



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

CENTRO DE INVESTIGACION Y ESTUDIOS DE POSGRADO

REMOCION DE METALES PESADOS Y FLUOR EN SOLUCION  
POR CINCO ESPECIES DE Aspergillus Y UN LODO OBTENIDO  
DE LA LAGUNA DEL TANQUE TENORIO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTAN:

OLGA LETICIA BRIZUELA GAMIÑO

MARIA ESTELA SOTO HERNANDEZ

ASESORADA POR M. C. JOSE ISMAEL ACOSTA RODRIGUEZ

SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

1996



75

T

TD4

B7

c.1



1080076890



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS  
CENTRO DE INVESTIGACION Y ESTUDIO DE POSGRADO

REMOCION DE METALES PESADOS Y FLUOR EN SOLUCION  
POR CINCO ESPECIES DE *Aspergillus* Y UN LODO OBTENIDO  
DE LA LAGUNA DEL TANQUE TENORIO

Tesis profesional  
que para obtener el título de  
QUIMICO FARMACOBIOLOGO  
presenta:

OLGA LETICIA BRIZUELA GAMIÑO  
MARIA ESTELA SOTO HERNANDEZ

Asesorado por M.C. JOSE ISMAEL ACOSTA RODRIGUEZ

San Luis Potosí, S.L.P.  
1996

T  
TD475  
B7







## APROBACION DE TEMA DE TESIS

SRITA. OLGA LETICIA BRIZUELA GAMIÑO Y MARIA ESTELA SOTO  
HERNANDEZ  
**P R E S E N T E:**

.Por este conducto me permito informar a USTEDES, que el H. Consejo Técnico Consultivo de esta Facultad de Ciencias Químicas, en sesión ordinaria de fecha 29 DE NOVIEMBRE DE 1995 , tuvo a bien aprobar el tema de su tesis profesional titulada: REMOCION DE METALES PESADOS Y FLUOR EN SOLUCION POR CINCO ESPECIES DE *Aspergillus* Y UN LODO OBTENIDO DE LA LAGUNA DEL TANQUE TENORJO mismo que será asesorado por el M.C. JOSE ISMAEL ACOSTA RODRIGUEZ , para la presentación de su examen profesional de **QUÍMICO FARMACOBIOLOGO.**

Sin más por el momento queda de usted.

*Atentamente*

  
\_\_\_\_\_  
ING. ROGELIO A. COLUNGA REYNA  
SECRETARIO DE LA FACULTAD

Este trabajo se desarrollo en el Laboratorio del Area Biológica del Centro de Investigación y Estudios de Posgrado (localizado físicamente en el Laboratorio de Análisis Clínicos con servicio al público) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí bajo la asesoría de M.C. J. Ismael Acosta Rodríguez.



# INDICE GENERAL

TITULO	PAGINA
Resumen.....	1
1.0 Generalidades.....	2
2.0 Antecedentes.....	4
3.0 Justificación.....	6
4.0 Objetivos.....	8
4.1 Objetivo General.....	8
4.2 Objetivos Particulares.....	8
5.0 Material y Métodos.....	9
5.1 Lavado de material.....	10
5.2 Obtencion del Bioadsorbente Celular.....	10
5.3 Determinación de la capacidad de bioadsorción de metales pesados.....	11
5.4 Validación del método analítico.....	11
5.5 Determinación de las condiciones óptimas de captación de metales pesados por el lodo.....	12
5.6 Determinación del tiempo de incubación óptimo.....	13
5.7 Determinación del pH óptimo.....	13
5.8 Determinación de la temperatura óptima.....	14
5.9 Determinación de cadmio.....	14
5.10 Determinación de plomo.....	19
5.11 Determinación de cromo (VI).....	23
5.12 Determinación de cobre y arsénico por Espectrofotometría de Absorción Atómica.....	27
5.13 Determinación de cobre y arsénico por el sistema de Atomización de Flama.....	30
5.14 Determinación de flúor.....	31
5.15 Determinación de cobalto.....	34
5.16 Determinación de zinc.....	38
5.17 Análisis estadístico.....	42

