. Volesky y Holan, 1995; Park *et al.*, 2005; Ahmad *et al.* 2006 en Núñez R, 2007. En la investigación realizada por Núñez R “Técnicas *in vitro* para biorremediación de cromo y plomo”, la obtención de muestras contaminadas varió. Para el Cromo se utilizó desechos de curtido y para el Plomo se tomaron muestras de ácidos de baterías. Los microorganismos aislados que presentaron resistencia fueron *Penicillium*, *Thiocapsa sp* y *Aspergillus*.

El hongo tiene la capacidad de absorción de estos metales; debido posiblemente a que los hongos al igual que otros seres vivos Plantas y bacterias realizan proceso de bioabsorción; que según Vullo (2003)

“ biosorción se caracterizan por la retención del metal mediante una interacción físicoquímica del metal con ligandos pertenecientes a la superficie celular. Esta interacción se produce con grupos funcionales expuestos hacia el exterior celular pertenecientes a partes de moléculas componentes de las paredes celulares, como por ejemplo carboxilo, amino, hidroxilo, fosfato y sulfhidrilo”

10. CONCLUSIONES

- Se evidenció que la presencia de cloruros no alteró la concentración de los iones de fosfatos (PO_4^{-3}) sulfatos (SO_4^{-2}) y Nitratos (NO_3^{-1}) utilizados en el caldo de los bioensayos, manteniendo el equilibrio.
- Los metales pesados presentes en los suelos aledaños a las curtiembres de Villa Pinzón, presentaron concentraciones 0,45ppm Cr, 0,738ppm Cu y 0,514ppm Zn, respectivamente, siendo el cobre el metal de mayor contenido en dicha muestra. Esto puede ser debido a que los tintes que se utilizan para los procesos de curtido contienen este metal.
- De los resultados obtenidos en este trabajo, se observa que la capacidad de bioabsorción de los metales por el hongo *Mucor hiemalis*, está dada por un límite de absorción de 4ppm de los metales zinc y cobre, en ambos casos. Por otro lado, el hongo es capaz de absorber un punto máximo de 2 ppm de concentración para el cromo (Cr).
- El hongo *Mucor hiemalis*, presenta una actividad biorremediante aceptable, ya que permite remover Cobre (Cu), Cromo (Cr) y Zinc (Zn) con unas concentraciones 0,45ppm, 0,738ppm y 0,514ppm, mediante la bioabsorción, siendo estas concentraciones relevantes para un posible estudio.
- Se puede concluir que al comparar el hongo estudiado con otros géneros, éste tiene menor capacidad de absorción y requiere de mayor tiempo para realizarlo.
- Al comparar los resultados obtenidos con los referentes teóricos se puede evidenciar que el phylum Glomeromycota tiene capacidad de bioabsorción, debido a que cuentan con micelo ancho.
- Este tipo de investigaciones aportan con la interdisciplinariedad que los licenciados en biología deben manejar en su quehacer docente, teniendo en cuenta las exigencias del campo laboral.

11. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de bioabsorción usando otros géneros de hongos, para hacer comparaciones y así determinar que géneros tienen un mayor potencial de biorremediación.
- Realizar el mismo procedimiento variando el medio de cultivo por suelo, es decir en vez de hacer un caldo, se determina los metales presentes en el suelo, se realiza el sembrado y después se vuelve a realizar el estudio de los metales.
- Utilizar la información obtenida en esta investigación para realizar pruebas de campo, en las cuales se pueda determinar la viabilidad para el desarrollo de estrategias de restauración de ambientes como lo son los suelos aledaños a las curtiembres.
- Analizar suelos provenientes de otras zonas de curtiembres para comparar la presencia y la concentración de los metales pesados
- Adelantar estudios que permitan el análisis de otro tipo de recursos naturales cercanos a estos suelos de curtiembre, para observar la incidencia de estos metales pesados.
- Desarrollar estrategias pedagógicas que permitan vincular el saber científico en las aulas escolares, desarrollando planeaciones de clase que lleven a los estudiantes a tener una relación más estrecha con los procesos investigativos en ciencias naturales.

