

Evidencias del mecanismo de adsorción del cadmio divalente en *Lentinus edodes*

Resumen: El mecanismo de biosorción del cadmio (II) en grupos químicos activos del hongo *Lentinus edodes* en su forma natural, fue evaluado mediante el efecto de la fuerza iónica en la capacidad de adsorción, análisis FTIR y titulaciones potenciométricas. Se determinó que la biosorción de iones cadmio (II) en el adsorbente es un fenómeno principalmente de superficie, alcanzando una máxima capacidad de adsorción de 427 mg.g⁻¹ descrita por la isoterma de Langmüir, involucrando a los grupos químicos: carboxilo, hidroxilo, amino y fosfato que conforman la estructura del adsorbente bajo la forma de polisacáridos (i.e. lentinano) y péptidoglucanos. El principal mecanismo de adsorción de iones cadmio divalente es aparentemente intercambio iónico; sin embargo, la posibilidad de tamices moleculares no es descartada.

Palabras Clave: *Lentinus edodes*, fuerza iónica, intercambio iónico.

Introducción

El incremento de la actividad industrial ha intensificado los problemas de contaminación ambiental y el deterioro de diversos ecosistemas con la acumulación de muchos contaminantes, tales como metales pesados entre otros. Estos contaminantes son vertidos en el sistema acuático de una manera significativa como resultados de operaciones industriales. Generalmente, la polución por metales pesados proviene de los desechos de industrias dedicadas a manufactura de plásticos, fertilizantes, pigmentos, minería, metalurgia y curtiembre^[1,2]. La comunidad científica ha abogado ya muchos años y esfuerzos para el tratamiento y eliminación de metales pesados con el fin de combatir este problema.

El cadmio, el plomo y el mercurio han sido identificados como los metales pesados más tóxicos para los humanos y el ambiente. El cadmio, en particular, ha sido reconocido como altamente nocivo por sus efectos en el ambiente, debido a su capacidad de bio-acumularse en la cadena alimenticia^[3]. Actualmente, existen diversos métodos convencionales como resinas de intercambio iónico, electro-deposición, precipitación, floculación, etc. para eliminar metales pesados de aguas residuales pero que se encuentran a altas concentraciones^[4]. Lamentablemente, estas técnicas resultan caras e ineficientes a bajas concentraciones, donde el problema se hace más latente.

En respuesta a este problema, durante la década pasada, la bio-remediación ha sido vista como una solución tentativa, debido a su bajo costo y selectividad por metales pesados a bajas concentraciones. La eliminación de metales por biomasa muerta (biosorción) es más atractiva comparada al uso de células vivas (bioacumulación) debido a varias razones: el crecimiento y propagación de la biomasa pueden ser alteradas debido a la misma toxicidad del contaminante, a los cuidados que el crecimiento celular requiere y a la multiplicidad de mecanismos posibles^[5,6]. Es por ello que la biosorción constituye una vía tecnológica útil para la bioremediación de metales tóxicos de aguas de desechos.

El hongo *Lentinus edodes* proviene de Japón, donde se le



Karim P. Ramos
Yánac



Holger J.
Maldonado García



Bertha P. Llanos
Chang



Abel E. Navarro
Aliaga*

conoce como shiitake y es comúnmente vinculado a sus propiedades fisiológicas en el humano como resistencia ante virus y bacterias, inmuno-modulador, presenta actividad antitumoral y reduce los niveles de colesterol en sangre^[7]. A partir de una caracterización química completa, se ha encontrado que *Lentinus edodes* está compuesto de lípidos, principalmente ácidos oleicos y palmíticos, proteínas, carbohidratos, poli-alcoholes, polifenoles, etc. Por otro lado, un compuesto orgánico lentinano, ha sido identificado en el hongo mediante cromatografía gaseosa, encontrando, que está compuesto por glucosa y xilosa, los cuales constituyen el 99% de su superficie, conteniendo además ribosas, arabinosas y manosas en bajas proporciones^[8].

