

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



**ESTUDIO DEL PROCESO DE SORCION DE Pb(II),  
Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) POR BIOMASA  
DEL ALGA *Chlorella* sp AISLADA DE EFLUENTES  
INDUSTRIALES**

POR

OSCAR MAR GAMEZ

CD. UNIVERSITARIA

2004



TL  
QR92  
M45  
M37  
2004  
c.1



1080171452

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

## FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Q.F.B. EMILIA TRUJANO VÁZQUEZ FARIAS

DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

La Tesis elaborada por el Sr.

ESTUDIO DEL PROCESO DE SORCIÓN DE Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) POR BIOMASA INDUSTRIALES.



NI(II), Zn(II) POR BIOMASA AISLADA DE EFLUENTES INDUSTRIALES.

Ha sido aceptada como requisito parcial para optar el título de Químico Farmacéutico Biólogo

ESTUDIO DEL PROCESO DE SORCIÓN DE Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) POR BIOMASA DEL ALGA *Chlorella* sp AISLADA DE EFLUENTES INDUSTRIALES.

ASESOR DE TESIS

CO-ASESOR DE TESIS

POR:

OSCAR MAR GÁMEZ

M.C. María Elena Casas Cárdenas  
SECRETARIO  
COMITÉ DE TESIS

M.C. Evangelina Rosales Lara  
VOCAL  
COMITÉ DE TESIS





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**Q.F.B EMILIA EDITH VÁZQUEZ FARIÁS**

**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

La Tesis elaborada por el Sr. Oscar Mar Gámez titulada:

**ESTUDIO DEL PROCESO DE SORCIÓN DE Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) POR BIOMASA DEL ALGA *Chlorella* sp AISLADA DE EFLUENTES INDUSTRIALES.**

Ha sido aceptada como requisito parcial para optar al título de Químico Farmacéutico Biólogo

**M.C. María Teresa Garza González**  
ASESOR DE TESIS

**M.C. Martha Alicia Suárez Herrera**  
CO-ASESOR DE TESIS

**Dra. Aracely Hernández Ramírez**  
PRESIDENTE  
COMITÉ DE TESIS

**M.C. María Elena Cantú Cárdenas**  
SECRETARIO  
COMITÉ DE TESIS

**M.C. Evangelina Ramírez Lara**  
VOCAL  
COMITÉ DE TESIS

## *Agradecimientos*

*Deseo agradecer profundamente a la casualidad que la vida me otorgó al haberme puesto en un hogar maravilloso al nacer, el cual recuerdo ahora de manera nostálgica. Sin el apoyo en todo sentido de mis padres y hermanas, el placer cotidiano de vivir sería simple monotonía. Es difícil imaginar cómo sería el andar cotidiano sin recordar su comprensión, su apoyo inmenso y su amor. Gracias a mis padres Erasto y Adela, hermanas Blanca, Nora y Celia y mi abuela Flavia por compartir y dedicar gran parte de sus vidas conmigo y por darme aliento para la ardua tarea de caminar hacia la perspectiva de un nuevo día, de verdad serán inolvidables.*

*A mis tíos Tano y Estela y mis primos Sergio, Israel y Sonia, por su adopción todo este tiempo, por el apoyo y cariño que me brindaron, sin esperar nada a cambio.*

*De gran aprendizaje resultó para mí que la realización de esta Tesis no haya tenido resultados inmediatos; muy por el contrario, en ocasiones no encontraba la llave mágica que abre las puertas hacia el camino de las soluciones. Gracias a mi asesora MC Ma Teresa Garza González, por sus sabios consejos e infinita paciencia y ayuda en este trabajo.*

*Gracias también a MC Martha Suárez Herrera, co-asesora de Tesis, por la revisión de este trabajo sus conocimientos y por haber sembrado en mí la semilla de la investigación.*

*Sin lugar a duda este trabajo no pudo haberse realizado sin la formación que recibí durante cinco años en la Facultad de Ciencias Químicas (U.A.N.L.). Gracias a todos los maestros que contribuyeron realmente en mi formación, por todos sus consejos, sus clases, su paciencia y su amistad como persona.*

*Quiero dar las gracias a la gente que revisó con paciencia este trabajo, los miembros del Comité de Tesis: Dra Araceli Hernández Ramírez, MC Ma. Elena Cantú Cárdenas y MC Evangelina Ramírez Lara.*

*Al Programa de Apoyo a la Investigación Científica PAICYT 2002 CN-728-02*

*Será difícil olvidar los maravillosos momentos en el laboratorio de Biotecnología del Centro de Laboratorios Especializados. Gracias a Fabiola, Erick, Karool, Magaly, Jeannette, Rocío, Gaby y todos los que aparecían de manera espontánea, por haber compartido esos formidables momentos.*

*Por último quiero dar las gracias a todos aquellos que me han devuelto una sonrisa, a todos aquellos que han puesto de su parte para que el trajín diario sea más llevadero y muy en especial a la vida que, me ha dado tanto...*

## RESUMEN

Gran parte de los residuos industriales contienen comúnmente metales pesados, como: plomo, cobre, zinc, cadmio, níquel, mercurio, arsénico, cromo, entre otros, y estos no son biodegradables, y además son bioacumulables, lo cual pone en peligro la biodiversidad y la vida humana.

Debido a esto, y a su valor comercial existe un gran interés para la remoción y recuperación de los metales pesados de los efluentes contaminados, utilizando técnicas que en ocasiones son tóxicas para el ambiente.

Esto, estimula la búsqueda de métodos alternativos que sean más amigables al ambiente y con menor costo que los procesos ya existentes.

Se sabe que algunos microorganismos son capaces de retener iones metálicos en su pared celular (bioadsorción) o introducen estos iones a su citoplasma (bioabsorción), lo cual hace posible la utilización de biomasa viva o muerta, libre o inmovilizada como material biosorbente de metales, siendo muy atractiva esta técnica desde el punto de vista económico, ecológico y tecnológico.

El presente trabajo se realizó con el fin de determinar la posible utilización de biomasa de un alga aislada de efluentes industriales que fue identificada como *Chlorella* sp, como material biosorbente de metales pesados entre los que se encuentran: Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II), así como la determinación de los posibles grupos funcionales a los que se une el metal a la pared de alga.

Se encontró que la resistencia del alga hacia los metales se encuentra en el siguiente orden:  $Zn^{+2} > Pb^{+2} > Ni^{+2} > Cd^{+2} > Cu^{+2} = Cr^{+6}$ , así mismo se determinó que la afinidad de los metales en la biomasa del alga fue:  $Pb^{+2} > Cr^{+6} > Cu^{+2} > Cd^{+2} > Ni^{+2} > Zn^{+2}$ .

Se prepararon aguas modeladas con mezclas binarias, ternarias y una mezcla de los seis metales de estudio, y se encontró que existe competencia de los metales por los sitios de unión a la biomasa.

Los sitios de unión del metal a la biomasa, son principalmente grupos que contienen hidrógeno.

Para la determinación de la concentración de metal en solución, se utilizó la técnica de Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA), y para la determinación de los posibles sitios de unión al metal, se utilizó la Espectroscopía de Infrarrojo (IR).

Los resultados obtenidos de este trabajo revelaron que el sistema microbiano estudiado es una buena alternativa para utilizarse en el tratamiento secundario de aguas residuales.

## TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
II. HIPÓTESIS	11
III. OBJETIVOS	12
3.1. Objetivo General	12
3.2. Objetivos Específicos	12
IV. METODOLOGÍA	
4.1. Material, Reactivos y Equipos	13
4.2. Origen de la muestra	15
4.3. Aislamiento de algas	15
4.4. Identificación de algas	16
4.5. Determinación del comportamiento de la cepa a la presencia de cada uno de los seis metales de estudio	16
4.6. Procedimiento del conteo directo de células	17
4.7. Procedimiento de medición de la concentración de metal por Espectroscopía de Absorción Atómica	18
4.8. Producción de biomasa	19
4.9. Determinación de la capacidad de sorción Q(mg metal/g biomasa)	20
4.10. Influencia de la concentración de biomasa sobre la sorción de los metales	20
4.11. Cinética de sorción	20
4.12. Biosorción en aguas modeladas	21
4.13. Determinación de los posibles sitios de unión Metal-Biomasa	21
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
5.1. Aislamiento e identificación de las algas	23
5.2. Producción de la biomasa de <i>Chlorella</i> sp	24
5.3. Estudio del crecimiento del alga en presencia de cada uno de los seis metales de prueba	25
5.4. Determinación de la capacidad de sorción de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) (Q mg metal/ g biomasa) del alga <i>Chlorella</i> sp	27
5.5. Cinética de sorción de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) por biomasa del alga <i>Chlorella</i> sp	28
5.6. Influencia de la concentración de biomasa del alga <i>Chlorella</i> sp sobre la sorción de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II)	31
5.7. Efecto de la mezcla binaria, ternaria y de los seis metales sobre la capacidad de sorción de <i>Chlorella</i> sp	32
5.8. Determinación de los posibles sitios de unión del metal a la biomasa de <i>Chlorella</i> sp	41

<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>44</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	<b>45</b>
<b>VIII. ANEXOS</b>	<b>46</b>
<b>IX. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>54</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
Tabla 1. Nivel de afectación y riesgo ambiental de algunos metales pesados	1
Tabla 2. Composición del Medio de Cultivo BG 11	15
Tabla 3. Composición de las Trazas de Metales	16
Tabla 4. Preparación de la Curva de Calibración de Pb(II)	18
Tabla 5. Preparación de la Curva de Calibración de Cr(VI)	18
Tabla 6. Preparación de la Curva de Calibración de Ni(II)	18
Tabla 7. Preparación de la Curva de Calibración de Cd(II)	19
Tabla 8. Preparación de la Curva de Calibración de Cu(II)	19
Tabla 9. Preparación de la Curva de Calibración de Zn(II)	19
Tabla 10. Mezclas sintética de los metales Pb(II), Cr(VI), Ni(II), Cd(II), Cu(II), Zn(II)	21
Tabla 11. Efecto de la Presencia de los metales Pb(II), Cr(VI), Ni(II), Cd(II), Cu(II), Zn(II) en el crecimiento del alga <i>Chlorella</i> sp en medio BG11 fortificado	25
Tabla 12. Sorción de metal a una concentración residual de $10\text{mg L}^{-1}$ ( $Q_{10}$ ) y $Q$ máxima	27
Tabla 13. Efecto de la variación de metal sobre la capacidad de sorción de biomasa del alga <i>Chlorella</i> sp en mezclas de metales	33

## INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Características macroscópicas y microscópicas del alga <i>Chlorella</i> sp	23
Figura 2. Efecto de la adición de Bioenergizer en diferentes concentraciones al medio BG11 sobre la cinética de crecimiento del alga <i>Chlorella</i> sp	24
Figura 3. Curva de Crecimiento del alga <i>Chlorella</i> sp en medio BG11 fortificado en presencia de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II).	26
Figura 4. Isotermas de Sorción del alga <i>Chlorella</i> sp	27
Figura 5. Cinética de sorción de Cr (VI) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	28
Figura 6. Cinética de sorción de Cu (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	29
Figura 7. Cinética de sorción de Pb (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	29
Figura 8. Cinética de sorción de Zn (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	30
Figura 9. Cinética de sorción de Cd (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	31
Figura 10. Cinética de sorción de Ni (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	31
Figura 11. Efecto de la concentración de biomasa de <i>Chlorella</i> sp sobre la capacidad de sorción de Pb(II), Cr(VI), Ni(II), Cu(II) y Cd(II)	32
Figura 12. Sorción en una mezcla de Pb(II) y Cr(VI), a pH 4, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	37
Figura 13. Sorción en una mezcla de Pb(II) y Cr(VI), a pH 2, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	37
Fig 13. Sorción en una mezcla de Pb(II) y Cr(VI), a pH 2, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	37
Figura 15. Sorción en una mezcla de Pb(II) y Ni(II), a pH 4, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	38
Figura 16. Sorción en una mezcla de Cu(II) y Zn(II), a pH 4, utilizando biomasa de <i>Chlorella</i> sp	38

Figura 17. Sorción en una mezcla de Cu(II), Pb(II) y Ni(II), a pH 4, utilizando biomasa de <i>Chlorella sp</i>	38
Figura 18. Sorción en una mezcla de Cu(II), Cd(II) y Pb(II), a pH 4, utilizando biomasa de <i>Chlorella sp</i>	39
Figura 19. Sorción en una mezcla de Ni(II), Cr(VI) y Zn(II), a pH 4, utilizando biomasa de <i>Chlorella sp</i>	39
Figura 20. Sorción en una mezcla de Ni(II), Zn(II) y Cr(VI) a pH 2, utilizando biomasa de <i>Chlorella sp</i>	39
Figura 21. Sorción en una mezcla de Zn(II), Cd(II) y Cr(VI), a pH 4, utilizando biomasa de <i>Chlorella sp</i>	40
Figura 22. Sorción en una mezcla de Zn(II), Cd(II) y Cr(VI), a pH 2, utilizando biomasa de <i>Chlorella sp</i>	40
Figura 23. Sorción en una mezcla de los seis metales, a pH 4, utilizando biomasa de <i>Chlorella sp</i>	40
Figura 24. Sorción en una mezcla de los seis metales, a pH 2, utilizando biomasa de <i>Chlorella sp</i>	41
Figura 25. Espectro de Infrarrojo de biomasa de <i>Chlorella sp</i> antes (B) y después de la sorción de Cr (VI) (B-Cr)	41
Figura 26. Espectro de Infrarrojo de biomasa de <i>Chlorella sp</i> antes (B) y después de la sorción de Cu (II) (B-Cu)	42
Figura 27. Espectro de Infrarrojo de biomasa de <i>Chlorella sp</i> antes (B) y después de la sorción de Pb (II) (B-Pb)	42
Figura 28. Espectro de Infrarrojo de biomasa de <i>Chlorella sp</i> antes (B) y después de la sorción de Zn (II) (B-Zn)	43

**ABREVIATURA****SIGNIFICADO**

°C	Grados Celsius
Fig	Figura
g	Gramos
h	Hora
mg	Miligramos
L	Litros
ml	Mililitros
ppm	Partes por Millón
Pag.	Página
pH	Logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno
Cr	Cromo
Pb	Plomo
Cd	Cadmio
Ni	Níquel
Cu	Cobre
Zn	Zinc
IR	Infra Rojo
EAA	Espectroscopía de Absorción Atómica
EPA	Environmental Protection Agency

## I. INTRODUCCIÓN

México es un país que se caracteriza por una enorme concentración de población en grandes metrópolis o ciudades medias, así como por una fuerte dispersión del resto de los habitantes en comunidades rurales distribuidas por toda la República, las cuales presentan altos grados de marginación, es decir, seres humanos que no tienen acceso a los beneficios del desarrollo alcanzado por el país en el que viven.

El acelerado crecimiento demográfico, particularmente en la década de los años 50 y 60, acompañado de grandes migraciones internas, principalmente hacia las metrópolis como las ciudades de México, Guadalajara y Monterrey, el desarrollo industrial y el establecimiento de centros maquiladores en el norte de la República, han sido en buena parte causas del fuerte deterioro ambiental del que ahora somos víctimas los mexicanos.

Hace muchos años, cuando había menos población y pocas industrias, los desechos que llegaban a los lagos y a los ríos eran escasos y la propia naturaleza podía hacerse cargo de los contaminantes; es decir, las bacterias presentes en el agua transformaban los residuos y así el agua se depuraba. Actualmente, los altos índices demográficos y la gran cantidad de industrias y fábricas hacen imposible a la naturaleza la tarea de eliminar una enorme cantidad de impurezas<sup>1</sup>.

Algunas industrias como: Petroquímica, Pinturas y Pigmentos, Metalúrgica, Química, Minera, generan metales pesados en sus efluentes lo cual es un riesgo para la salud y pone en peligro la biodiversidad de los ecosistemas.

Por otro lado, la demanda de los metales para uso industrial ha conducido a una sobre explotación de los recursos naturales como se muestra en la siguiente tabla<sup>2</sup>.

Tabla 1. Nivel de afectación y riesgo ambiental de algunos metales pesados

Prioridad Relativa	Riesgo Ambiental	Agotamiento de Reservas	Factores Combinados
Alto	Cd	Cd	Cd
	Pb	Pb	Pb
	Hg	Hg	Hg
	--	Zn	Zn
Medio	--	Al	--
	Cr	--	--
	Co	Co	Co
	Cu	Cu	Cu
	Ni	Ni	Ni
Bajo	Al	--	Al
	--	Cr	Cr
	Fe	Fe	Fe

## METALES TÓXICOS

Metales tan conocidos y utilizados como plomo, cadmio, níquel, cromo, cobre, aluminio, etc., son sustancias tóxicas, tanto en su forma iónica como combinada. Muchos de estos elementos son micronutrientes necesarios para la vida de los seres vivos y deben ser absorbidos por las raíces de las plantas o formar parte de la dieta de los animales, pero

cuando por motivos naturales o por la acción del hombre se acumulan en los suelos, las aguas o los seres vivos en concentraciones altas se convierten en tóxicos peligrosos<sup>3</sup>.

En los países desarrollados la contaminación con el plomo procedente de los tubos de escape de los vehículos ha sido un importante problema, aunque desde hace unos años se está corrigiendo con el uso de gasolina sin plomo. También la contaminación en los alrededores de las grandes industrias metalúrgicas y siderúrgicas puede alcanzar niveles muy altos y desechos tan frecuentes como algunos tipos de pilas pueden dejar en el ambiente cantidades dañinas de metales tóxicos, si no se recogen y tratan adecuadamente<sup>3</sup>.

## NÍQUEL

El níquel se encuentra en la primera serie de transición de los elementos de la tabla periódica<sup>4</sup>:

- Tiene un alto punto de fusión de 1453°C
- Forma películas de óxido adherentes
- Resiste la corrosión por álcalis
- Forma aleaciones rápidamente, como soluto y como solvente
- Es ferromagnético a temperatura ambiente
- Es fácilmente depositado por electro platinado
- Tiene actividad catalítica
- Es utilizado en la fabricación de baterías
- El níquel le proporciona al vidrio un color verde

La técnica de electroplatinado ha sido utilizada para proveer de resistencia a la corrosión de otros metales y para decoración, y también es utilizado para crear el substrato del familiar recubrimiento con cromo. El níquel y sus aleaciones son muy resistentes al calor<sup>4</sup>.

Cabe destacar que el níquel es un oligoelemento esencial en pequeñas dosis, en altas dosis es tóxico e incluso fatal, su requerimiento de ingesta no se ha establecido aún<sup>5</sup>. Hay numerosas referencias de dermatitis y otros efectos dermatológicos por exposición al níquel. Se asocia también con enfermedades respiratorias como asma branquial, bronquitis. Se ha observado incremento en el riesgo de desarrollar tumores malignos, incluyendo carcinoma de laringe, riñón, próstata, estómago y también de tejidos blandos.

## CADMIO

El cadmio es naturalmente un constituyente menor en la superficie y aguas freáticas. Este puede existir en el agua como ion hidratado, como compuestos inorgánicos como son los carbonatos, hidróxidos, cloruros o sulfatos, o como compuestos orgánicos. El cadmio entra a los sistemas acuáticos a través de la erosión de suelos y rocas, deposiciones atmosféricas, descargas directas de operaciones industriales, y del uso dispersivo de fertilizantes en agricultura. La mayor parte del cadmio que entra a los mantos acuíferos, de fuentes

industriales, puede ser rápidamente adsorbido por materia particulada, y en el sedimento puede quedar la mayor parte del cadmio emitido al ambiente acuático<sup>6</sup>.

Las emisiones de cadmio que genera el hombre, provienen de la manufactura, uso y disposición de productos que utilizan cadmio intencionalmente, o de la presencia de cadmio como contaminante en productos que no deben contenerlo<sup>7</sup>.

El cadmio es utilizado para formar cubiertas (usualmente por electroplatinado), para proteger metales como el hierro y es usado como protector en reactores nucleares.

Este metal es un componente en algunas aleaciones incluyendo soldadura y aleaciones con un bajo coeficiente de fricción y buena resistencia. Algunos semiconductores contienen cadmio. El sulfuro de cadmio (CdS) es utilizado como pigmento amarillo.

Usos comunes<sup>8</sup>:

- 35% en plateado de metales
- 25% en baterías de Níquel-Cadmio y otras baterías
- 20% en pigmentos
- 15% en estabilizadores de plástico
- 5% tiene otros usos incluyendo pesticidas, aleaciones, y reactivos químicos y/o intermediarios
- es también usado para el electroplatinado de acero y en la manufactura de partes mecánicas.
- Compuestos *organo-cadmio* son utilizados como estabilizadores de PVC<sup>51</sup>. El cadmio metálico es utilizado para baterías recargables, equipo electrónico especializado, platinado de metales, soldadura para aluminio, pigmentos (rojo y amarillo) pinturas y plásticos.

El cadmio, se acumula en el riñón humano por un tiempo relativamente largo, de 20 a 30 años, ocasionando daños en este órgano y a altas dosis, se sabe que produce efectos a la salud en el sistema respiratorio, produciendo enfisema pulmonar y ha sido asociado con enfermedades de los huesos<sup>9</sup>.