- Generar los espacios para la socialización de los resultados obtenidos en esta investigación en la población de Villa Pinzón.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta I, Cárdenas J, Alvarado D y Moctezuma M (2008) “Remoción de Cromo (VI) en Solución Acuosa por la Biomasa Celular de Paecilomyces sp.” Información Tecnológica-Vol. 19 N°1. pp. 69-74.
- Alexander, M. 1980. Introducción a la Microbiología del suelo. Segunda Edición. Editorial AGT S.A. México D: F. 491 pg.
- Alzate, A (2004). Estado General del Sector Curtiembres en Colombia, en escobar, C. Diagnóstico Ambiental del Sector Curtiembres en Colombia Proyecto Gestión Ambiental en la Industria de Curtiembre (5-15), Bogotá: EMPA
- Alzate, A & Tobón, O. (2004). Manual Ambiental Sectorial, Proyecto Gestión Ambiental en la Industria de Curtiembres en Colombia. (13-18pag).
- Andía, Yolanda (2000). Tratamiento de aguas, Coagulación y Floculación. SEDEPAL. Lima Perú.
- APHA, 1992. Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Editorial Díaz de Santos, diecisieteava edición.
- Arango, carlos (2004). Diagnóstico Ambiental del Sector Curtiembre en Colombia. Centro Nacional de Producción más Limpia. Sena y Empa
- Baretino, D. & Callaba, A. (2002). Determinación de fondo y niveles de referencia de metales pesados y otros elementos traza en suelos de la comunidad de Madrid. Consejería de Medio Ambiente Comunidad De Madrid (2^a reimpresión, serie: Medio Ambiente. Terrenos Contaminados, 167p). España: Instituto Geológico y Minero.
- BET- boletín estadístico tecnológico (2010). Biotecnología. Ministerio de ciencia, tecnología e innovación productiva. Argentina.
- Cabrera F., Aruzab J., Madejóna P., Murilloa J.M (2008). Mercury and other trace elements in soils affected by the mine tailing spill in aznalcóllar, Science of the total environment.

- Campbell N, Reece J (2007). *Biology*. Edición 7. Editorial médica panamericana. Madrid-España
- Cárdenas J, Acosta I (2010). Remoción de cromo hexavalente por el hongo *Paecilomyces* sp. Aislado del medio ambiente. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México
- Cardona M, Osorio J y Quintero J (2009) Degradación de colorantes industriales con hongos ligninolíticos. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia* N.º 48. pp. 27-37. Junio, 2009. Medellín, Colombia.
- Caudillo Y, Gutiérrez J, Zazueta R. estudios fisiológicos de un hongo biodegradador de hidrocarburos *Mucor circinelloides*. Universidad de Guanajuato. México. Disponible http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA_VI/CVI-65.pdf
- Chaparro A (2010). Aislamiento e identificación de metabolitos producidos por la cepa nativa SPG 321 de *Mucor circinelloides* y evaluación de su actividad antimicrobiana. Pontificia Universidad Javeriana. Disponible en <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis389.pdf>
- Déley A (2010). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo campamento Sacha 161 utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus*. Escuela superior politécnica de Chimborazo. Ecuador. Disponible en <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1627/1/236T0045.pdf>
- Doménech, X. (1997). *Química Del Suelo. El Impacto de los Contaminantes*. Segunda Edición. Editorial Miraguano. Universidad Autónoma de Barcelona. Madrid 11-31 pg.

- Domsch K, W Gems (1993). Compendium of soil fungi Vol I,II. Traute- Heidi Anderson. Institute of soil Biology. Czech Republic
- Escudero J (2004). Análisis de la realidad local: técnicas y métodos de investigación desde la animación sociocultural. Volumen 2. Editorial Narcea. Madrid.
- Flórez Y (2006) “Bioabsorción de metales pesados por *Salvinia natans* de los lixiviados del relleno sanitario Combeima Ibagué”. Revista Tumbaga Vol. 1, Nº. 1, 2006, pp. 89-100
- Galán, H. & Romero, A. (np.). Contaminación de Suelos por Metales Pesados. [en línea]. Departamento de cristalografía, Minerología y Química Agrícola. Facultad de Química. Apartado 553. Universidad de Sevilla. Disponible en: http://www.ehu.es/sem/macla_pdf/macla10/Macla10_48.pdf [2013, 15 de abril].
- García I y Dorronsoro C. (n.d). *Contaminación de metales pesados*. Departamento de Edafología y Química Agrícola Universidad de Granada. España. Unidad docente Investigadora de la facultad de ciencia, consulta el 22 de abril de 2014. <http://edafologia.ugr.es/conta/tema15/introd.htm>
- Gavilanes, R. (2011) Estudio de un Pelambre Reductor-oxidante. Universidad Politécnica de Cataluña. España
- Greenpeace Research Laboratories (2010). Cueros tóxicos: nuevas evidencias de contaminación de curtiembres en la cuenca matanza- Riachuelo. Reino unido disponible <http://www.greenpeace.org/argentina/Global/argentina/report/2012/contaminacion/Cueros-Toxicos-Riachuelo.pdf>