Por otro lado, el hongo *Lentinus edodes* ha sido estudiado anteriormente^[9], demostrando que es capaz de secuestrar y acumular metales pesados debido a que contiene biopolímeros de lenta biodegradación como celulosa, quitina, glucanos y otros polisacáridos como lentinano^[10]. Los estudios realizados han concentrado su atención en la determinación de parámetros de equilibrio para la optimización del equilibrio^[10,11] analizando factores externos como pH, temperatura, presencia de otros iones en disolución, concentración del metal y biosorbente, pero lamentablemente, muy pocos estudios reportan o brindan una explicación de estos fenómenos o la ventaja del uso de un biosorbente sobre otro, quedando numerosas preguntas sin resolver sobre el mecanismo por el cual un ión metálico se adsorbe en la superficie de un biosorbente proveniente de materiales de desechos. Con el propósito de escalar el proceso a otros niveles y ser usada como un proceso de descontaminar, es necesario el total conocimiento del mecanismo de adsorción, demostrado anteriormente, como eficiente a nivel discontinuo.

Materiales y Métodos

Acondicionamiento del Adsorbente

El hongo comestible *Lentinus edodes* seco y sin ningún tratamiento fue adquirido en un supermercado, antes de ser usado fue lavado varias veces con agua desionizada, secado en una estufa a 40°, molido, tamizado hasta obtener partículas de diámetro < 75µm y colocado en un desecador con sílica gel hasta el momento de ser utilizado.

Chemistry Department, Graduate School of Arts and Science,
New York University
24 Waverly Place, New York, NY, 10003, US.
C-e: aen234@nyu.edu
Recibido 19/07/2006. Aceptado 20/11/2006

Evidencias del mecanismo de adsorción del cadmio divalente en *Lentinus edodes*

Preparaciones de Disoluciones del Cadmio (II)

Se preparó una disolución stock de 1000 mg.L⁻¹ de iones cadmio (II) a partir de Cd(NO₃)₂·4H₂O de grado analítico (Merck) con agua desionizada por ósmosis reversa. Las disoluciones del cadmio, de concentraciones deseadas, se prepararon por dilución de la solución stock. El pH de las soluciones para el estudio de equilibrio fue ajustado a 4.6, demostrado anteriormente como valor óptimo^[12], con ácido nítrico 0.1M e hidróxido de sodio 0.1M utilizando el pHmetro Chem-Cadet 5986-25 Cole Parmer.

Propiedades Ácido-Básicas del Adsorbente

Se determinó la constante de acidez aparente del adsorbente mediante titulaciones potenciométricas. Se agregaron 4 gramos del hongo a 100mL de una disolución 0.1M de KCl con el fin de mantener una fuerza iónica estable. Se tituló la mezcla con una solución valorada 0.1N de KOH en el rango de pH de 2 a 12. Se mantuvo bajo constante burbujeo de nitrógeno durante la titulación para desplazar dióxido de carbono y oxígeno disuelto en la solución.

Análisis Espectroscópico por Infrarrojo (FT-IR)

Se obtuvieron espectros de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) del biosorbente antes y después de la exposición frente al ion metálico para analizar los cambios vibracionales de los grupos químicos. Se usó un espectrofotómetro FT-IR Nicolet modelo IMPACT 410, aplicándose el método de refractancia difusa. Previamente, las muestras fueron secadas, pulverizadas y peletizadas con KBr.

Isotermas de Adsorción

Se llevaron a cabo en procesos discontinuos por duplicado en frascos de polietileno a temperatura ambiente, bajo agitación orbital por 24 horas a 200 rpm. Se prepararon disoluciones de diversas concentraciones del metal y se pesaron diferentes masas de adsorbente. Por cada concentración de iones cadmio (II) se usó todos los diferentes pesos de adsorbentes. Tras alcanzar el equilibrio, cada muestra fue filtrada y se analizó la concentración del metal remanente en el filtrado mediante un espectrofotómetro de absorción atómica de llama Perkin Elmer 3110.

Efecto de la Fuerza Iónica

Considerando la concentración y masa de adsorbente que dan lugar a la máxima capacidad de adsorción, se realizaron pruebas de equilibrio a diferentes concentraciones de nitrato de sodio (NaNO₃) anhidro de grado analítico para estudiar el papel de la fuerza iónica en la capacidad de adsorción, relacionándola con el mecanismo del proceso. Se procedió con la misma metodología empleada para la determinación de isotermas de adsorción.