TITULO

PAGINA

6.0 Resultados.....	43
7.0 Discusión de Resultados.....	60
8.0 Conclusiones.....	61
9.0 Bibliografía.....	62



# INDICE DE FIGURAS

TITULO	PAGINA
Figura No. 1.- Curva de calibración de cadmio.....	16
Figura No. 2.- Curva de calibración de plomo.....	21
Figura No. 3.- Curva de calibración de cromo.....	25
Figura No. 4.- Curva de calibración de cobalto.....	37
Figura No. 5.- Curva de calibración de zinc.....	41
Figura No. 6.- Porcentaje de bioadsorción de cromo VI por los 4 tipos de lodos.....	45
Figura No. 7.- Efecto del tiempo de incubación sobre la bioadsorción de cromo (VI).....	46
Figura No. 8.- Efecto del pH sobre la bioadsorción de cromo (VI).....	47
Figura No. 9.- Efecto de la temperatura sobre la bioadsorción de cromo (VI).....	48
Figura No. 10.- Efecto del pH sobre la bioadsorción de plomo.....	49
Figura No. 11.- Efecto del pH sobre la bioadsorción de cadmio.....	50
Figura No. 12.- Porcentaje de bioadsorción de cadmio por los bioadsorbentes analizados.....	51
Figura No. 13.- Porcentaje de bioadsorción de plomo por los bioadsorbentes analizados.....	52
Figura No. 14.- Porcentaje de bioadsorción de zinc por los bioadsorbentes analizados.....	53
Figura No. 15.- Porcentaje de bioadsorción de arsénico por los bioadsorbentes analizados.....	54
Figura No. 16.- Porcentaje de bioadsorción de cobre por los bioadsorbentes analizados.....	55
Figura No. 17.- Porcentaje de bioadsorción de cromo (VI) por los bioadsorbentes analizados.....	56
Figura No. 18.- Porcentaje de bioadsorción de cobalto por los bioadsorbentes analizados.....	57
Figura No. 19.- Porcentaje de bioadsorción de flúor por los bioadsorbentes analizados.....	58

## INDICE DE CUADROS

TITULO	PAGINA
Cuadro No. 1.- Clasificación taxonómica de los hongos según la estructura de su pared celular.....	3
Cuadro No. 2.- Repetibilidad del método espectrofotométrico de la ditizona para la determinación de cadmio.....	15
Cuadro No. 3.- Repetibilidad del método espectrofotométrico de la ditizona para la determinación de plomo.....	20
Cuadro No. 4.- Repetibilidad del método espectrofotométrico de la difenilcarbazida para la determinación de cromo VI.....	24
Cuadro No. 5.- Repetibilidad del método espectrofotométrico de la metilisobutilcetona para la determinación de cobalto.....	36
Cuadro No. 6.- Repetibilidad del método espectrofotométrico de la ditizona para la determinación de zinc.....	40
Cuadro No. 7.- Porcentajes de bioadsorción de los metales analizados por los diferentes bioadsorbentes.....	59

## RESUMEN

Las actividades mineras producen grandes cantidades de desechos (jales) y contaminantes, los cuales se acumulan en tierras de cultivo y mantos acuíferos produciendo efectos tóxicos en los seres vivos presentes en los diferentes nichos ecológicos contaminados, afectando la capacidad fotosintética de las plantas, y algunas veces ocasionan graves problemas de salud y pueden impedir el aprovechamiento de nuestras tierras y recursos acuíferos.

Algunos de los principales desechos que se están acumulando y contaminando una gran variedad de nichos ecológicos son los metales pesados, los cuales no pueden degradarse ni química ni biológicamente en la naturaleza y como los seres humanos muestran una tendencia a acumular metales, esto resulta peligroso para la salud, por lo que en la actualidad se estudian nuevas alternativas para su eliminación de mantos acuíferos contaminados.

Una de las alternativas más estudiadas es el uso de bioadsorbentes naturales como filtros biológicos para la eliminación de metales pesados en solución, pues son baratos, de fácil obtención y tienen selectividad para la remoción de iones metálicos, por lo que en este trabajo se utilizó como bioadsorbente celular cinco especies de *Aspergillus* (tres *Aspergillus flavus* y dos de *Aspergillus fumigatus*) resistentes a plomo, cobre, zinc y plata, aislados a partir de jales de una mina de Zimapán, Hidalgo, y un lodo obtenido de la laguna del Tanque Tenorio, para determinar su capacidad de remoción de cromo (VI), arsénico, plomo, cobre, cadmio, cobalto, zinc y flúor en solución.