- Gómez D (2011) validación de la metodología por el método estándar 311-absorción atómica para el análisis de metales pesados en análisis de aguas y aguas residuales. Escuela de tecnología química. Universidad tecnológica de Pereira
- Guzmán M (2007). La contaminación de suelos y agua: su prevención con nuevas sustancias naturales. Editorial universidad de Sevilla. Sevilla.
- ICA, 1993. Manual de Análisis de Suelos, Plantas y Agua para Riego, segunda edición.
- Jiménez M, H.M., 2013. Guía de Laboratorio de Biotecnología Industrial. Diplomado en Biotecnología (I). Departamento de Biología. Universidad Pedagógica Nacional.
- Lasat, M (2001). The uses of plants for removal of toxic metal from contaminated soil, USEPA.
- Mier T, Toriello C, Ulloa M (2002). Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio. División de ciencias biológicas y de la salud. Universidad nacional autónoma de México. México
- Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial (2006). Guía ambiental para la industria del curtido y preparado de cueros. Panamericana s.a. México.
- Monge O, Valenzuela J, Acedo E, Certucha M, Almendáriz F (2008). Biosorción de cobre en sistema por lote y continuo con bacterias aerobias inmovilizadas en zeolita natural (clinoptilolita). Rev. Int. Contam. Ambient. 24 (3) 107-115, 2008.México.
- Montoya H (2008). Microbiología básica para el área de salud y afines. Segunda edición. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín.

- Morales C (2007) “Estudio para la remoción de metales pesados en los lixiviados de rellenos sanitarios”. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ingeniería y arquitectura. Manizales
- Gabilanes R (2011) “ Estudio de un pelambre redactor-oxidante”. Universidad Politécnica de Cataluña. España
- Núñez R (2007). Técnicas in vitro para biorremediación de cromo y plomo. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica
- Obiols, J. (1969). Espectrofotometría de Absorción Atómica, su Aplicación en la Industria del Vidrio. Instituto Químico de Sarria Barcelona.
- Ortiz, D. 2000. Ingeniería Ambiental y Medio Ambiente. Disponible en: <http://www.fortunicity.es/expertos/profesor/171/suelos.html> [2013, 28 de abril].
- Paredes J (2011). Aplicación del hongo *Pleurotus ostreatus* como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Ecuador
- Pellón A, Rodríguez M, Gonzales O, Frades J (2011). Remoción de cromo mediante el uso de un biorreactor utilizando *Scenedesmus obliquus* inmovilizado. Ingeniería hidráulica y ambiental, vol. xxxii, no. 1, ene-abr 2011, p. 13-20. Habana.
- Pérez, E. C. (2004). Unidad de Asistencia Técnica Ambiental Para la Pequeña y Mediana Empresa- Acercar Industria. Departamento Técnico Administrativo del Medio Ambiente. Cámara de Comercio Bogotá 20 y 21 pág. Disponible en: <http://acercar.ambientebogota.gov.co/industria/biblioteca/GUIAS-AMBIENTALES/GU%C3%8DA%20AMBIENTAL%20PARA%20EL%20SECTOR%20CURTIEMBRES.pdf>, [2013, 20 de abril].
- Primack (2011). Fundamentos de la biología de la conservación. Los valores de uso indirecto de la biodiversidad. Traducido y adaptado de *Essentials of conservation biology (2010)*, por Rodrigo Torres. Bogotá.

- Riechaman, M.S. (2002). The responses of plants to metals toxicity: A review focusing on copper, manganese and Zinc. Australian Minerals and Energy Environment Foundation 54p.
- Romero, J (1996). Acuiquímica. Escuela Colombiana de Ingenieros. Colombia
- Ruiz J (2008). Viaje al asombroso mundo de los hongos. Volumen 218. Editorial Fondo de cultura económica. México
- Russi, O. A. I. (2009). Saber pedagógico y saber disciplinar ¿convergencia o divergencia? *Revista Paideia Surcolombiana*, (15), 90-98.
- Salazar W (2012). Identificación de microhongos asilados de suelos de curtiembres de la cuenca del Río Tunjuelito de San Benito Bogotá. Universidad Pedagógica Nacional. Bogotá
- Skoog, D.; Holler, F. & Crouch, S. (2008) *Principios de análisis instrumental*, 6ta edición, Cengage Learning, México,. disponible en http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Apuntes9_18597.pdf
- Soto C, Gutierrez S, Rey A, Gonzales E (2010). Biotransformación de metales presentes en lodos ribereños de los ríos Bogotá y Tunjuelito. Universidad Antonio Nariño. Bogotá. Disponible en http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA14_ARTORIG6.pdf
- Taggart R (2008) *Biología: la unidad y diversidad de la vida*. Edición 11. Editorial Cengage Learning Editores. México.
<http://www.micomania.rizoazul.com/micologia%20el%20reino%20fungi.html>
- Vásquez M, Guerrero J y Quintero A (2010). Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. *Revista Colombiana Biotecnología*. Vol. XII No. 1 Julio 2010 141-157

- Vullo D (2010). Microorganismos y Metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente. Revista Química Viva. Volumen 2. Tomado el día 7 de junio 2014 de <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/metales/metales.htm>.