## PLOMO

El plomo es un metal blando tóxico, que desde los comienzos de la civilización ha sido usado como un aditivo en la manufactura de numerosos productos comerciales<sup>10</sup>.

El plomo ha sido utilizado en aplicaciones industriales y residenciales por siglos. Este provee de una protección a la corrosión que resulta económica y es un excelente pigmento para uso residencial. Es extensamente usado para aplicaciones en puentes, tanques de almacenamiento, torres de transmisión, y estructuras similares.

Usos comunes<sup>11,12</sup>

- |   |  |  |
|---|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Manufactura de pinturas</li> <li>• Baterías</li> <li>• Gasolina</li> <li>• Pigmentos</li> <li>• Municiones</li> <li>• Aparatos electrónicos</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vidriado de cerámica</li> <li>• Equipo médico y científico</li> <li>• Refinación de petróleo</li> <li>• Soldadura</li> <li>• Plomería</li> <li>• Recubrimiento de cables</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Barnices</li> <li>• Vidrio</li> <li>• Plásticos</li> <li>• Cristales</li> <li>• Tubería</li> <li>• Recubrimiento de tanques</li> <li>• Protección de radiación</li> </ul> |
|---|--|--|

El plomo también ha sido utilizado para formar diferentes aleaciones como el bronce, latón y acero; en la imitación de perlas, insecticidas y lubricantes.

La EPA estima que el agua para beber es el medio de exposición al plomo de aproximadamente el 20% de los estadounidenses. El plomo llega al agua a través de tubería antigua a base de plomo, y líneas de servicio en los sistemas de las ciudades y de las tuberías de los hogares.

Los vertederos de minas y las industrias metalúrgicas son otra fuente de contaminación con metales muy importante en las zonas en las que están situadas. En los vertederos se suele producir lixiviación cuando el agua de lluvia disuelve y arrastra las sustancias tóxicas y las transporta por los ríos o contaminan las aguas subterráneas<sup>13</sup>.

El plomo es muy tóxico para los seres vivos. Afecta el sistema endocrino, cardiovascular, respiratorio, inmunológico, neurológico y gastrointestinal, además de afectar la piel, y los riñones. La exposición al plomo, aún a niveles bajos, afecta a niños y adultos. En cantidades muy pequeñas, interfiere con el desarrollo del sistema neurológico, causa crecimiento retardado y problemas digestivos. En casos extremos causa convulsiones, colapso e incluso la muerte. La exposición a cantidades muy pequeñas puede causar a largo plazo daños irreversibles en niños aún cuando éstos no muestren síntomas particulares.

La Academia Americana de Pediatría ubica el nivel deseable de plomo en la sangre de los niños en cero<sup>14</sup>.

## COBRE

El cobre es un elemento esencial en muchos de los productos que hacen posible nuestro moderno estilo de vida y es uno de los recursos más importantes en el mundo. Es un elemento metálico que está presente naturalmente en muchas sustancias, incluyendo rocas y tierra, algunas plantas e insectos, caracoles y también, el hígado humano. Los recursos comerciales de cobre se encuentran en depósitos formados bajo la tierra como resultado de disturbios volcánicos.

El cobre fué uno de los primeros metales en ser utilizados por el hombre, su primer uso data de hace más de 10,000 años, las sociedades prehistóricas usaron cobre en utensilios,

herramientas, instrumentos quirúrgicos, armas y ornamentos. Hoy en día, el cobre es usado en la construcción, telecomunicación y transportación<sup>15</sup>.

Usos comunes:

- Cables y alambres eléctricos
- Switches
- Plomería
- Calefacción
- Techos y construcción
- Maquinaria química y farmacéutica
- Aleaciones (latón, bronce y una nueva aleación con 3% de berilio que es particularmente resistente a la vibración)
- Cobertura de protección por electroplatinación y pre-recubrimiento para níquel, cromo, zinc, etc.

El cuerpo requiere cobre como nutriente esencial y diariamente necesita que en la dieta alimenticia exista entre 1 y 2 miligramos en el caso de los adultos y entre 0.5 y 1 miligramo en el caso de los niños<sup>16</sup>.

El envenenamiento agudo por cobre es un suceso raro, y solo ocasionado por la ingestión accidental de soluciones de cobre, nitrato o sulfato de cobre. Las sales anteriores y aquellas sales orgánicas de cobre son poderosas sustancias heméticas. El envenenamiento crónico de cobre por la ingestión de alimentos es también muy raro y los pocos informes existentes se refieren a pacientes con enfermedades del hígado.

La acumulación de cobre en el hígado lleva a un daño progresivo de este órgano cuya expresión más severa es la cirrosis hepática. El depósito de cobre en el sistema nervioso central produce un daño neurológico, que en algunos aspectos se parece a la enfermedad de Parkinson. Al nivel de la cornea la acumulación de cobre se aprecia como un anillo parduzco pericorneal (anillo de Kayser-Fleisher)<sup>16</sup>.

## CROMO

Encontrado en Sudáfrica y Zimbabwe. Usado principalmente en la industria metalúrgica y química.

Usos Comunes<sup>11, 17</sup>:

- Para endurecer el acero, en la manufactura de acero inoxidable, y para formar aleaciones.
- En platinación para producir superficies bellas y durables, y para prevenir la corrosión
- Para dar un color verde esmeralda al vidrio. Es responsable del color verde de las esmeraldas y del color rojo en los rubíes.

- Ampliamente usado como catalizador
- Los dicromatos como el  $K_2Cr_2O_7$  son agentes oxidantes y son utilizados en análisis cuantitativo y también en el curtido de pieles
- El cromato de plomo es un pigmento amarillo
- Sus compuestos son utilizados en la industria textil como mordientes
- Utilizado en la industria aérea y otras industrias para anodizar aluminio
- Curtido de pieles

El cromo VI puede pasar fácilmente a través de las membranas de las células y se absorbe fácilmente produciendo varios efectos tóxicos dentro de las células. Causa reacciones alérgicas fuertes incluso en pequeñas concentraciones. La bronquitis asmática es otra reacción alérgica conectada con el cromo VI. Puede también afectar el DNA.

Además, los compuestos hexavalentes del cromo son tóxicos para el hombre. Está bien documentado de que los residuos contaminados pueden lixiviar de los terraplenes. La incineración da lugar a la generación de las cenizas volantes de la cual el cromo es particular, y hay acuerdo extenso entre los científicos de que los desechos que contienen el cromo no deben ser incinerados.

## ZINC

El zinc es un metal blanco azulado y lustroso. Es quebradizo a temperatura ambiente pero maleable de 100 a 150°C. Es un buen conductor de la electricidad, arde en presencia de aire con un color rojo y desprende vapores blancos de óxido<sup>18</sup>.

Usos más comunes<sup>19, 20</sup>:

- |   |   |
|---|---|
| • Recubrimiento protector en acero            | • Ánodos  |
| • Como aleación con cobre para hacer latón    | • Baterías de celdas secas  |
| • Y como compuesto químico en goma y pinturas | • Grabado de láminas  |
| • Utilizado como hojas de zinc                | • Envoltura de cables   |
| • Para galvanizar hierro                      | • Monedas   |
| • Electroplatinado                            | • El óxido de zinc es utilizado en medicina, pinturas, vulcanización de hule. |
| • Partes electromotrices                      |   |
| • Fusibles eléctricos                         |   |

El óxido de zinc (ZnO) es utilizado en la manufactura de pinturas, productos de caucho, cosméticos, fármacos, cubiertas de pisos, plásticos, cartuchos de tinta para impresión, jabones, equipo eléctrico, y otros productos. También es usado en ungüentos.

El sulfuro de zinc (ZnS) es usado para fabricar lámparas de rayos X, pantallas de televisión, pinturas (relativamente no tóxicas) y luces fluorescentes<sup>21</sup>.

Ante esta situación, existe un gran interés por remover los metales de aguas y suelos contaminados, principalmente por dos aspectos: el económico y el ecológico. En el primero, debido a que la remoción y recuperación de los metales, puede ayudar a disminuir la sobre explotación de estos metales, y poder reutilizarlos, y en cuanto a lo ecológico, debido a que se disminuye en gran medida la fuerte contaminación que existe hoy en día y que afecta la biodiversidad así como la salud del hombre.

Hay diversas tecnologías para la remoción de los metales pesados, de los efluentes contaminados con dichos metales, entre las que se encuentran las basadas en procesos químicos, fisicoquímicos, y biológicos, los primeros dos métodos, son procesos caros y en ocasiones tóxicos para el ambiente, lo que dificulta su utilización; en cambio los procesos biológicos, tienden a ser más amigables al ambiente, y pueden ser una alternativa económica para la eliminación de este tipo de contaminación.

La biosorción puede ser definida como la remoción de metal o especies metaloides, compuestos o partículas en solución por material biológico (Gadd, 1990). Una gran cantidad de metales, pueden ser acumulados por procesos dependientes o independientes del metabolismo<sup>22</sup>.

Existe una amplia variedad de microorganismos como las algas que tienen la propiedad de retener iones metálicos de una forma pasiva acomplejándolos en su pared celular (Adsorción), o activa, mediante la introducción de estos hacia el citoplasma, sin que llegue a dañar a la célula (Absorción).

Algunas de las interacciones alga-metal pueden ser: acumulación intracelular, formación de complejos, precipitación, reacciones de oxido-reducción, metilación, etc.

La eficiencia para la remoción de metales pesados utilizando biomasa algica puede ser determinada principalmente por los siguientes cinco parámetros: 1) velocidad de crecimiento de la biomasa; 2) factor de acumulación de metal (Q); 3) concentración de los metales pesados en el medio; 4) porcentaje deseado de remoción de metal del medio; y 5) recuperación de metal en relación al capital y costos de operación<sup>23</sup>.

Durante años se ha sugerido en múltiples ocasiones por algunos investigadores que los metales pesados de sistemas acuáticos contaminados pueden ser removidos por algas fitoplanctónicas. Este método, incluyendo la separación del alga saturada de metal del medio, es un método económico para la remoción de metales pesados de aguas residuales, resultando en un efluente de agua de alta calidad reutilizable, y valiosa biomasa de alga, la cual puede ser utilizada para diferentes propósitos. Está bien establecido que muchos tipos de algas marinas y de agua dulce pueden asimilar algunos metales pesados del medio acuoso y acumularlos en sus células<sup>23</sup>.

En condiciones naturales, la mayoría de las algas crecen como comunidades mixtas, las cuales incluyen una variedad de géneros y especies. Para estudiar una especie individual, se requiere realizar el aislamiento de la misma lo cual depende de proveer un ambiente adecuado para su crecimiento y la utilización de las técnicas de purificación de algas<sup>24</sup>.

Para tener éxito en la producción de algas en un cultivo, el ambiente debe ser acondicionado para satisfacer tantos requerimientos intrínsecos del organismo como sea posible. Los factores ambientales deben ser tanto físicos (temperatura y luz), como químicos, los cuales proporcionan el material utilizado para la síntesis estructural y protoplásmica de las células de las algas<sup>24</sup>.

La pared celular de algas presenta varios sitios ligantes de iones metálicos, la mayoría presentes en su pared, por ejemplo celulosa y otros carbohidratos como pectinas, xilanas, mananas y ácido algínico además de lípidos y proteínas. Estos compuestos crean sitios de alta afinidad para cationes metálicos monovalentes como plata, divalentes como mercurio o trivalentes como aluminio, hierro y oro.

Crist et al., en 1981, encontraron que las proteínas, proporcionan grupos funcionales para que pueda ocurrir la unión de los metales, y que algunas de las proteínas presentes en la pared celular de las algas, contienen estos grupos funcionales.

En la biosorción se plantean dos vías para la remoción de metales:

- a).- con la biomasa viva (activa)
- b).- con la biomasa muerta (pasiva)<sup>25</sup>.

La biomasa puede ser tratada con calentamiento o agentes químicos para utilizarla como biomasa muerta.

Una característica importante de la biosorción es que las células muertas pueden ser las responsables del acomplejamiento y acumulación de metales. Los residuos de células, como son la pared celular, representan un potente biosorbente<sup>26</sup>.

Volesky<sup>27</sup> demostró que algunas especies de levaduras y algas son adsorbentes más eficientes cuando están muertas.

Se han hecho estudios sobre la sorción de metales pesados en *Chlorella vulgaris* encontrándose dos procesos por los cuales ocurre esto; 1) uno rápido, independiente del metabolismo y 2) otro dependiente del metabolismo, lo que causa una disminución de la asimilación de estos metales<sup>28</sup>.

Wehrheim<sup>29</sup> trabajó con *Chlorella fusca* en la sorción de cadmio, cromo y plomo. También se trabajó con *Chlorella pyrenoidosa* para remoción de cadmio, a pH 7-8. Brady<sup>30</sup> trabajó con las algas de los géneros *Scenedemus*, *Selenastrus* y *Chlorella* encontrando en ellas capacidad sorbente de plomo, zinc, cadmio y cobre.

De Carvalho<sup>31</sup> utilizó *Ascophillum nodosum* para sorción de cobre, cadmio y zinc. En el mismo año Sandou E. y colaboradores estudiaron los factores óptimos de sorción de metales pesados por las algas: *Fucus vesiculosus* y *Ascophillum nodosum*.

Matheickal J.T.<sup>32</sup> utilizó *Durvillea potatorum* y *Ecklonia radiata* para investigar la sorción de plomo, cadmio y cobre. Volesky trabajó con el alga del género *Sargassum* logrando remover uranio, cromo y cobre.

En un estudio, realizado en Río de Janeiro, en el cual se utilizó biomasa de *Chlorella homosphaera* inmovilizada en alginato de calcio, para comprobar la sorción de cadmio, zinc y oro, y algunas mezclas de estos, se encontró que para el cadmio y el zinc por separado, el sistema tenía una eficiencia de casi el 100%, y para el oro fue del 90%, cuando se realizó con las mezclas, se detectó una disminución en la sorción de los metales.<sup>33</sup>

Matheickal Jose T y Yu Qiming<sup>34</sup>, determinaron que el alga parda marina *Ecklonia radiata*, puede ser utilizada para desarrollar un potente material sorbente para remover metales de aguas residuales, observándose que tiene una alta afinidad por plomo, cadmio y cobre.

Winter C, Winter M y Pohl P<sup>35</sup>, determinaron la adsorción de cadmio por biomasa muerta por congelamiento del alga parda *Ectocarpus siliculosus*, demostrando que había un alto equilibrio en la asimilación del cadmio en soluciones acuosas.

Aksu Z, Sag Y y Kutsal T<sup>36</sup>, investigaron la biosorción de Cobre II en *Chlorella vulgaris* y *Zoogloea ramigera*, determinando que el pH inicial óptimo del medio de adsorción era de 4.0-4.5 para ambos microorganismos, y la máxima adsorción se llevo a 25°C.

Yu Quiming y Kaewsarn Pairat<sup>37</sup>, determinaron la adsorción binaria de  $\text{Cu}^{+2}$  y  $\text{Cd}^{+2}$  en soluciones acuosas por biomasa del alga marina *Durvillaea potatorum*, observando que la capacidad de asimilación era mucho mayor que para cada uno de los metales por separado, pero la capacidad total del sistema binario fue similar a la biosorción obtenida para cada metal por separado. El pH óptimo fue cercano a 5.0. La adsorción binaria fue exitosamente predicha por el modelo de Langmuir, utilizando los parámetros y capacidades obtenidas para un sistema simple.

Metha S.K., Tripathi B.N. y Gaur J.P<sup>38</sup>, determinaron los factores que afectaban la adsorción y asimilación de níquel por *Chlorella vulgaris*, distinguiendo que había una adsorción y una acumulación intracelular, observando que la adsorción contribuía en un 80% en la acumulación total del níquel, y ésta era máxima y con igual intensidad a pH 3.5 y 5.5, sugiriendo la participación de grupos funcionales ácidos, fuertes y débiles. También observaron que los cultivos en fase de declive mostraban una adsorción mayor de níquel, pero la velocidad era reducida. El cromo no mostró inhibición durante la adsorción y asimilación del níquel, pero en cambio, se observó este efecto con el Zn y el Cu, debido a sus propiedades iónicas similares. El cobre estimuló la asimilación del níquel posiblemente al incremento en la permeabilidad de la membrana celular.

Donmez G.C., Aksu Z., Ozturk A. y Kutsal T<sup>39</sup>, realizaron un estudio comparativo en la biosorción de  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$  y  $\text{Cr}^{+6}$  utilizando células deshidratadas de las algas *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* y *Synechocystis sp*, probándose bajo condiciones controladas en el laboratorio como función de pH, concentración inicial de iones metálicos y concentración de biomasa. Se observó que la absorción óptima para Cu, Ni y Cr fue determinada a pH 5.0, 4.5 y 2.0 respectivamente, para las tres algas. La máxima asimilación de metal, se llevo a cabo cuando la concentración de metal fue de 250mg/l. Los modelos de Freundlich y Langmuir describieron la biosorción de Cu, Ni y Cr para las tres especies de algas.

En Montreal, Canadá, la empresa B.V. Sorbex Inc. ha desarrollado diferentes bioreactores para la recuperación de metales específicos utilizando todos los tipos de biomasa, incluyendo algunas algas. Estos bioreactores pueden trabajar a diferentes condiciones de pH y ser usados en un amplio rango de concentraciones de metales y ser fácilmente regenerados<sup>40</sup>.

Aksu Z, Acikel U, Kuttsal T<sup>41</sup>, determinaron la sorción simultanea de  $\text{Cu}^{+2}$ , y  $\text{Cr}^{+6}$  en *Chlorella vulgaris* en una mezcla binaria que fue comparada con el comportamiento del metal por separado en un sistema de lecho fluidizado. Se estudió la influencia del pH y de la concentración del metal en la mezcla y libre en el equilibrio de asimilación.

La investigación multimetal se llevo a cabo a pH 4.0 y 2.0, el cual habia sido reportado previamente como el pH óptimo para la biosorción de  $\text{Cu}^{+2}$  y  $\text{Cr}^{+6}$  respectivamente. Los isotermas de sorción se desarrollaron para los sistemas simple y dual y pH 4.0 y 2.0 y expresados por los modelos de adsorción mono- y multicomponente de Langmiur y Freundlich.

Naja G., Denux-Mustin S., Mustin C.<sup>42</sup>, determinaron los posibles sitios de unión de metal-biomasa en biomasa bacteriana, utilizando técnicas analíticas como la titulación potenciométrica y la espectroscopía infrarroja.

Carvalho de R.P., Guedes K.J. y Krambrock K.<sup>43</sup>, estudiaron la sorción de iones de cobre por hojas secas de flora de Brasil, y utilizaron técnicas analíticas como Espectroscopía de Absorción Atómica, Resonancia Paramagnética Electrónica y Absorción Infrarroja con Transformadas de Furier, con esta última técnica, determinaron los posibles sitios de unión del metal a las partículas de las hojas

Fomina M., Gadd G.M.<sup>44</sup>, estudiaron la interacción entre los minerales del barro, y la melanina fúngica usando el método de Espectroscopía Infrarroja (IR). Para llevar a cabo el estudio, mezclaron la biomasa fúngica con bromuro de potasio, y lo comprimieron para obtener una pastilla transparente, y utilizaron un disco de KBr puro como blanco.

## II. HIPÓTESIS

La flora microbiana de un ecosistema contaminado con metales pesados, puede desarrollar resistencia a los mismos como un mecanismo de supervivencia. Dicha resistencia puede estar relacionada con su capacidad de sorción de estos contaminantes, por lo cual su biomasa puede ser utilizada para producir biosorbentes de metales pesados.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo General:

Estudiar un sistema microbiano autóctono para la sorción de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) a fin de obtener biosorbentes para dichos metales que puedan ser una alternativa económica y ecológica para la remoción de metales pesados de disoluciones acuosas.

#### 3.2. Objetivos Particulares:

- Aislamiento, purificación e identificación del alga.
- Determinación de la resistencia a Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II).
- Obtención de la biomasa.
- Determinación de la capacidad de sorción.
- Influencia de la concentración de biomasa sobre la capacidad de sorción.
- Estudiar la biosorción de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) en aguas modeladas o sintéticas.
- Determinación de los posibles sitios de unión del metal a la biomasa.

