



EL SABER DE MIS HIJOS
HARÁ MI GRANDEZA

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
Y METALURGIA

BIOADSORCIÓN DE COBRE CON BIOMASA SECA DE LEVADURA INMOVILIZADA EN ALGINATO DE CALCIO EN SISTEMA POR LOTE

Tesis

Que para obtener el título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presenta

Adrian Armando Ballesteros Vega

Hermsillo, Sonora

Diciembre, 2018

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Dedicatoria

Dedico este trabajo, a las personas cuyo apoyo fue fundamental en el desarrollo de este y de mi carrera profesional, gracias a mi madre Verónica y a mi abuela, esta tesis es un logro suyo, gracias por todo su esfuerzo y dedicación en mi desarrollo como persona, por su paciencia y devoción, se los dedico a ustedes.

Agradecimientos

A mi madre Verónica Ballesteros Vega:

Te agradezco madre, por tu paciencia y tu incansable dedicación hacia mí, ayudarme a finalizar con esta etapa tan importante de mi vida, como lo es la carrera universitaria, por tu amor y apoyo, gracias.

A mi mama Martha Vega Duarte:

Gracias abuela por darme siempre cobijo y apoyo incondicional siempre que lo necesite.

A mi familia

Por apoyarme y siempre estar presentes cuando son necesitados, por sacar sonrisas en cualquier momento y ser una fuente de inspiración y sabiduría.

A mis maestros

Gracias por apoyarme y brindarme sus conocimientos, sus consejos y enseñanzas para lograr triunfar en mi carrera profesional, en particular quisiera agradecer a la maestra Onofre Monge Amaya, mi directora de tesis, y a la maestra Diana Terán, por apoyarme en cada paso de mi experimentación, ambas, aconsejándome y guiándome por el mejor camino.

A mis amigos

Los que estuvieron conmigo durante todo el desarrollo de la carrera hasta su culminación y más allá, gracias por sus ánimos y buenos momentos, los que se tuvieron y los que se seguirán teniendo.

A mi novia

Miriam, cuyo cariño me ha ayudado a siempre salir adelante y es la base de mi inspiración para ser una mejor persona.

INDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
I.1 INTRODUCCION.....	1
I.2 OBJETIVOS	3
II. ANTECEDENTES	4
II.1 Contaminación ambiental	4
II.2 Metales pesados	4
II.3 Tipos de contaminación.....	5
II.3.1 Naturales.....	5
II.3.1 Antropogénicas	6
II.4 Contaminación del agua por metales pesados.....	8
II.5 Cobre.....	8
II.6 Tecnologías aplicadas para la remoción de metales pesados de aguas contaminadas	10
II.7 Bioadsorción.....	11
II.8 Biosorbentes.....	11
III. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	18
III.1 Obtención y cultivo de la biomasa	19
III.2 Secado de biomasa	20
III.3 Elaboración de perlas de alginato de calcio	20
III.4 Preparación de solución sintética de sulfato de cobre.....	22
III.5 Obtención de concentraciones en equilibrio	22
III.6 Isoterma de adsorción del cobre	23
III.7 Caracterización de perlas de alginato de calcio	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
IV.1 Secado de la biomasa.....	26
IV.2 Elaboración de perlas de alginato de calcio	28
IV.3 Isoterma de adsorción.....	28

IV.4 Caracterización de perlas de alginato de calcio	34
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	39
ANEXOS	40
Anexo I	40
Anexo II	43
Anexo III	45
Anexo IV	46
Anexo V	47
Anexo VI	48
BIBLIOGRAFIA	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Representación esquemática del trayecto de metales pesados en desechos.....	6
Figura 2. Diagrama de flujo de la metodología experimental.	18
Figura 3. Diagrama para el proceso de elaboración de perlas de alginato.	21
Figura 4. Biomasa observada desde un microscopio óptico.	26
Figura 5.- a) Fotomicrografía y b) EDS para la composición de la muestra de biomasa pura.	27
Figura 6. Perlas de alginato de calcio puras y con biomasa inmovilizada.....	28
Figura 7.- Isotherma linealizada de Freundlich para la adsorción de cobre con perlas de alginato de calcio.....	29
Figura 8.- Isotherma linealizada de Freundlich para la adsorción de cobre con perlas de alginato de calcio con biomasa inmovilizada.....	29
Figura 9.- Isotherma linealizada de Langmuir para la adsorción de cobre con perlas de alginato de calcio.....	30
Figura 10.- Isotherma linealizada de Langmuir para la adsorción de cobre con perlas de alginato de calcio con biomasa inmovilizada.....	30
Figura 11.- Comparación entre el modelo de Langmuir y los datos experimentales sin biomasa.....	33
Figura 12.- Comparación entre el modelo de Langmuir y los datos experimentales con biomasa inmovilizada.....	33
Figura 13. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas de las perlas de alginato sin biomasa del proceso de bioadsorción de cobre a concentración de 20 mg/L.	35
Figura 14. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas de las perlas de alginato sin biomasa del proceso de bioadsorción de cobre a concentración de 500 mg/L.	36
Figura 15. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas de las perlas de alginato con biomasa inmovilizada del proceso de bioadsorción de cobre a concentración de 20 mg/L.....	37
Figura 16. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas de las perlas de alginato con biomasa inmovilizada del proceso de bioadsorción de cobre a concentración de 500 mg/L.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Rango de metales pesados importantes en el medio ambiente para las plantas.....	5
Tabla 2. Fuentes antropogénicas de los metales pesados.....	7
Tabla 3.- Metales pesados y sus efectos en seres humanos.....	9
Tabla 4.- tecnologías convencionales para la remoción de metales.....	10
Tabla 5. Algunos grupos funcionales identificados y estudiados relacionados con la bioadsorción de metales pesados.....	12
Tabla 6. Resultados de los modelos de las isotermas.....	31
Tabla 7.- Volumen necesario para la disolución y obtención de concentraciones necesarias.....	40
Tabla 8.- pH obtenidos en las soluciones.....	40
Tabla 9.- Numeración y características de las soluciones obtenidas.....	41
Tabla 10.- Cantidad de perlas de alginato de calcio usadas en cada solución.....	42
Tabla 11. Volumen de soluciones para cada concentración usados para la disolución y lectura del espectrofotómetro.....	43
Tabla 12. Las tablas con los porcentajes de composición de la biomasa pura.....	43
Tabla 13.- Datos reflejados por el equipo AA, factor de dilución y concentración de las soluciones.....	44
Tabla 14.- Valores de las pruebas y promedio de experimento sin biomasa.....	45
Tabla 15.- Valores de las pruebas y promedio de experimento con biomasa ..	45
Tabla 16.- Valores linealizados para Freundlich de experimentos sin biomasa.....	46
Tabla 17.- Valores linealizados para Freundlich de experimentos con biomasa.....	46
Tabla 18.- Valores linealizados para Langmuir de experimentos sin biomasa.....	46
Tabla 19.- Valores linealizados para Langmuir de experimentos con biomasa.....	47
Tabla 20.- Comparación entre los datos experimentales sin biomasa y los calculados para el modelo de Langmuir.....	47
Tabla 21.- Comparación entre los datos experimentales con biomasa inmovilizada y los calculados para el modelo de Langmuir.....	47
Tabla 22. Las tablas con los porcentajes de composición de la perla de alginato de calcio sin biomasa en la solución de 20 mg/L.....	48
Tabla 23. Las tablas con los porcentajes de composición de la perla de alginato de calcio sin biomasa en la solución de 500 mg/L.....	48
Tabla 24. Las tablas con los porcentajes de composición de la perla de alginato de calcio con biomasa inmovilizada en la solución de 20 mg/L.....	49
Tabla 25. Las tablas con los porcentajes de composición de la perla de alginato de calcio con biomasa inmovilizada en la solución de 500 mg/L.....	49

RESUMEN

En la actualidad, la contaminación es un problema a escala global de alto impacto para la sociedad, que intenta buscar maneras para poder reducirla, estos deben tener bajo costo de operación, fácil de implementar y con buenos resultados. Una de las mejores opciones es el método de biosorción, debido a su alta eficiencia y bajo costo. El objetivo de este estudio fue evaluar la concentración adsorbida de cobre por la biomasa seca de levadura inmovilizada en alginato de calcio en sistema por lote. Se llevó a cabo en un sistema por lotes en matraces Erlenmeyer de 500 mL, con 6 concentraciones distintas utilizando sulfato de cobre: 20, 70, 100, 200, 300, y 500 mg/L, para obtener la isoterma de adsorción de cobre. El experimento fue de 24 horas usando 1 g de alginato de calcio con y sin biomasa inmovilizada en cada matraz. Se extrajeron las perlas de las soluciones y fueron caracterizadas por MEB y EDS para observar sus composiciones. Se ajustaron los valores de concentraciones en el equilibrio a modelos de Freundlich y Langmuir, y el mejor ajuste fue con las isotermas de Langmuir. En ambos experimentos se observó que se llega a la capacidad máxima de adsorción a los 50 mg/L, mientras que la cantidad máxima de Cu adsorbido (q_{max}) para las perlas de alginato de calcio puras y con biomasa inmovilizada, fueron 3.2372 mg/g y 2.7233 mg/g, respectivamente. Se encontró que la biomasa a menores concentraciones de cobre tenía mayor eficiencia que la perla sin biomasa inmovilizada.

I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

I.1 INTRODUCCION

Hoy en día, la contaminación por metales pesados es un problema de salud muy grave de escala global debido a la contaminación por actividades humanas, principalmente por la minería y por accidentes que ocurren cuando se llevan a cabo operaciones de transporte de producto.

Sonora es considerado el estado líder en productividad minera en México, siendo el principal productor de cobre, grafito, wollastonita, carbón antártico y el único productor de molibdeno del país, además de producir el 24% de oro del país y siendo un importante productor de plata, fierro y minerales no metálicos como: barita, silica, yeso, sal y zeolitas ("Secretaría de Economía del Estado de Sonora," 2015).

El cobre en el cuerpo es una parte integral de muchas enzimas involucradas en muchos procesos biológicos vitales y normalmente se une a proteínas, pero puede liberarse y ayudar a formar radicales de hidróxido altamente reactivos. El cobre causa daño oxidativo e interfiere con eventos celulares importantes, también ha sido implicado en cambios neurodegenerativos (Gaetke y Chow, 2003).

Durante las últimas 3 décadas, se ha prestado una gran atención al control de la contaminación ambiental causada por materiales peligrosos, como, por ejemplo, los metales pesados. La descontaminación de metales pesados de la tierra y agua alrededor de plantas industriales se ha presentado como un reto durante mucho tiempo. Se han desarrollado muchos métodos para remover metales

pesados del agua, tales como precipitación, evaporación, galvanoplastia, intercambio iónico, membranas, etc. Sin embargo, estos métodos presentan desventajas, tales como lo impredecible del proceso, la necesidad de muchos químicos, generación de desperdicios tóxicos, entre otros (Das, Vimala, y Karthika, 2008).

Una gran cantidad de material biológico, especialmente bacterias, algas y hongos han recibido cada vez más atención para la remoción y recuperación de metales pesados debido a su efectividad, bajo costo, y disponibilidad en grandes cantidades. Los biosorbentes son más baratos, y efectivos para la remoción de elementos metálicos (Wang y Chen, 2009).

El descubrimiento y desarrollo del fenómeno de la biosorción, provee una base para una nueva tecnología con la finalidad de remover contaminantes o recuperar recursos valiosos de sistemas acuáticos. Hoy la biosorción es uno de los componentes principales y tecnología bioambiental. (Park, Yun, y Park, 2010)

El proceso de biosorción se han establecido como características de la biomasa seca de origen celulósico y microbiano para unir contaminantes de iones metálicos de la suspensión acuosa. La alta efectividad de este proceso, incluso a una baja concentración de metales, similar al proceso del tratamiento por intercambio de iones, pero siendo una alternativa más barata y ecológica a las técnicas convencionales, ha resultado en una tecnología madura de biosorción (Gupta, Nayak, y Agarwal, 2015).

En todo el mundo se han investigado un numero significativo de estudios de la biosorción, casi todos han sido para optimizar los parámetros de la biosorción, para obtener mayor eficiencia en la remoción, mientras que el resto se enfoca en el mecanismo de biosorción.

Combinaciones de FTIR, SEM-EDX, TEM y métodos clásicos como titulaciones son muy útiles para determinar los procesos principales en la superficie de los biosorbentes (Arief, Trilestari, Sunarso, Indraswati, y Ismadji, 2008).

La diferencia entre el equilibrio de absorción y el modelo cinético, son usados extensamente para explicar la biosorción de metales pesados, como tendencia general, la mayoría de los estudios sobre la biosorción de iones de metales pesados por diversos tipos de biosorbentes se han dirigido a la captación de un solo metal, en lugar de sistemas multicomponentes.

En particular, los modelos de Langmuir y Freundlich son las isothermas más comunes para correlacionar los datos experimentales de biosorción, aunque otras isothermas, que se establecieron inicialmente para aplicaciones en fase gaseosa, también pueden extenderse al sistema de biosorción (Febrianto et al., 2009).

I.2 OBJETIVOS

I.2.1 Objetivo general

Evaluar la concentración adsorbida de cobre por la biomasa seca de levadura inmovilizada en alginato de calcio en sistema por lote.

I.2.2 Objetivos específicos

- Aislar y cultivar biomasa de una levadura aislada de un ambiente contaminado.
- Preparar perlas de alginato de calcio puras y con biomasa inmovilizada.
- Realizar isothermas de adsorción para encontrar la concentración en equilibrio de las perlas a diferentes concentraciones de Cu.

II. ANTECEDENTES

II.1 Contaminación ambiental

La contaminación ambiental ha sido definida de la siguiente manera: “es la introducción en el ambiente, como resultado de actividades antropogénicas, de cantidades significativas de sustancias naturales o formas de energía (por ejemplo, la energía calórica o nuclear), en niveles que afectan la salud y el desarrollo de los seres vivos, alteren la estructura y la función de los sistemas ecológicos y las características del ambiente, o dificulten el aprovechamiento de los recursos naturales” (Jaramillo et al. 2009).