En este trabajo se encontró que los bioadsorbentes utilizados presentan diferentes porcentajes de remoción, por ejemplo, el *Aspergillus fumigatus* I remueve eficientemente cobre (51%), pero poco cadmio, mientras que el lodo natural bioadsorbe eficientemente cromo (VI) (98%), pero no plomo ni arsénico, el *Aspergillus flavus* V capta eficientemente plomo (57%), pero no capta zinc y el *Aspergillus flavus* III bioadsorbe zinc (38%) pero el flúor y el arsénico no son removidos por este bioadsorbente.

Finalmente se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de Tukey, encontrando que los diferentes porcentajes de remoción obtenidos presentan diferencias estadísticamente significativas.

## 1.0 GENERALIDADES

Los metales provenientes de fuentes naturales, aguas residuales, domésticas e industriales han comenzado a acumularse en los diferentes nichos ecológicos (agua, suelo, aire, subsuelo, etc.) alterando el equilibrio del ecosistema. El deseo de regenerar aguas y suelos, aunado a la posibilidad de la recuperación de metales preciosos (como oro y plata), hacen necesario la aplicación de nuevas tecnologías, entre las que se encuentra: el uso de diferentes bioadsorbentes naturales (algas, bacterias, hongos, quitina, quitosana, cáscara de nuez, hueso molido de buey, cáscara de cacahuete, cebolla), (Chávez y cols., 1993; Khalid y cols., 1993a; Horikoshi y cols., 1981; Volesky y Holan, 1995; Leyva y cols., 1994; Yadava y cols., 1987; Namasivayan y Ranganathan, 1994; Kumar y Dara, 1981) para tratar de eliminar los principales metales contaminantes del ecosistema, ya que estos bioadsorbentes son de fácil acceso, bajo costo y capaces de unirse específicamente a diferentes iones metálicos, debido a los diferentes componentes de la pared celular de los microorganismos.

La presencia de metales pesados en el ambiente ejerce un efecto inhibitorio sobre los microorganismos, pero por otro lado, induce el desarrollo de variantes resistentes al efecto tóxico de los mismos (Gadd, 1992). Muchos microorganismos concentran los metales a través de la unión a componentes estructurales específicos, por ejemplo: polisacáridos, polifosfatos y proteínas (García Meza, 1995; Volesky y Holan, 1995).

Por otra parte, la pared de los hongos esta compuesta principalmente por polisacáridos (80% a 90%), además de pequeñas cantidades de proteínas y lípidos, y es el primer sitio de interacción con especies metálicas. Los polisacáridos se encuentran organizados en forma de pares de tal forma que su estructuración ha sido la base de una clasificación taxonómica de los hongos (cuadro No. 1) (Bartnicki García, 1968). Todos los hongos filamentosos a excepción de los Oomicetes contienen quitina y quitosana, que son polímeros de N-acetilglucosamina y de D-glucosamina, respectivamente (Ruíz Herrera, 1993), y se ha sugerido que estos polisacáridos participan en la unión de los metales por los hongos (Holan y Volesky, 1995).



HONGOS DEL GENERO *Aspergillus*

Subdivisión: *Deuteromycotina*

Clase: *Hyphomycetes*

Familia: *Aspergillaceae*

Género: *Aspergillus*

Especie: *flavus, fumigatus, amstelredamensis, niger.*

En el género *Aspergillus* se han descrito alrededor de 200 especies y una gran cantidad de variedades (Ulloa, 1990). Las especies oportunistas ocupan el primero ó segundo lugar dentro de los hongos contaminantes del medio ambiente; se aísla con frecuencia del aire, tierra, plantas y alimentos (Bonifaz, 1990). Estos hongos sólo bajo ciertas condiciones pueden causar enfermedades en humanos, principalmente: otomicosis, oculomicosis y micosis pulmonar (Arenas, 1993; Bonifaz, 1990).

Los *Aspergillus* se encuentran en el grupo V (quitina-glucana) de la clasificación propuesta por Bartnicki García, 1968; pues su pared celular esta compuesta principalmente por glucana (40%), quitina (18%), lípidos (18%), azúcares (glucosa, galactosa y manosa, 45.8%) y proteínas (8.3%). (Ruíz Herrera, 1967).

CUADRO NO. 1 Clasificación taxonómica de los hongos en base a su pared celular.