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1. Material, Reactivos y Equipos

#### **Material**

Agitadores de vidrio y magnéticos

Algodón

Asas bacteriológicas de platino

Canastillas de hierro

Embudo de filtración rápida

Filtro Seitz de acero

Gasa

Guantes de Latex

Gradillas de madera, plástico y acero

Mangueras de caucho de diferentes diámetros

Matraces Erlenmeyer de 250, 500 y 6000 ml, marca Pyrex y Schott Duran

Matraces volumétricos de 100ml

Mechero Bunsen

Palanganas de plástico

Pipetas serológicas de 0.1, 1 y 10 marca Kimax y Pyrex

Pipetas volumétricas de 5, 10 y 20ml

Pizetas de plástico

Portaobjetos marca Corning

Propipeta

Micropipetas de 5, 20, 25-250, 100-1000 $\mu$ L marca Schott Duran

Puntillas para micropipetas marca Eppendorf

Tubos de ensaye de 16x100, 18x150 y 22x200mm marca Pyrex y Kymax

Vasos de precipitado de 100, 250 y 2000ml, marca Pyrex y Schott Duran

## **Equipo**

Autoclave marca Felisa, modelo FE-399

Bacto-incinerador III, marca Lab-ware, modelo Oxford

Balanza analítica marca AND, modelo HR 200

Bomba de vacío, marca Siemens, modelo 69, No Serie 300137

Campana de Flujo Laminar Clase II, marca LABCONCO

Ollas de Presión eléctricas marca All American, modelo 25 X-1

Horno de convección marca THELCO, modelo 17

Incubadora con agitación marca Lab line, modelo No. 3525

Microscopios bifocales marca Zeiss: modelos: KF 2 y estándar 25

Plancha de agitación y calentamiento, marca EQUATHERM, modelo 267-914

Potenciometro marca Beckman, modelo PHI-40

Espectrofotómetro de Absorción Atómica marca Varian modelo GBC932AA

Espectrofotómetro de IR PerkinElmer modelo Paragon 1000

## **Reactivos**

Agua destilada y bidestilada

Ácido nítrico

Estándar de referencia de Plomo marca RICCA Chemical Co.

Estándar de referencia de Cromo marca RICCA Chemical Co.

Estándar de referencia de Cobre marca RICCA Chemical Co.

Estándar de referencia de Cadmio marca RICCA Chemical Co.

Estándar de referencia de Níquel marca RICCA Chemical Co.

Estándar de referencia de Zinc marca RICCA Chemical Co.

Energizar de Quimiproducos, S.A. de C.V.

## 4.2. Origen de la Muestra

La muestra se obtuvo de agua residual proveniente de una industria localizada en el área metropolitana de Monterrey, Nuevo León.

El muestreo de aguas industriales se realizó en una sola toma cerca de la orilla de la descarga, utilizando envases de vidrio de 2L de capacidad de acuerdo a la norma NMX-AA-003-1980 AGUAS RESIDUALES-MUESTREO.

Una vez colectada la muestra, se cerró el recipiente y se almacenó a bajas temperaturas, se trasladaron en hielo y en el laboratorio se almacenaron a 4°C en un cuarto frío.

## 4.3. Aislamiento del alga

Para realizar el aislamiento del alga, se utilizaron matraces Erlenmeyer de 500 ml, con medio de cultivo BG11 (tabla 1<sup>45</sup>), esterilizado en autoclave (15lb de presión, 15 minutos, 121°C), y una mezcla de antibióticos esterilizados por filtración, para evitar el desarrollo de bacterias y hongos indeseables. En este medio se inoculó un volumen de 10ml de las muestras de las aguas recolectadas, y se incubó a temperatura ambiente, con períodos de luz de 12:00 horas por 3 semanas.

Los cultivos obtenidos fueron sembrados por diluciones seriadas en tubos de ensaye de 18x150mm e incubadas a las condiciones antes mencionadas, para realizar el aislamiento de las algas predominantes en las muestras, efectuando observaciones microscópicas de las diluciones a fin de detectar las diferentes algas encontradas.

**Tabla 2. Composición del medio de cultivo BG11<sup>45</sup>**

Compuesto	Cantidad(g/L)
NaNO <sub>3</sub>	1.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	0.04
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.075
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.036
Ácido Cítrico	0.006

Compuesto	Cantidad(g/L)
Citrático Férrico Amónico	0.006
EDTA	0.001
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.02
Trazas de Metales A5	1mL
Agua Desionizada	a 1 l

**Tabla 2. Composición de las Trazas de Metales A5<sup>45</sup>**

Compuesto	Cantidad (g/L)
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.81
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.222
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.390
CuSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.079
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.049

#### 4.4. Identificación del alga

La identificación del alga se basó en pruebas morfológicas macroscópicas y microscópicas y la consulta bibliográfica.

##### a) Observación microscópica.

Se realizaron preparaciones en fresco entre porta objetos y cubre objetos de muestras obtenidas de los cultivos, y se observaron al microscopio con un aumento de 10x, 40x y 100x.

##### b) Observación macroscópica.

Se monitorearon los cultivos cada 24 horas durante 7 días observándose el color, la forma de crecimiento y los cambios en el aspecto del medio.

#### 4.5. Determinación del comportamiento de la cepa a la presencia de cada uno de los seis metales de estudio

Se prepararon series de matraces conteniendo el medio de cultivo BG11 y se esterilizaron a 121°C y 15 lb de presión por 15 min.

El medio fue enriquecido con un preparado comercial de vitaminas y minerales (Bioenergizer “Quimiproducos S.A. de C.V”) y posteriormente se adicionaron las soluciones de los metales ajustándose la concentración a  $50 \text{ mgL}^{-1}$ .

Posteriormente los matraces fueron inoculados con  $1 \times 10^6$  células/ml y se monitoreó el crecimiento del alga, tomando muestras cada 24 h, durante 10 días, y determinando el número de células por el método de conteo directo al microscopio con ayuda de un hemacitómetro, y la concentración de metal residual, por medio de Espectroscopia de Absorción Atómica. Los resultados fueron comparados con un testigo, el cual no contenía ninguno de los metales de prueba.

Se realizaron tres réplicas del experimento y se obtuvo la media con una desviación estándar menor al 0.05.

#### 4.6. Procedimiento del conteo directo de células

Se tomó 1 ml de un cultivo del alga y se diluyó a 2 ml en solución salina 0.85% en un tubo de 13x100 mm estéril. Se homogenizó y se tomó una alícuota con una pipeta Pasteur estéril. Se eliminaron las primeras gotas y se depositó una gota entre el hemacitómetro y el cubreobjetos para llenar la cámara.

Se llevó al microscopio y se determinó el número de células/ml, contando 5 cuadros y multiplicando por 5000.

Se realizaron tres réplicas del experimento y se obtuvo la media con una desviación estándar menor al 0.05.

#### 4.7. Procedimiento de medición de la concentración de metal por Espectroscopía de Absorción Atómica

Para determinar la concentración de metal residual, el sobrenadante se separó de la biomasa por decantación, y se realizaron las diluciones necesarias, para medir en el equipo de Absorción Atómica.

Se prepararon las curvas de calibración para cada uno de los metales a medir, como se menciona en las siguientes tablas:

**Tabla 3. Preparación de la curva de calibración de Pb(II)**

Estándar certificado 1000mgL <sup>-1</sup> (ml)	Ácido Nítrico 3%	Concentración Final mgL <sup>-1</sup>
5.0	Aforar a 100 ml	50
10.0	Aforar a 100 ml	100
20.0	Aforar a 100 ml	200
30.0	Aforar a 100 ml	300

**Tabla 4. Preparación de la curva de calibración de Cr(VI)**

Estándar certificado 1000mgL <sup>-1</sup> (ml)	Ácido Nítrico 3%	Concentración Final mgL <sup>-1</sup>
1.5	Aforar a 100 ml	15
3.0	Aforar a 100 ml	30
4.5	Aforar a 100 ml	45
6.0	Aforar a 100 ml	60

**Tabla 5. Preparación de la curva de calibración de Ni(II)**

Estándar certificado 1000mgL <sup>-1</sup> (ml)	Ácido Nítrico 3%	Concentración Final mgL <sup>-1</sup>
2.0	Aforar a 100 ml	20
4.0	Aforar a 100 ml	40
6.0	Aforar a 100 ml	60
8.0	Aforar a 100 ml	80

**Tabla 6. Preparación de la curva de calibración de Cd(II)**

Estándar certificado 1000mgL <sup>-1</sup> (ml)	Ácido Nítrico 3%	Concentración Final mgL <sup>-1</sup>
0.04	Aforar a 100 ml	0.4
0.08	Aforar a 100 ml	0.8
0.14	Aforar a 100 ml	1.4
0.18	Aforar a 100 ml	1.8

**Tabla 7. Preparación de la curva de calibración de Cu(II)**

Estándar certificado 1000mgL <sup>-1</sup> (ml)	Ácido Nítrico 3%	Concentración Final mgL <sup>-1</sup>
0.5	Aforar a 100 ml	5
1.5	Aforar a 100 ml	15
2.0	Aforar a 100 ml	20
3.0	Aforar a 100 ml	30

**Tabla 8. Preparación de la curva de calibración de Zn(II)**

Estándar certificado 1000mgL <sup>-1</sup> (ml)	Ácido Nítrico 3%	Concentración Final mgL <sup>-1</sup>
0.08	Aforar a 100 ml	0.8
0.1	Aforar a 100 ml	1.0
0.13	Aforar a 100 ml	1.3
0.15	Aforar a 100 ml	1.5

#### 4.8. Producción de biomasa

Se realizaron diluciones en solución salina al 0.85% de un cultivo del alga y se inocularon  $1 \times 10^6$  células por mililitro en matraces Erlenmeyer conteniendo medio BG11 adicionado con 0.1% de Bioenergizer. Los matraces se incubaron a temperatura ambiente por tres semanas, en presencia de luz natural.

Una vez producida la biomasa, ésta se separó a través de filtros millipore, para obtener únicamente las células del alga, y se secó a 60°C, posteriormente se molió obteniéndose un polvo fino, el cual fue colocado en recipientes estériles y cerrados para su posterior uso como sorbente.

#### 4.9. Determinación de la capacidad de sorción Q(mgM/gB)

Se prepararon disoluciones de cada uno de los metales a concentraciones a 5 a 200mgL<sup>-1</sup>, se colocaron en contacto 5mL con 10mg de biomasa por 2 h a temperatura ambiente con agitación a 120rpm.

Después se separó el sobrenadante, y en éste, se determinó la concentración de metal residual por medio de espectroscopía de Absorción Atómica.

Se realizaron tres replicas del experimento y se obtuvo la media con una desviación estándar menor al 0.05.

#### 4.10. Influencia de Concentración de Biomasa sobre la sorción de los metales

Un volumen de 5mL de solución estándar de 50mgL<sup>-1</sup> de cada uno de los metales fueron puestas en contacto con diferentes concentraciones de biomasa en un intervalo de 5mg a 30mg por un tiempo de 2h con agitación a 120rpm.

Se separó la biomasa y se determinó la concentración de metal residual por Espectroscopía de Absorción Atómica.

Se realizaron tres replicas del experimento y se obtuvo la media con una desviación estándar menor al 0.05.

#### 4.11. Cinética de Sorción

La cinética de sorción se determinó utilizando 5 mL de una solución estándar de 50mgL<sup>-1</sup> de cada metal, las cuales fueron puestas en contacto con 5mg de biomasa a temperatura ambiente con agitación. Se tomaron muestras cada hora por 5h y se determinó la variación

del pH en el transcurso de la sorción utilizando un potenciómetro así como la concentración de metal residual por Espectroscopia de Absorción Atómica.

Se realizaron tres replicas del experimento y se obtuvo la media con una desviación estándar menor al 0.05.

#### 4.12. Biosorción en aguas modeladas

Se prepararon soluciones de mezclas de 2, 3, y 6 metales de  $50\text{mgL}^{-1}$  cada uno simulando aguas de descarga de algunas industrias. Estas fueron: Pb y Cr; Pb y Cd; Ni y Pb; Zn y Cu; Pb,Cu y Ni; Pb,Cu y Cd; Cr,Ni y Zn; Pb, Cr, Cd, Ni, Zn y Cu. Se pusieron en contacto con 5mg de biomasa a temperatura ambiente por 2h con agitación. Posteriormente se determinó la concentración de cada metal por Espectroscopía de Absorción Atómica.

Se realizaron tres replicas del experimento y se obtuvo la media con una desviación estándar menor al 0.05.

**Tabla 9. Mezclas sintéticas de los metales Pb(II), Cd(II), Zn(II), Ni (II), Cr(VI), Cu(II)**

Mezcla	
1	Pb, Cr
2	Pb, Cd
3	Pb, Ni
4	Zn, Cu
5	Pb, Ni, Cu
6	Pb, Cd, Cu
7	Cr, Ni, Zn
8	Pb, Cr, Cd, Ni, Zn, Cu

#### 4.13. Determinación de los posibles sitios de unión Metal-Biomasa

Se efectuó el monitoreo del pH durante la sorción y un espectro de IR de la biomasa libre y de la biomasa con metal, y se realizó la comparación de ambos espectros para determinar los cambios que se presentaron como consecuencia de la presencia del metal en la biomasa.

Para esto, se tomaron 5mg de la biomasa, y se mezclaron con 10mg de KBr, se colocaron en un mortero de ágata y se trituraron finamente, después se colocaron en un compresor hidráulico, para hacer una pastilla con la mezcla, y ésta, se llevo a medir en el equipo de Infrarrojo.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Aislamiento e identificación de las algas

Del cultivo de la muestra de agua industrial se observaron diferentes tipos de algas. Las observaciones microscópicas y macroscópicas de los cultivos puros permitieron identificar al género de alga predominante como *Chlorella*.

Las características microscópicas observadas en las preparaciones frescas fueron: células redondas de 1 a 3  $\mu\text{m}$  de diámetro con núcleo definido, sin flagelos, de color verde brillante, sin observarse aglomeraciones, las cuales coinciden con las reportadas en la literatura<sup>30, 46</sup>.

En medio líquido el crecimiento fue de apariencia granular como se muestra en la figura 1 con una coloración verde intensa, y ligera adhesión a las paredes.

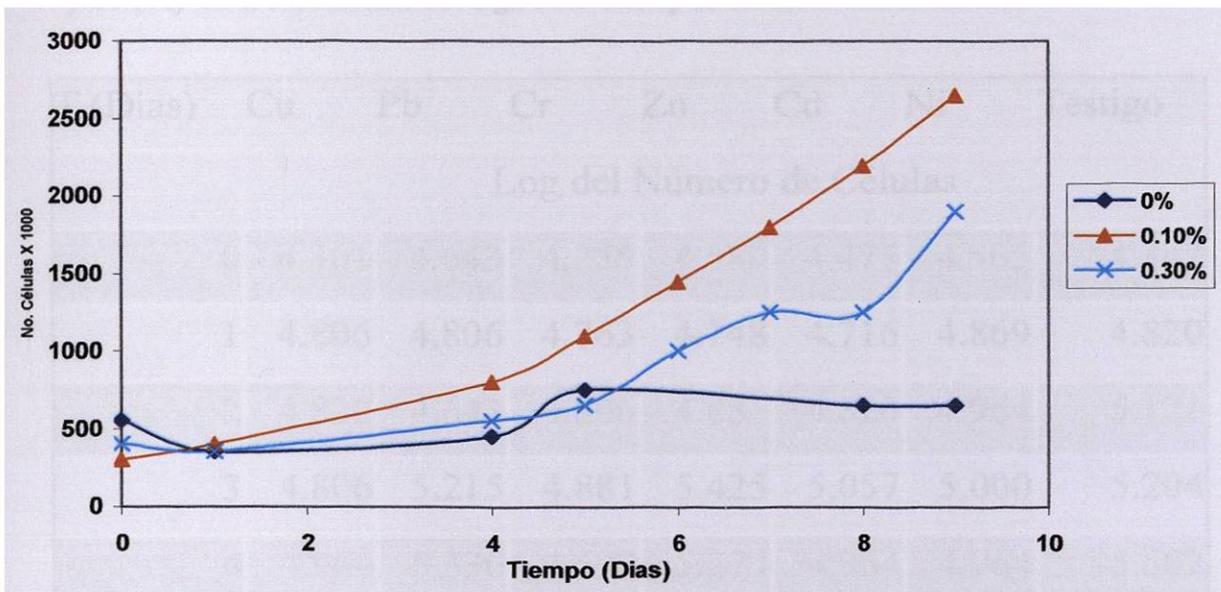


**Figura 1. Características macroscópicas y microscópicas del alga *Chlorella* sp.**

## 5.2. Producción de la biomasa de *Chlorella* sp.

Para la producción de biomasa del alga se seleccionó el medio BG 11 fortificado con factores de crecimiento, utilizando una mezcla comercial de vitaminas y minerales (Bioenergizer), a fin de obtener una mayor concentración de células en menor tiempo.

El efecto de diferentes concentraciones de Bioenergizer, se muestra en la figura 2.



**Figura 2.** Efecto de la adición de Bioenergizer en diferentes concentraciones al medio BG11 sobre la cinética de crecimiento del alga *Chlorella* sp

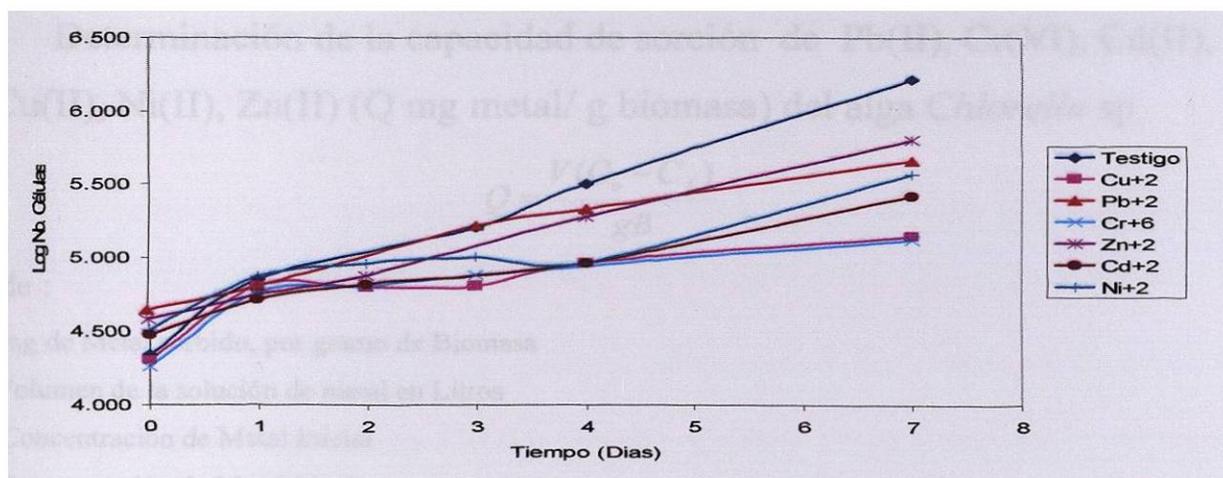
La figura 2, se muestra que el crecimiento del alga es favorecido por la adición de factores de crecimiento, observándose más marcado el efecto en el medio de cultivo BG11, adicionado con 0.10% de Bioenergizer, razón por la cual, fue el medio utilizado para la propagación de la cepa *Chlorella* sp. El medio seleccionado será referido en este trabajo como medio BG11 fortificado.

### 5.3. Estudio del crecimiento del alga en presencia de cada uno de los seis metales de prueba.

Los resultados del estudio realizado para determinar la resistencia del alga frente cada uno de los metales (Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II)) se muestran en la tabla 11 y en la figura 3.

**Tabla 11.- Efecto de la presencia de los metales Pb(II), Cd(II), Zn(II), Ni (II), Cu (II) y Cr (VI) en el crecimiento del alga *Chlorella* sp en medio BG11 fortificado**

T (Dias)	Cu	Pb	Cr	Zn	Cd	Ni	Testigo
Log del Número de Células							
0	4.301	4.643	4.255	4.580	4.477	4.505	4.342
1	4.806	4.806	4.763	4.748	4.716	4.869	4.820
2	4.820	4.643	4.806	4.881	4.820	4.964	5.121
3	4.806	5.215	4.881	5.425	5.057	5.000	5.204
4	4.964	5.330	4.699	5.274	4.964	4.964	5.502
7	5.152	5.665	5.127	5.806	5.422	5.571	6.217
8	6.267	6.079	5.740	5.903	5.699	5.699	6.279
9	6.000	5.978	4.944	5.954	5.813	5.121	6.332



**Figura 3.** Curva de Crecimiento del alga *Chlorella* sp en medio BG11 fortificado en presencia de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II).