II.2 Metales pesados

Los metales altamente electronegativos con una densidad mayor a 5 g/cm^3 son llamados “metales pesados” (Agarwal, 2009). Algunos metales pesados son esenciales para las plantas y animales (Tabla 1).

La disponibilidad de los metales pesados en el medio varia, y metales tales como cobre (Cu), zinc (Zn), fierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), níquel (Ni) y cobalto (Co) son esenciales para la formación de micronutrientes, pero el exceso de estas sustancias en los seres vivos tiene efectos tóxicos. Estos son llamados elementos traza, debido a su baja concentración en los organismos saludables (10 mg/Kg o mg/L), también existen los elementos ultra traza con menor concentración ($1 \text{ } \mu\text{g/Kg}$ o $1 \text{ } \mu\text{g/L}$). Las 2 mayores funciones en las que intervienen los metales pesados en los organismos son en reacciones Redox y en muchos procesos enzimáticos (Nagajyoti, Lee, y Sreekanth, 2010).

Tabla 1.- Rango de metales pesados importantes en el medio ambiente para las plantas (Nagajyoti et al., 2010).

Elemento	Concentración del elemento en plantas ($\mu\text{g/g}$ planta seca)
As	0.02-7
Cd	0.1-2.4
Hg	0.005-0.02
Pb	1-13
Sb	0.02-0.06
Co	0.05-0.5
Cr	0.2-1
Cu	4.15
Fe	140
Mn	15-100
Mo	1-10
Ni	1
Sr	0.3
Zn	8-100

II.3 Tipos de contaminación

II.3.1 Naturales

La contaminación por metales pesados puede deberse a causas naturales, como resultado del desgaste de capas subterráneas de roca, por ejemplo, en Gran Bretaña en la región de Mendip, la tierra es rica en plomo, zinc y cadmio dado a las altas concentraciones de estos minerales en el lecho de rocas y la presencia de vetas con estos minerales. El desgaste de los lechos de rocas con concentraciones de metales ligeramente elevados, pueden resultar en el

enriquecimiento de minerales a través de un proceso de pedogénesis (Khan, Zaidi, Goel, y Musarrat, 2011).

II.3.1 Antropogénicas

Generalmente, los metales son emitidos al medio ambiente durante actividades de minería y procesamiento, en algunos casos, aunque las actividades de minería hayan cesado, los metales persisten en el ambiente. Los metales pesados son emitidos de manera elemental o en compuesto (orgánico e inorgánica). En la Figura 1, se muestra el flujo de la contaminación de los metales pesados en la práctica (Khan et al., 2011).

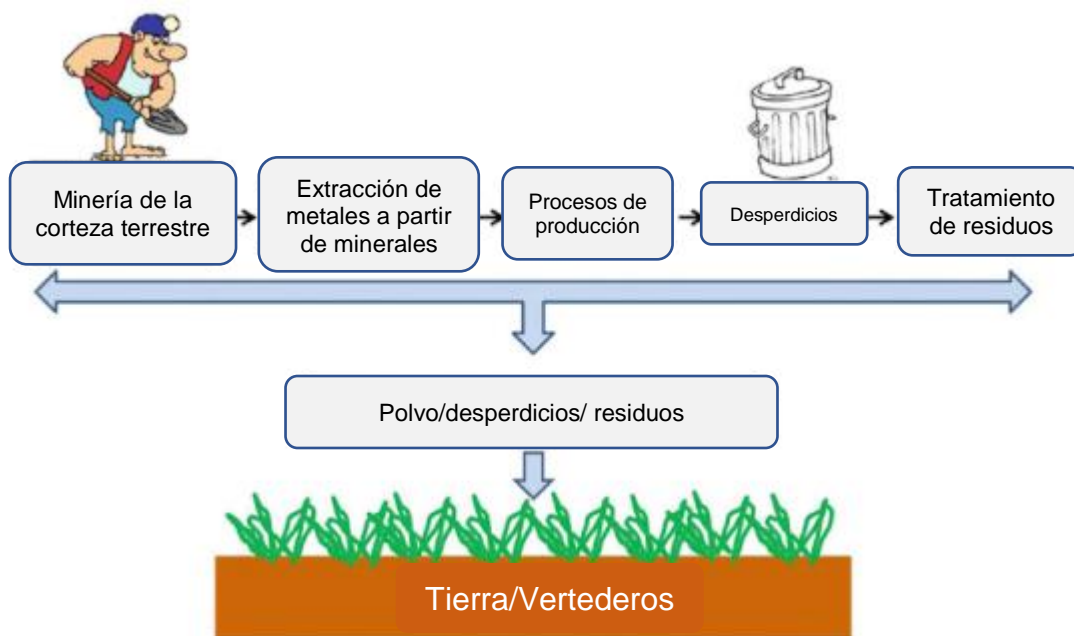


Figura 1.- Representación esquemática del trayecto de metales pesados en desechos.

La contaminación por metales pesados usualmente se da en áreas donde se encuentren drenajes, desagües de agua de lluvia, incineradores y crematorios. Existe un amplio rango de actividades humanas que contaminan con metales pesados el medio ambiente, por ejemplo, la galvanoplastia, las fundiciones, dentistas, laboratorios, tratamiento de madera, patio de chatarra, bronceados, manufactureros químicos, producción y uso de acumuladores, lámparas de mercurios, termómetros, utensilios, baterías, etc. En la Tabla 2 se muestran los metales pesados desechados de cada industria que los utiliza y desecha.

Tabla 2. Fuentes antropogénicas de los metales pesados (Ferguson, 1990).

Fuentes	Metales pesados
Lodos residuales	Cd, Pb, As, Cr, Zn, Co, B, Ba, Be, Br, Ce, Cu, Mn, Ge, Hg, Mo, Ni, Rb, Sn, Sr, V y Zr
Riego	Cd, Pb, Se
Fundidoras	Pb, Cd, Sb, As, Se, In, y Hg
Plaguicidas	Pb, As, Hg, Br, Cu, V y Zn
Fertilizantes	Cd, Pb, As, B, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Sc, Se, Sn, Sr, Te, U, V, Zn y Zr
Minas	Pb, Cd, As, Hg, etc.
Abonos	As, Se, Ba, Br, Co, Cr, Fe, Ge, Mn, Ni, Pb, Sr, Zn y Zr
Automóviles	Pb
Pinturas	Pb, Cd
Carbonatos	As, B, Ba, Ce, Cr, Cu, F, Mn, Ni, Pb, Sr, V, Zn y Zr
Combustión de carbón	As, Se, Sb, Pb

II.4 Contaminación del agua por metales pesados

Los efluentes provenientes de las industrias de textiles, cueros, electro platinado, galvanoplastia, pigmentos y tintes, metalúrgicos, de pintura y otras industrias que llevan a cabo operaciones de procesamiento y refinamiento de metales a pequeña y gran escala, contienen cantidades considerables de iones de metal tóxicos. Estos iones metálicos no solo son tóxicos para los humanos, si no para otras formas de vida (Ahluwalia y Goyal, 2007). Iones metálicos causan malestar físico y a veces enfermedades mortales, incluyendo daño irreversible al sistema vital del cuerpo (Malik, 2004). En la Tabla 3 se muestran los efectos que tienen los metales pesados en cantidades toxicas en la salud humana.

II.5 Cobre

El cobre es el 24^{vo} elemento más abundante en la litosfera, en promedio, la litosfera contiene alrededor de 70 mg/Kg de Cu, haciendo el metal relativamente raro. El uso de este metal ha ido en aumento con el paso del tiempo, pasando de 13.7 M toneladas en 1993, a 16.3 M de toneladas en 1997 y aumentando. Existe una gran variedad de usos para el cobre en los tiempos modernos, por ejemplo, en conductores y circuitos, tuberías de agua, partes de maquinarias, su uso en aleaciones de bronce, en fungicidas, alguicidas y pigmentos, municiones de armas, obras de arte como estatuas o domos, etc. (Cornelis, Caruso, Crews, y Heumann, 2005).

Usualmente se puede encontrar al cobre en la naturaleza como oxido o sulfato. En ambientes ácidos, es más predominante el Cu^{+2} en solución acuosa, en pH de 6 a 8, las especies predominantes de cobre son Cu^{+2} , $\text{Cu}(\text{OH})_2$, CuHCO_3^+ , CuCO_3 y CuOH^+ . A pH mayores de 10, se encuentran principalmente $\text{Cu}(\text{OH})_4^{2-}$ y $\text{Cu}(\text{OH})_3$ (Ying, 2007).

Tabla 3.- Metales pesados y sus efectos en seres humanos (Abbas, Ismail, Mostafa, y Sulaymon, 2014).

Metal pesado	Fuentes	Efectos tóxicos
Plomo	Minería, pinturas, pigmentos, galvanoplastia, manufactura de baterías, incineración de carbón.	Anemia, daño cerebral, anorexia, malestar, pérdida de apetito, hígado, riñón, daño gastrointestinal, retraso mental en niños
Cobre	Platinado, pulimento de cobre, pinturas, operaciones de impresión.	Neurotoxicidad y toxicidad aguda, mareos, diarrea.
Cadmio	Plásticos, soldaduras, pesticidas, fertilizantes, minería y refinería.	Daño renal, bronquitis, trastorno gastrointestinal, médula ósea, cáncer, insuficiencia pulmonar, hipertensión, enfermedad de Itai-Itai, pérdida de peso
Zinc	Minería, refinерías, fabricación de latón, plomería.	Causas a corto plazo "fiebre del humo de metal", dificultad gastrointestinal
Mercurio	Baterías, industria de papel, industria de pinturas, minería.	Daño al sistema nervioso, envenenamiento por protoplasma, Corrosivo para la piel, ojos, músculos, dermatitis, daño renal.
Nickel	Esmaltado de porcelana, formulación de pinturas, galvanoplastia.	Bronquitis crónica, función pulmonar reducida, cáncer de pulmón
Arsénico	Fundidoras, minería, sedimentación de rocas, pesticidas.	Bronquitis, dermatitis, depresión de la médula ósea, hemólisis, hepatomegalia.
Cromo	Textiles, tinturas, pinturas y pigmentos, fabricación de acero.	Carcinogénico, mutagénico, teratogenicidad, epigastría, dolor, náuseas, vómitos, diarrea severa, produciendo tumores pulmonares

II.6 Tecnologías aplicadas para la remoción de metales pesados de aguas contaminadas

La mayoría de los métodos de remoción de iones metálicos de soluciones acuosas han consistido en tecnologías físicas, químicas y biológicas. Los más comunes ejemplos de estas tecnologías serían la precipitación química, ablandamiento con cal, extracción por solventes, filtración con membranas, ósmosis inversa y adsorción. Cada proceso tiene sus ventajas y limitaciones en su aplicación (Abbas et al., 2014).

Tabla 4.- tecnologías convencionales para la remoción de metales (B. Volesky, 2001).

Método	Desventajas	Ventajas
Precipitación química y filtración.	Dificultad para separar en altas concentraciones Produce contaminantes.	Es muy sencilla y barata.
Oxidación o reducción química.	Se requieren químicos. Muy dependiendo del clima.	Mineralización.
Tratamiento electroquímico.	Muy caro para altas concentraciones.	Buena recuperación de metal.
Ósmosis inversa.	Se requieren presiones altas y las membranas son caras.	Efluente puro (para reciclaje).
Intercambio iónico.	Sensible a las partículas. Las resinas son muy costosas.	Muy eficiente y es posible recuperar el metal.
Adsorción.	No aplica para metales	Convencional y los sorbentes son sencillos de conseguir.
Evaporación.	Uso de mucha energía. Muy caro. Produce contaminantes.	Efluente puro (para reciclar).

II.7 Bioadsorción

La biosorción ha sido definida como la propiedad de ciertas biomoléculas (o tipos de biomasas) para atrapar y concentrar iones selectos u otras moléculas de soluciones acuosas. Al contrario de un fenómeno mucho más complejo llamado bioacumulación, basado en el transporte activo metabólico de la biomasa, en la biosorción se usa biomasa muerta, lo cual hace que se base principalmente en la afinidad entre el biosorbente y el sorbato (Bohumil Volesky, 2007).

Una gran variedad de tipos de biomasa ha demostrado tener muy buen potencial de biosorción y muchas han sido propuestas como la base para el tratamiento de aguas residuales industriales contaminadas con metales. La biosorción es la alternativa más utilizada e investigada, dado a su bajo costo en la remoción de metales pesados. En años recientes, ha aumentado el interés en el uso de materiales sorbentes, particularmente en biosorbentes. La sorción por medio de la biomasa ha sido reconocida como una alternativa viable en el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados (Yan, Li, Xue, Wei, y Li, 2010).

II.8 Biosorbentes

Los principales biosorbentes utilizados son de procedencia agrícola, de esta manera, la obtención, el poco procesamiento y su abundancia lo hacen muy rentable (Ying, 2007).

En la Tabla 5, se pueden observar algunos grupos funcionales identificados y estudiados, relacionados con la bioadsorción de metales pesados.

Tabla 5. Algunos grupos funcionales identificados y estudiados relacionados con la bioadsorción de metales pesados (Javanbakht, Alavi, y Zilouei, 2014).

Formula del grupo funcional	Nombre	Compuestos
$\text{R}-\text{O}-\text{H}$	Hidroxilo	Alcohol, carbohidratos
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \end{array}$	Carboxilo	Ácidos grasos, proteínas, ácidos orgánicos
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{R}-\text{N} \\ \\ \text{H} \end{array}$	Amino	Proteínas, ácidos nucleicos
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{OR}' \end{array}$	Ester	Lípidos
$\begin{array}{c} \text{R}-\text{S} \\ \\ \text{H} \end{array}$	Sulfhidrilo	Cisteína (ácido amino), proteínas
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}=\text{O} \end{array}$	Carbonilo (extremo terminal) (interno)	Aldehídos, polisacáridos, Cetonas, polisacáridos
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{O}-\text{P}-\text{OH} \\ \\ \text{OH} \end{array}$	Fosfato	ADN, RNA

En 2011 se llevó a cabo un tratamiento de agua contaminada con Cu y Cr, por medio de la biosorción usando cascaras de cacahuates en sistema por lote (Witek-Krowiak, Szafran, y Modelski, 2011), se buscaron las condiciones óptimas para la sorción, se determinó la cinética y las concentraciones en equilibrio para sacar su isoterma de adsorción y relacionarlo con los modelos de Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson y el modelo de tres parámetros de Sips. Se llegó a

la conclusión de que el equilibrio se lograba poco después de los 20 minutos, teniendo un modelo cinético de pseudo segundo orden con las condiciones óptimas, que resultaron ser de pH=5, concentración de la biomasa de 10 g/L, y temperatura de 20 °C.