Evaluación de Datos

La cantidad de metal adsorbido fue calculado mediante:

$$q = \frac{V (C_i - C_f)}{m}$$

donde q es la capacidad de adsorción (mg de metal/ g de biosorbente), V es el volumen de la muestra (mL), C_i es la concentración inicial de metal en solución (mg.L⁻¹), C_f es la concentración en el equilibrio de la solución (mg.L⁻¹), y m es la cantidad de biosorbente seco. Se eligieron los modelos de adsorción por comparación a los datos experimentales:

a) Modelo de Langmüir,

$$q = \frac{q_{\max} b C_f}{1 + b C_f}$$

donde q_{\max} es la máxima capacidad de adsorción bajo las condiciones dadas, b es una constante relacionada con la afinidad entre adsorbente y adsorbato.

b) Modelo de Freundlich,

$$q = k C_f^{(1/n)}$$

donde k y n son las constantes de Freundlich.

Resultados y Discusión

Isotermas en el Mecanismo de Adsorción

Estudios de equilibrio han sido anteriormente explicados por nuestro grupo^[13,14], resumiéndose en la Figura 1 y en la Tabla 1 para el hongo *Lentinus edodes*. Desde el punto de vista de equilibrio, las isotermas se podrían interpretar como una máxima capacidad de adsorción alcanzada con 10mg de adsorbente con 200 mg.L⁻¹ del ion metálico como concentración inicial. Considerando el mecanismo de adsorción, se observa claramente que el proceso se ajusta a las teorías de Langmüir y Freundlich alcanzando valores de q_{\max} de 427 mg.g⁻¹ con isotermas favorables con valores de $n > 1$ ^[15]. Estos resultados indican que la adsorción se produce por monocapas, en una superficie energéticamente mixta, existiendo interacciones entre los adsorbatos, como indican las teorías de Langmüir y Freundlich^[16].

Fuerza Iónica en el Mecanismo de Adsorción

La capacidad de adsorción está vinculada a diversas interacciones electrostáticas (ion-ion, complejación, intercambio iónico, etc) entre el adsorbato y el adsorbente. Dichas inter-

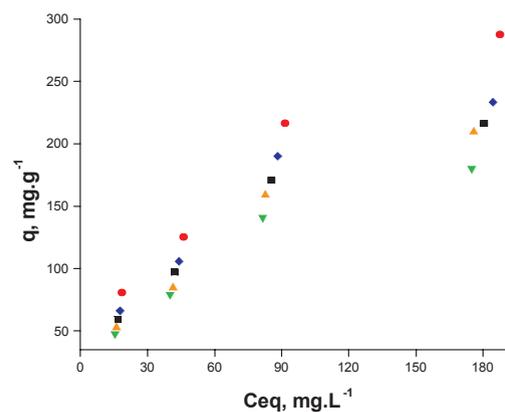


Figura 1. Isotermas de Equilibrio a pH 4.6. (●) 10 mg, (◆) 15 mg, (■) 20 mg, (▲) 25 mg, (▼) 30 mg.

Tabla 1. Análisis de Regresión Lineal de las Isotermas de Adsorción

Masa de Adsorbente (mg)	Parámetros de equilibrio y regresión para las isotermas de adsorción			
	Langmüir		Freundlich	
	q_{\max}	R^2	N	R^2
10	426.99	0.971	1.75	0.987
15	336.70	0.972	1.77	0.972
20	312.40	0.979	1.77	0.979
25	323.31	0.954	1.65	0.968
30	260.48	0.997	1.75	0.980

acciones coulómbicas dependen fuertemente del ambiente electrostático, el cual puede definir la existencia de la interacción. La presencia de otros iones en disolución compiten con el ion metálico por los sitios activos, de allí la importancia del estudio.

Es sabido que los dos mecanismos de adsorción más conocidos son complejación e intercambio i nico^[17]. Por otro lado, una gran disminución en la capacidad de adsorción debido al incremento de fuerza iónica puede deberse al fuerte apantallamiento de iones intercambiables, en este caso, los centros activos del adsorbente son rodeados fuertemente de cargas positivas y probabilisticamente ante la mayor concentración de iones sodio, la capacidad de adsorción del metal pesado disminuye. Si bien la estabilidad de compuestos de coordinación depende de la fuerza iónica, no lo es en tanta intensidad como el intercambio iónico, ya que los iones del grupo IA de la Tabla Periódica no forman complejos estables^[17] siendo mejor conocidos como iones espectadores. Por lo tanto, de presentar un mecanismo por complejaci n^[18] el efecto de iones como sodio en altas concentraciones en la capacidad de adsorción debería ser despreciable. En cambio en un mecanismo por intercambio iónico, el apantallamiento de cargas disminuye la adsorción, como se muestra en la Figura 2.