CATEGORIA QUIMICA	GRUPO TAXONOMICO
I. Celulosa-Glucogéno	Acrasiales
II. Celulosa-Glucana	Comycetes
III. Celulosa-Quitina	Hyphochytridiomycetes
IV. Quitosana-Quitina	Zygomycetes
V. Quitina-Glucana	Cytridiomycetes
	Ascomycetes
	Basidiomycetes
	Deuteromycetes
VI. Manana-Glucana	Saccharomycetaceae
	Cryptococcaceae
VII. Manana-Quitina	Sporobolomycetaceae
VIII. Poligalactosamina-Galactano	Trichomycetes

Tomado de: Cell. wall chemistry, morphogenesis and Taxonomy of fungi.

Bartnicki and García, S. 1968. Ann Rev Microbiol. 22:87-108

## 2.0 ANTECEDENTES

El gran incremento en el uso de metales pesados en las últimas décadas, ha tenido como consecuencia un aumento en el flujo de sustancias metálicas en el suelo, subsuelo, medio acuático y del aire (O'Neill, 1994). Además, los metales tienen la característica de que no son biodegradables, por lo que persisten y se acumulan en los diferentes mantos, contaminados por mucho tiempo, produciendo efectos tóxicos en los seres vivos presentes, afectando la capacidad fotosintética de las plantas o introduciendo sustancias químicas que abaten la concentración de oxígeno o alterando las condiciones naturales del sistema (Laws, 1993).

Entre los principales metales que se encuentran contaminando el medio ambiente son: plomo, cadmio, arsénico, mercurio, zinc, cromo y cobre (Volesky y Holan, 1995), los cuales son tóxicos para los humanos. Entre las enfermedades que pueden inducir en los humanos se encuentran: anemias, daños renales, cáncer, actividad mutagénica, intoxicaciones de las vías respiratorias e inhibición enzimática por unión a grupos sulfhídrico. (Albert, 1985).

Por lo anterior, se han incrementado los estudios relacionados a la eliminación de estos metales pesados de nichos ecológicos contaminados, y se han desarrollado diferentes tecnologías, entre las que se encuentran: precipitación química, electroflotación, intercambio iónico, ósmosis inversa y adsorción en carbón activado (Leyva y cols., 1994; Poon, 1986). Estos métodos presentan el inconveniente de que son muy caros y a veces no se pueden implementar en los lugares donde se requieren, por lo que se han buscado otras alternativas más económicas y de fácil acceso para estos propósitos, que incluyen compuestos naturales, algas, hongos y bacterias. También, se ha reportado la captación eficiente de cobre y cadmio por un lodo natural obtenido del lago Urnersee (Suiza) (Davis, 1984).

Entre los compuestos naturales estudiados se encuentran: composta natural, musgo de Irlanda, cáscara de cacahuate, cáscara de nuez, huesos de buey molidos (Azab y Peterson, 1989), cáscara de cebolla adicionada de formaldehído (Kumar and Dara, 1981), celulosa modificada con ácido etilendiamino tetraacético, pelo y cola de gato (Krishnan, 1987), cenizas de mosca (Yadava y cols., 1987) y paja (Larsen y Schierup, 1981).

Entre los bioadsorbentes de microorganismos utilizados se encuentran los siguientes:

MICROORGANISMO	TIPO	METAL ANALIZADO	REFERENCIA
<i>Chlorella vulgaris</i>	alga	uranio	Horikoshi y cols., 1981
<i>Cladophora glomerata</i>	alga	cobre	Ramos y cols., 1993
		plomo	
		zinc	
<i>Azotobacter sp</i>	bacteria capsulada	plomo	Tomabene y Edwards, 1972
<i>Streptococcus mutans</i>	bacterias Gram +	cadmio	
<i>Bacillus megaterium</i>		estroncio	
		calcio	
		magnesio	
		sodio	
		potasio	
<i>Rhizopus arrhizus</i>	hongos filamentosos	uranio	Tobin y cols., 1984
<i>Rhizopus sp</i>		torio	
<i>Penicillium sp</i>	hongo filamentosos	uranio	Volesky, 1987
		torio	
<i>Mucor vouxii</i>	hongo filamentosos	cobre	Chávez Marín y cols., 1993
<i>Trichoclerma sp</i>	hongo filamentosos	cobre	Cortés Penagos y cols., 1993
		plata	

Los porcentajes de captación de los metales por los diferentes bioadsorbentes varían dependiendo del microorganismo utilizado y del metal a analizar. Además, estos bioadsorbentes presentan una captación selectiva por lo que también se pueden utilizar para la recuperación de metales preciosos (oro y plata).