En 2014, se reunió un conjunto de experimentos e investigaciones acerca de varios biosorbentes con capacidad de adsorber metales pesados de medios acuosos (He y Chen, 2014), los biosorbentes mencionados en dicho documento son: alga café, verde y roja, alga modificada, ya sea con ácidos, bases, calcio y aldehídos y biopolímeros, mencionando que la biosorción que hacen las algas cruda, causan una contaminación secundaria, lo cual las hace inviables para su uso como biosorbente, mientras que con un tratamiento, se vuelven viables para su uso y aumentar sus capacidades de biosorción. También se analizó el efecto de la encapsulación, previniendo la contaminación secundaria, para esto se usaron distintos agentes inmovilizadores, incluyendo alcohol de polivinilo, agar, quitosano, poliuretano, poliacrilamida y alginato.

En 2011 se publicó un estudio acerca de la biosorción de metales pesados en soluciones acuosas usando cascara de naranja modificada por copolimerización injertada, para la adsorción de Pb^{2+} , Cd^{2+} y Ni^{2+} , se determinó el pH ideal para la sorción, para después modelar sus resultados en una isotérmica, para compararlas con los modelos de las isotermas de Langmuir y Freundlich, lo cual les dio como resultado que el experimento se asemejaba más al modelo de Langmuir para los 3 metales, para después analizar la termodinámica que se llevó a cabo durante el proceso y realizar un análisis con el equipo de FTIR (La espectroscopia de transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier) y se detectaron cambios en las longitudes de ondas captadas con el biosorbente limpio a comparación con el biosorbente después del experimento para los 3 metales, lo cual puede ser atribuido a cambios asociados con grupos acídicos,

carboxilo e hidroxilos, que son contribuidores predominantes en la adsorción de los iones de metales (Feng, Guo, Liang, Zhu, y Liu, 2011).

En mayo de 2011, se publicó un estudio con la finalidad de desarrollar un adsorbente para el tratamiento de aguas contaminadas que fuera de bajo costo, lo que se hizo, fue buscar una alga filamentosa de agua dulce que tenga una gran capacidad para remover iones de metales pesados, en este estudio se evaluaron las capacidades de biosorción en soluciones acuosas en sistema bache, de las especies de algas verdes *Spirogyra* y *Cladophora*, para plomo y cobre, se hicieron experimentos para estudiar los efectos del pH, tiempo de contacto, concentración inicial de iones metálicos y dosis de biosorbente, para después calcular y modelar sus isotermas y compararlos con los modelos de Langmuir y Freundlich para ver cual se ajusta mejor a los resultados obtenidos, el cual fue Langmuir, después se llevaron a un FTIR y concluyeron que las aminas, ácidos carboxílicos, C=O y C-O son los que atrapaban los iones metálicos (Lee y Chang, 2011).

En 2013 se publicó un estudio realizado en la india, acerca de la biosorción de metales pesados utilizando una cepa de OSM29, que fue identificada como *Bacillus thuringiensis*, y recuperada de la rizosfera de una coliflor que creció en tierra irrigada constantemente con efluentes industriales. Se realizaron pruebas para su adsorción en soluciones de CdSO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, PbCl_2 y $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Se uso un método de equilibrio Batch para determinar la sorción del cadmio, cromo, cobre, plomo y níquel, midiendo los efectos de las concentraciones iniciales de metal, el tiempo de contacto y el efecto del pH en la biosorción para obtener el equilibrio en las mejores condiciones y sacar su isoterma de adsorción y compararla con los modelos de Langmuir y Freundlich, para luego llevarla a un análisis de FTIR, se llegó a la conclusión de que ambos modelos se aproximaban mucho a los resultados obtenidos, y que ambos pueden ser válidos, obteniendo coeficientes de correlación superiores a 0.98, y se

determinó que la biomasa tenía mejor afinidad con ciertos metales, llegando al siguiente orden: Ni > Cu > Pb > Cr > Cd. Los resultados del FTIR mostraron que los grupos funcionales que presentan mayor número de sitios activos para la adsorción de los iones metálicos son los hidroxilos, grupos aminos, grupos alquilos, C=O y P-O (Oves, Khan, y Zaidi, 2013).

En 2011 se publicó un estudio con el objetivo de mejorar las propiedades físicas de perlas de alginato de calcio liofilizado como material portador de otras sustancias, para la estabilización de células vivas. Se busco mejorar la esfericidad, flotabilidad y la fuerza mecánica de las perlas secas, la cual fue atribuida al relleno, que proveyó de estructura y reforzamiento de las conexiones en hidrogel de Ca-Alginato. Esto se preparó usando alginato de sodio descontaminado por tratamiento de calor, se usó concentración de 20 g/L de alginato de sodio y 0-600 g/L de almidón y se mezcló con una solución de cloruro de calcio con una concentración de 15 g/L, usando un baño de gelación. La solución de alginato de sodio se mezcló gota a gota con el cloruro de calcio usando un tubo capilar, para que, una vez mezcladas ambas soluciones, mantenerlas mezclándose durante 30 minutos antes de limpiarlas con agua destilada. El estudio concluyó que el almidón ayudo a dar mejores propiedades al alginato de calcio para su procesamiento, manejo y uso del consumidor, las perlas de alginato eran menos porosas y menos higroscópicas, resultando en una mejor viabilidad para las células cuando se liofilizan para su almacenamiento (Chan et al., 2011).

En 2012, se publicó un artículo acerca de una investigación con el fin de encontrar las condiciones óptimas para los sistemas de encapsulación y compararlos con respecto a la eficiencia del atrapamiento, y la preservación de la actividad de antioxidantes y comportamientos con cambios de temperatura simulando procesamientos de comida usual usando como base para su inmovilización, el tomillo. Se fabricaron perlas de alginato de calcio con tomillo inmovilizado,

usando 10 g de extracto de tomillo en 200 mL de agua destilada y mezclado con 3 g de alginato de sodio. Las perlas se fabricaron mezclando la solución de alginato y tomillo con cloruro de calcio a una concentración de 0.012 g/mL, usando un generador de gotas electrostático, se dejó caer gota a gota la solución de alginato en el cloruro de calcio en constante agitación y se dejaron endurecer durante 4 horas. Se le hicieron los experimentos correspondientes dando como resultado que las perlas se fueron esferas de tamaño uniforme de 730 μ y su eficiencia al encapsular vario en un rango de 50 a 80% dependiendo del método de encapsulación, según el estudio donde se usó un FTIR probo la ausencia de interacciones químicas entre los compuestos y el alginato, se probó también que el producto seco reducía el colapso y la distorsión de la esfericidad durante el proceso de secado (Stojanovic et al., 2012).

Se realizó una investigación acerca de células de *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizadas en perlas de alginato de calcio y cubiertas con quitosán para estudiar la fermentación de la glucosa y sacarosa para la producción de etanol en sistema Batch. Para la inmovilización de las perlas, un 3% de alginato de sodio se disolvió en 100 mL de agua, y se le agrego una suspensión de 100 mL de *S. cerevisiae* en un vaso de precipitado para su agitación, por separado se realizó una solución de cloruro de calcio con una concentración del 2%. La mezcla se llevó a cabo por medio de una jeringa de 10 mL, vertiendo la solución de alginato de sodio con las células a la otra solución de 150 mL de cloruro de calcio, una vez vertido todo, se dejaron endurecer durante 1 hora para después limpiarlas con agua esterilizada. Las perlas tuvieron un diámetro aproximado de entre 3 y 4 mm. Para su recubrimiento con quitosán, se siguió la misma metodología y al final se agregó una solución con quitosán del 0.25% y se agito durante 30 minutos, para después retirar las perlas y limpiarlas con agua esterilizada, obteniendo similares diámetros al experimento anterior. Se concluyó que la inmovilización ayudo a estabilizar la concentración de etanol al final de su

fermentación y que el recubrimiento con chitosán no mejoro sus características como soporte para las células.

III. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En la Figura 2 se muestra el diagrama experimental realizado en este estudio.

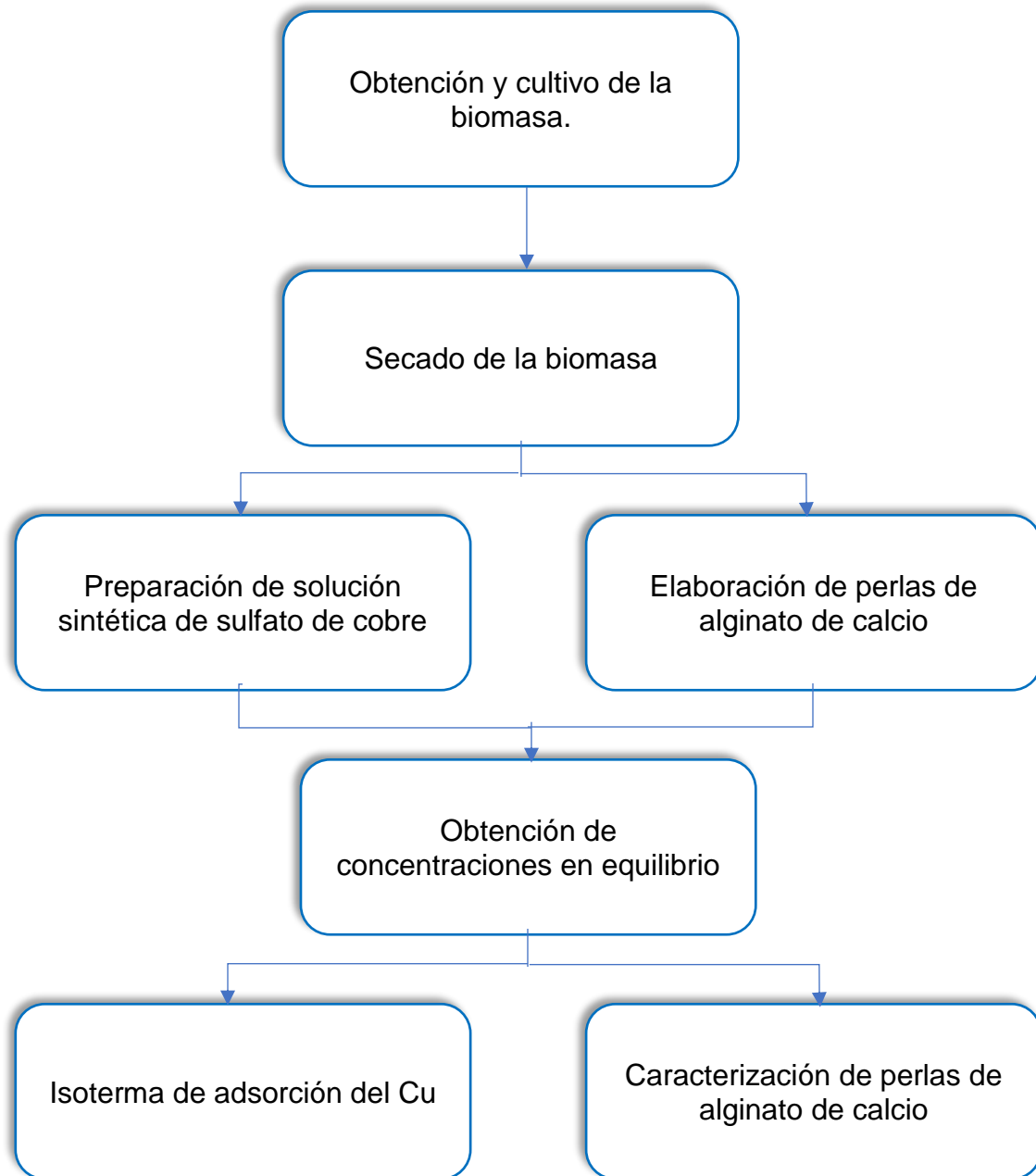


Figura 2. Diagrama de flujo de la metodología experimental.

III.1 Obtención y cultivo de la biomasa

Se obtuvo la levadura de una placa de Petri perteneciente a otro trabajo de investigación, se prepararon las placas para la levadura llamada *Rhodotorula mucilaginosa*, la cual fue extraída del río San Pedro, por el Centro de Biotecnología Genómica en el Instituto Politécnico Nacional, usando los Primers 26s, con el GenBank de AF335987.1 con un score de 1109 y una identidad del 99%. Se hicieron 2 placas de agar PDA, uno de cultivo y un blanco, una vez preparados, se sembró la levadura en una placa de agar y se metió en una incubadora CScientific CVP-500 a 30 °C durante 1 día.

Después, las placas de agar se metieron en refrigeración hasta que la que tenía levadura fue usada para poder producir más, sembrándola en un caldo de nutritivo, se usaron unas concentraciones de 0.5% de peptona, 0.3% de extracto de levadura, 0.5% de cloruro de sodio y agua destilada, en total se hicieron 4 litros más uno de blanco, y se metieron en una incubadora CScientific CVP-500, a 30 °C a 100 rpm durante 2 días.

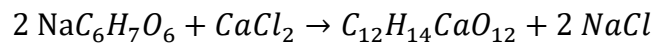
Para asegurar la obtención de la máxima cantidad de levadura, se llevaron a un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10s UV-Vis y se midió su absorbancia al segundo día, tomando como blanco, caldo de cultivo sin biomasa, y se obtuvo una absorbancia de 68%, pasado otro día en la incubadora, se realizó el mismo procedimiento, obteniendo el mismo porcentaje de absorbancia, llegando a la conclusión de que el caldo ya se había saturado de biomasa y se procedió a llevarla a una centrifugadora Eppendorf Centrifuge 5804.