Análisis Espectroscópico por FTIR

El espectro FTIR del biosorbente antes y después de ser expuesto a la disolución del cadmio (II) se muestra en la

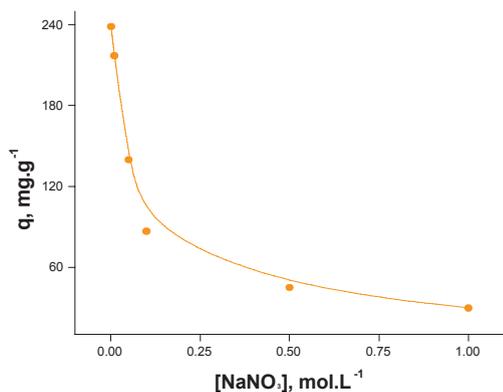


Figura 2. Efecto de la fuerza iónica (pH 4.6, 10 mg de adsorbente, 200mg L⁻¹ de iones cadmio)

Figura 3. Del espectro, se demuestra la presencia de grupos funcionales con alta capacidad de adsorción como fosfatos, amidos, aminos, hidroxilos, propios de la pared celular del reino fungi^[19]. Picos importantes en cm⁻¹ asignados del espectro, lo constituyen las bandas a 3452 correspondiente a la tensión NH₂^[19], de 3000 a 3700 debida a la tensión OH^[20], 1655 debida a la tensión CO amida^[16,21], a 1128 debida a la tensión P=O^[16] y a 2925 correspondiente a la banda t pica grupos CH^[21]. La presencia de proteínas se demuestra por la deformación NH conjugada a la forma C=N, llamada banda amida III^[22], localizada entre 1550 y 1590 cm⁻¹.

Comparando ambos espectros no existen cambios radicales en las intensidades de los picos característicos, lo cual indica un posible mecanismo por intercambio iónico, ya que el desplazamiento de un ion por otro genera prácticamente el mismo espectro. Por citar algunos cambios importantes serían la banda a 1655 y la diferenciación de la banda a 1542cm⁻¹ señalada anteriormente correspondiente a grupos de amidas de proteínas. Es de esperarse que de tratarse del rígido enlace amida, el intercambio de un ion monovalente (Na⁺, K⁺ o H⁺) por el ion cadmio divalente, altera la orientación del grupo funcional y por ende el momento dipolar del enlace, reflejado en el IR. Ligeros cambios en las bandas a 3452 y 1128 podrían deberse a la orientación del grupo funcional debido al tamaño y carga del nuevo ion intercambiado. Otros tipos de mecanismos darían lugar a cambios más sustanciales en el FTIR como desplazamientos batocr micos, hipocrómicos en las bandas y aparición de nuevas bandas debido a la relación ligando/ion pesado así como dependencia del número de coordinación del complejo formado.

Cabe resaltar, el cambio en la banda a 2925 cm⁻¹ correspondiente a grupos CH, el cual no debería alterarse, ya que dichos grupos no son conocidos como centros de adsorción debido a su carencia de pares de electrones libres que puedan atraer cationes met licos. Interpretamos que este cambio vibracional podría atribuirse a cambios conformaciones de las cadenas de polisacáridos.