ANEXO 1

BIOTECNOLOGÍA

ENSAYOS EXPERIMENTALES PARA LA
BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS
PRESENTES EN CURTIEMBRES



UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA
NACIONAL

Educadora de educadores

Presentación


Este documento tiene como objetivo que los estudiantes que se encuentran cursando sus estudios universitarios, tengan una guía teórico-práctica, que les permita la comprensión de aspectos biotecnológicos. En este caso los que se encuentran relacionados con los procesos de biorremediación.

***Diana Patricia Calderón
Leidy Martínez Cárdenas***

La biotecnología

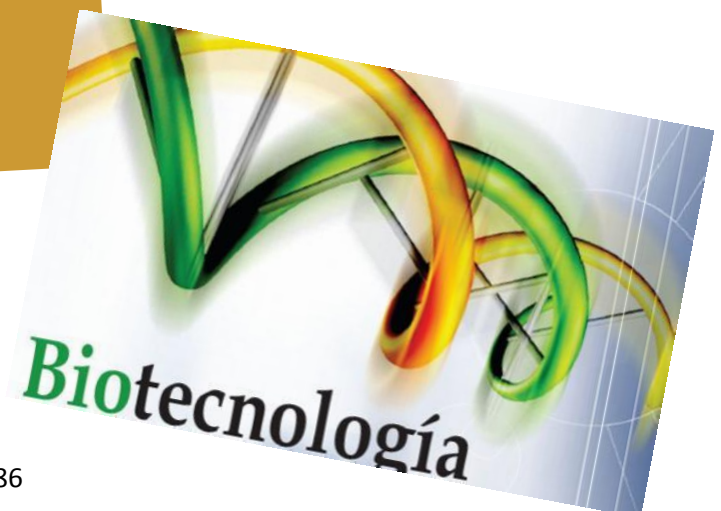
En la actualidad, la biotecnología ha tenido grandes implicaciones en las áreas de agricultura, salud, veterinaria entre otras.

Las investigaciones realizadas se han posibilitado, debido a los avances en biología molecular, microbiología, que por medio de ingeniería genética se han hecho nuevos productos y se ha dado el mejoramiento de los ya existentes



“La biotecnología es cualquier aplicación tecnológica, que utilice de manera directa o indirecta, organismos vivos o sus derivados para hacer o modificar productos o procesos para un uso específico”

(convención de diversidad biológica 1992)



CURTIEMBRES

Se habla de curtido, como el proceso mediante el cual se transforma la piel en cuero, a partir de una reacción química entre el colágeno de la piel con agentes curtientes, ocasionando la estabilidad de las fibras, dado que, hay una formación de complejos de tipo quelatos, que evita la descomposición y facilita el uso. El producto final es utilizado en manufactura de calzado, artesanías, vestimenta, marroquinería, entre otros. (Alzate y Tobón, 2004)

Cabe señalar que existen tres tipos de procesos de curtido, que son:

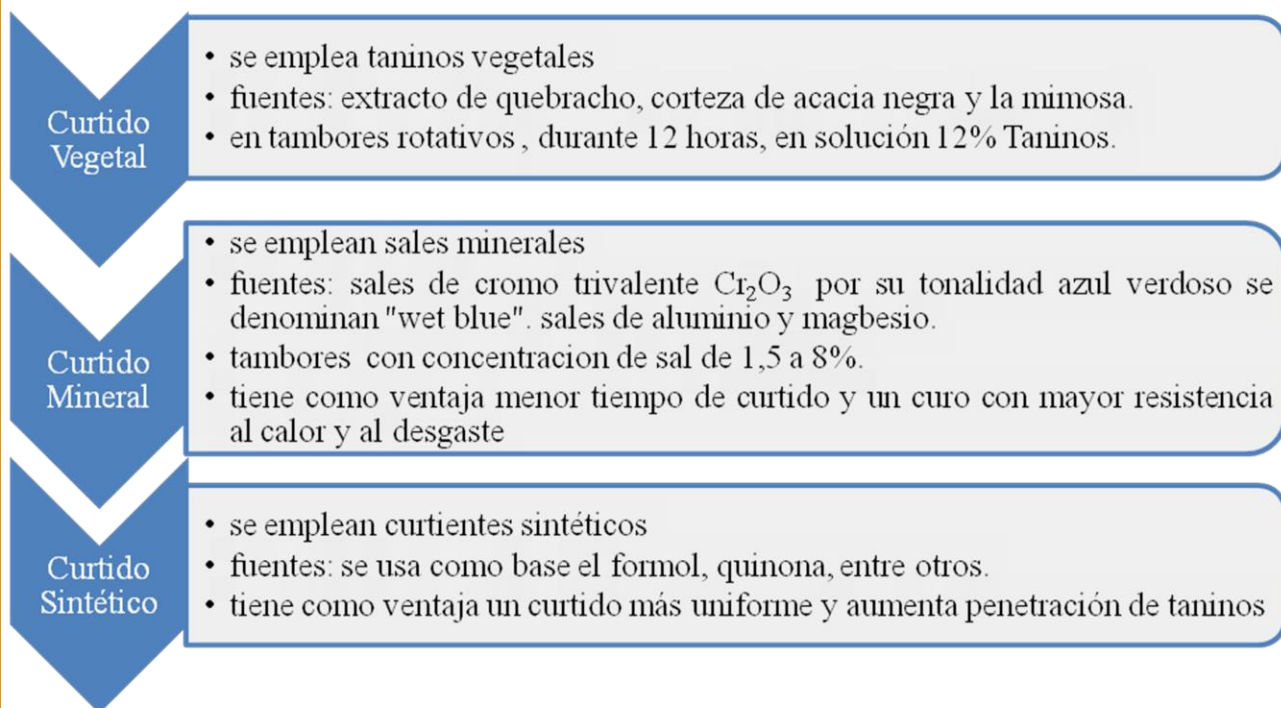
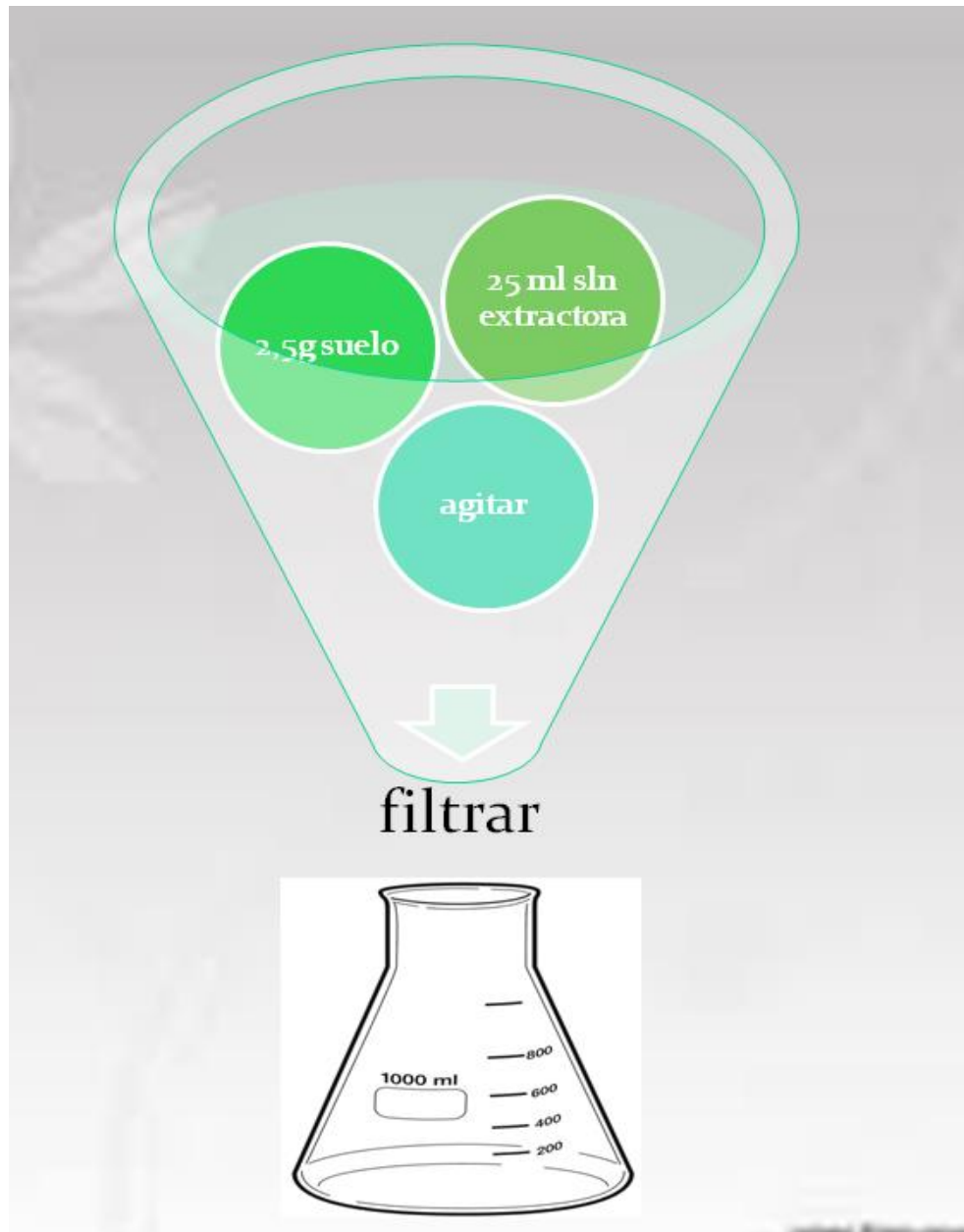