III.2 Secado de biomasa

Pasados los 3 días, se extrajeron los caldos de cultivo de la incubadora, se colocaron en una autoclave Market Forge Sterilmatic para esterilizar la levadura a condiciones de 120 °C y 15 atm, durante 15 minutos. El caldo de cultivo se vertió en tubos de centrifuga, para poder colocarlos en una centrifugadora Eppendorf Centrifuge 5804 a 7500 rpm durante 5 min. Terminada la centrifugación, se retiró el sobrenadante de los tubos de centrifuga, tendiendo como resultado un total de 2 frascos de 45 mL de biomasa disuelta en caldo de cultivo. Los 2 frascos, con una concentración muy alta de biomasa, se llevó a congelar para posteriormente ser liofilizada y así obtener la biomasa seca.

III.3 Elaboración de perlas de alginato de calcio

Para la elaboración de las perlas de alginato de calcio, se basa en la fórmula química:



En este caso, se hicieron perlas de alginato de calcio puras y con biomasa inmovilizada. Se prepararon dos soluciones con 1 g de alginato de sodio en 50 mL de agua destilada, ambas se pusieron en una placa de calentamiento con agitación hasta que se disolvió, a una de estas soluciones se le agregó 1 g de biomasa seca y se volvió a mezclar hasta que se homogenizó completamente la levadura. Se prepararon dos soluciones con 100 mL de agua destilada a una concentración de 0.2 M de cloruro de calcio y se dejaron en el refrigerador hasta su uso.

Para la formación de las perlas de alginato de calcio, se utilizó una manguera con aguja, bomba, controlador para la bomba, soporte universal, dos vasos de

precipitado, uno con la solución con alginato de sodio y otro con la solución del cloruro de calcio y una placa con agitación magnética, esto se hizo dos veces, una con la solución de alginato de sodio puro, y otra con el alginato de sodio con biomasa (Figura 3).

Se activó la bomba con el controlador y se mantuvo a una velocidad de 60 rpm para poder obtener un flujo constante de goteo en la solución del cloruro de calcio. Después de que el alginato de calcio se goteara en el cloruro de sodio, se formaron las perlas de alginato de calcio, las cuales se dejaron agitando durante 3 h para posteriormente sacarlas de la solución, embotellarlas y guardarlas en el refrigerador.

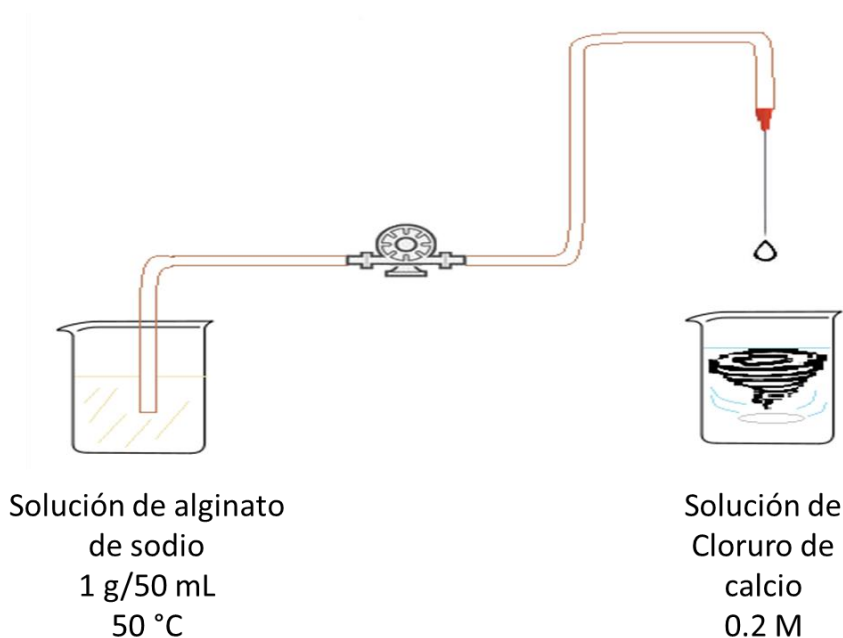


Figura 3. Diagrama para el proceso de elaboración de perlas de alginato.

III.4 Preparación de solución sintética de sulfato de cobre

La solución de cobre de 1000 mg/L se preparó con 1.9645 g de sulfato de cobre en un volumen de 500 mL al 1 % de HCl, y fue aforado con agua desionizada, y de esta solución sintéticas madre se prepararon a diferentes concentraciones iniciales de 20, 70, 100, 200, 300, y 500 mg/L. En la Tabla 7 del Anexo 1, se enlistando los volúmenes necesarios para cada concentración.

Para lograr las condiciones óptimas de adsorción, se ajustó el pH a 5, con HCl a 0.1 M y NaOH a 0.1 a 1 M, y se utilizó un medidor de pH Thermo Electron Corporation hasta alcanzar el pH de 5 con un error de ± 0.3 (Anexo 1 Tabla 8) y se procedió a aforar los matraces a 250 mL.

Se tomaron 5 mL de cada muestra de las diferentes concentraciones, con una etiqueta de $t=0$, dado que esa será la concentración inicial del experimento.

En el Anexo I, Tabla 9 se identifican las muestras de cada experimento.

III.5 Obtención de concentraciones en equilibrio

Los experimentos de equilibrio de cobre fueron realizados en matraces Erlenmeyer de 250 mL con 1 g perlas de alginato de calcio y perlas con biomasa inmovilizada (ver Anexo I, Tabla 10), y un volumen de operación de 50 mL a diferentes concentraciones de 20, 70, 100, 200, 300, y 500 mg/L y por duplicado para tener mayor confianza en los resultados. Posteriormente, se colocaron en una incubadora CScientific CVP-500 a condiciones de 40 °C y 100 rpm durante 1 día.

A las 24 h, se tomaron muestras de 5 mL de cada matraz y fueron retirados los 24 matraces Erlenmeyer de la incubadora. Se separaron las perlas de las

soluciones y se guardaron en refrigeración en microtubos, para su posterior estudio de caracterización por MEB y EDS.

Se realizaron las diluciones necesarias (ver Anexo II Tabla 11) para poder conocer las concentraciones de las muestras a las 24 horas por medio del espectrofotómetro de absorción atómica Analysis, Perkin-Elmer Modelo 400 (AA).

III.6 Isoterma de adsorción del cobre

La técnica de flama en el espectrofotómetro de absorción atómica fue útil para realizar los análisis de concentración del cobre, para lo cual se realizó una curva de calibración y se procedió a la lectura de las muestras diluidas, los datos obtenidos fueron registrados en hoja de cálculo considerando el factor de dilución para obtener las concentraciones reales.

El factor de dilución fue calculado a partir de la formula usada para las diluciones, en este caso, dividiendo el volumen total de la dilución (V_2) entre el volumen de muestra tomada (V_1) para realizar la dilución como se muestra en la Ecuación 1:

$$\frac{V_2}{V_1} = \text{Factor de dilución} \quad \text{Ec. (1)}$$

A partir de los datos experimentales se calculó la capacidad de cobre adsorbido en el equilibrio (q_e) con la siguiente ecuación 2:

$$q_e = \frac{(C_i - C_e)V_s}{m_a} \quad \text{Ec. (2)}$$

donde:

C_e = concentración en equilibrio en la solución

C_i = concentración inicial de cobre a $t=0$

m_a = masa de adsorbente (1 g)

V_s = volumen de la solución (0.05 L)

La ecuación del modelo de la isoterma de Freundlich (Ec. 3) representa la adsorción de un sorbato formando una capa multimolecular.

$$q_e = K_f C_e^{\frac{1}{n}} \quad \text{Ec. (3)}$$

donde:

K_f = constante de Freundlich relacionada a la capacidad de adsorción del biosorbente

n = constante relacionada con la intensidad de sorción del biosorbente en función de su grado de heterogeneidad

El modelo de Langmuir se usó calcular la cantidad máxima de Cu de adsorción por las perlas. La ecuación del modelo de la isoterma de Langmuir (Ec. 4) representa la adsorción de un sorbato formando una capa monomolecular.

$$q_e = \frac{q_{max} b C_e}{1 + b C_e} \quad \text{Ec. (4)}$$

donde:

q_{max} = capacidad máxima de adsorción de cobre (mg de Cu/g de adsorbente)

b = constante de Langmuir (L/mg)

Una vez obtenidos los resultados, se procedió a linealizarlos para poder relacionarlos con los modelos de Freundlich y Langmuir. Las ecuaciones linealizadas son la 5 y 6:

$$\log(q_e) = \frac{1}{n} \log(C_e) + \log(K_f) \quad \text{Ec. (5)}$$

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{max}} + \frac{1}{b q_{max} C_e} \quad \text{Ec. (6)}$$

Para la linealización se utilizaron los valores promedios, para la isoterma de Freundlich a todos los valores promedio se les aplicó el logaritmo base 10 y se graficó $\log(C_e)$ vs $\log(q_e)$.

Para la linealización de Langmuir, todos los valores se elevaron a la -1 y se graficó $1/C_e$ vs $1/q_e$

Usando la función de graficador de Excel, se hicieron las gráficas linealizadas y se calculó automáticamente el coeficiente de correlación al cuadrado (R^2), para saber cuál modelo se aproximaba mejor a los resultados obtenidos del experimento. La ecuación que mejor se ajustó al modelo linealizado, se procedió a calcular los parámetros para la ecuación del modelo y poder comparar los resultados, con los datos experimentales para ver su comportamiento.

Se procedió a sustituir los parámetros en las ecuaciones y tabularlos para calcular la q_e , usando valores aleatorios de C_e , se compararon en una tabla (Anexo V Tabla 20 y 21) y fueron graficados.

III.7 Caracterización de perlas de alginato de calcio

Para la caracterización de perlas de alginato de calcio, se usó un microscopio electrónico de barrido (SEM) (JSM-7800F Field Emission Scanning Electron Microscope) del Departamento de Física de la Universidad de Sonora, y se analizaron 4 muestras, las de mayor y menor concentración para perla con y sin biomasa inmovilizada.

Una vez obtenidas las fotomicrografías de la superficie de las perlas, se procedió a utilizar el método EDS para ver la composición de la muestra y corroborar los elementos presentes.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 Secado de la biomasa

La levadura *Rhodotorula mucilaginosa* cultivada fue observada en el microscopio, como se muestra en la Figura 4, en donde se observa la forma redondeada y tamaño de las células.

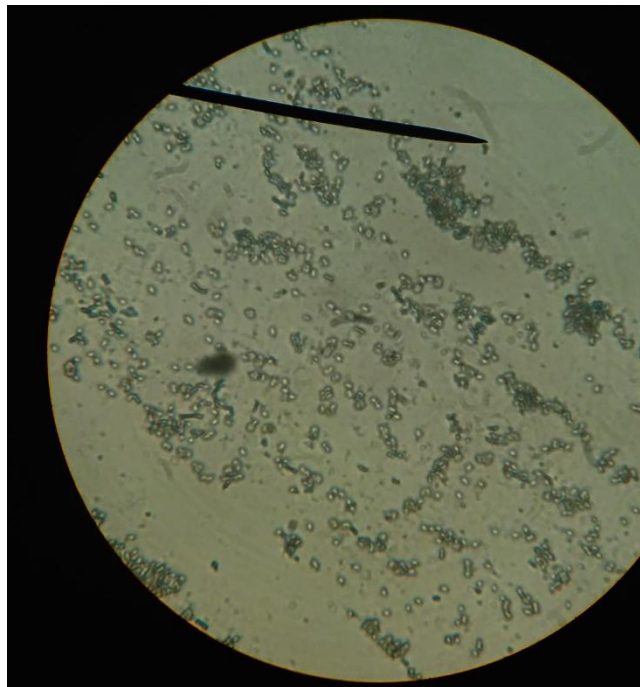
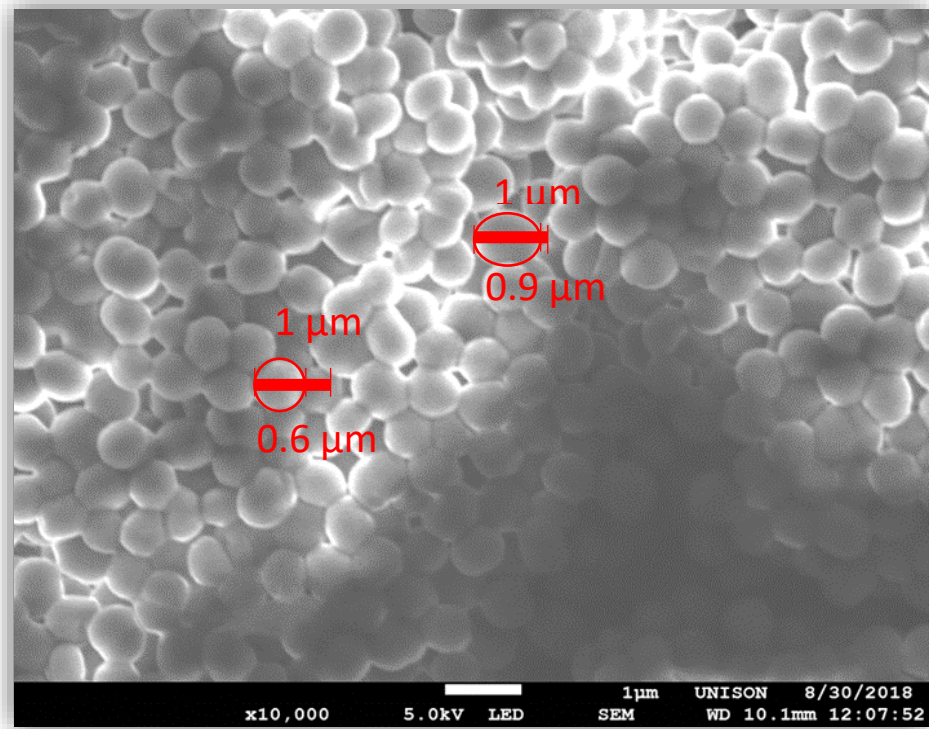
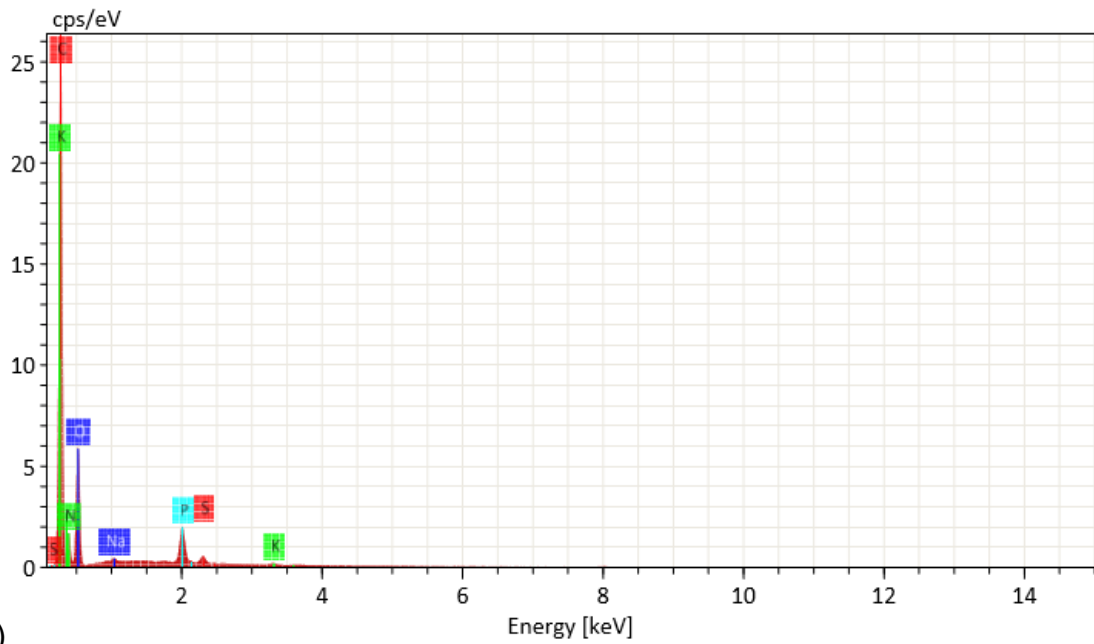


Figura 4. Biomasa observada desde un microscopio óptico.