En la figura No 3, se muestra menor crecimiento del alga en los medios con metal respecto al testigo. Sin embargo el alga presenta resistencia a los seis metales de estudio, observándose mayor crecimiento en los medios con Zn(II), Pb(II), Ni(II) y Cd(II), que en los medios con Cu(II) y Cr(VI), analizando el crecimiento a los 7 días, se puede observar el efecto tóxico de los metales sobre la proliferación de *Chlorella* sp en la siguiente secuencia:

$$\text{Cr}^{+6} = \text{Cu}^{+2} > \text{Cd}^{+2} > \text{Ni}^{+2} > \text{Pb}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$$

Lo cual coincide en parte con el estudio realizado por Sivalingam<sup>47</sup> sobre la toxicidad de los metales sobre el crecimiento de *Chlorella vulgaris*, para los metales Cu<sup>+2</sup> y Cd<sup>+2</sup>, pero difiere en los metales Ni<sup>+2</sup>, Pb<sup>+2</sup> y Zn<sup>+2</sup>, ya que él encontró la siguiente secuencia:

$$\text{Cu}^{+2} > \text{Cd}^{+2} > \text{Zn}^{+2} > \text{Pb}^{+2} > \text{Ni}^{+2}$$

5.4. Determinación de la capacidad de sorción de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) (Q mg metal/ g biomasa) del alga *Chlorella sp*

$$Q = \frac{V(C_o - C_f)}{gB}$$

Donde :

Q = mg de Metal sorbido, por gramo de Biomasa

V = Volumen de la solución de metal en Litros

C<sub>o</sub> = Concentración de Metal Inicial

C<sub>f</sub> = Concentración de Metal Final

gB = Cantidad de Biomasa en gramos

Tabla 12. Sorción del metal a una concentración residual de 10mg L<sup>-1</sup> (Q<sub>10</sub>) y Q máxima

Metal	Q <sub>10</sub>	Q <sub>max</sub>
Pb (II)	71.2	93.3
Cr(VI)	47.1	73.0
Cu (II)	9.8	29.1
Cd (II)	17.3	20.0
Ni (II)	9.0	20.39
Zn (II)	2.2	18.3

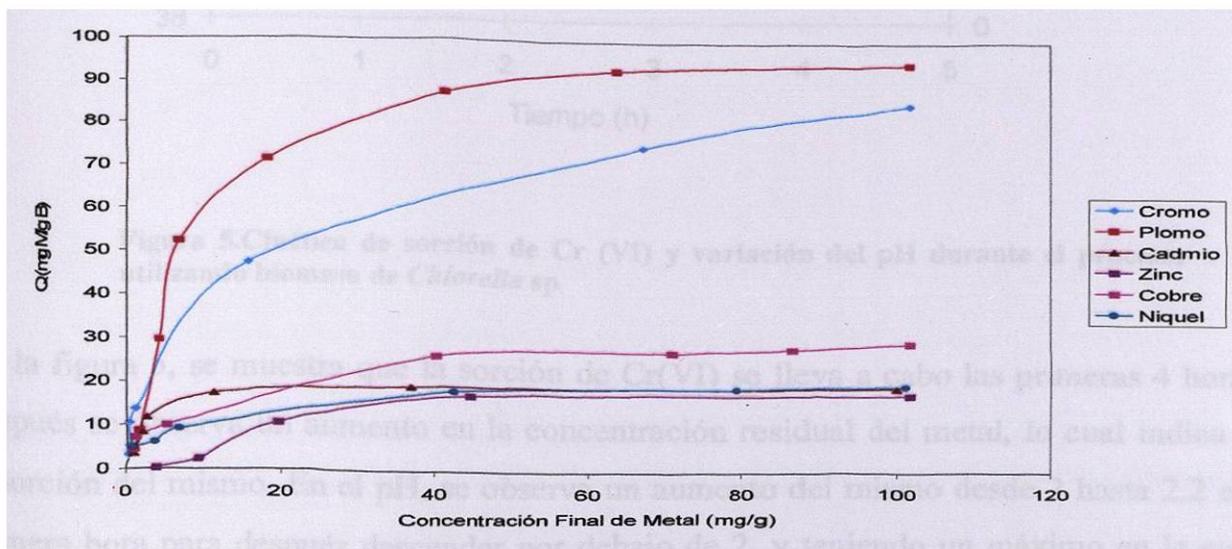


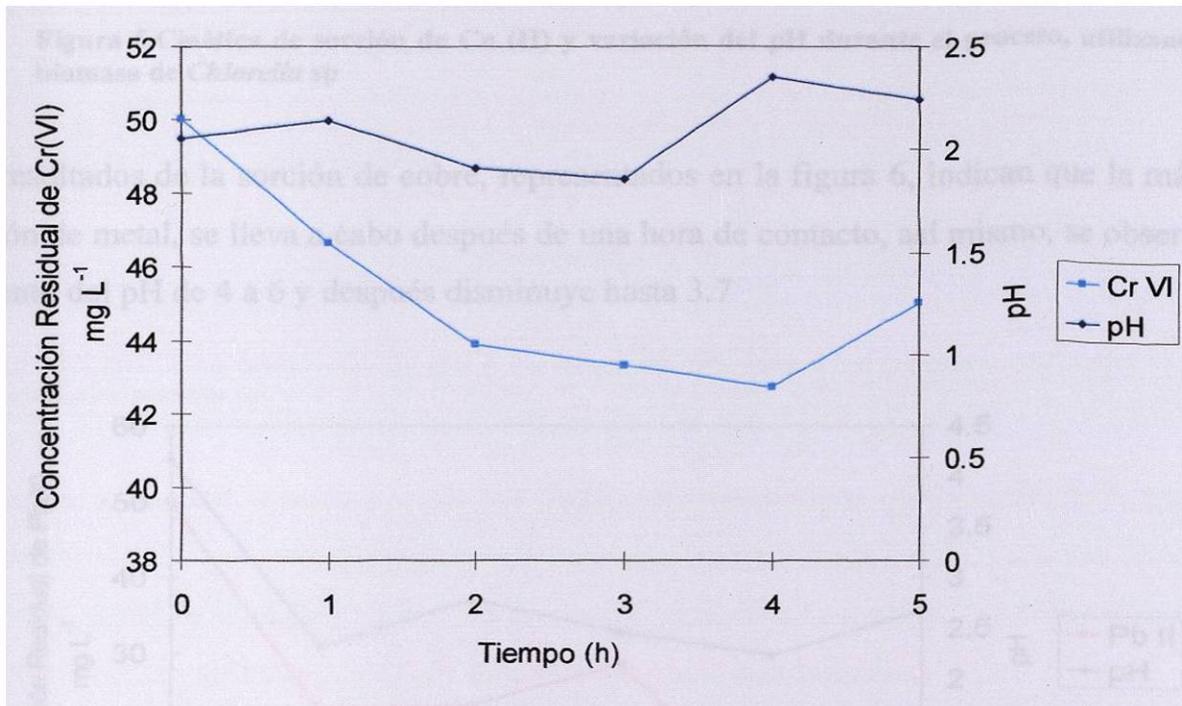
Figura 4. Isotermas de Sorción del alga *Chlorella sp*

En la figura 4 y en la tabla 12 se muestra que la  $Q_{10}$  (mg metal/g biomasa) para cada metal, se encuentra en el siguiente orden:

$$\text{Pb}^{+2} > \text{Cr}^{+6} > \text{Cu}^{+2} > \text{Cd}^{+2} > \text{Ni}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$$

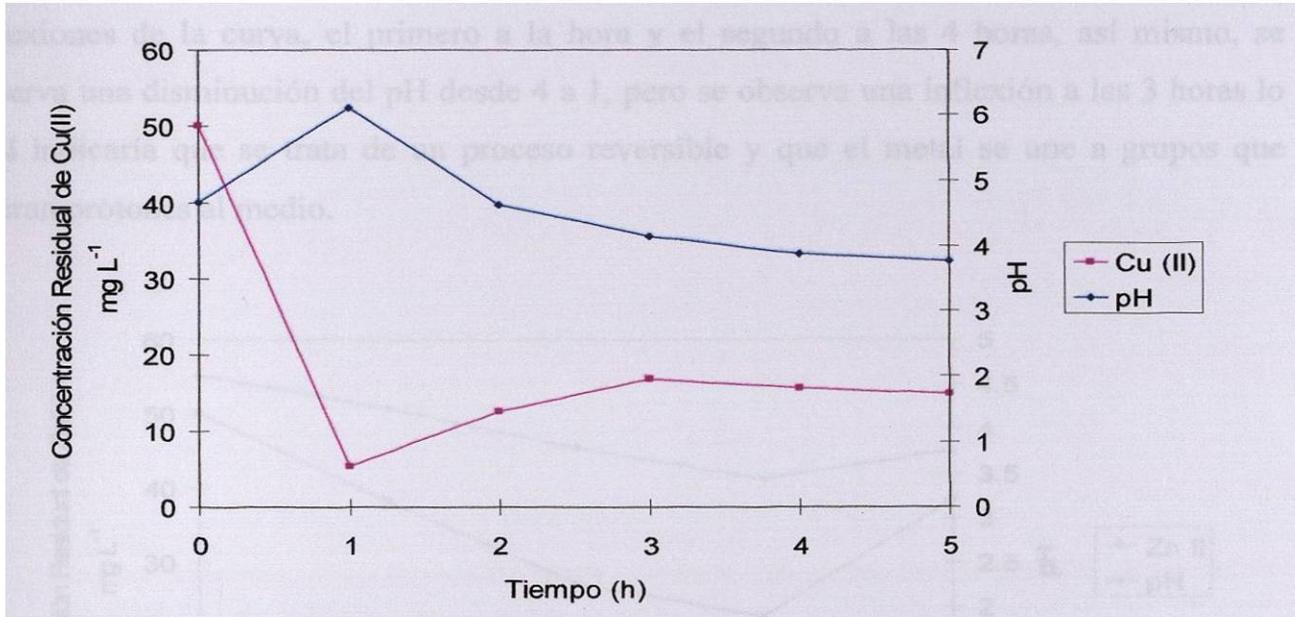
Y se observa, que la biomasa de alga tiene una alta capacidad de sorción (Q) para  $\text{Pb}^{+2}$ , y  $\text{Cr}^{+6}$  despues para  $\text{Cu}^{+2}$ , y en menor grado  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$  y  $\text{Zn}^{+2}$ .

### 5.5. Cinética de sorción de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) por biomasa del alga *Chlorella* sp



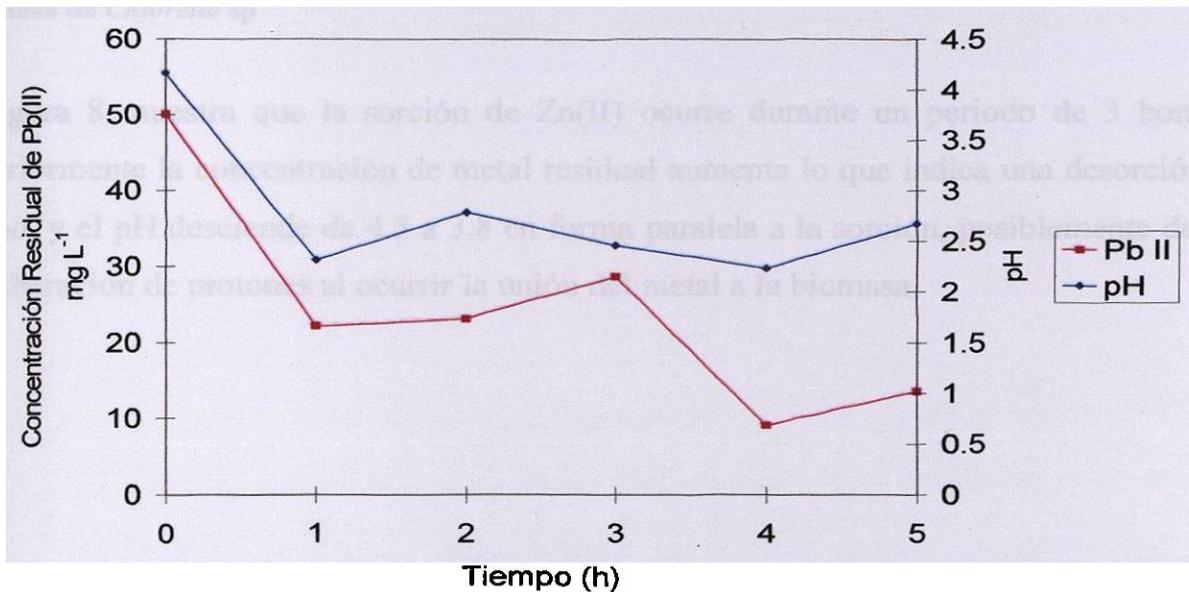
**Figura 5. Cinética de sorción de Cr (VI) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de *Chlorella* sp**

En la figura 5, se muestra que la sorción de Cr(VI) se lleva a cabo las primeras 4 horas y después se observa un aumento en la concentración residual del metal, lo cual indica una desorción del mismo. En el pH, se observa un aumento del mismo desde 2 hasta 2.2 en la primera hora para después descender por debajo de 2, y teniendo un máximo en la cuarta hora de 2.3



**Figura 6.** Cinética de sorción de Cu (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de *Chlorella sp*

Los resultados de la sorción de cobre, representados en la figura 6, indican que la máxima sorción de metal, se lleva a cabo después de una hora de contacto, así mismo, se observa un aumento del pH de 4 a 6 y después disminuye hasta 3.7



**Figura 7.** Cinética de sorción de Pb (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de *Chlorella sp*

Para el proceso de sorción del plomo los resultados mostrados en la figura 7, indican dos inflexiones de la curva, el primero a la hora y el segundo a las 4 horas, así mismo, se observa una disminución del pH desde 4 a 1, pero se observa una inflexión a las 3 horas lo cual indicaría que se trata de un proceso reversible y que el metal se une a grupos que liberan protones al medio.

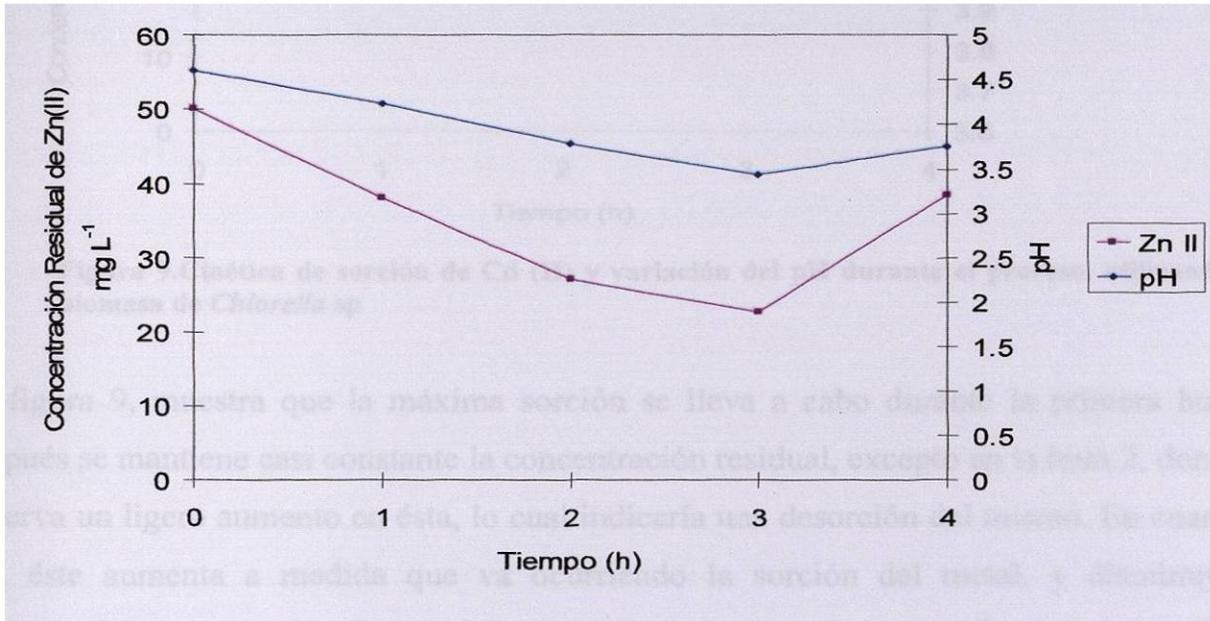
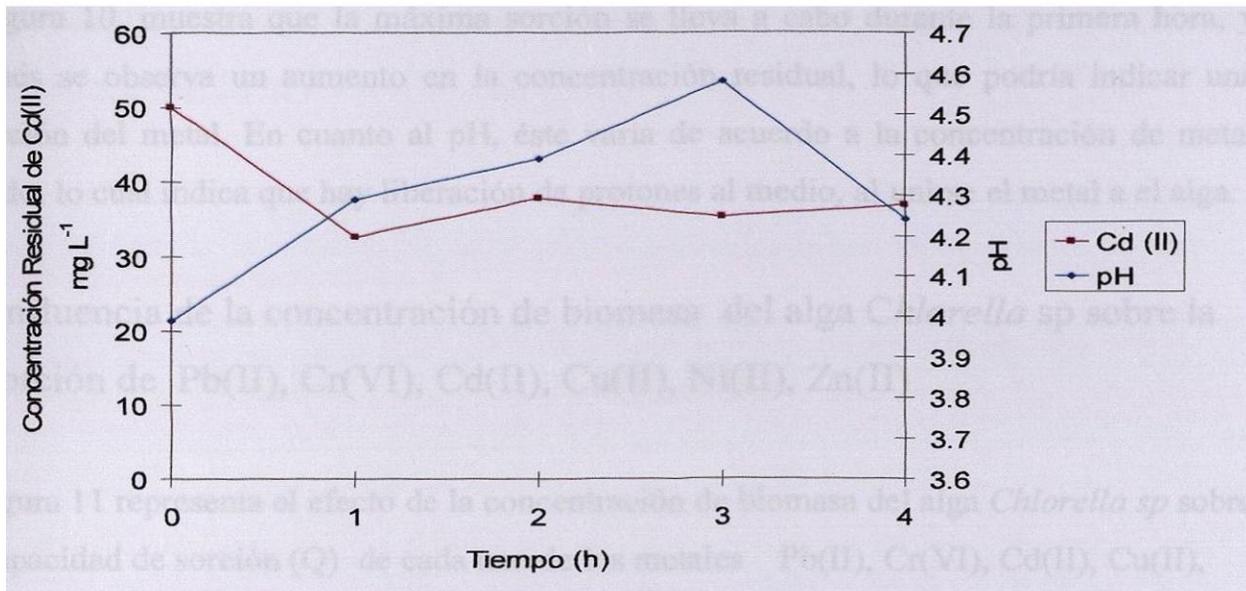


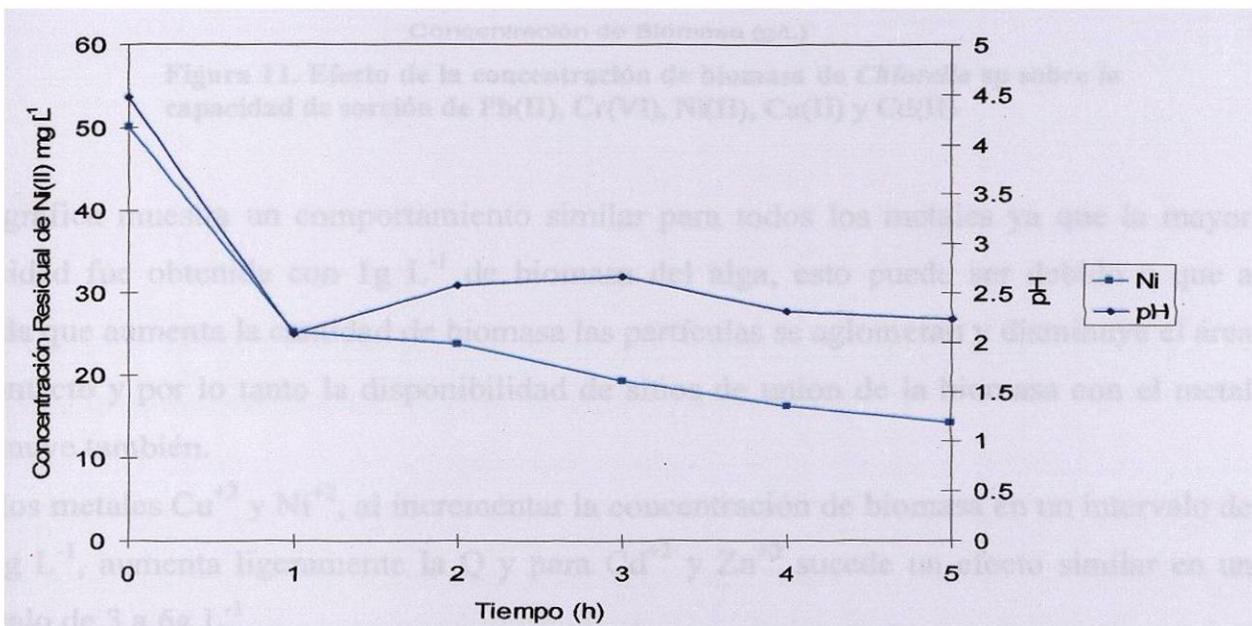
Figura 8. Cinética de sorción de Zn (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de *Chlorella sp*

La figura 8 muestra que la sorción de Zn(II) ocurre durante un periodo de 3 horas, y posteriormente la concentración de metal residual aumenta lo que indica una desorción del mismo, y el pH desciende de 4.5 a 3.8 en forma paralela a la sorción, posiblemente debido a la liberación de protones al ocurrir la unión del metal a la biomasa.