Figura 5: Tipos de curtidos según su composición

Fuente: Alzate, 2004

Preparación de las disoluciones para llevar al espectrofotómetro



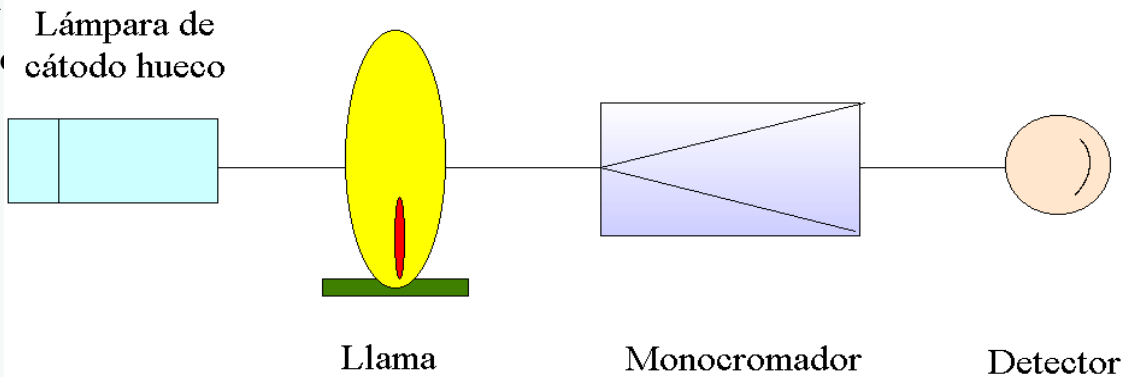
Preparación de las soluciones:

Para las muestras de Zinc (Zn) y Cobre (Cu), se coloca 2.5 g de suelo en un balón aforado y se adiciona 25 mL de solución extractora. Se agita a una velocidad lenta durante 10 min. Se filtra la solución usando papel de filtro Watman No. 45; este procedimiento se le realiza a 4 soluciones de diferente concentración cada una y se repite el procedimiento para cada uno de los elementos a determinar. (ICA; 1993)

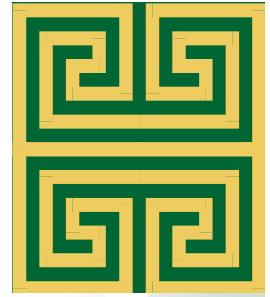
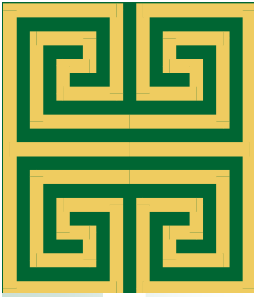
Para la preparación de la muestra de Cromo se realiza una digestión ácida con 9,8770 g de muestra y 5 mL de ácido nítrico al 65%, se coloca a temperatura de 40°C , se deja enfriar para filtrar y posteriormente se agrega 5 mL de cloruro de amonio al 2%. (ICA; 1993).

Lectura en la espectroscopia de absorción atómica: teniendo las soluciones

pr
at



Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica. Tomado de
<http://www.uned.es/094258/contenido/tecnicas/espectrosemision/emision.htm>



Identificación de las sales presentes en la muestra de suelo

Determinación de sulfatos: para hallar la curva de calibración se prepararan diluciones a partir de una solución de 100ppm de Na_2SO_4 con las siguientes concentraciones en ppm 10, 15, 20, 30 y 35.