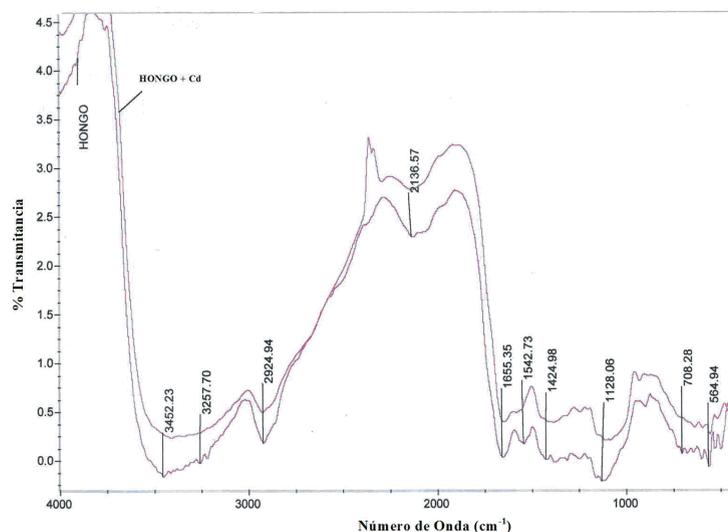


Figura 3. Espectro FT-IR del hongo *Lentinus edodes* antes (HONGO) y después (HONGO + Cd) de su exposición de iones cadmio (II).

Evidencias del mecanismo de adsorción del cadmio divalente en *Lentinus edodes***Propiedades  cido-Básicas del Adsorbente**

La identificaci3n de grupos ionizables de un adsorbente es de suma importancia porque permite predecir los tentativos grupos químico responsables de la adsorción y analizar su capacidad quelante o de intercambio de iones. Como se observa en la Figura 4, la titulaci3n potenciométrica del adsorbente muestra dos puntos de inflexi3n, una alrededor pH 4-5 y otra alrededor pH 7-8, los cuales pueden ser atribuidos a grupos tales como ácido carboxilico y amino, respectivamente^[22] catalogados como ácidos débiles. Si bien el análisis FTIR no elucida claramente la presencia de carboxilato en el adsorbente, es sabido^[21] que absorbe débilmente en el rango 1450-1550 cm⁻¹ pudiendo confundirse con la banda amida II mencionada anteriormente. El contenido proteico del hongo *Lentinus edodes* ha sido analizado^[9], verificándose su presencia tanto por FTIR y por titulaci3n, ya que el pK_a de los grupos ionizables coincide con sus propiedades químicas. Desafortunadamente el grupo OH no es ionizable a las condiciones de titulaci3n, por lo que no se puede determinar su contribuci3n a la adsorción desde este punto de vista.

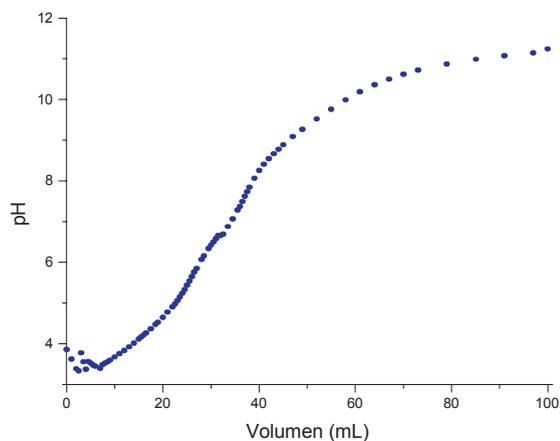


Figura 4. Curva de titulaci3n potenciométrica del hongo *Lentinus edodes* (0.1N KCl, 25 ). Titulante: 0.1N KOH.

La titulaci3n concuerda completamente con los resultados de equilibrio^[12], el cual indica un pH 3ptimo de adsorción del valor de 4.6, pH al cual los grupos carboxilo se encuentran desprotonados y aptos para la adsorción de cationes met licos. Si bien el adsorbente en el rango de pH 7-8 también presenta grupos funcionales capaces de adsorber iones met licos (grupos amino de proteínas, quitina y polifenoles substituidos); el ion cadmio se encuentra rodeado por moléculas de agua y iones hidroxilo formando aquo e hidroxilo complejos impedidos estéricamente a pH mayores de 5.5 debido al incremento de la concentraci3n de iones hidroxilo en disoluci3n acuosa y a la acidez de Lewis del cadmio (II), imposibilit ndose su adsorción^[23] y fácil acceso a estos sitios activos.

  Tamices Moleculares en *Lentinus edodes*?