**Figura 9.** Cinética de sorción de Cd (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de *Chlorella sp*

La figura 9, muestra que la máxima sorción se lleva a cabo durante la primera hora, y después se mantiene casi constante la concentración residual, excepto en la hora 2, donde se observa un ligero aumento en ésta, lo cual indicaría una desorción del mismo. En cuanto al pH, éste aumenta a medida que va ocurriendo la sorción del metal, y disminuye al aumentar la concentración de metal en el medio en la tercer hora para finalmente quedar en un pH de 4.2

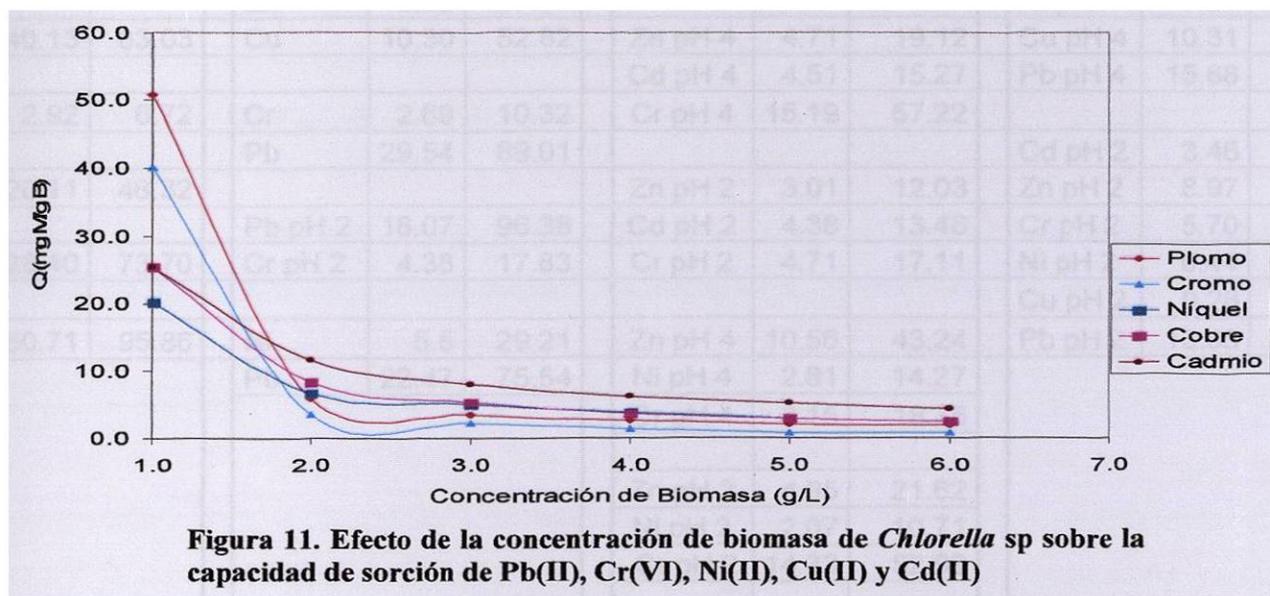


**Figura 10.** Cinética de sorción de Ni (II) y variación del pH durante el proceso, utilizando biomasa de *Chlorella sp*

La figura 10, muestra que la máxima sorción se lleva a cabo durante la primera hora, y después se observa un aumento en la concentración residual, lo que podría indicar una desorción del metal. En cuanto al pH, éste varía de acuerdo a la concentración de metal sorbido, lo cual indica que hay liberación de protones al medio, al unirse el metal a el alga.

### 5.6. Influencia de la concentración de biomasa del alga *Chlorella sp* sobre la sorción de Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II)

La figura 11 representa el efecto de la concentración de biomasa del alga *Chlorella sp* sobre su capacidad de sorción (Q) de cada uno de los metales Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II)



Esta gráfica muestra un comportamiento similar para todos los metales ya que la mayor capacidad fue obtenida con  $1\text{ g L}^{-1}$  de biomasa del alga, esto puede ser debido a que a medida que aumenta la cantidad de biomasa las partículas se aglomeran y disminuye el área de contacto y por lo tanto la disponibilidad de sitios de unión de la biomasa con el metal disminuye también.

Para los metales  $\text{Cu}^{+2}$  y  $\text{Ni}^{+2}$ , al incrementar la concentración de biomasa en un intervalo de 1 a  $3\text{ g L}^{-1}$ , aumenta ligeramente la Q y para  $\text{Cd}^{+2}$  y  $\text{Zn}^{+2}$  sucede un efecto similar en un intervalo de 3 a  $6\text{ g L}^{-1}$ .

Lo anterior coincide con lo reportado por Hamdy AA<sup>48</sup> con respecto al  $\text{Ni}^{+2}$  y  $\text{Cd}^{+2}$  y  $\text{Cu}^{+2}$ .

### 5.7. Efecto de las mezclas binarias, terciarias y de los seis metales de estudio sobre la capacidad de sorción de *Chlorella sp*

**Tabla 13. Efecto de la variación de metal sobre la capacidad de sorción de biomasa del alga *Chlorella sp* en mezclas de metales**

Metal	Adsorción de Metal (Sistema monometal)		Metal	Adsorción de Metal (Mezcla Binaria)		Metal	Adsorción de Metal (Mezcla Ternaria)		Metal	Adsorción de Metal (Mezcla de 6 Metales)	
	mg/g	% sorc		mg/g	% sorc		mg/g	% sorc		mg/g	% sorc
Cd	25.30	51.95	Cd	8.43	33.46	Cd	5.32	17.25	Cd pH 4	2.83	11.71
Zn	7.00	16.47	Pb	3.23	39.87	Cu	8.95	44.82	Zn pH 4	2.56	12.69
Cr pH 4	40.13	83.03	Zn	6.62	27.87	Pb	27.98	86.60	Cr pH 4	3.81	17.74
Cr pH 2	2.92	6.72	Cu	10.30	52.82	Zn pH 4	4.71	19.12	Ni pH 4	7.28	37.99
Ni	20.11	46.32	Cr	2.69	10.32	Cd pH 4	4.51	15.27	Cu pH 4	10.31	56.28
Cu	28.40	73.70	Pb	29.54	89.01	Cr pH 4	15.19	57.22	Pb pH 4	15.88	83.82
Pb	50.71	95.86	Ni	5.5	29.21	Zn pH 2	3.01	12.03	Cd pH 2	3.46	11.49
			Pb pH 2	16.07	96.38	Cd pH 2	4.38	13.46	Zn pH 2	8.97	31.65
			Cr pH 2	4.38	17.83	Cr pH 2	4.71	17.11	Cr pH 2	5.70	24.75
									Ni pH 2	0.44	2.25
									Cu pH 2	0.28	1.42
									Pb pH 2	13.85	86.75
			Pb	22.47	75.54	Ni pH 4	2.81	14.27			
						Cr pH 4	3.15	18.35			
						Zn pH 2	4.95	21.62			
						Ni pH 2	2.07	10.71			
						Cr pH 2	14.33	52.93			
						Cu	12.31	59.70			
						Ni	5.57	28.59			
						Pb	11.6	42.45			

En la tabla 13 se observa que para una concentración inicial de  $50\text{mg L}^{-1}$  de metal, el porcentaje de remoción obtenido para plomo fue de más del 95%.

En el caso del plomo, al estar en una mezcla binaria con cromo, se observó una ligera disminución en la remoción hasta un 90% a pH 4, fig 12; y aumentó ligeramente hasta un 96% en un pH de 2, fig (13); en cambio, disminuyó a un 39% en la mezcla con cadmio, (fig 14); y a un 75% en la mezcla con níquel, (fig 15); en una mezcla ternaria con cadmio y

cobre, aumentó hasta un 86%, fig 18; y disminuyó a un 42% en una mezcla compuesta por níquel y cobre, fig 17; en la mezcla con los seis metales, se observó un porcentaje de remoción del 83% a pH 4, pero un aumento ligero a pH 2, con un porcentaje de 86.75, fig 23 y 24.

La sorción de  $Pb^{+2}$  no se ve afectada por el pH en el rango de 2 a 4 en las mezclas binarias. También se ve muy favorecida la sorción por la presencia de  $Cr^{+6}$  pero existe una competencia con  $Ni^{+2}$  y  $Cd^{+2}$  y en menor proporción con  $Cu^{+2}$  y  $Zn^{+2}$ .

Para una concentración inicial de  $50mg L^{-1}$  de cromo, el porcentaje de remoción obtenido a pH 4 fué de 50%, y mientras que a pH 2 fue de 83%, (Tabla 13).

La remoción de cromo a pH 4, disminuye a un 10% al estar en contacto con plomo (fig 12), se observa un aumento a un 57% de remoción en la mezcla con cadmio y zinc a pH 4 (fig 21) pero disminuye a 18%, en la mezcla con níquel y zinc (fig 19); en la mezcla de los seis metales, la remoción es de un 17% (fig 23).

El efecto observado para el cromo a pH 2, fue que disminuye a un 17% en la mezcla con plomo (fig 13), un 17% en la mezcla ternaria con zinc y cadmio (fig 22) y aumenta un poco hasta casi un 53% en la mezcla con níquel y zinc (fig 20), también en la mezcla de los seis metales, se obtuvo un 24% de remoción (fig 24), que fue mayor que el obtenido en la mezcla a un pH de 4.

La sorción de  $Cr^{+6}$  es muy afectada por el pH observándose que en todos los casos, la mayor sorción ocurre a un pH de 2, lo cual concuerda con Donmez GC<sup>39</sup>, quien encontró que a pH 2, es el pH óptimo para la sorción de este metal utilizando biomasa de varias especies de algas como biosorbente. También se observó notablemente afectada por el  $Pb^{+2}$  en ambos pH (2 y 4). La sorción de Cr VI es afectada por la presencia de  $Ni^{+2}$ , lo cual difiere de Mehta SK<sup>18</sup> quien encontró que el  $Ni^{+2}$  no interfiere en la sorción de  $Cr^{+6}$  utilizando biomasa de *Chlorella vulgaris*. Así mismo se observa que existe competencia con el  $Zn^{+2}$  y  $Cd^{+2}$ .

En la tabla 13, se muestra que para una concentración inicial de  $50mg L^{-1}$  de metal, el porcentaje de remoción obtenido para cobre fue del 73%. Al estudiarse la remoción en mezclas de metales, se observó, que para el cobre disminuyó a un poco más del 50% en una

mezcla binaria con zinc (fig 16); y aumentó ligeramente a un 59% en una mezcla ternaria con níquel y plomo (fig 17), pero disminuye a un 44% al estar en conjunto con cadmio y plomo (fig 18). En la mezcla de los seis metales de estudio a un pH de 4, el porcentaje de remoción fue de 56% (fig 23), pero a pH 2, la remoción disminuyó drásticamente hasta un 1.4%(fig 24).

Lo anterior muestra que la sorción de cobre por biomasa de *Chlorella* sp es afectada por el pH (fig 23 y 24) y la presencia de otros metales, pero aún así, el cobre a pH 4 es sorbido preferentemente sobre la mayoría de los metales con excepción del  $Pb^{+2}$ , lo cual concuerda con Mehta SK<sup>46</sup> quien estudio la sorción de una mezcla binaria de  $Cu^{+2}$  y  $Ni^{+2}$ , encontrando que el  $Cu^{+2}$  es sorbido preferentemente sobre  $Ni^{+2}$ . Este tipo de inhibición concuerda también con lo encontrado por De Carvalho RP<sup>31</sup> con mezclas binarias de  $Cu^{+2}+Zn^{+2}$  y  $Cu^{+2}+Cd^{+2}$  demostrando que ocurre interferencia mutua en la sorción por *Ascophyllum nodosum*.

En el caso del cadmio, el porcentaje de remoción obtenido fue de un 51 %, (tabla 13). En la mezcla binaria de cadmio y plomo, se observó que el cadmio disminuyó hasta un 33% su porcentaje de remoción (fig 14); se observa también una disminución en la mezcla ternaria formada con cobre y plomo alcanzando un 17% de remoción (fig 18) y en la mezcla formada por zinc y cromo a pH 4 y 2, se obtuvo una remoción del 15% y 13% respectivamente (fig 21 y 22), encontrándose que el pH no afecta significativamente la sorción de este metal; el mismo efecto se observó en la mezcla de los seis metales, obteniéndose un 11% de remoción a pH 4 y pH 2 (fig 23 y 24).

Se encontró que en la mezcla ternaria el pH no afecta significativamente la sorción de cadmio y que la sorción de éste, es inhibida por la presencia de  $Pb^{+2}$ , se observó que se ve afectada la sorción por la presencia de otros metales lo cual concuerda con De Carvalho RP<sup>31</sup> quien encontró una mutua interferencia de  $Cu^{+2}$  y  $Cd^{+2}$  en una mezcla binaria, utilizando biomasa del alga *Ascophyllum nodosum* y Artola A.<sup>49</sup> quien detectó competencia con  $Ni^{+2}$  y  $Zn^{+2}$ , utilizando lodos activados.

En la tabla 13 se muestra que para una concentración inicial de  $50mg L^{-1}$  de metal, el porcentaje de remoción obtenido para níquel fue de un 46%. Al estudiarse en las mezclas,

se observó una disminución en el porcentaje de remoción a un 29%, en la mezcla binaria con plomo (fig 15); también disminuye en las mezclas ternarias a un 28% con plomo y cobre (fig 17), a un 14% en la mezcla con cromo y zinc a pH 4 y hasta un 10% en la misma mezcla, pero a un pH de 2 (fig 19 y 20) ; así mismo, se observa una disminución en el porcentaje de sorción en la mezcla de los seis metales a pH 4 que alcanza un 37% (fig 23), y a pH 2, solo llega a un 2% (fig 24).

Se pudo observar que la sorción de  $\text{Ni}^{+2}$  es afectada por el pH, y es inhibida por la presencia de  $\text{Pb}^{+2}$ , la presencia de otros metales no la afectan significativamente en un pH de 4. Esto difiere de Mehta SK<sup>38</sup>, quien encontró que el  $\text{Cu}^{+2}$  estimula la sorción de  $\text{Ni}^{+2}$  por *Chlorella vulgaris*, pero concuerda con Mehta<sup>50</sup> que encontró que el  $\text{Cu}^{+2}$  es sorbido preferentemente sobre  $\text{Ni}^{+2}$ .

El porcentaje de remoción obtenido para zinc fue de un 16.4% (tabla 13). Al estudiarse las mezclas, se observó que, el cobre afecta su sorción positivamente, ya que en esta mezcla se alcanza un 27% (fig 16). En la mezcla con níquel y cromo a pH 4, se observó un aumento a 43%, (fig 19) pero en la misma mezcla a pH 2, disminuye hasta un 21%, (fig 20) lo mismo se observa en la mezcla con cadmio y cromo a pH 4 (fig 21) y pH 2 (fig 22), con un porcentaje de remoción de 19% y 12% respectivamente; en la mezcla de los seis metales a pH 4, se obtuvo un porcentaje de remoción de 12, y aumentó a más del doble en condiciones ácidas, alcanzando un 31% (fig 23 y 24). ✓

Se observó que la sorción del zinc por *Chlorella sp* es afectado por el pH, y la presencia de  $\text{Cu}^{+2}$  favorece su sorción, así como la presencia de  $\text{Cd}^{+2}$  y  $\text{Cr}^{+6}$  en la mezcla ternaria a pH 4, y  $\text{Ni}^{+2}$  y  $\text{Cr}^{+6}$  a pH 2 y 4 lo cual difiere con Mehta S.K.<sup>38</sup> y De Carvalho R.P.<sup>26</sup>, quienes en sus estudios encontraron que existe una inhibición competitiva en las mezclas binarias de  $\text{Ni}^{+2}+\text{Zn}^{+2}$  y  $\text{Zn}^{+2}+\text{Cd}^{+2}$ , ambos utilizando biomasa del alga *Chlorella vulgaris*.

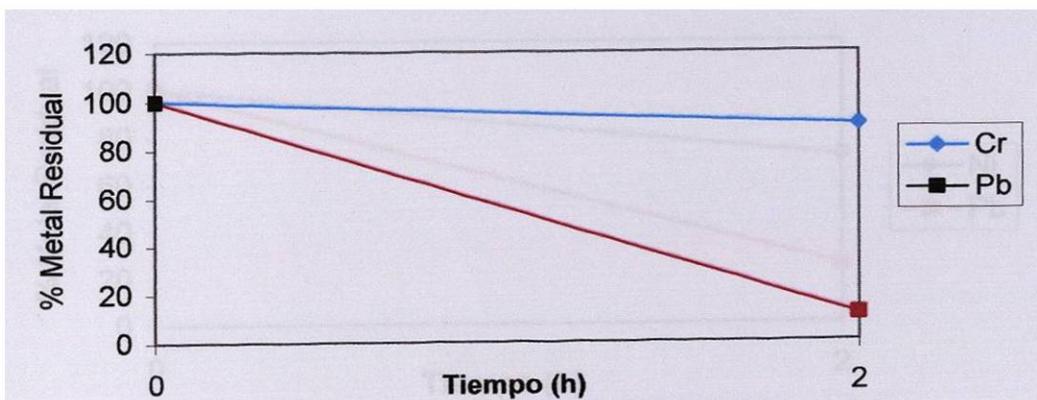


Figura 12. Sorción en una mezcla de Pb(II) y Cr(VI), a pH 4, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

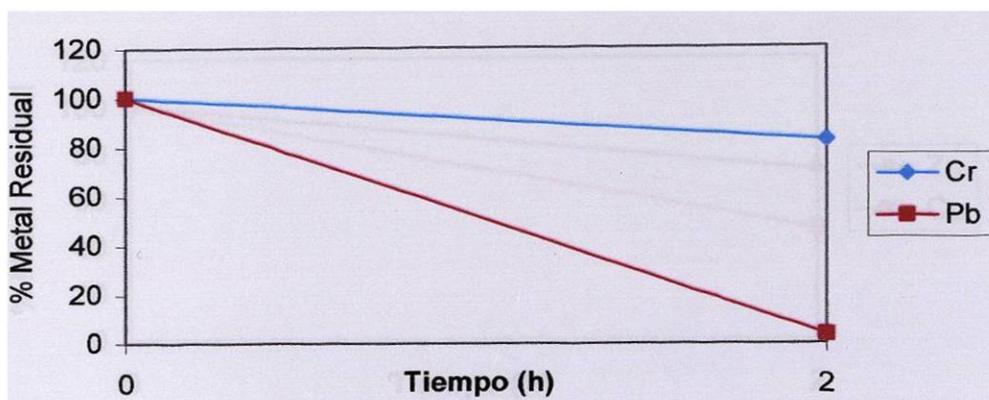


Figura 13. Sorción en una mezcla de Pb(II) y Cr(VI), a pH 2, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

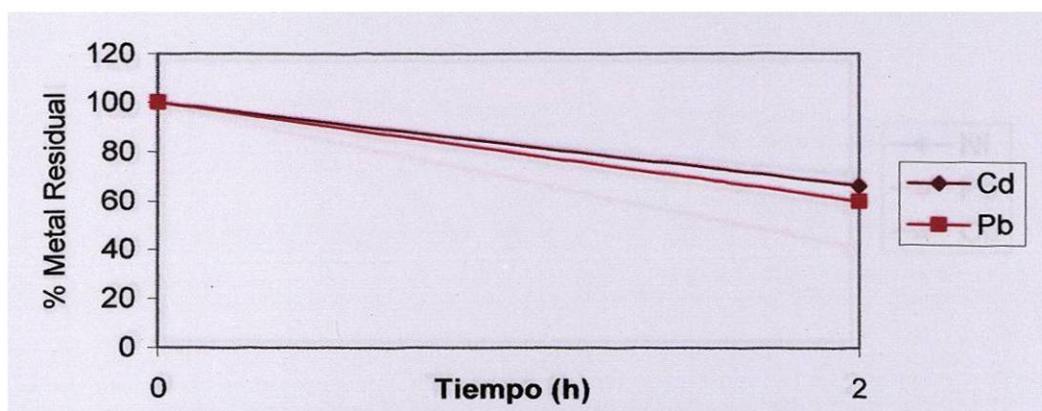


Figura 14. Sorción en una mezcla de Pb(II) y Cd(II), a pH 4, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

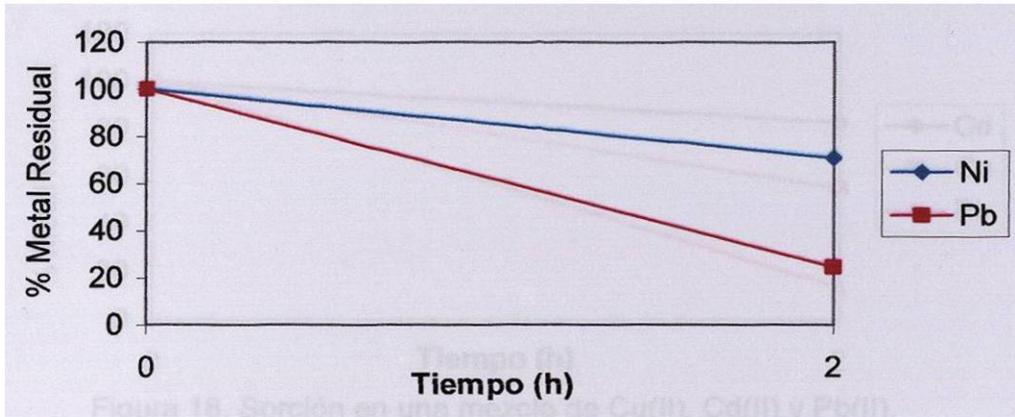


Figura 15. Sorción en una mezcla de Pb(II) y Ni(II), a pH 4, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