### 3.0 JUSTIFICACION

En la literatura, se han reportado una gran diversidad de hongos como bioadsorbentes naturales de diferentes metales pesados, pero del género *Aspergillus* hay pocos reportes. Se ha estudiado la captación de oro (Kuyucak y Volesky, 1988), cobre (Townesley y cols., 1986) y uranio (Khalid y cols. 1993) por *Aspergillus niger*, y la captación de uranio (Khalid y cols., 1993) por *Aspergillus amsta*, con porcentajes de bioadsorción eficientes únicamente para el oro (176 mg de oro/g de bioadsorbente) pero, no hay reportes del uso de bioadsorbentes celulares de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus fumigatus* en la remoción de metales pesados en solución, ni para la recuperación de metales preciosos (oro y plata), por lo que sería interesante estudiar la captación de diferentes metales pesados por estas especies y otros bioadsorbentes naturales, como un lodo del Tanque Tenorio, (cuyas aguas están altamente contaminadas con metales como: plomo, cobre, arsénico, cadmio y cromo (VI) principalmente), el cual se cree que tiene la capacidad de remover metales pesados, pues ya hay reportes previos del uso de lodos residuales en la eliminación de metales pesados (Davis, 1984).

Por otra parte, las actividades humanas relacionadas con el desarrollo económico respresentan frecuentemente una amenaza para el medio ambiente (Rosales y cols., 1995), pues la contaminación del planeta y por ende de nuestro país es cada vez mayor, un ejemplo de ello, es que las lagunas costeras, que son lugares de gran importancia principalmente por su intensa actividad biológica y elevada productividad, tienen un elevado índice de contaminación por los desechos que en ellas se vierten como resultado de las diferentes actividades humanas (Rodríguez y cols., 1995; Rosales y cols. 1995; Cardona y Carrillo, 1995). Nuestro Estado no es la excepción, pues los reportes indican una contaminación alarmante de los nichos acuáticos por las actividades humanas (González y Alfaro, 1995), además de un aumento en las aguas de desechos industriales (Montante y cols., 1995), aunado a los efectos provocados por una industria papelera, cuyos principales contaminantes son: cobre, zinc, plata, plomo, níquel, mercurio, selenio, cadmio y cromo (Gutiérrez y Domínguez, 1995), así como también la contaminación originada por la industria minera ya que el tratamiento al cual se somete el mineral puede dejar a los metales pesados presentes en especies más fácilmente disponibles a las que originalmente tenía, además el tamaño de partícula tan pequeño propicia el transporte aeólico de los residuos y de los fenómenos de intemperismo químico que favorecen la movilización de las especies de metales disponibles dentro de la composición global del material



conocido como jales (son polvos grisáceos o blancos de tamaño de partícula de 0.246 a 0.045 milímetros, compuestos principalmente por cuarzo (65-70 %) y de aquellos minerales que no son extraídos en los procesos de beneficio (Gutiérrez, 1995)) no obstante de ser considerados como desechos, los jales son potencialmente aprovechables ya que aún contienen pequeñas cantidades de oro además del gran contenido de cuarzo y feldespatos que son minerales útiles en la industria de la cerámica. Por lo que es urgente el tratar de implementar medidas que impidan el avance de la contaminación así como el desarrollo de nuevas tecnologías para tratar de eliminar estos metales. Por lo anterior, nosotros estamos interesados en estudiar la eliminación de metales pesados en solución por diferentes bioadsorbentes celulares para tratar de implementar alternativas que ayuden a la eliminación de dichos contaminantes.

OBJETIVOS

## 4.0 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar la capacidad de captación de plomo, zinc, cadmio, cobalto, cromo (VI), arsénico, cobre y flúor por 3 especies de *Aspergillus flavus* y 2 de *Aspergillus fumigatus*, así como un lodo de la laguna del Tanque Tenorio.

### 4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Comparar la capacidad de bioadsorción de algunos metales pesados en solución por los seis bioadsorbentes.
2. Determinar cual de los bioadsorbentes analizados es más eficiente en la captación de metales pesados para tratar de implementar filtros biológicos para eliminar dichos metales de aguas residuales.
3. Determinar cual es el bioadsorbente más eficiente para la captación de cobre, pues éste se utilizará para tratar de eliminar el metal de soluciones ricas en oro, plata y cobre obtenidas a partir de desechos mineros.
4. Realizar un análisis estadístico de los resultados obtenidos.