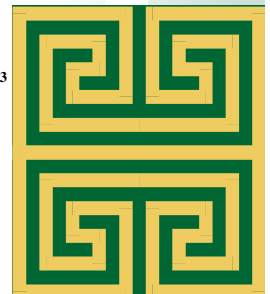
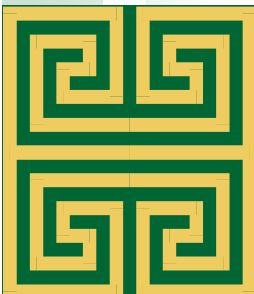
Se toman 25 mL de la muestra, luego se adicionan 2 mL de solución acondicionadora y algunos cristales de BaCl_2 , se agita utilizando un magneto durante 1 minuto; posteriormente se mide en un espectrofotómetro la absorbancia a 420 nm. (APHA, 1992)

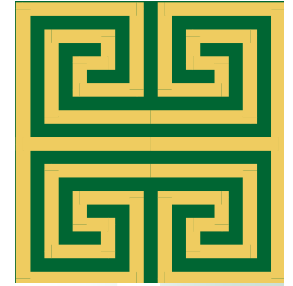
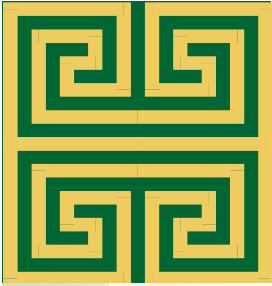
Determinación de nitratos: para hallar la curva de calibración se prepararan diluciones a partir de una solución de 100 ppm de KNO_3 , con las siguientes concentraciones en ppm 2, 4, 6, 8 y 10.

Se toman 10 mL de muestra, se agrega 3 mL de NaOH , hidróxido de sodio a 0.1 N y un mililitro de salicilato, este se somete a calentamiento hasta su evaporación y se deja enfriar. Luego se adiciona 2 mL de H_2SO_4 concentrado y se espera 10 minutos, después se agregan 15 mL de agua destilada y 15 mL de tartrato doble. Si ésta vira a un color amarillo indica que hay presencia de nitratos y se lleva a medir en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 420nm. (APHA, 1992).

Determinación de cloro: Se toman 5 mL de una solución de Fosfatos y 5 mL

licador DPD en un Erlenmeyer y luego se adiciona 25 mL
n con la muestra de suelo. Después se titula con $\text{FAS } 2,38 \times 10^{-3}$





Bioensayos

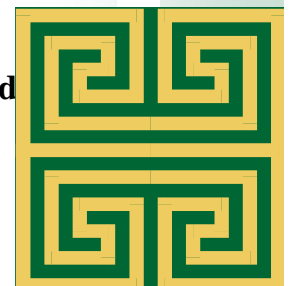
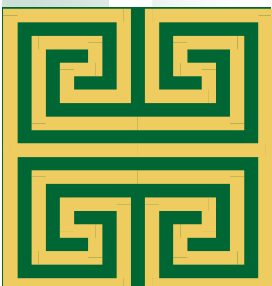
Para los bioensayos se siembra del microhongo *Mucor hiemalis*; en tubos de ensayo tapa rosca – posición inclinada utilizando el Medio de Cultivo Agar Extracto de Malta de composición g/L Extracto de Malta 20 g, Glucosa 20 g, Peptona 1 g, Agar 20, Cloranfenicol 0.05 g, y se dejan en incubadora a 25 °C por 8 días.

Inoculación del microhongo: el inóculo con el hongo *Mucor hiemalis*, se prepara utilizando agua destilada y esterilizada, se agregan 3 mL de esta a cada tubo de ensayo tapa rosca donde se encuentra hongo y con un asa se realiza un raspado del hongo, esta mezcla se agrega a un envase totalmente esterilizado y es de allí donde se obtiene el volumen necesario que se adiciona a cada dilución para el bioensayo. Se realiza conteo de esporangiosporas del hongo cada vez que se hace el procedimiento, utilizando la cámara de Neubauer.

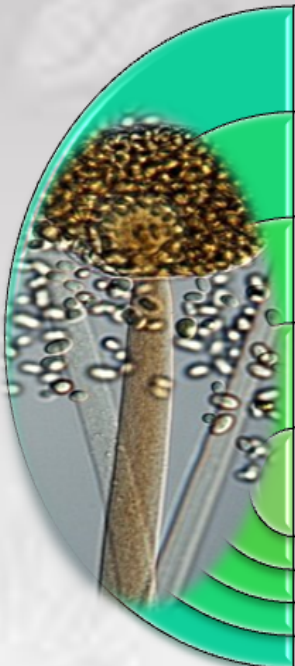
Para el análisis de la bioacumulación de los metales pesados por el hongo *Mucor hiemalis*; se tiene en cuenta la concentración del metal:

Variando la concentración de los metales pesados: se prepara un medio de cultivo líquido de 1000 mL que contiene 2,84g de fosfato ácido de potasio (KH_2PO_4), 2.12 g de cloruro de amonio (NH_4Cl), 0.2678 g de sulfato de sodio (Na_2SO_4), 0.756 g de nitrato de potasio (KNO_3), 2.12 g de cloruro de calcio hexahidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 0.2678 g de sulfato de magnesio (MgSO_4), 0,2678 g de sulfato de hierro y 20 g de levadura.

lo ya el caldo, se agrega en el Erlenmeyer cada uno con 100 mL d



Preparación de las cepas del hongo.