El hongo *Lentinus edodes*, posee dicho nombre debido al compuesto orgánico lentinano, que se encuentra en su composici3n. (Figura 5) El lentinano es un polisacárido de poli β -1,3-D-glucosa con ramificaciones 2- β -1,6 glucopiranosil cada 5 uniones lineales β -1,3^[24] que es insoluble en agua y estable en soluci3n acuosa, dándole la característica de ser un buen

biosorbente para eliminar iones met licos t3xicos. La capacidad de adsorción del lentinano, no s3lo se debería a la presencia de grupos hidroxilos, carboxilo y proteicos que posee en su conformaci3n, sino también a su estructura tridimensional de triple hélice con una cavidad central ideal para la formaci3n de quelatos (ver Figura 6) que deja expuestos los grupos hidroxilos tanto en la superficie como en el interior de la triple hélice. Sugerimos que el mecanismo de adsorción consistiría también en la fijaci3n de iones met licos en la superficie del polisacárido por intercambio i3nico y una tentativa y posterior penetraci3n dentro de la triple hélice al estilo de tamiz molecular, lo cual podría ratificarse por los cambios vibracionales de la banda t pica CH en el espectro FTIR (Figura 3).

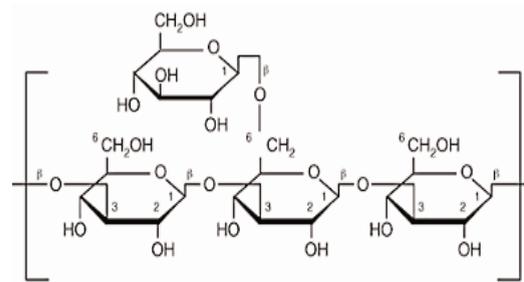


Figura 5. Estructura bidimensional del Lentinano.

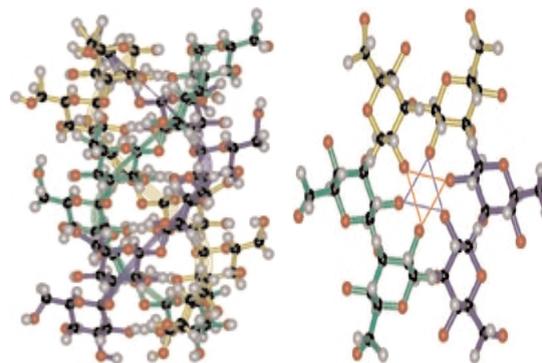


Figura 6. (Derecha) Corte trasversal del lentinano mostrando la cavidad central. (Izquierda) Estructura tridimensional del lentinano.

Conclusiones

Este trabajo propone al intercambio i3nico como principal mecanismo de adsorción del ion cadmio (II) en el hongo *Lentinus edodes*. Las isotermas de Langmüir y Freundlich indican un fen3meno de superficie principalmente por monocapas, en una superficie energéticamente mixta, existiendo interacciones entre los adsorbatos. El análisis FTIR antes y después de exponer al adsorbente ante el ion metálico muestran ligeras variaciones propias de un intercambio i3nico y se sugiere un potencial mecanismo adicional de tamiz molecular mediante su componente principal lentinano, el cual consiste cadenas polisacáridas que forman una triple hélice. Las titulaciones potenciométricas indican la presencia de ácidos débiles como carboxilo y proteína con pK_a entre 4-5 y 7-8 respectivamente. La presencia de iones espectadores como sodio, disminuye grandemente la capacidad de adsorción verificando el mecanismo de intercambio debido al apantallamiento de cargas y competencia por grupos activos del adsorbente. Los presentes resultados y elucidaci3n del meca-

nismo de adsorción, darán lugar a una optimización del proceso, potencialmente automatizado mediante un debido escalamiento a nivel columnas para maximizar el rendimiento.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado por el Fondo Concursable para Apoyo a la Investigación en la UPCH 2005. Esta investigación se realizó dentro del Convenio Franco-Peruano Raúl Porras Barrenechea suscrito entre la Universidad Minas D'Ales de Francia y la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Asimismo se agradece al Laboratorio de Investigación y Desarrollo de la UPCH por las facilidades brindadas y a Rodney Versace, Anne Young y David Blanco por sus importantes comentarios.