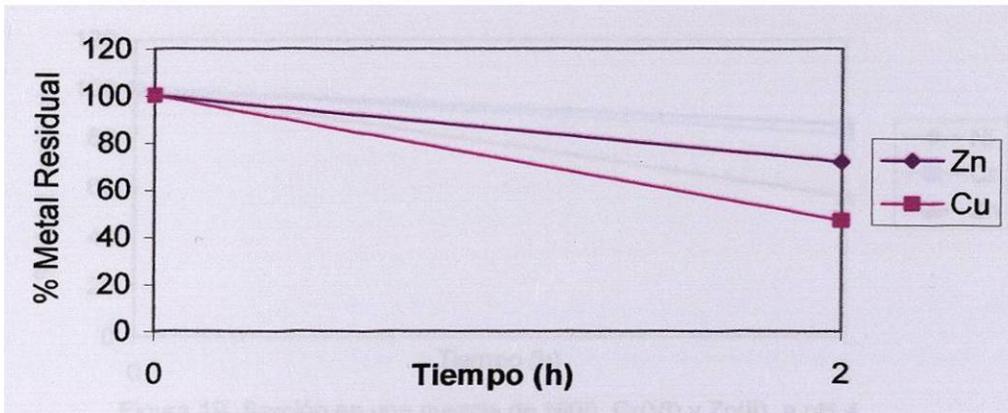


Figura 16. Sorción en una mezcla de Cu(II) y Zn(II), a pH 4, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

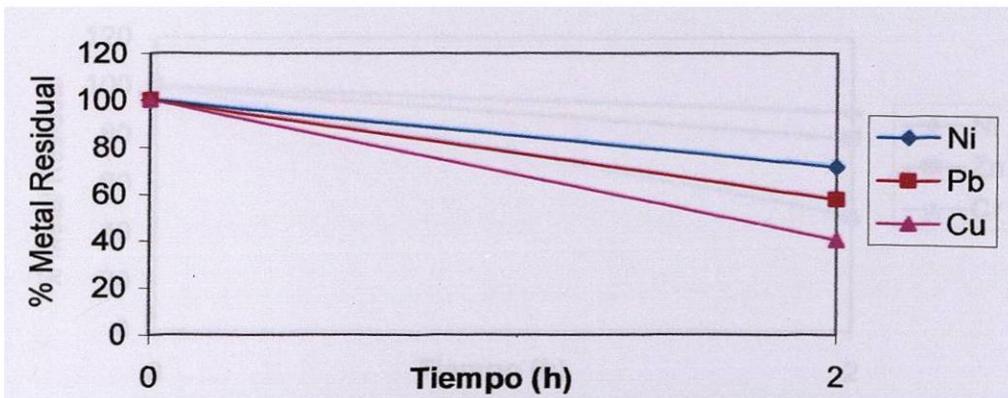


Figura 17. Sorción en una mezcla de Cu(II), Pb(II) y Ni(II), a pH 4, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

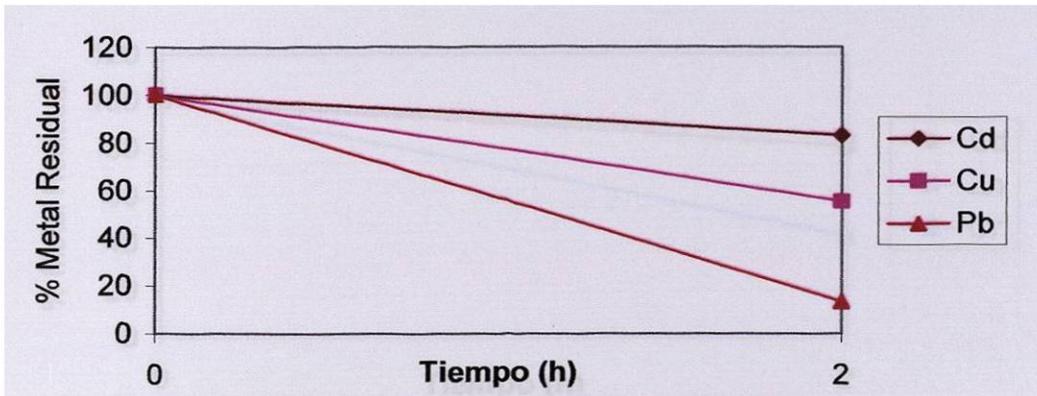


Figura 18. Sorción en una mezcla de Cu(II), Cd(II) y Pb(II), a pH 4, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

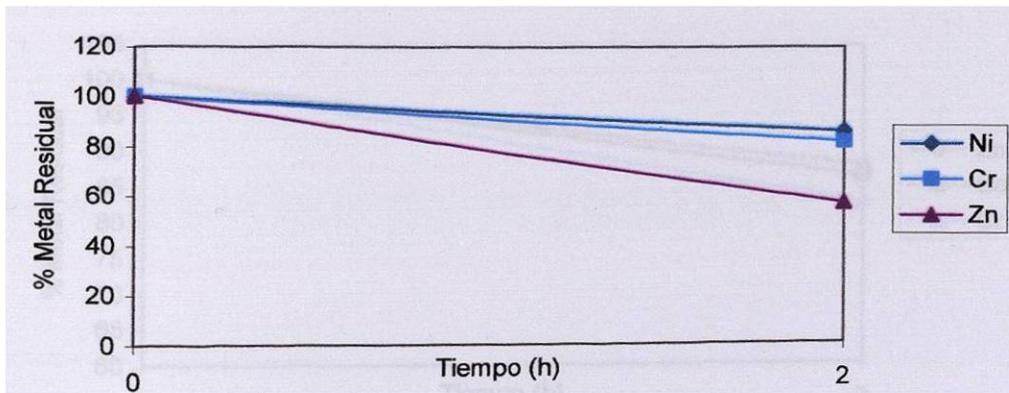


Figura 19. Sorción en una mezcla de Ni(II), Cr(VI) y Zn(II), a pH 4, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

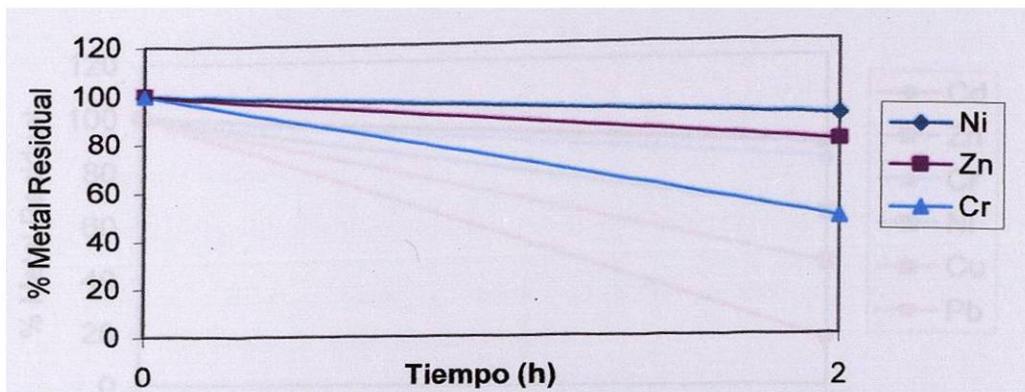


Figura 20. Sorción en una mezcla de Ni(II), Zn(II) y Cr(VI) a pH 2, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

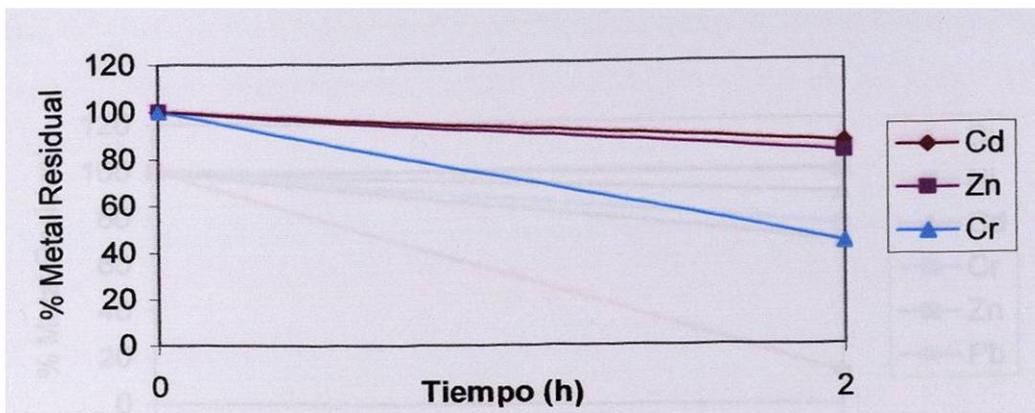


Figura 21. Sorción en una mezcla de Zn(II), Cd(II) y Cr(VI), a pH 4, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

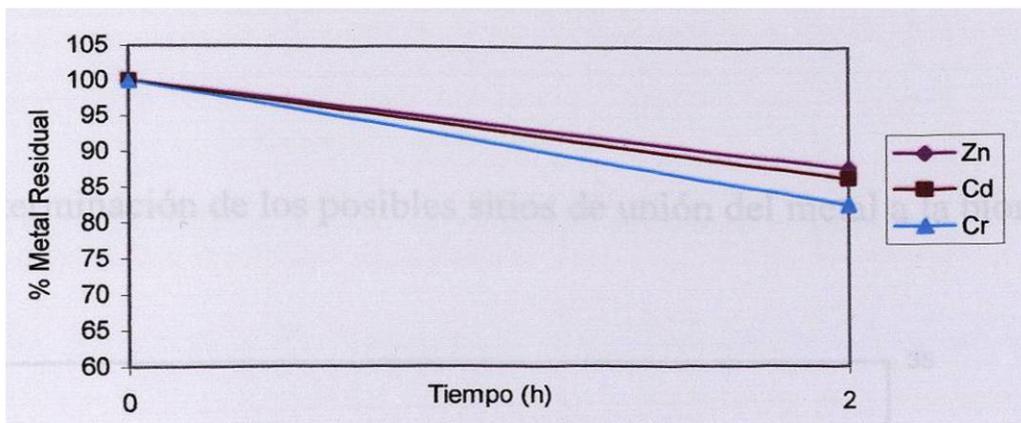


Figura 22. Sorción en una mezcla de Zn(II), Cd(II) y Cr(VI), a pH 2, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

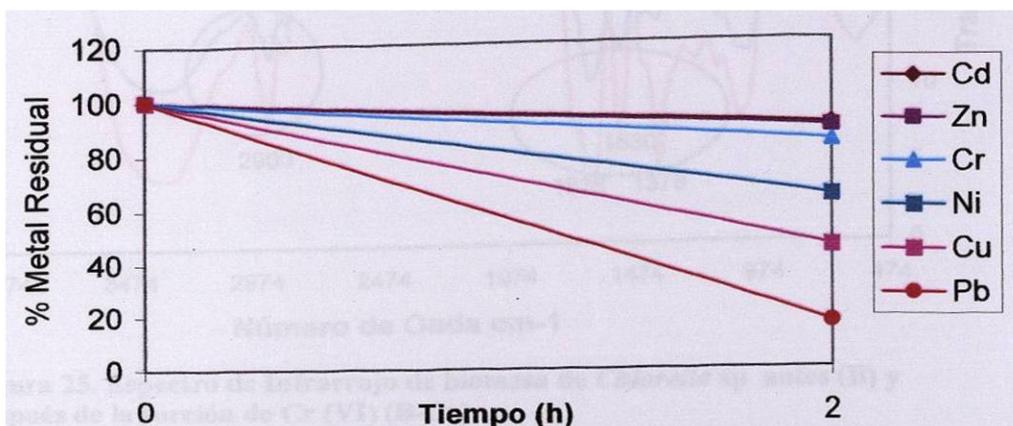


Figura 23. Sorción en una mezcla de los seis metales, a pH 4, utilizando biomasa de *Chlorella* sp

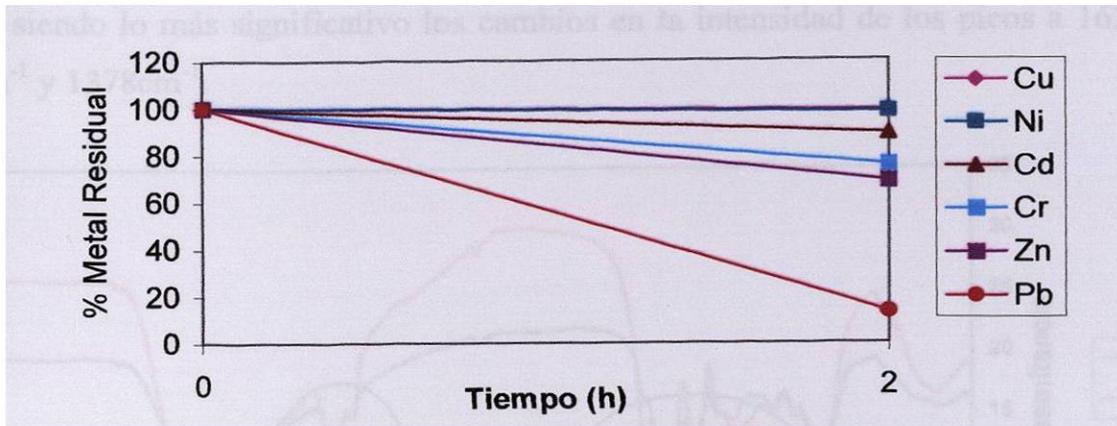


Figura 24. Sorción en una mezcla de los seis metales, a pH 2, utilizando biomasa de *Chlorella sp*

5.8. Determinación de los posibles sitios de unión del metal a la biomasa

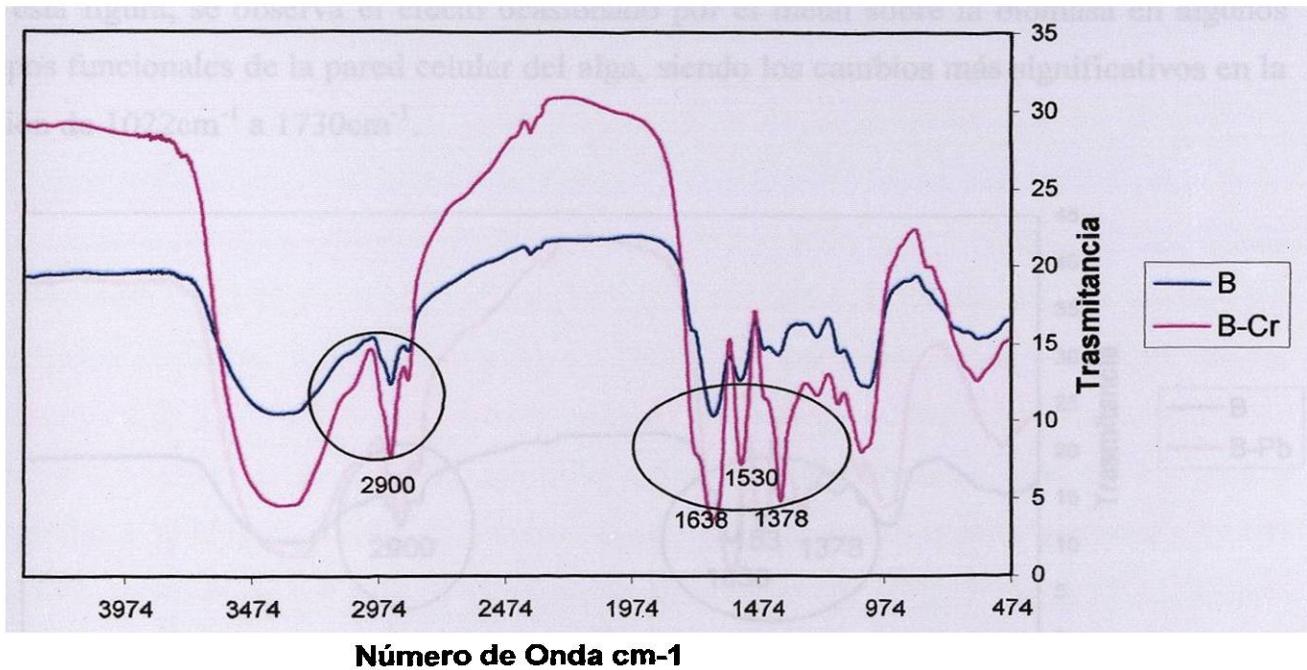
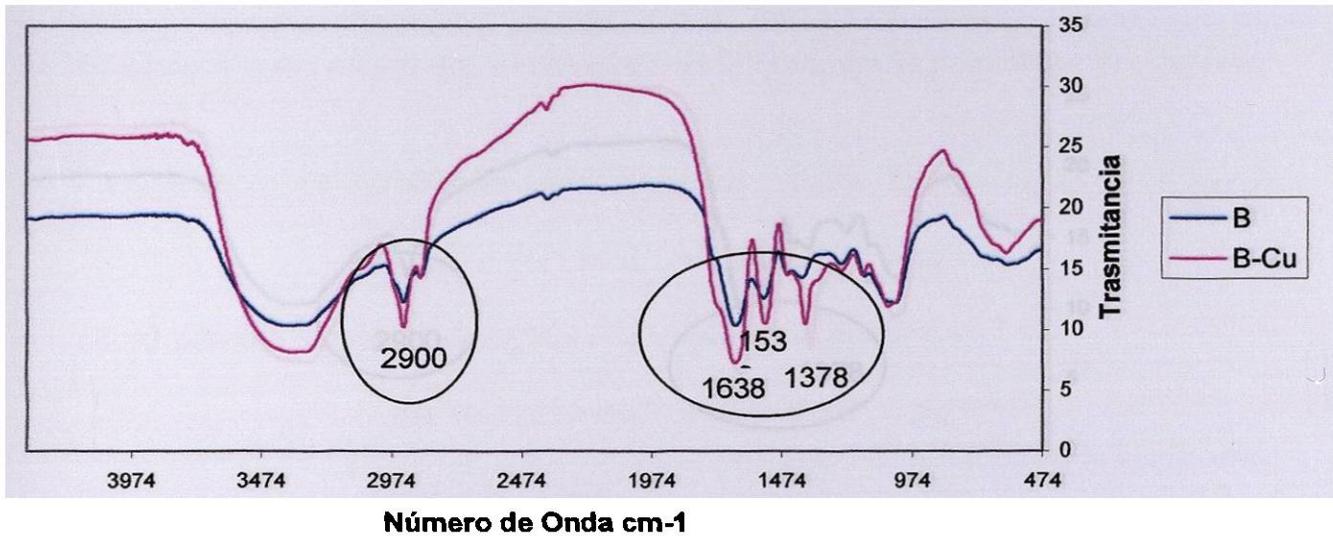


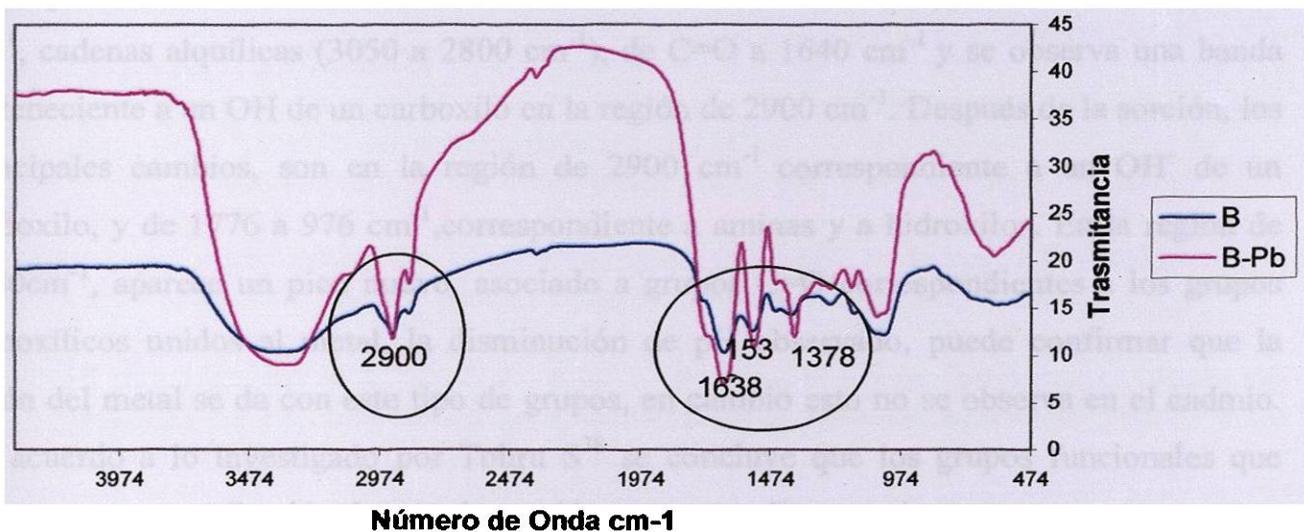
Figura 25. Espectro de Infrarrojo de biomasa de *Chlorella sp* antes (B) y después de la sorción de Cr (VI) (B-Cr)

En esta figura, se observa el cambio en el espectro IR al estar la biomasa en contacto con el Cr(VI), siendo lo más significativo los cambios en la intensidad de los picos a  $1638\text{cm}^{-1}$ ,  $1530\text{cm}^{-1}$  y  $1378\text{cm}^{-1}$ .