Del desarrollo de biomasa y después del proceso de liofilización se logró obtener en total un aproximado de 3 g de biomasa seca. El análisis por MEB y EDS, se observa en la Figura 5a y 5b, respectivamente. Donde se muestran la forma más específica de la levadura *Rhodotorula mucilaginosa*, y en el EDS no se observó la presencia de cobre. En la Tabla 12 se muestran los porcentajes de composición química (ver anexo VI).



a)



b)

Figura 5.- a) Fotomicrografía y b) EDS para la composición de la muestra de biomasa pura.

Se puede confirmar la presencia de la levadura *Rhodotorula mucilaginosa* (*Rm*), gracias a que se puede observar que la morfología es equivalente a los de otros estudios y caracterizaciones, incluyendo el tamaño que varía entre 0.6 y 0.9 μm (Ellis, 2016).

IV.2 Elaboración de perlas de alginato de calcio

Se obtuvieron un aproximado de 20 g de perlas de alginato de calcio puro y 20 g de alginato de calcio con biomasa inmovilizada como se puede observar en la Figura 6.



Figura 6. Perlas de alginato de calcio puras y con biomasa inmovilizada.

IV.3 Isotherma de adsorción

Los resultados de las pruebas, el promedio y linealización para los modelos y datos experimentales se encuentran en Anexo III y IV.

En las Figuras 7, 8, 9 y 10, se muestran las linealizaciones de las isothermas con los datos experimentales y el modelo de Freundlich y Langmuir.

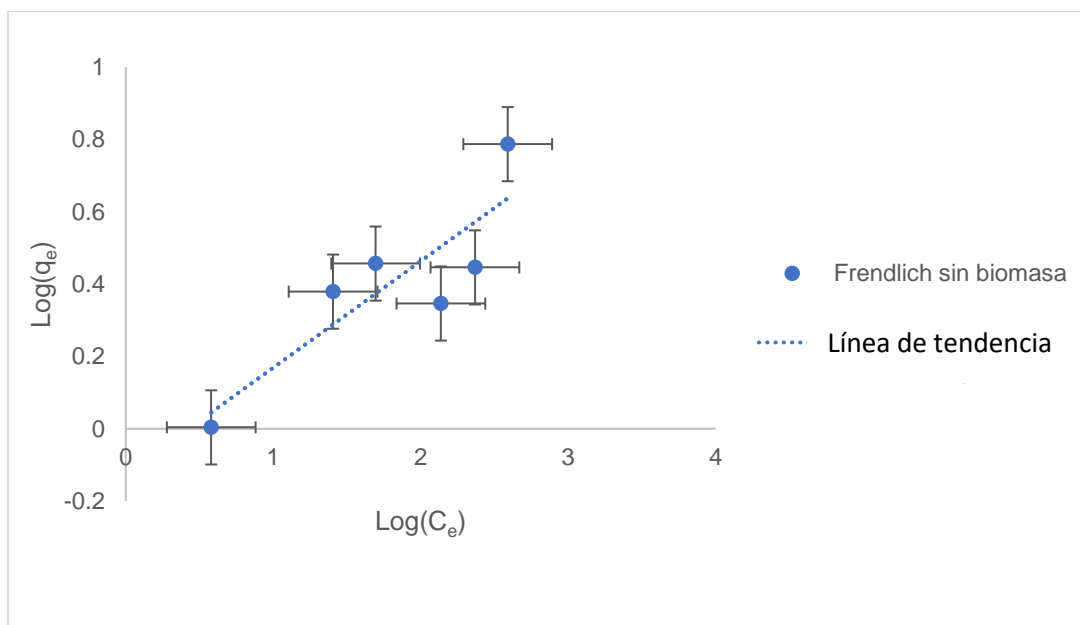


Figura 7.- Isotherma linealizada de Freundlich para la adsorción de cobre con perlas de alginato de calcio.

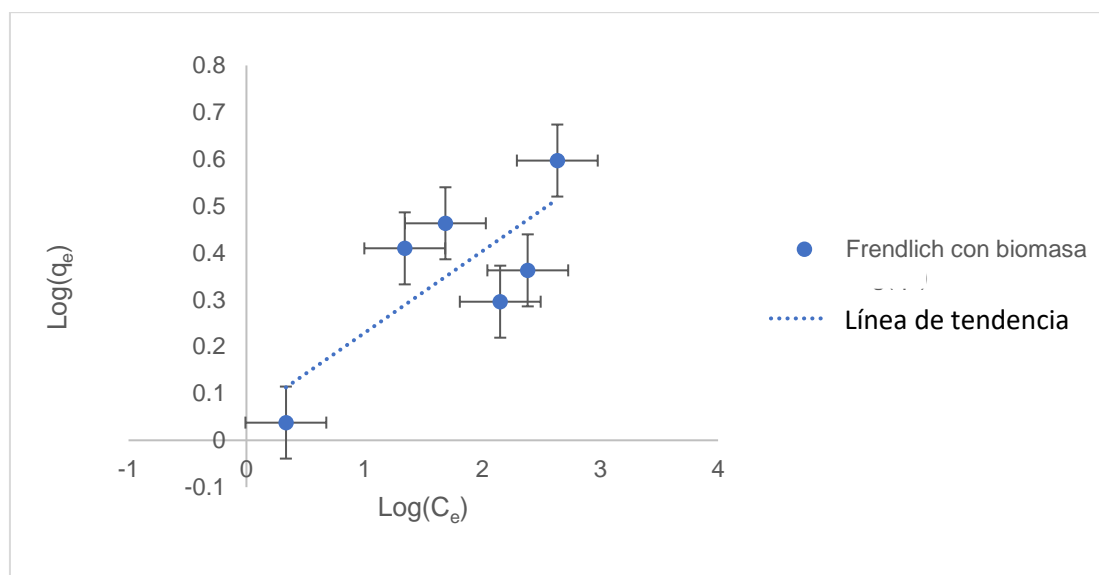


Figura 8.- Isotherma linealizada de Freundlich para la adsorción de cobre con perlas de alginato de calcio con biomasa inmovilizada.

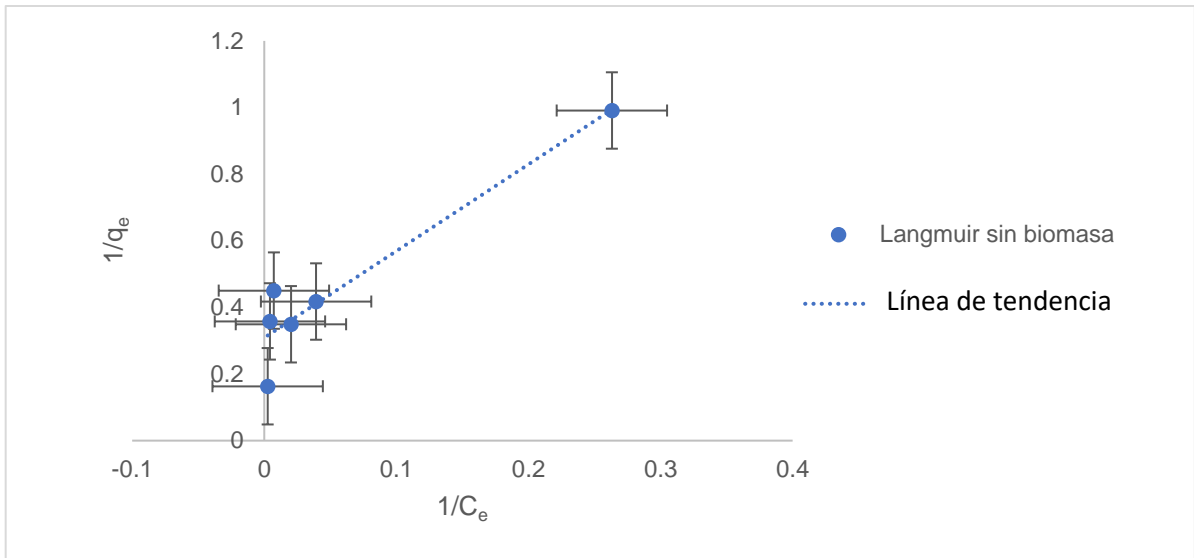


Figura 9.- Isotherma linealizada de Langmuir para la adsorción de cobre con perlas de alginato de calcio.

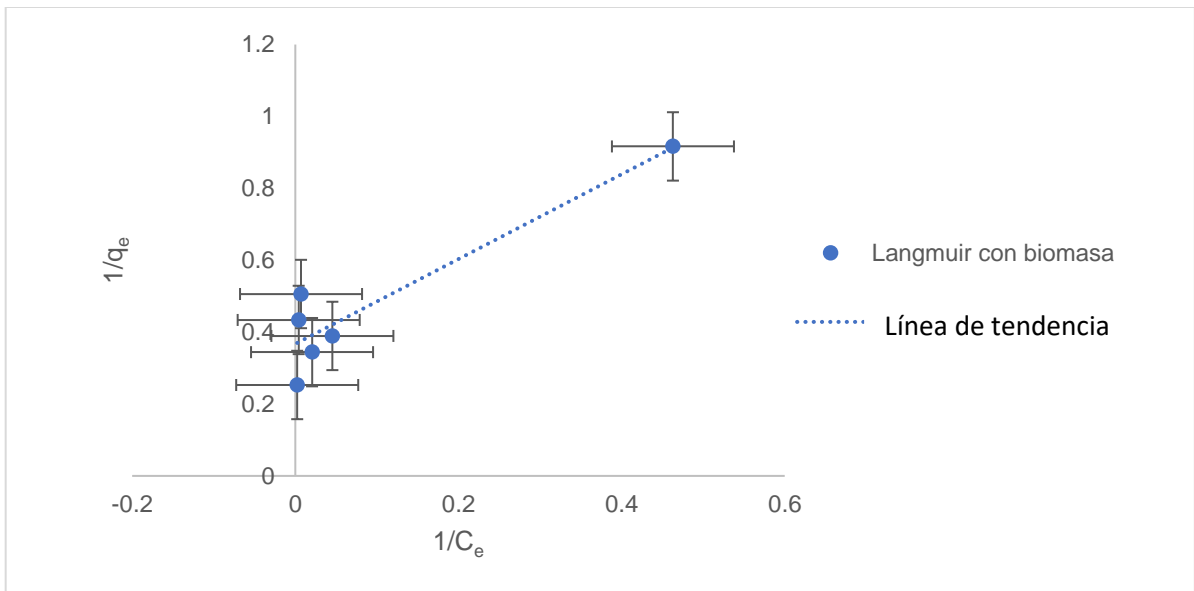


Figura 10.- Isotherma linealizada de Langmuir para la adsorción de cobre con perlas de alginato de calcio con biomasa inmovilizada.

Los resultados de los modelos de isoterma de Freundlich y Langmuir se muestran en la Tabla 6, donde se aprecia que los coeficientes de correlación para la bioadsorción de cobre de las perlas con biomasa de *Rhodotorula mucilaginosa* y sin biomasa, son satisfactorios, ya que el modelo de Langmuir se ajusta bien a los datos de equilibrio experimentales, por lo que se procedió a calcular los parámetros.

Tabla 6. Resultados de los modelos de las isotermas.

	q_{max} (mg/L)	b (L/mg)	K_f (L/g)	n	R^2
Freundlich sin biomasa	NA	NA	0.8819	3.3967	0.747
Freundlich con biomasa	NA	NA	1.0559	5.7012	0.606
Langmuir sin biomasa	3.237	0.118	NA	NA	0.899
Langmuir con biomasa	2.723	0.311	NA	NA	0.861

En otra investigación usando cáscara de cacahuate, se encontró que el modelo de Freundlich se aproxima mejor a bajas concentraciones de Cu y Cr, y a altas, el modelo de Langmuir predomina (Witek-Krowiak et al., 2011).

En la biosorción de metales pesados con cáscara de naranja químicamente modificada, se encontró que para los 3 metales usados (Pb, Cd, Ni), el modelo de Langmuir se ajusta mejor con un R^2 superiores al 0.98 (Feng et al., 2011)

En las Figuras 11 y 12 se pueden apreciar los datos experimentales comparados con el modelo de Langmuir, calculado para las isotermas sin y con biomasa. En

el caso del modelo de Langmuir con las perlas sin biomasa, se observa que se alcanza la capacidad máxima de adsorción a 150 mg/L, mientras que, en las perlas con biomasa, llega a su capacidad máxima de adsorción a los 50 mg/L.