MATERIAL Y METODOS



## 5.0 MATERIAL Y METODOS

Los bioadsorbentes utilizados en este trabajo fueron 3 cepas de *Aspergillus flavus* y 2 de *Aspergillus fumigatus* resistentes a 500 ppm de plomo, zinc, cobre y plata, aisladas a partir de desechos mineros (jales) de unas minas de Zimapan (Hidalgo), (Díaz Pérez, 1994), así como un lodo obtenido de la laguna del Tanque Tenorio de esta ciudad, pues en la literatura ya hay reportes del uso de lodos residuales como bioadsorbentes de metales pesados (Davis, 1984).

Las cepas utilizadas se subcultivaron en el siguiente medio mínimo:

Componente	Concentración (g/lit)
Agar bacteriológico	20
Dextrosa	20
Fosfato ácido de potasio	6
Nitrato de amonio	1.8
Sulfato de magnesio-heptahidratado	1.0
Sulfato de fierro-heptahidratado	0.001
Sulfato de zinc-heptahidratado	0.0018
Sulfato de magnesio-heptahidratado	0.003

A este medio se le agregan 200 mg de sulfato de cobre heptahidratado/lit, (se añade esta sal, como fuente de cobre, pues los hongos son resistentes a este metal y es necesaria su adición para que sigan expresando las metalotioneínas, y por consiguiente seguir siendo resistentes a cobre) ya que los hongos pueden perder su resistencia a metales pesados si se mantienen en medios sin metal. (Gadd, 1992).

El lodo fue obtenido de la zona S de la laguna del Tanque Tenorio (Montante y cols., 1995), con ayuda de lancha de motor y un muestreador tipo Gravity, que consiste en un tubo cilíndrico de 50 cms de largo y 20 de diámetro, el cual en la parte inferior contiene un receptor de plomo con una trampa integrada para obtener las muestras, en la parte superior se obtienen las aguas residuales, en la intermedia los sedimentos y en la inferior los lodos. Posteriormente, se procesan las muestras en condiciones estériles (para esto, se infla una bolsa especial estéril con CO<sub>2</sub>) obteniendo alícuotas de 50 ml de aguas

residuales, y al final, el lodo se obtiene en bolsas de plástico estériles, y se transportan en hieleras al laboratorio donde se almacenan a 4 °C hasta su procesamiento.

## 5.1 LAVADO DE MATERIAL

Con el fin de evitar al máximo problemas por contaminación, todo el material tanto de vidrio como de plástico se debe someter al siguiente tratamiento: se lava de manera común con agua corriente y un detergente neutro (Extrán) previo remojo; se enjuaga con agua destilada y se le pasa a un recipiente que contiene ácido nítrico al 10 % (v/v en agua desionizada), se deja reposar 24 hrs. y se enjuaga con agua tridesionizada. Por último, se seca en un horno (Felisa) a 80 °C durante 1 hr., (el material de vidrio) y el de plástico a 37 °C durante 24 hrs. Se enfría e inmediatamente se tapa con papel aluminio y se guarda protegido del polvo.

El agua utilizada en este trabajo fue tridesionizada (en un desionizador Barnstead Water Purification Sybron/Cartridge, localizado físicamente en el laboratorio de Análisis Clínicos con Servicio al Público de la FCQ/UASLP) y ajustada a un pH de 4.1 con ácido clorhídrico 0.2 N.

## 5.2 OBTENCION DEL BIOADSORBENTE CELULAR

Se toma una asada en condiciones estériles de las esporas crecidas en el medio anterior y se coloca en un tubo de ensaye conteniendo 1 ml de solución salina estéril al 0.85%. Se hacen diluciones de 1:100 y 1:1000 en la misma solución salina y se cuentan las esporas en un hematocitómetro.

Posteriormente, se siembran  $1 \times 10^6$  esporas en 200 ml de medio de caldo de tioglicolato y se incuban a 28 °C en un baño con agitación constante durante 12 hrs (Yamato constant temp. shaking batch model 131-35). El bioadsorbente celular obtenido se separa del medio de cultivo mediante filtración en papel filtro, después se lava con agua tridesionizada (obtenida en un desionizador bron/Barnstead Water Purificated Cartridge), se deseca a 80° C en estufa (Felisa) durante 20 min. se muele manualmente en un mortero, y se guarda hasta su uso en un frasco color ámbar.