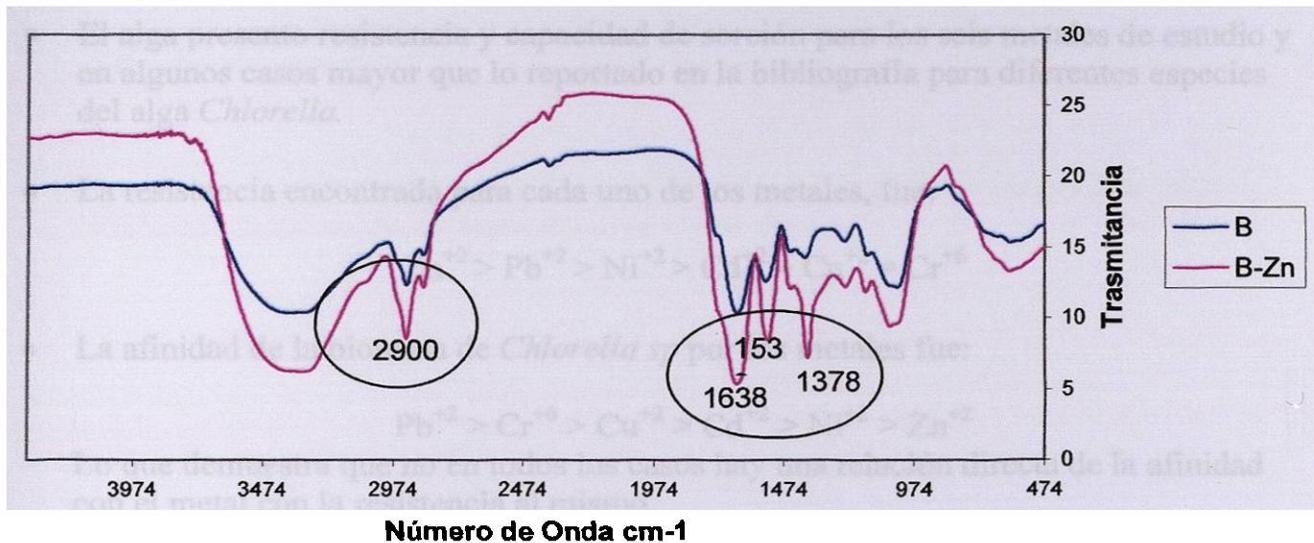
**Figura 26. Espectro de Infrarrojo de biomasa de *Chlorella sp* antes (B) y después de la sorción de Cu (II) (B-Cu)**

En esta figura, se observa el efecto ocasionado por el metal sobre la biomasa en algunos grupos funcionales de la pared celular del alga, siendo los cambios más significativos en la región de  $1022\text{cm}^{-1}$  a  $1730\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 27. Espectro de Infrarrojo de biomasa de *Chlorella sp* antes (B) y después de la sorción de Pb (II) (B-Pb)**

El espectro Infrarrojo, muestra un aumento en la señal de la biomasa que estuvo en contacto con el metal, siendo la región de  $1022\text{cm}^{-1}$  a  $1710\text{cm}^{-1}$  la de mayor importancia ya que es donde absorben los grupos carboxilo, amino y los tioles<sup>38</sup>.



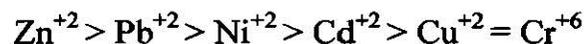
**Figura 28. Espectro de Infrarrojo de biomasa de *Chlorella sp* antes (B) y después de la sorción de Zn (II) (B-Zn)**

En esta figura 28, se muestra el cambio en el espectro IR al estar la biomasa en contacto con el Zn(II)

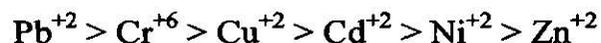
Los espectros muestran bandas características de  $\text{OH}^-$  a  $3600\text{cm}^{-1}$  y  $\text{NH}$  de aminos a  $3000\text{cm}^{-1}$ , cadenas alquílicas ( $3050$  a  $2800\text{cm}^{-1}$ ), de  $\text{C}=\text{O}$  a  $1640\text{cm}^{-1}$  y se observa una banda perteneciente a un  $\text{OH}$  de un carboxilo en la región de  $2900\text{cm}^{-1}$ . Después de la sorción, los principales cambios, son en la región de  $2900\text{cm}^{-1}$  correspondiente a un  $\text{OH}^-$  de un carboxilo, y de  $1776$  a  $976\text{cm}^{-1}$ , correspondiente a aminos y a hidroxilos. En la región de  $1380\text{cm}^{-1}$ , aparece un pico nuevo, asociado a grupos  $\text{C}=\text{O}$  correspondientes a los grupos carboxílicos unidos al metal, la disminución de pH observado, puede confirmar que la unión del metal se da con este tipo de grupos, en cambio esto no se observa en el cadmio. De acuerdo a lo investigado por Tohru S<sup>38</sup> se concluye que los grupos funcionales que tienen mayor contribución durante la sorción son carboxilos y aminos.

## VI. CONCLUSIONES

- El crecimiento del alga *Chlorella* sp, es favorecido por la presencia de factores de crecimiento en una concentración de 0.10%.
- El alga presenta resistencia y capacidad de sorción para los seis metales de estudio y en algunos casos mayor que lo reportado en la bibliografía para diferentes especies del alga *Chlorella*.
- La resistencia encontrada para cada uno de los metales, fue:



- La afinidad de la biomasa de *Chlorella* sp por los metales fue:



Lo que demuestra que no en todos los casos hay una relación directa de la afinidad con el metal con la resistencia al mismo.

- Se requieren pequeñas cantidades de biomasa (1-2 gL<sup>-1</sup>) para obtener una alta capacidad de sorción (Q).
- En las disoluciones preparadas con mezclas de metales (Aguas modeladas):
  - La sorción del Cd<sup>+2</sup> disminuye por la presencia de los 5 metales y no se ve afectada por el pH.
  - La sorción de Zn<sup>+2</sup> es afectada por el pH, existe competencia con el Cu<sup>+2</sup>, Ni<sup>+2</sup> y Cd<sup>+2</sup>, y el Cr<sup>+6</sup> favorece su sorción en un pH de 4, pero no a pH 2. El Pb<sup>+2</sup> no interfiere en su sorción.
  - La sorción de Cr<sup>+6</sup> es afectada por el pH, y existe competencia con el Pb<sup>+2</sup>, Ni<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup> y Cd<sup>+2</sup>.
  - La sorción de Ni<sup>+2</sup> es afectada por el pH, y existe competencia con el Pb<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup> y en menor grado con el Cd<sup>+2</sup>.
  - La sorción de Cu<sup>+2</sup> se ve afectada por el pH, y existe competencia con los 5 metales.
  - La sorción de Pb<sup>+2</sup>, no es afectada por el pH, se favorece la sorción con la presencia de Cr<sup>+6</sup> y existe competencia con los otros 4 metales.
- El metal se une a la pared del alga a grupos que liberan protones al medio sin embargo los estudios realizados son insuficientes para determinar los grupos a los que se unen, se necesitan pruebas más específicas.
- En base a los resultados obtenidos y comparándolos con datos bibliográficos se puede concluir que el alga estudiada puede recomendarse como un biosorbente económico y ecológico para el tratamiento de aguas residuales ya que puede ser obtenida por técnicas y medios de cultivos simples y económicos y presenta capacidad de sorción de los seis metales estudiados.

## VII. RECOMENDACIONES

Para complementar este estudio se recomienda:

- Evaluar el comportamiento con concentraciones superiores e inferiores al intervalo utilizado en este trabajo.
- Determinar las condiciones para la recuperación de los metales después de haber estado en contacto con biomasa del alga *Chlorella* sp
- Realizar el experimento con muestras de aguas residuales
- Evaluar la capacidad de sorción de la biomasa inmovilizada
- Determinar la factibilidad del uso del biosorbente para la construcción de un biorreactor que pueda ser aplicado a nivel industrial

## VIII. ANEXOS

### 8.1 TÉCNICAS DE ANÁLISIS

#### 8.1.1 Conteo directo al microscopio

Se utilizó un hemacitómetro, que es una “cámara de doble recuento”, cuya plataforma central está subdividida transversalmente en dos mitades. Cada una de las plataformas centrales tiene un rayado cuadrículado de Neubauer mejorado, que consta de un cuadro que mide 3 x 3 mm, subdividido en 9 cuadrados secundarios, cada uno de 1 x 1 mm. El cuadro central milimetrado está dividido en 25 cuadrados terciarios, cada uno de estos está subdividido ulteriormente en 16 cuadrados más pequeños. Como regla, 5 de los cuadros terciarios se emplean para el recuento.

#### 8.1.2 Espectroscopía de Absorción Atómica

Este método se basa en la medición de la cantidad de luz monocromática absorbida por el elemento atomizado a determinarse en una flama, por medio de un detector, siendo dicha energía absorbida proporcional a la concentración del elemento.

La determinación espectroscópica de especies atómicas solo se puede llevar a cabo dentro de un medio gaseoso, en el cual los átomos individuales están separados unos de otros. Consecuentemente, el primer paso en todos los procedimientos espectroscópicos es la **atomización**, un proceso en el cual la muestra es volatilizada y descompuesta para producir un gas atómico. La eficiencia y reproducibilidad del paso de atomización determina en gran parte, la sensibilidad, precisión y exactitud del método, siendo el paso más importante de la espectroscopía atómica.

Se utilizan diversos métodos para la atomización de las muestras en estudio de espectroscopía atómica. El más empleado es la atomización de flama, en la cual, una solución del analito (generalmente acuosa) se convierte en una niebla, se **nebuliza**, y se lleva dentro de la flama mediante un flujo de un oxidante o combustible gaseoso<sup>52</sup>.

## Calibración

Los métodos cuantitativos de absorción atómica están basados en curvas de concentración. Éstas, en principio, son lineales. Sin embargo, se presentan desviaciones de la linearidad y los análisis nunca deben basarse en la medición de un solo patrón con la presunción de que sigue la ley de Beer. Además, la producción de un vapor atómico comprende suficientes variables incontrolables para garantizar la medición de la absorbancia de al menos una solución estándar en cada análisis

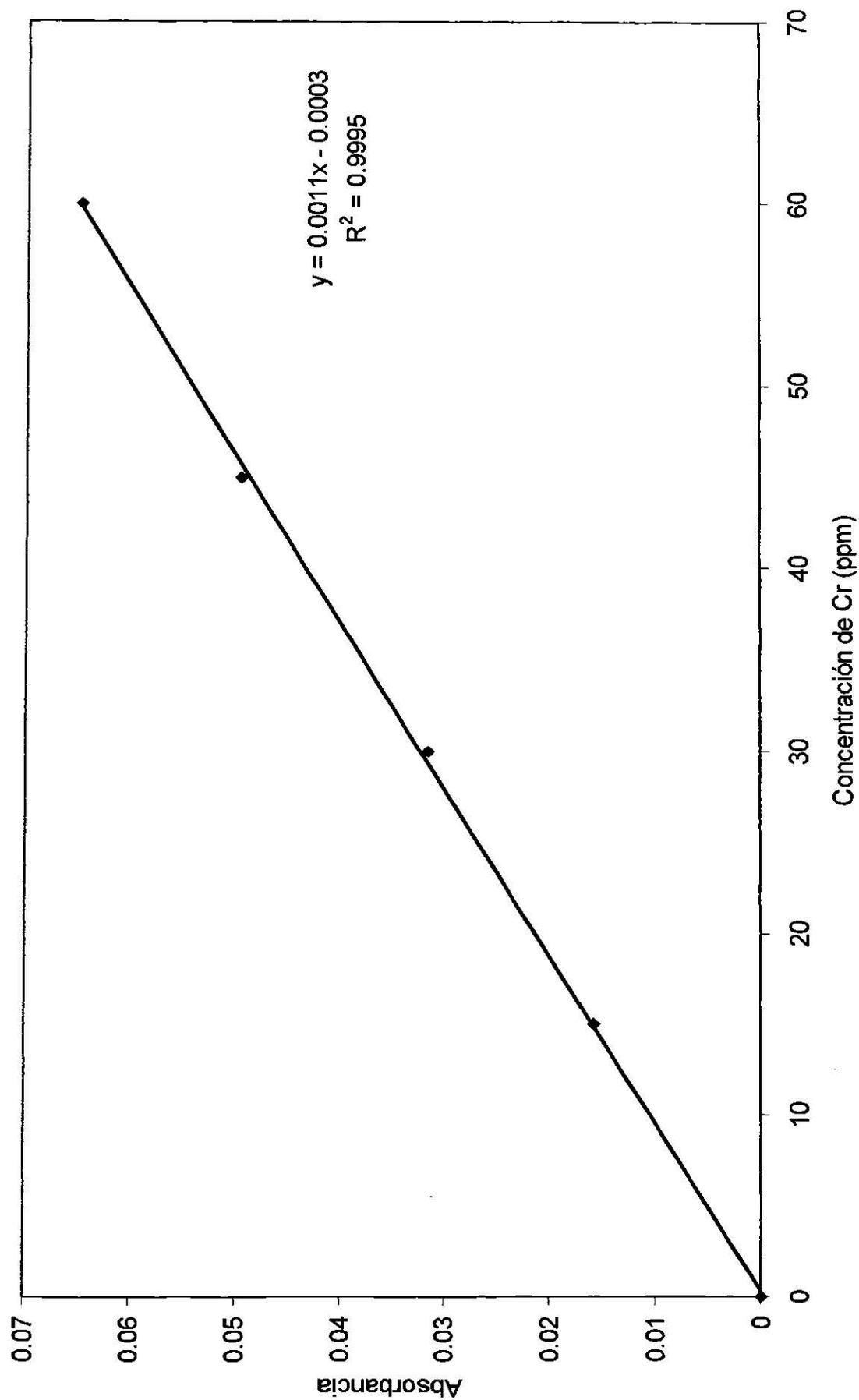
### 8.1.3 Espectroscopía de Absorción en el Infrarrojo

La región infrarroja del espectro incluye la radiación con número de onda comprendidos entre los 12 800 y 10  $\text{cm}^{-1}$ .<sup>52</sup> Todas las especies moleculares absorben radiación infrarroja con la excepción de un conjunto de especies homonucleares como hidrógeno molecular, oxígeno y nitrógeno<sup>53</sup>.

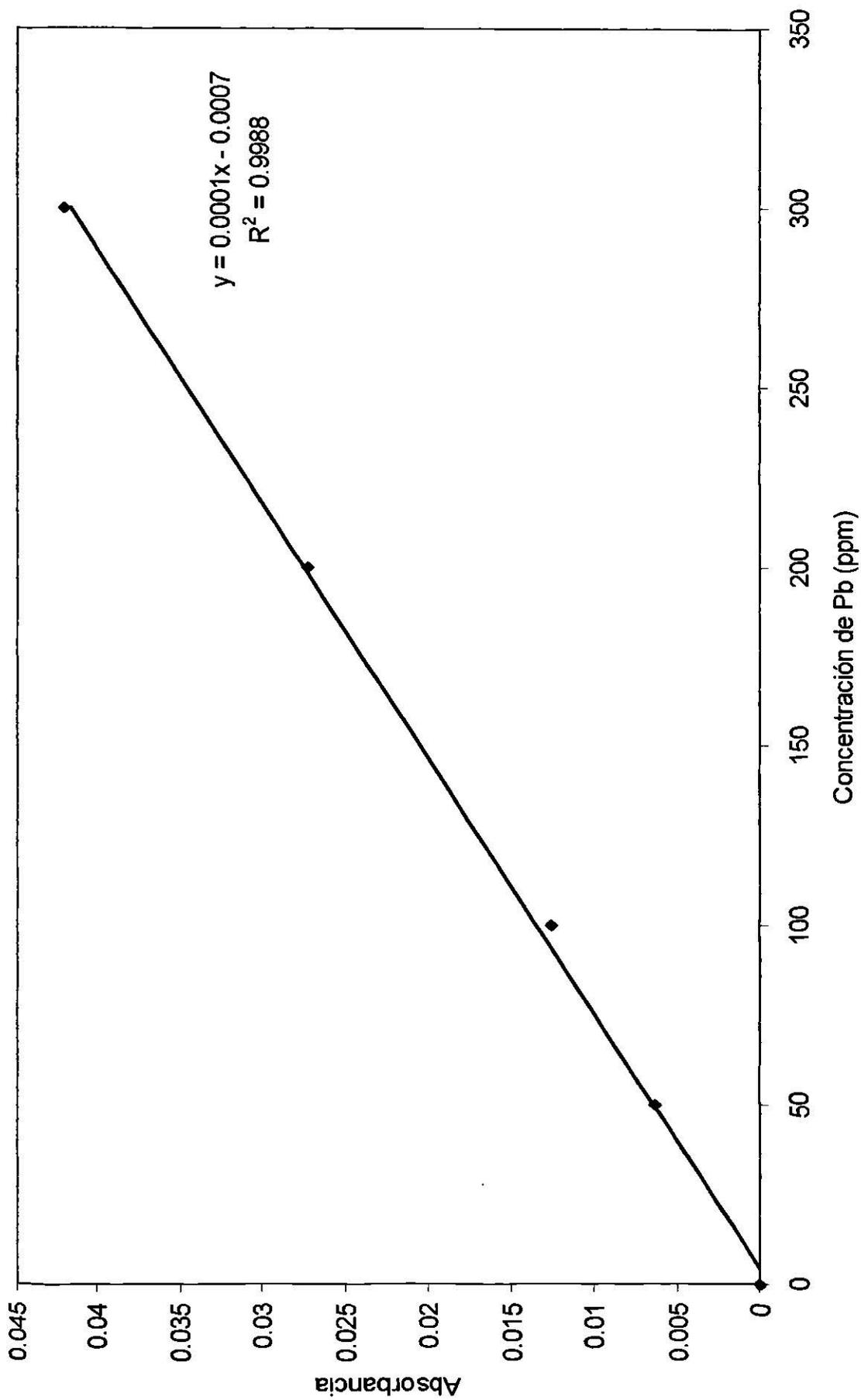
La espectroscopía infrarroja tiene una gran aplicación en el análisis cualitativo y cuantitativo. Su principal utilización ha sido la identificación de compuestos orgánicos<sup>52</sup>.

El espectro infrarrojo proporciona una huella digital única para cada compuesto, la cual es distinguible fácilmente de los patrones de absorción de todos los otros compuestos<sup>53</sup>.

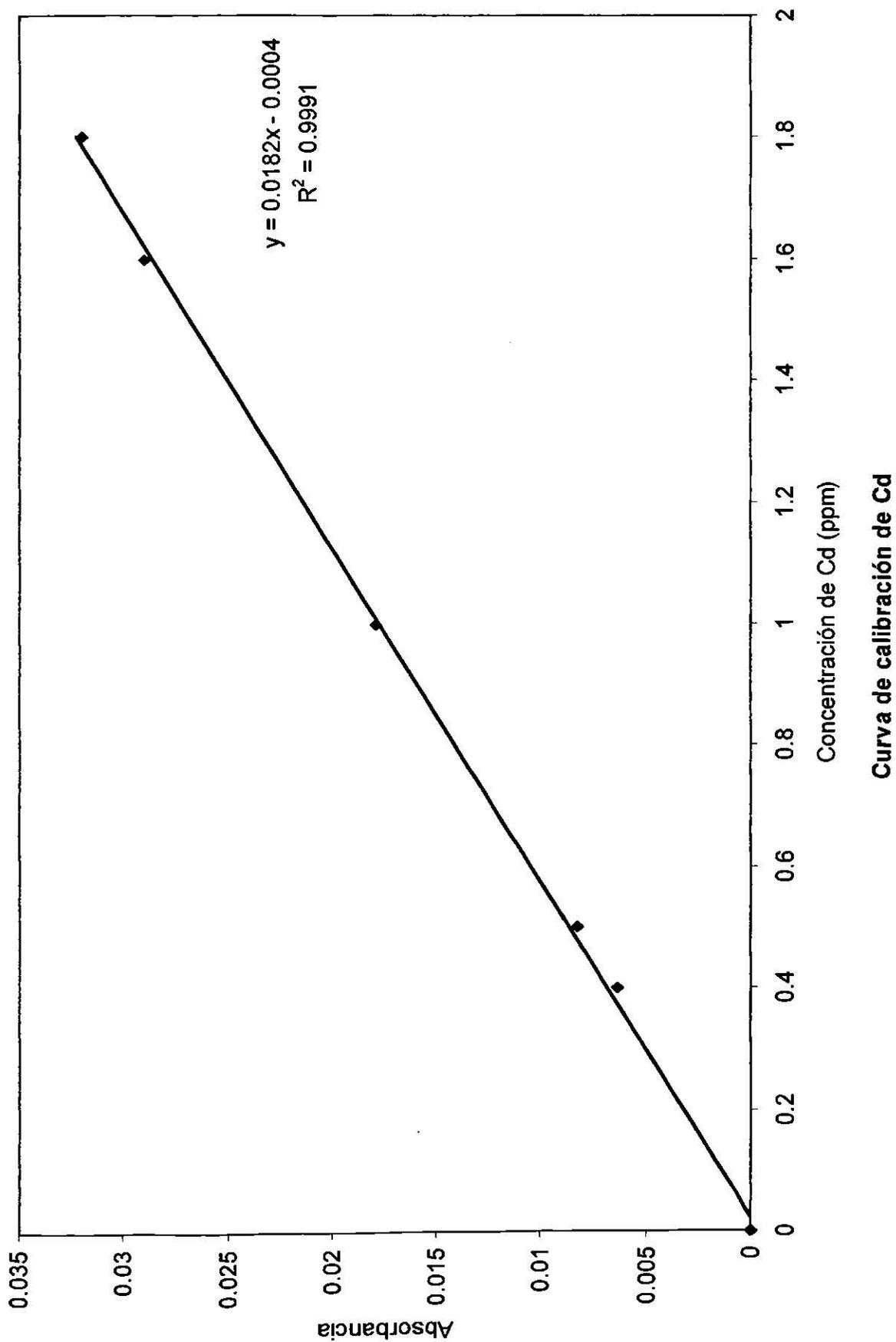
La identificación de un compuesto orgánico a partir de este tipo de espectros es un proceso de dos etapas. La primera etapa implica la determinación de los grupos funcionales que parece más probable que estén presentes, examinando la región de *frecuencia de grupos*, que abarca la radiación comprendida desde los 3600  $\text{cm}^{-1}$  a los 1200  $\text{cm}^{-1}$  aproximadamente. La segunda etapa consiste en una comparación detallada del espectro desconocido con los espectros de compuestos puros que contienen los grupos funcionales encontrados en la primera etapa<sup>52</sup>.