En otros experimentos usando macroalgas filamentosas, se llegó a su capacidad máxima de adsorción a los 100 mg/L (Lee y Chang, 2011), mientras que en otra bioadsorción usando *Myriophyllum spicatum*, la capacidad máxima de adsorción fue de 60 mg/L.

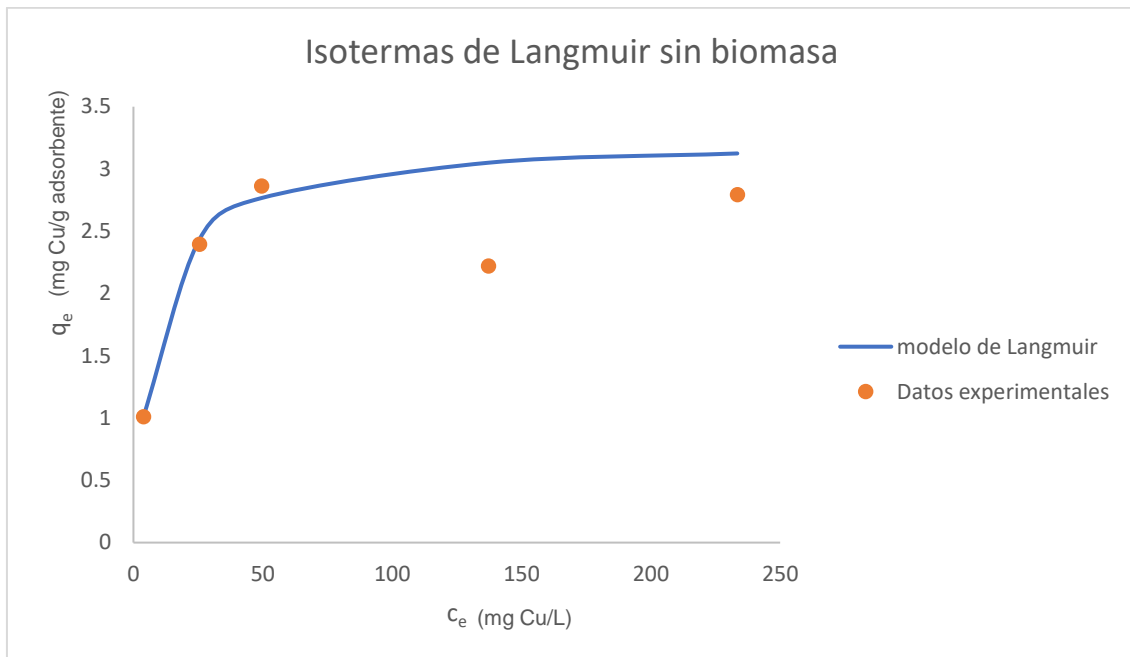


Figura 11.- Comparación entre el modelo de Langmuir y los datos experimentales sin biomasa.

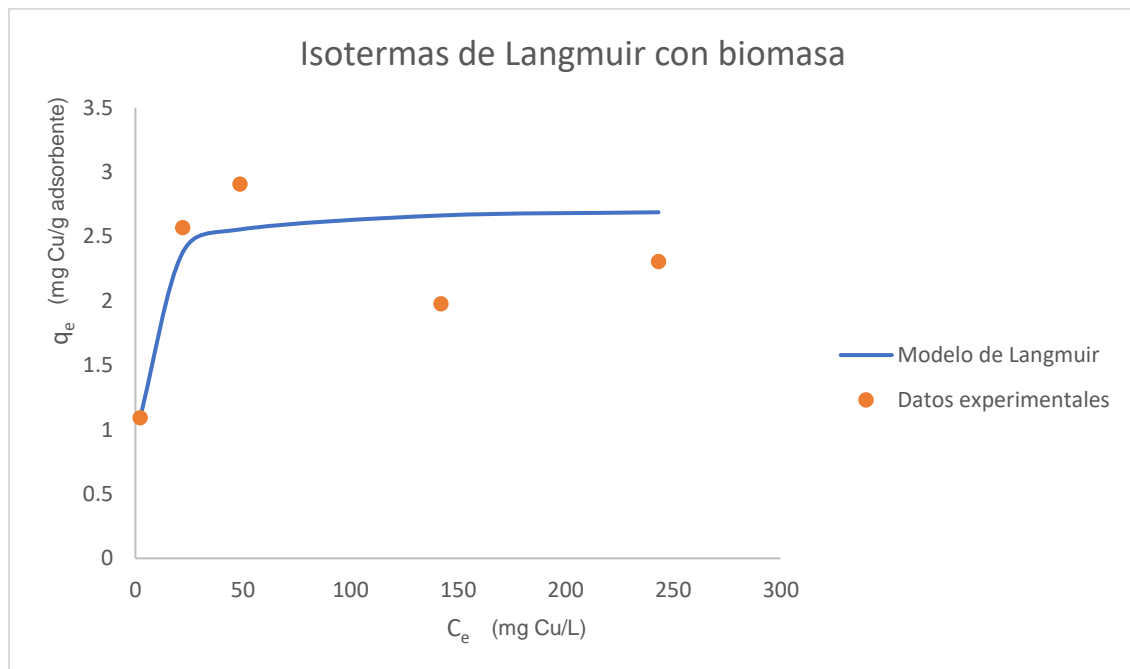


Figura 12.- Comparación entre el modelo de Langmuir y los datos experimentales con biomasa inmovilizada.

IV.4 Caracterización de perlas de alginato de calcio

Los resultados de la caracterización se presentan en las Figuras 13 y 14. Se puede observar en las Figuras 13a y 14a, las fotomicrografías del alginato de calcio sin biomasa después de la adsorción con 20 mg/L y 500 mg/L, respectivamente. En la Figura 13b, se puede apreciar las lecturas de los elementos en la muestra, demostrando que el alginato adsorbió el cobre, a comparación de la Figura 14b, se muestra un aumento significativo de la intensidad de la señal de cobre, indicando que hubo mayor adsorción a mayor concentración de Cu.

En las Figuras 15 y 16, se muestran las caracterizaciones del alginato de calcio con biomasa inmovilizada después de la adsorción. En las fotomicrografías 15a y 16a, se muestra la superficie de las perlas con la biomasa sujeta y bien definida, donde no se observa un daño o malformaciones aparentes, en los análisis de EDS se vio un aumento en la intensidad de la señal de Cu para la muestra de 500 mg/L.

Las tablas con los porcentajes de composición de las muestras analizadas se encuentran en el Anexo VI.

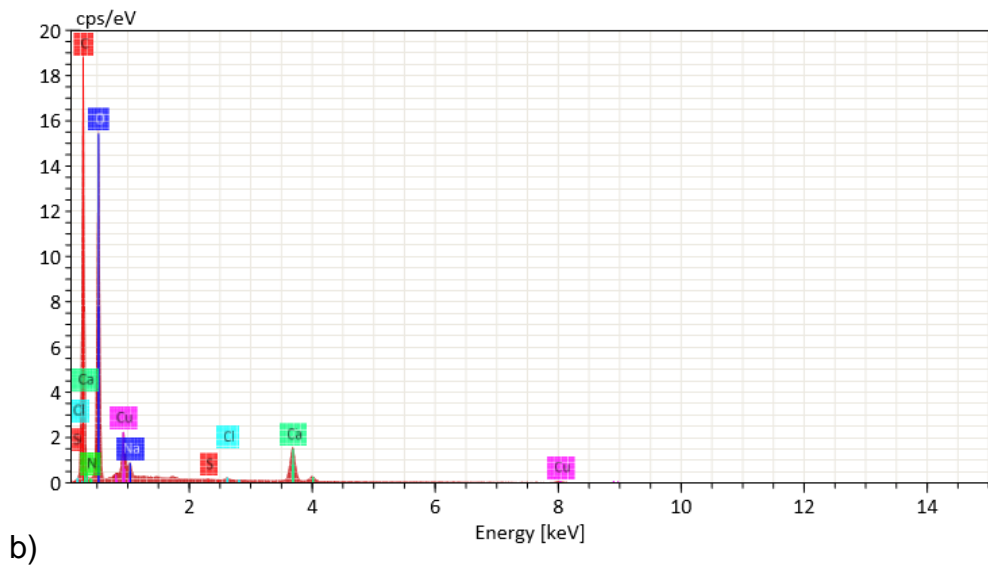
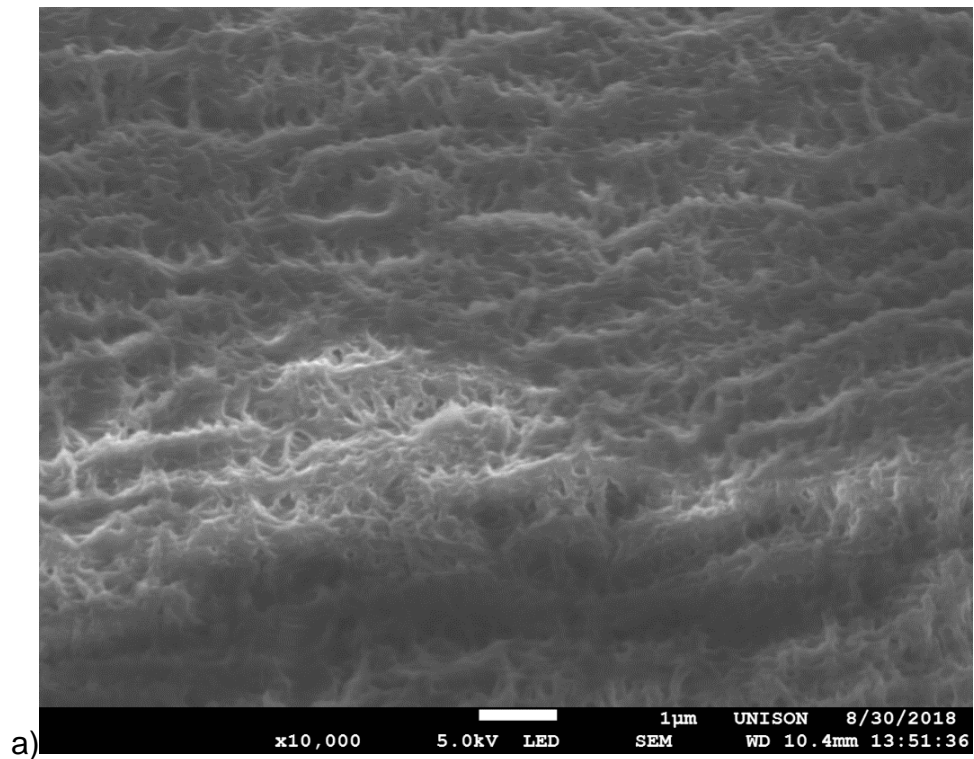


Figura 13. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas de las perlas de alginato sin biomasa del proceso de bioadsorción de cobre a concentración de 20 mg/L.

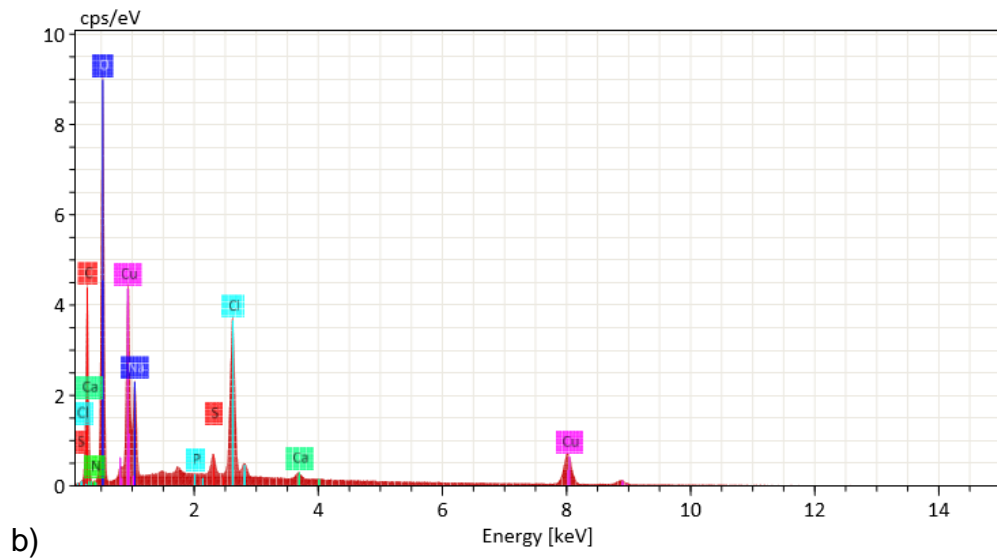
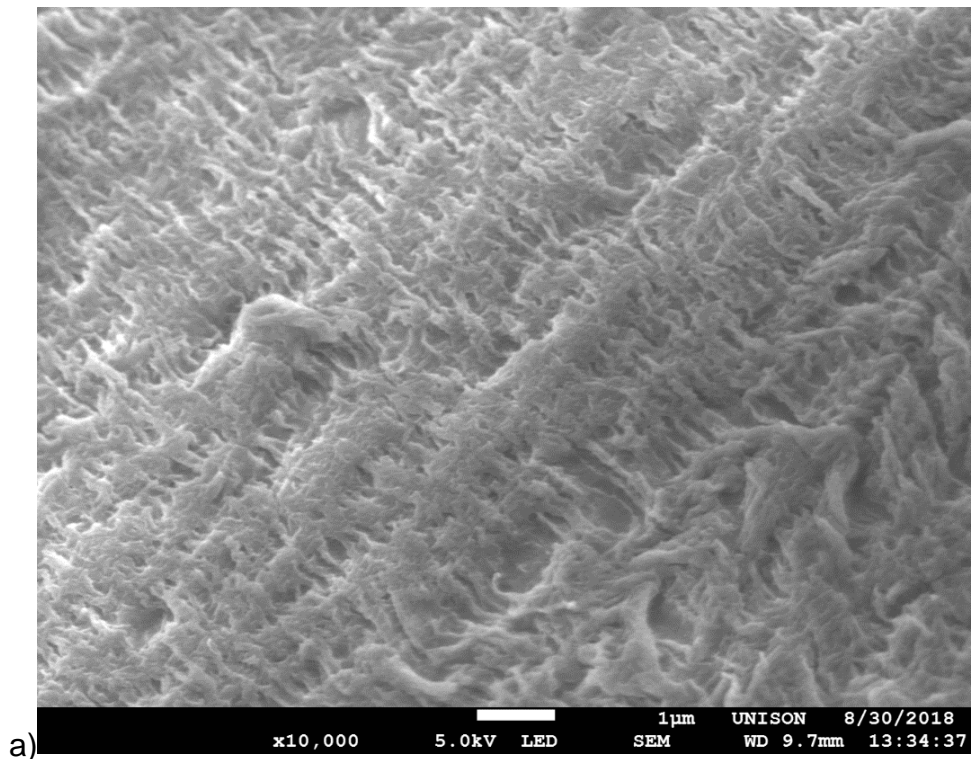


Figura 14. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas de las perlas de alginato sin biomasa del proceso de bioadsorción de cobre a concentración de 500 mg/L.