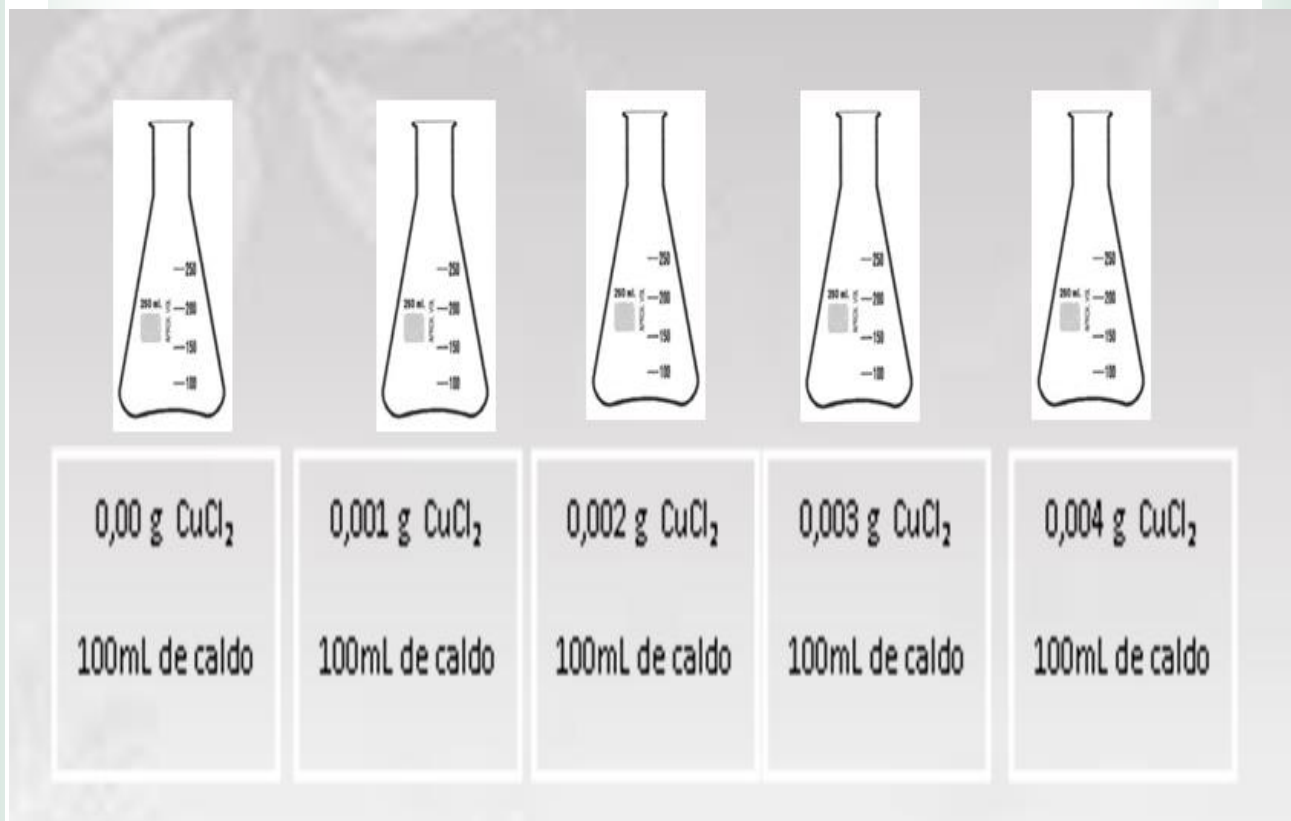


A petri dish containing a fungal culture on a slanted agar surface. The culture shows a dense, brownish, fuzzy growth at the top of the slant, with a clear zone of inhibition below it. The agar surface is marked with a grid of small squares.

20g extracto de malta
20 g glucosa
1 g peptona
20g agar
0,05g de cloranfenicol

25°C
8 días

Diluciones



Determinación biomasa peso seco del hongo



Contenido
de cada
Erlenmeyer

Filtración al
vacío

Papel filtro +
Biomasa del
Hongo

Se lleva a
un horno
durante 6
horas a 70
°C

Pesado del
papel filtro
con la
biomasa del
hongo

Bibliografía

Salazar W, APHA, Baretino, D. & Callaba, A, Campbell N, Reece J, Galán, H. & Romero, A, Greenpeace Research Laboratories, Gómez D, ICA, Jiménez M, H.M, Mier T, Toriello C, Ulloa M, Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial, Ruiz J, Soto C, Gutierrez S, Rey A, Gonzales E, Russi, O. A. I.