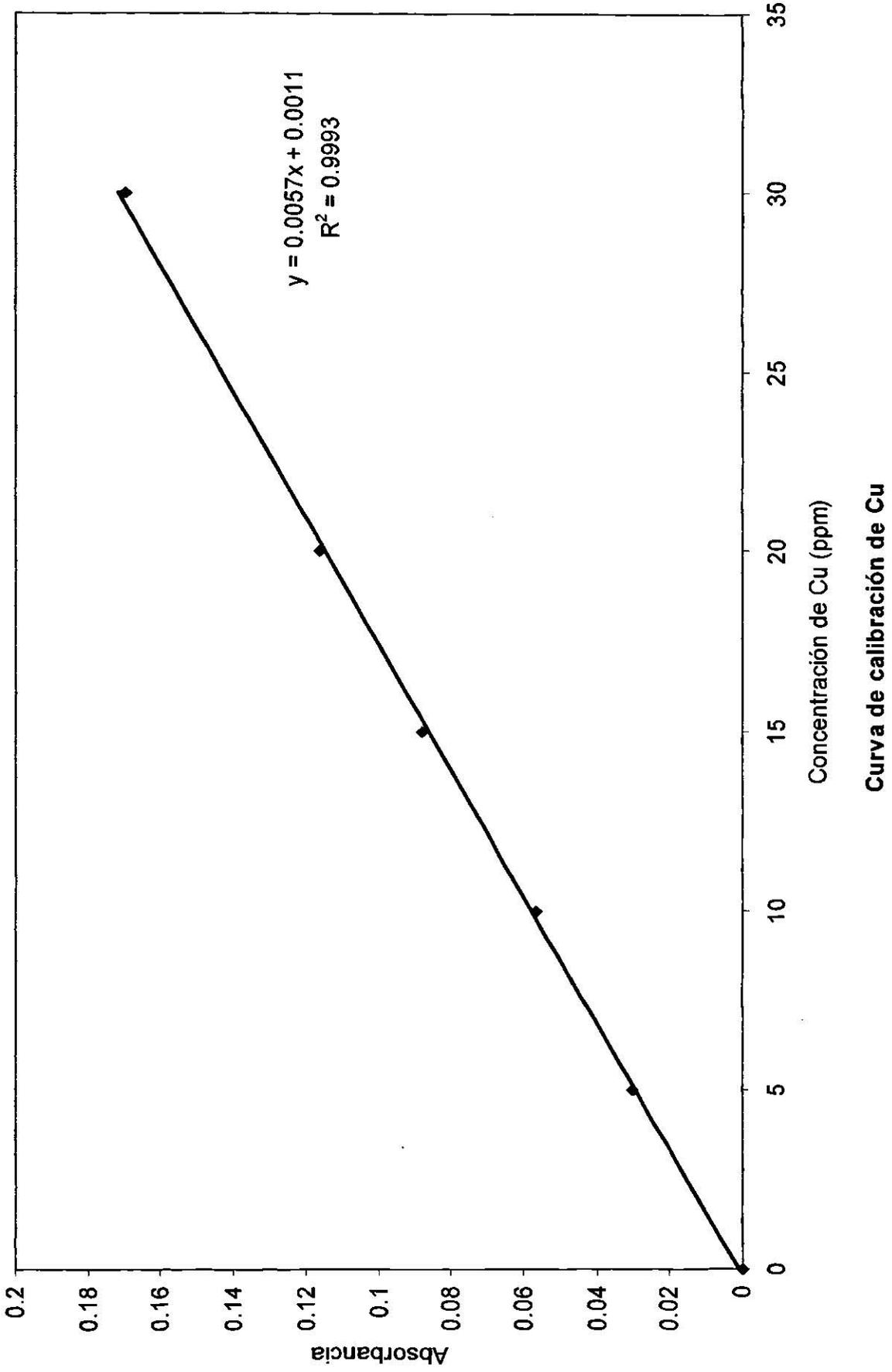


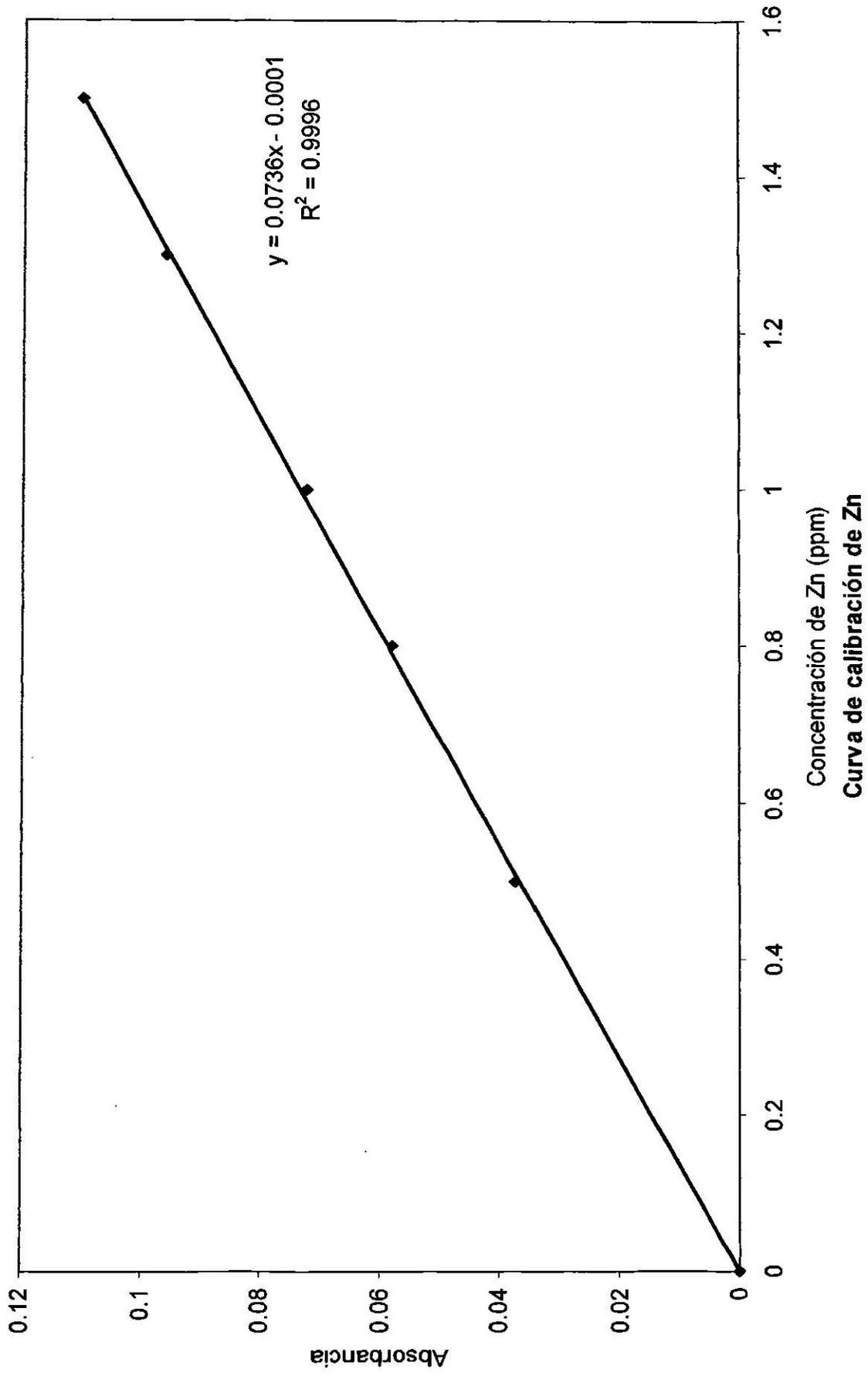
Curva de calibración de Cr

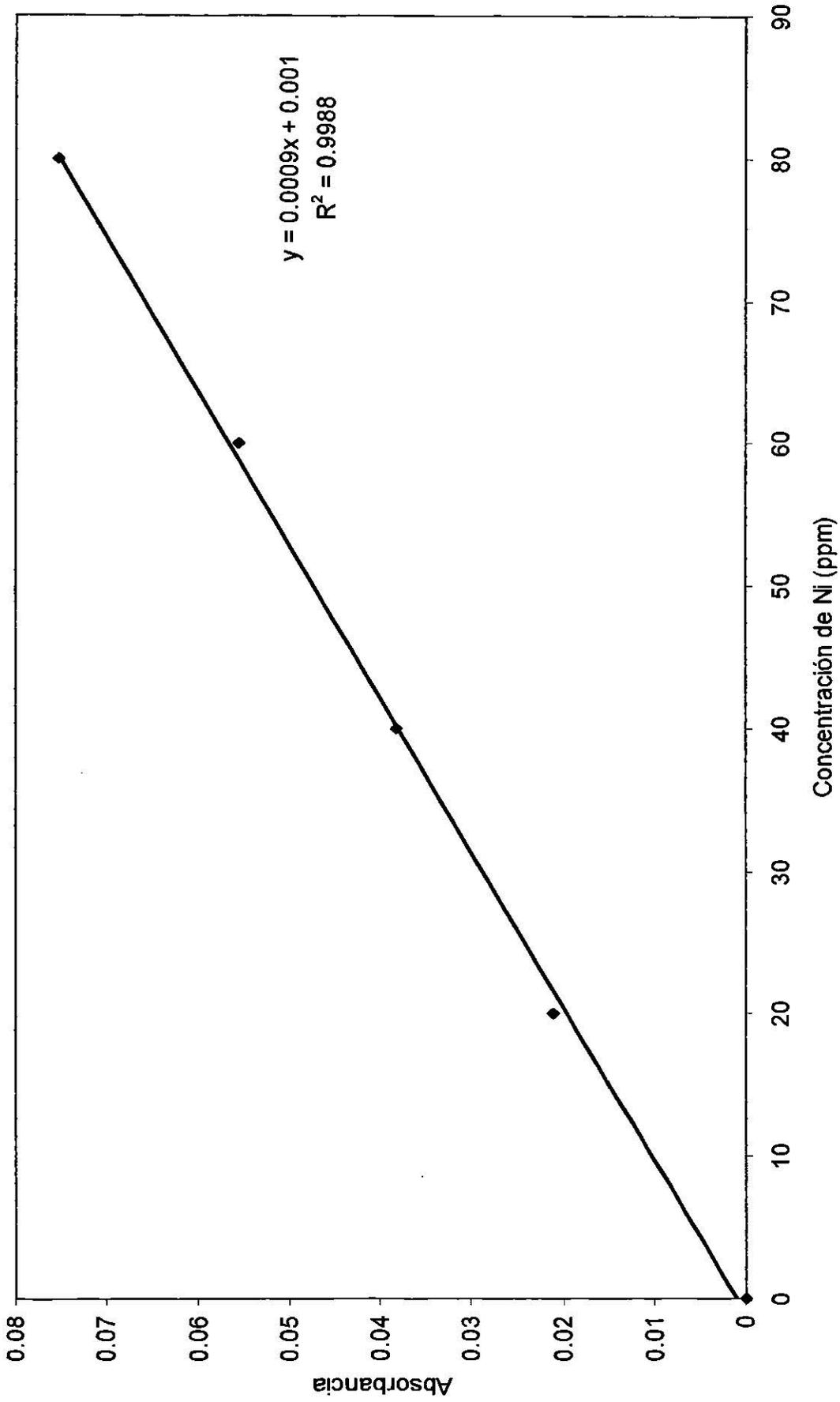


Curva de calibración de Pb









Curva de calibración de Níquel

## IX. BIBLIOGRAFÍA

1. [http://www.tareasya.com/noticia.asp?noticia\\_id=2690](http://www.tareasya.com/noticia.asp?noticia_id=2690)
2. Volesky B., 1999. Biosorption of the next century, Biohydrometalurgy and the Environment Toward the Mining for the 21<sup>st</sup> Century.
3. Navas Aparicio María del Carmen, 1997, Hipersensibilidad asociada a la aleación de níquel y/o cromo. Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.
4. [http://www.unsam.edu.ar/unsam/megapila/Texto/etapa2\\_body.htm](http://www.unsam.edu.ar/unsam/megapila/Texto/etapa2_body.htm)
5. <http://www.webelements.com/webelements/elements/text/Cd/index.html>
6. [http://www.cadmium.org/env\\_lev.html](http://www.cadmium.org/env_lev.html)
7. [http://www.cadmium.org/env\\_emi.html](http://www.cadmium.org/env_emi.html)
8. <http://www.smls.on.ca/academic/Chemistry/Cadmium/Uses.html>
9. [http://www.cadmium.org/env\\_exp.html](http://www.cadmium.org/env_exp.html)
10. <http://www.saludlatina.com/sociedad/>
11. <http://edafologia.ugr.es/Conta/Tema15/1Introd.html>
12. <http://enviro.nfesc.navy.mil/esc425/LdUses.htm>
13. <http://www1.ceit.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/09ProdQui/120MetTox.htm>
14. <http://www.nezit.com.ar/noticias/pilas.htm>
15. <http://www.environment.phelpsdodge.com/practices/copper.html#History%20and%20Uses>

16. <http://jaguarstudio.com.mx/procobre>
17. <http://www.webelements.com/webelements/elements/text/Cr/index.html>
18. <http://www.corrosionsource.com/handbook/periodic/30.htm>
19. <http://prchandna.tripod.com/link.html>
20. <http://www.zinc-guide.org/pg2002/pg01.htm>
21. <http://www.webelements.com/webelements/elements/text/Zn/index.html>
22. Wase John, Foster Christopher, 1997. Biosorbents for Metal Ions, Taylor & Francis Publishers, USA.
23. Mecans Jeffrey L., Hinchee Robert E., 1994. Emerging Technology for Biorremediation of Metals. Lewis Publishers, USA.
24. Becker E.W., 1994. Biotechnology and microbiology Cambridge University Press, Gran Bretaña.
25. Gadd, G.M. and White, C. , 1993. Microbial treatment of metal pollution - a working biotechnology? Trends in Biotechnology 11, 353-359.
26. Volesky, Bohumil, 1990. Biosorption of Heavy Metals. CRC Press, Boston, USA, November. 408 p. ISBN 0849349176.
27. Volesky, B., and Kuyucak, N., 1988 Desorption of Cobalt-laden Algal Biosorbent, Biotechnology and Bioengineering, 33, p. 815-822.
28. Cho Dae-Yeon, Lee Sung-Taik, Park Sang-Won, Chung An-Sik, 1994. Studies on the biosorption of heavy metals onto *Chlorella vulgaris*, Journal of Environmental Science and Health Part A Environmental Science and Engineering 29 (2): p 389-409.
29. Wehrheim, B. and Wettren, M. (1994) Biosorption of cadmium, copper, and lead by isolated mother cell walls and whole cells of *Chlorella fusca*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 41:725-728.
30. Brady, D., B. Letebele, J.R. Duncan and P.D. Rose. 1994. Bioaccumulation of metals by *Scenedesmus*, *Selenastrum* and *Chlorella*. Water SA 20(3):213-18.

31. De Carvalho RP, Chong KH, Volesky B. 1995. Evaluation of the Cd, Cu and Zn biosorption in two metal system using an algal biosorbent. *Biotechnology Progress* 11(1) p 39-44.
32. J.T. Matheickal, Q. Yu, and G. Woodburn, 1999 “Biosorption of Cadmium (II) by Pre-treated Biomass of Marine Algae *Durvillaea Potatorum*, *Water Res.*, 33(2), 335-342.
33. Costa, A. C. A. D. & S. G. F. Leite. 1991. Metals biosorption by sodium alginate immobilized *Chlorella homosphaera* cells. *Biotechnology Letters* 13:559-562
34. Matheickal Jose T., Yu Quiming, 1996. Biosorption of lead from aqueous solutions by marine algae *Ecklonia radiata*, *Water Science and Technology* 34 (9): p 1-7.
35. Winter C., Winter M., Pohl P., 1994. Cadmium adsorption by non-living biomass of the semi-macroscopic brown alga, *Ectocarpus siliculosus*, grown in axenic mass culture and localization of the absorbed Cd by transmission electronic microscopy, *Journal of Applied Phycology* 6 (5-6): p479-487.
36. Aksu Z., Sag Y., Kutsal T., 1992. The biosorption of copper-II by *Chlorella vulgaris* and *Zoogloea ramigera*, *Environ Technology* 13 (6): p 579-586.
37. Yu Qiming, Kaewsarn Pairat, 1999. Binary adsorption of copper(II) and cadmium(II) from aqueous solutions by biomass of marine alga *Durvillaea potatorum*, *Separation Science and Technology*, v34 n8: p1595-4605.
38. Mehta SK, Tripathy BN, Gaur JP, 2000, Influence of pH, temperature, culture age and cations on adsorption and uptake of Ni by *Chlorella vulgaris*, *European Journal of Protology*, V36, N4 (Dec 29) p 443-450
39. Donmez GC., Aksu Z., Ozturk A., Kutsal T., 1999. A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae, *Process Biochemistry*, V34, N9 (Oct) p 885-892.
40. Volesky, B. (2003). SORPTION AND BIOSORPTION , BV-Sorbex, Inc., St.Lambert, Quebec, 316 pgs. In press.
41. Akzu Z., Acikel U., Kutsa T., 1999. Investigation of simultaneous biosorption of copper(II) and chromium(VI) on dried *Chlorella vulgaris* from binary metal mixtures: application of multicomponent adsorption isotherms, *Sep. Science Technology*, V34, Issue 3, p 501-524.
42. Naja, G., Deneux-Mustin, S., Mustin, C., Rouiller, J., Munier-Lamy, C., Berthelin, J. Potentiometric titration: a dynamic method to study the metal-binding mechanism of microbial biomass. *Berthelin, J.* 201 *Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21<sup>st</sup> century* VOLUME 1 BIOLEACHING, MICROBIOLOGY

and 1

43. R.P. de Carvalho, K.J. Guedes, M.V.B. Pinheiro, K. Krambrock. Biosorption of copper by dried plant leaves studied by electron paramagnetic resonance and infrared spectroscopy. *Hydrometallurgy*, Vol.59 No.2-3, 2001.
44. Fomina M.[1]; Gadd G.M.[2]. Metal sorption by biomass of melanin-producing fungi grown in clay-containing medium. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* . January 2003, vol. 78, no. 1, pp. 23-34(12)
45. Demain A.L., Solomon N.A., 1986. Manual of industrial microbiology and technology. American Society for Microbiology, Washington DC.
46. Lecciones hipertextuales de botánica. Las algas. <http://www.biologie.ini.hamburg.de/b-online/ibc99/botanica/botanica/algas3.htm>
47. Sivalingam P.M., 1981. Toxicity of trace Metals on *Chlorella vulgaris* isolated from palm oil mill sludge, *Jpn, phycol. Sci.*, 28, 162.
48. Hamdy A A., 2000. Biosorption of heavy metals by marine algae. *Current Microbiology* 41(4): p 232-238.
49. Artola A, Balaguera MD, Rigola M. Competitive biosorption of copper, cadmium nickel and zinc from metal ion mixtures using anaerobically digested sludge.
50. Metha SK, Gaur JP, 1992, Concurrent sorption of Ni<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> by *Chlorella vulgaris* from a binary metal solution, *Biotechnology & Applied Microbiology*.
51. Saitoh Tohru, Nakagaky Nobuhiko y colaboradores, 2001. Spectrophotometric Determination of Some Functional Groups on *Chlorella* for the evaluation of their contribution to the Metal Uptake. *Analytical Science*, Vol 17.
52. Skoog Douglas A., Leary James J., 1994. Análisis Instrumental 4ª Edición, McGraw-Hill, España.
53. Skoog Douglas A., West Donald M., Holler James F., 1995. Química Analítica 6ª Edición, McGraw-Hill, México.

Fortificante -

comparación con el PH 214

Eng' base la afirmación respecto a que es un proceso económico a nivel industrial.

Combinaciones de metales en que se basó por su elección.

Seaturon los inicia de unión y existe una competencia

Algunos metales se pueden atravesar membrana y otros no

?