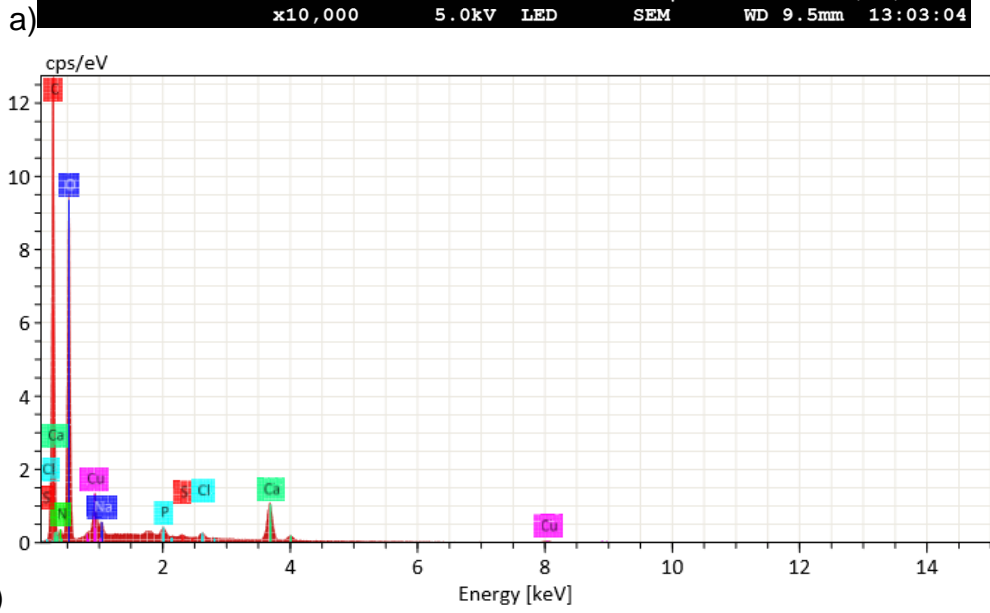
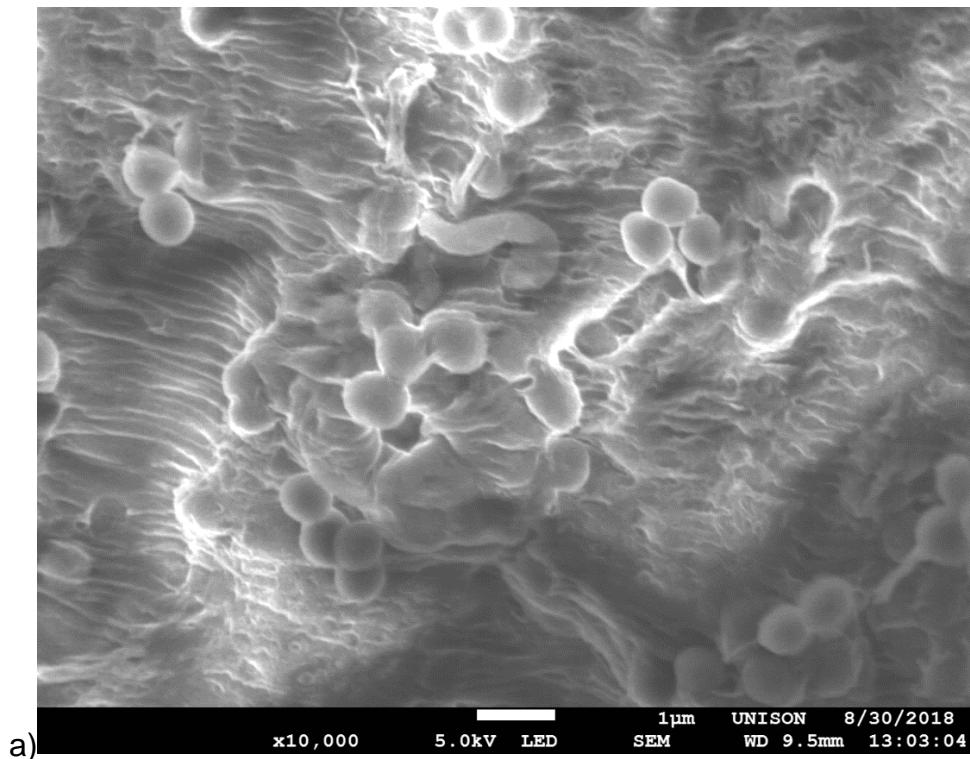


Figura 15. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas de las perlas de alginato con biomasa inmovilizada del proceso de bioadsorción de cobre a concentración de 20 mg/L.

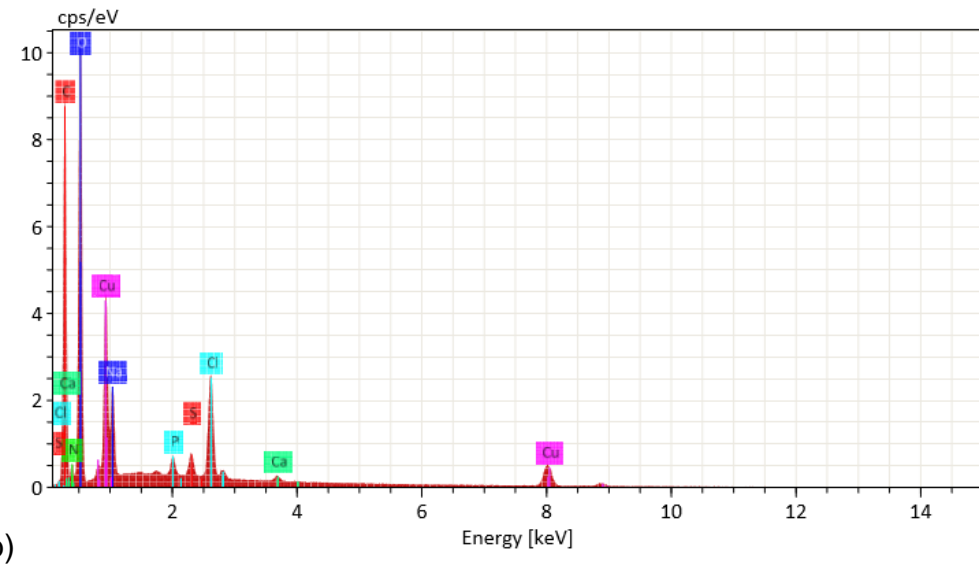
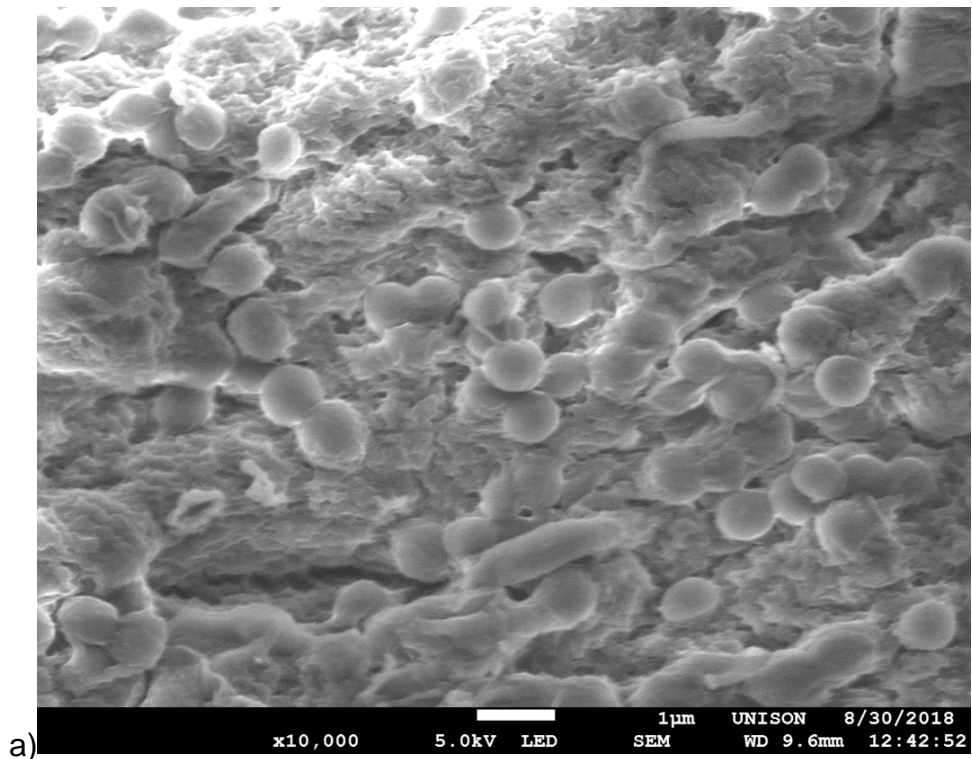


Figura 16. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas de las perlas de alginato con biomasa inmobilizada del proceso de bioadsorción de cobre a concentración de 500 mg/L.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este estudio de evaluar la concentración adsorbida de cobre por la biomasa seca de levadura inmovilizada en alginato de calcio en sistema por lote, se concluye lo siguiente:

Se logró cultivar *Rhodotorula mucilaginosa* en el medio apropiado, y una vez liofilizada se logró caracterizar por MEB y EDS.

Se prepararon las perlas de alginato de calcio puras y con biomasa inmovilizada, se lograron caracterizar y estudiar su composición. Los resultados de la bioadsorción de cobre con y sin biomasa inmovilizada fueron corroborados por medio de los estudios de MEB y EDS donde se observó la presencia de cobre.

El modelo de Langmuir tuvo mejor ajuste a los datos experimentales tanto para las perlas de alginato con y sin biomasa inmovilizada. En el modelo de Langmuir para las perlas sin biomasa, se pudo observar que las perlas se saturan al llegar a una concentración de 150 mg/L, mientras que, en el modelo sin biomasa, se saturan a una concentración de 50 mg/L. La cantidad máxima de cobre adsorbido en las perlas de alginato de calcio sin biomasa fue de 3.2372 mg Cu/g, mientras que, en las perlas con biomasa inmovilizada, fue menor con 2.7233 mg Cu/g, y esto puede deberse a que la biomasa se satura en concentraciones altas y no puede seguir adsorbiendo ya que se sitúa en los poros del alginato de calcio reduciendo sus sitios activos. El uso de la biomasa inmovilizada mostró una eficiencia mayor a concentraciones más bajas con relación al uso de alginato de calcio puro.

En este estudio se confirma que el uso de biomasa seca de levaduras en perlas de alginato de calcio es eficiente para la remoción de metales como el cobre en bajas concentraciones, lo cual es un método amigable al medio ambiente; es recomendable seguir investigando sobre nuevos biosorbentes para tratar de eliminar contaminantes como los metales pesados en bajas concentraciones que se pudieran encontrar en aguas o suelos lo cual pudieran dañar a la salud.

ANEXOS

Anexo I

Tabla 7.- Volumen necesario para la disolución y obtención de concentraciones necesarias.

Concentración (mg/L)	Volumen (mL)
500	125
300	75
200	50
100	25
70	17.5
20	5

Tabla 8.- pH obtenidos en las soluciones

Concentración (mg/L)	pH final
20	5.03
70	4.98
100	5.01
200	4.98
300	4.99
500	4.98

Tabla 9.- Numeración y características de las soluciones obtenidas.

Número	Perlas usadas	Tiempo	Concentración (mg/L)
1	No se usaron	t=0	20
2	No se usaron	t=0	70
3	No se usaron	t=0	100
4	No se usaron	t=0	200
5	No se usaron	t=0	300
6	No se usaron	t=0	500
7	Perlas puras	t=24 h	20
8	Perlas puras	t=24 h	70
9	Perlas puras	t=24 h	100
10	Perlas puras	t=24 h	200
11	Perlas puras	t=24 h	300
12	Perlas puras	t=24 h	500
13	Perlas puras	t=24 h	20
14	Perlas puras	t=24 h	70
15	Perlas puras	t=24 h	100
16	Perlas puras	t=24 h	200
17	Perlas puras	t=24 h	300
18	Perlas puras	t=24 h	500
19	Blanco	Blanco	0
20	Perlas con biomasa	t=24 h	20
21	Perlas con biomasa	t=24 h	70
22	Perlas con biomasa	t=24 h	100
23	Perlas con biomasa	t=24 h	200
24	Perlas con biomasa	t=24 h	300
25	Perlas con biomasa	t=24 h	500
26	Perlas con biomasa	t=24 h	20
27	Perlas con biomasa	t=24 h	70
28	Perlas con biomasa	t=24 h	100
29	Perlas con biomasa	t=24 h	200
30	Perlas con biomasa	t=24 h	300
31	Perlas con biomasa	t=24 h	500

Tabla 10.- Cantidad de perlas de alginato de calcio usadas en cada solución.