Bibliografía

- [1] A. Saeed, MW. Akhter, M. Iqbal, *Sep. & Pur. Technol.*, **2005**, *45*, 25–31.
- [2] F. Luo, Y. Liu, X. Li, Z. Xuan, J. Ma, *Chemosphere*, **2006**, en prensa.
- [3] Cadmium, Environmental Aspects (Eds.: The World of Health Organization), WHO, Finland, 1992.
- [4] E. Reyes, F. Cerino, M. Suárez, *Ingenierías*, **2006**, *IX*, *31*, 59–64.
- [5] R. Ashkenazy, L. Gottlieb, S. Yannai, *Biotechnol & Bioeng.*, **1997**, *55*, *1*, 1–10.
- [6] G. Chen, G. Zeng, X. Tu, C. Niu, G. Huang, W. Jiang, *J. Hazard. Mater.*, **2006**, *135*, (1–3), 249–255.
- [7] The potential of fungi used in traditional Chinese medicine: shiitake (*Lentinula edodes*). Se encuentra en http://www.world-of-fungi.org/Mostly_Medical/Dawn_Soo/Dawn_Soo_SSM.htm
- [8] U. Tomati, M. Belardinelli, E. Galli, V. Iori, D. Capitani, L. Mannina, S. Viel, A. Segre, *Carbohydr. Res.*, **2004**, *339*, 1129–1134.
- [9] T. Mathialagan, T. Viraraghavan, D. Cullimore, *Water. Qual. Res. J. Canada*, **2003**, *38*, *3*, 499–514.
- [10] M. Horsfall, A. Spiff, *Afr. J. Biotechnol.*, **2005**, *4*, *2*, 191–196.
- [11] P. Lodeiro, J. Barriada, R. Herrero, M. Sastre de Vicente, *Environ. Pollut.*, **2006**, *142*, *2*, 264–273.
- [12] AE. Navarro, K. Ramos, K. Campos, H. Maldonado, *Rev. Iberoamer. Polim.* **2006**, *7*, *2*, 113–126.
- [13] J. Flores, AE. Navarro, K. Ramos, L. Chang, N. Alé, M. Ly, H. Maldonado, *Rev. Soc. Quím. Perú.*, **2005**, *71*, *1*, 17–25.
- [14] D. Blanco, B. Llanos, N. Cuizano, H. Maldonado, AE. Navarro, *Rev. Soc. Quím. Perú.*, **2005**, *71*, *4*, 237–245.
- [15] YS. Yun, B. Volesky, *Environ. Sci. Technol.*, **2003**, *37*, *16*, 3601–3608.
- [16] M. Loukidou, K. Matis, A. Zouboulis, M. Liakopoulou, *Water Res.*, **2003**, *37*, 4544–4552.
- [17] A. Ariff, M. Hasan, M. Mel, M. Karim, *World J. Microbiol. & Biotechnol.*, **1999**, *15*, 291–298.
- [18] L. Philip, L. Iyengar, C. Venkobachar, *Water, air & Pollut.*, **2000**, *119*, 11–21.
- [19] M. Arica, G. Bayramoglu, M. Yilmaz, S. Bektas, Ö Genc, *J. Hazard. Mater.*, **2004**, *109*, 191–199.
- [20] C. Texeira, M. Zezzi, *Chemosphere*, **2004**, *54*, *7*, 987–995.
- [21] G. Naja, C. Mustin, J. Berthelin, B. Volesky, *J. Colloid. Interface Sci.*, **2005**, *292*, *2*, 537–543.
- [22] J. Domszy, G. Roberts, *Makromol Chem.*, **1985**, *186*, 1671–1677.
- [23] AE. Navarro, K. Ramos, K. Campos, B. Llanos, H. Maldonado, *Revista de Química*, **2005**, *XIX*, *2*, 53–59.
- [24] N. Ohno, Y. Emori, T. Yadomae, *Carbohydr. Res.*, **1990**, *207*, 311–318.

8th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations

8-13 July 2007, Oviedo (Spain)



CONTACT INFORMATION BIOTRANS 2007

Secretariat

Departamento de Química Orgánica e Inorgánica
Facultad de Química
Universidad de Oviedo
Avenida Julián de Clavería, 8
33006-Oviedo (Asturias) SPAIN
Fax: +34 985 103 448
C-e: biotrans2007@fq.uniovi.es

The 8th edition of *Biotrans Symposium* will take place from 8 to 13 July 2007 in Oviedo (Spain). This International Conference will involve the participation of experts in different areas of Biocatalysis to create a multi-disciplinary atmosphere stimulating the exchange of knowledge between participants.