Número de solución	Peso de perlas (g)
1	No se usaron
2	No se usaron
3	No se usaron
4	No se usaron
5	No se usaron
6	No se usaron
7	1.0028
8	1.0076
9	1.0048
10	1.0033
11	1.0001
12	1.0067
13	1.0045
14	1.0029
15	0.9977
16	1.0051
17	1.0071
18	1.0054
19	No se usaron
20	1.0011
21	1.0039
22	0.9982
23	0.9920
24	1.0034
25	1.0002
26	1.0020
27	1.0016
28	1.0011
29	1.0047
30	1.0029
31	1.0068

Anexo II

Se obtuvo el volumen necesario para llevar de la solución encontrada en el recipiente de 50 mL a la dilución para su estudio, se agregó un 2% en volumen de HCl, que es 1 mL, y se aforo a 50 mL con agua desionizada.

Tabla 11. Volumen de soluciones para cada concentración usados para la disolución y lectura del espectrofotómetro.

Concentración (mg/L)	Volumen usado (mL)
20	2.5
70	2
100	1
200	1
300	1
500	1

Tabla 12. Las tablas con los porcentajes de composición de la biomasa pura.

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
Carbon	6	232506	52.59	52.59	59.10	5.72	10.88
Nitrogen	7	16625	16.42	16.42	15.82	2.18	13.25
Oxygen	8	62197	28.33	28.33	23.90	3.31	11.69
Phosphorus	15	29134	1.90	1.90	0.83	0.10	5.19
Sulfur	16	5755	0.40	0.40	0.17	0.04	10.22
Potassium	19	1522	0.16	0.16	0.06	0.03	19.94
Sodium	11	2247	0.20	0.20	0.12	0.04	19.31
		Sum	100.00	100.00	100.00		

Tabla 13.- Datos reflejados por el equipo AA, factor de dilución y concentración de las soluciones.

Número	C (mg/L)	Factor de dilución	C(mg/L)
1	1.199	20	23.98
2	2.935	25	73.375
3	1.068	50	106.8
4	1.816	50	181.6
5	5.786	50	289.3
6	10.24	50	512
7	0.204	20	4.08
8	1.059	25	26.475
9	0.985	50	49.25
10	2.739	50	136.95
11	4.664	50	233.2
12	7.223	50	361.15
13	0.176	20	3.52
14	0.98	25	24.5
15	0.997	50	49.85
16	2.749	50	137.45
17	4.673	50	233.65
18	8.359	50	417.95
19	0.107		
20	0.098	20	1.96
21	0.851	25	21.275
22	1.036	50	51.8
23	2.793	50	139.65
24	4.778	50	238.9
25	8.368	50	418.4
26	0.118	20	2.36
27	0.91	25	22.75
28	0.912	50	45.6
29	2.89	50	144.5
30	4.95	50	247.5
31	8.949	50	447.45

Anexo III

Tabla 14.- Valores de las pruebas y promedio de experimento sin biomasa.

prueba 1		prueba 2		promedio	
q _e (mg/g)	C _e (mg/L)	q _e (mg/g)	C _e (mg/L)	q _e (mg/g)	C _e (mg/L)
0.995	4.08	1.023	3.52	1.009	3.8
2.345	26.475	2.44375	24.5	2.394375	25.4875
2.8775	49.25	2.8475	49.85	2.8625	49.55
2.2325	136.95	2.2075	137.45	2.22	137.2
2.805	233.2	2.7825	233.65	2.79375	233.425
7.5425	361.15	4.7025	417.95	6.1225	389.55

Tabla 15.- Valores de las pruebas y promedio de experimento con biomasa

Prueba 1		Prueba 2		promedio	
q _e (mg/g)	C _e (mg/L)	q _e (mg/g)	C _e (mg/L)	q _e (mg/g)	C _e (mg/L)
1.101	1.96	1.081	2.36	1.091	2.16
2.605	21.275	2.53125	22.75	2.568125	22.0125
2.75	51.8	3.06	45.6	2.905	48.7
2.0975	139.65	1.855	144.5	1.97625	142.075
2.52	238.9	2.09	247.5	2.305	243.2
4.68	418.4	3.2275	447.45	3.95375	432.925

Anexo IV

Tabla 16.- Valores linealizados para Freundlich de experimentos sin biomasa.

Freundlich sin biomasa	
Log(c_e)	Log(q_e)
0.579783597	0.003891166
1.406327239	0.379192169
1.695043659	0.456745495
2.137354111	0.346352974
2.368147367	0.44618754
2.590563209	0.786928794

Tabla 17.- Valores linealizados para Freundlich de experimentos con biomasa.

Freundlich con biomasa	
Ln(c_e)	Ln(q_e)
0.334453751	0.037824751
1.342669369	0.409616159
1.687528961	0.463146137
2.152517665	0.295841883
2.385963571	0.36267093
2.636412666	0.597009205

Tabla 18.- Valores linealizados para Langmuir de experimentos sin biomasa.

Langmuir sin biomasa	
1/ c_e	1/ q_e
0.263157895	0.991080278
0.039234919	0.417645523
0.020181635	0.349344978
0.00728863	0.45045045
0.004284031	0.357941834
0.002567065	0.163331972

Tabla 19.- Valores linealizados para Langmuir de experimentos con biomasa.

Langmuir con biomasa	
1/c _e	1/q _e
0.462962963	0.916590284
0.045428734	0.389389146
0.020533881	0.344234079
0.007038536	0.506008855
0.004111842	0.433839479
0.002309869	0.252924439

Anexo V

Tabla 20.- Comparación entre los datos experimentales sin biomasa y los calculados para el modelo de Langmuir.

Modelo Langmuir ideal sin biomasa		
q _e modelado	q _e experimental	C _e
1.006430533	1.009	3.8
2.433176812	2.394375	25.4875
2.766936018	2.8625	49.55
3.050042473	2.22	137.2
3.124544777	2.79375	233.425

Tabla 21.- Comparación entre los datos experimentales con biomasa inmovilizada y los calculados para el modelo de Langmuir.

Modelo Langmuir ideal con biomasa		
q _e modelado	q _e experimental	C _e
1.094806153	1.091	2.16
2.376443814	2.568125	22.0125
2.554762141	2.905	48.7
2.66308702	1.97625	142.075
2.687802463	2.305	243.2

Anexo VI

Tabla 22. Las tablas con los porcentajes de composición de la perla de alginato de calcio sin biomasa en la solución de 20 mg/L.

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
Carbon	6	180970	43.08	43.08	51.66	4.74	11.00
Nitrogen	7	178	0.16	0.16	0.17	0.09	55.40
Oxygen	8	163255	51.03	51.03	45.94	5.63	11.04
Sulfur	16	353	0.03	0.03	0.01	0.00	7.21
Sodium	11	9077	1.01	1.01	0.63	0.09	8.91
Chlorine	17	1679	0.14	0.14	0.06	0.03	22.89
Copper	29	1384	0.81	0.81	0.18	0.06	7.56
Calcium	20	32391	3.74	3.74	1.34	0.14	3.71
		Sum	100.00	100.00	100.00		

Tabla 23. Las tablas con los porcentajes de composición de la perla de alginato de calcio sin biomasa en la solución de 500 mg/L.

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
Carbon	6	41123	29.20	30.22	45.31	3.52	12.06
Nitrogen	7	0	0.00	0.00	0.00	0.00	10.00
Oxygen	8	93888	35.00	36.22	40.77	3.98	11.38
Phosphorus	15	0	0.00	0.00	0.00	0.00	1.79
Sulfur	16	7600	0.73	0.75	0.42	0.05	7.26
Sodium	11	25686	4.93	5.10	4.00	0.33	6.78
Chlorine	17	64413	6.76	7.00	3.56	0.25	3.73
Copper	29	20822	19.55	20.23	5.73	0.66	3.38
Calcium	20	2967	0.45	0.47	0.21	0.04	9.20
		Sum	96.62	100.00	100.00		

Tabla 24. Las tablas con los porcentajes de composición de la perla de alginato de calcio con biomasa inmovilizada en la solución de 20 mg/L.

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
Carbon	6	120922	42.99	43.31	51.91	4.82	11.21
Nitrogen	7	2150	2.80	2.82	2.90	0.55	19.52
Oxygen	8	99713	47.44	47.79	43.00	5.37	11.32
Phosphorus	15	3822	0.29	0.29	0.14	0.04	12.95
Sulfur	16	980	0.08	0.08	0.04	0.03	36.94
Sodium	11	4635	0.53	0.53	0.33	0.06	11.40
Chlorine	17	2531	0.24	0.24	0.10	0.03	14.51
Copper	29	973	1.37	1.38	0.31	0.09	6.75
Calcium	20	22222	3.53	3.56	1.28	0.13	3.78
Sum			99.27	100.00	100.00		

Tabla 25. Las tablas con los porcentajes de composición de la perla de alginato de calcio con biomasa inmovilizada en la solución de 500 mg/L.

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
Carbon	6	82688	40.39	37.83	50.44	4.63	11.45
Nitrogen	7	3557	3.61	3.38	3.87	0.63	17.40
Oxygen	8	107155	40.54	37.97	38.00	4.57	11.28
Phosphorus	15	6565	0.52	0.49	0.25	0.05	8.93
Sulfur	16	8697	0.71	0.66	0.33	0.05	7.32
Sodium	11	24705	3.21	3.01	2.09	0.23	7.05
Chlorine	17	43936	4.12	3.86	1.74	0.16	3.98
Copper	29	14682	13.31	12.46	3.14	0.46	3.49
Calcium	20	2475	0.36	0.34	0.13	0.04	10.79
Sum			106.77	100.00	100.00		

BIBLIOGRAFIA

- Abbas, S. H., Ismail, I. M., Mostafa, T. M., y Sulaymon, A. H. (2014). Biosorption of heavy metals: a review. *J. Chem. Sci. Technol*, 3(4), 74-102.
- Agarwal, S. K. (2009). *Heavy metal pollution* (Vol. 4): APH publishing.
- Ahluwalia, S. S., y Goyal, D. (2007). Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. *Bioresource technology*, 98(12), 2243-2257.
- Arief, V. O., Trilestari, K., Sunarso, J., Indraswati, N., y Ismadji, S. (2008). Recent progress on biosorption of heavy metals from liquids using low cost biosorbents: characterization, biosorption parameters and mechanism studies. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 36(12), 937-962.
- Chan, E.-S., Wong, S.-L., Lee, P.-P., Lee, J.-S., Ti, T. B., Zhang, Z., . . . Yim, Z.-H. (2011). Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium–alginate beads and the viability of encapsulated cells. *Carbohydrate Polymers*, 83(1), 225-232.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.044>
- Cornelis, R., Caruso, J. A., Crews, H., y Heumann, K. G. (2005). *Handbook of elemental speciation II: species in the environment, food, medicine and occupational health*: John Wiley y Sons.
- Das, N., Vimala, R., y Karthika, P. (2008). Biosorption of heavy metals—an overview.
- Ellis, D. (2016). The University of Adelaide. Retrieved from <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/yeasts/rhodotorula/>
- Febrianto, J., Kosasih, A. N., Sunarso, J., Ju, Y.-H., Indraswati, N., y Ismadji, S. (2009). Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: a summary of recent studies. *Journal of hazardous materials*, 162(2-3), 616-645.

- Feng, N., Guo, X., Liang, S., Zhu, Y., y Liu, J. (2011). Biosorption of heavy metals from aqueous solutions by chemically modified orange peel. *Journal of Hazardous Materials*, 185(1), 49-54. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.08.114>
- Ferguson, J. E. (1990). *The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects*. Retrieved from
- Gaetke, L. M., y Chow, C. K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189(1), 147-163. doi:[https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00159-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00159-8)
- Gupta, V. K., Nayak, A., y Agarwal, S. (2015). Bioadsorbents for remediation of heavy metals: current status and their future prospects. *Environmental Engineering Research*, 20(1), 1-18.
- He, J., y Chen, J. P. (2014). A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass: Materials, performances, chemistry, and modeling simulation tools. *Bioresource Technology*, 160, 67-78. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.068>
- Javanbakht, V., Alavi, S. A., y Zilouei, H. (2014). Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent. *Water Sci Technol*, 69(9), 1775-1787. doi:10.2166/wst.2013.718
- Khan, M. S., Zaidi, A., Goel, R., y Musarrat, J. (2011). *Biomanagement of metal-contaminated soils* (Vol. 20): Springer Science y Business Media.
- Lee, Y.-C., y Chang, S.-P. (2011). The biosorption of heavy metals from aqueous solution by Spirogyra and Cladophora filamentous macroalgae. *Bioresource Technology*, 102(9), 5297-5304. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.103>
- Malik, A. (2004). Metal bioremediation through growing cells. *Environment international*, 30(2), 261-278.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., y Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental chemistry letters*, 8(3), 199-216.

- Oves, M., Khan, M. S., y Zaidi, A. (2013). Biosorption of heavy metals by *Bacillus thuringiensis* strain OSM29 originating from industrial effluent contaminated north Indian soil. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(2), 121-129. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.11.006>
- Park, D., Yun, Y.-S., y Park, J. M. (2010). The past, present, and future trends of biosorption. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15(1), 86-102.
- Secretaría de Economía del Estado de Sonora. (2015). Retrieved from <http://www.economiasonora.gob.mx/portal/minero>
- Stojanovic, R., Belscak-Cvitanovic, A., Manojlovic, V., Komes, D., Nedovic, V., y Bugarski, B. (2012). Encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) aqueous extract in calcium alginate beads. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(3), 685-696.
- Volesky, B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, 59(2-3), 203-216.
- Volesky, B. (2007). Biosorption and me. *Water research*, 41(18), 4017-4029.
- Wang, J., y Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27(2), 195-226. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.002>
- Witek-Krowiak, A., Szafran, R. G., y Modelski, S. (2011). Biosorption of heavy metals from aqueous solutions onto peanut shell as a low-cost biosorbent. *Desalination*, 265(1), 126-134. doi:<https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.07.042>
- Yan, C., Li, G., Xue, P., Wei, Q., y Li, Q. (2010). Competitive effect of Cu (II) and Zn (II) on the biosorption of lead (II) by *Myriophyllum spicatum*. *Journal of hazardous materials*, 179(1-3), 721-728.
- Ying, C. P. (2007). Biosorption of copper (II) and chromium (VI) onto activated sludge: isotherms and kinetic models. *Universiti Sains Malaysia*.