### 5.3 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD DE BIOADSORCION DE METALES PESADOS

Se prepara una solución estándar de los siguientes metales: cadmio, cobalto, cromo VI, zinc, cobre, plomo y arsénico, en agua tridesionizada; se ajusta el pH a  $4.0 \pm 0.2$  en un potenciómetro de bolsillo PS-15, Corning donde se obtiene la mayor captación de metal (Acosta y Martínez, 1993). Después, se toman 200 ml de cada una de las soluciones estándar de los metales a analizar y se colocan en un matraz Erlenmeyer de 200 ml y se le añaden 80 mg (esta es la concentración de bioadsorbente a la cual se obtuvieron mejores resultados) (Martínez y cols., 1994), de cada uno de los bioadsorbentes fúngicos y 1 g de lodo natural a analizar, y se incuban a  $28^{\circ}$  C durante 24 hrs, en un baño con agitación constante (Yamato constant temp. shaking bath model 121-35), y se toman alícuotas de 10 ml a las 0 y 24 hrs. El bioadsorbente es removido por centrifugación (3000 rpm/5 min. Centrífuga Clínica, Solbat) y al sobrenadante se le determina la concentración y/o porcentaje del ión metálico no adsorbido por el bioadsorbente celular (ver metodología en las siguientes páginas), y por diferencia se determina la cantidad adsorbida por el bioadsorbente. El valor obtenido en el sobrenadante debe ser la diferencia de la concentración total del metal.

### 5.4 VALIDACION DEL METODO ANALITICO

La validación de un método analítico puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa, en este caso, en términos de parámetros analíticos.

#### A) LINEALIDAD

La linealidad de un sistema o método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado.

La linealidad se determina realizando una curva de calibración utilizando cinco diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón.

La linealidad del método se determinó relacionando la concentración frente a la absorbancia y calculando el valor de la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación.

## B) REPETIBILIDAD

Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparato, etc.).

Para evaluar la Repetibilidad se determinaron los coeficientes de variación de las lecturas de las absorbancias para cada una de las concentraciones.

## 5.5 DETERMINACION DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE CAPTACION DE METALES PESADOS POR EL LODO

El lodo se utilizó en cuatro formas:

- 1.- Lodo natural.
- 2.- Lodo seco, lavado y esterilizado.
- 3.- Lodo natural esterilizado.
- 4.- Lodo seco esterilizado.

A continuación se describe la metodología para su obtención:

Se preparan cuatro soluciones estándar de cromo VI (71.98 mg/lit), en agua tridesionizada se ajusta a un pH de  $4.0 \pm 0.2$  (Potenciómetro de bolsillo PS-15, Corning) donde se obtiene la mayor captación de metal (Acosta y Martínez, 1993). Después se toman 200 ml de la solución patrón de cromo VI y se colocan en un matraz Erlenmeyer de 200 ml y se le añaden al primer matraz, 80 mg de lodo seco el cual se obtiene colocando el lodo natural en una estufa Felisa a  $80^{\circ}\text{C}$  durante 20 min; al segundo matraz se le añade 1 g de lodo natural al tercer matraz se le añade 80 mg de lodo seco sometido previamente a tres lavados; a un cuarto matraz se le coloca 1 g de lodo natural. Los tres primeros matraces se someten a esterilización a  $120^{\circ}\text{C}$ , 20 min. Posteriormente se colocan los matraces en un baño con agitación constante (Yamato constant temp. haking bath model 131-25), a  $28^{\circ}\text{C}$  durante 24 hrs, tomando alícuotas a las 0 y 24 hrs, removiendo el bioadsorbente por centrifugación (3000 rpm/5 min Centrífuga Clínica Solbat) y al sobrenadante se le determina el porcentaje de cromo VI no adsorbido por los bioadsorbentes, y por diferencia se determina la

cantidad de cromo VI adsorbido. El valor obtenido en el sobrenadante debe ser inverso al adsorbido por el bioadsorbente. Como el lodo natural fue el que presentó mayor capacidad de captación de cromo VI, este tipo de lodo, se utilizó para la determinación del tiempo, pH y temperatura óptimos de incubación, según se describe a continuación.

## 5.6 DETERMINACION DEL TIEMPO DE INCUBACION OPTIMO

Se prepara una solución estándar de cromo VI (71.98 mg/lit), en agua tridesionizada; se ajusta a un pH de  $4.0 \pm 0.2$  (Potenciómetro de bolsillo PS-15, Corning) donde se obtiene la mayor captación de metal (Acosta y Martínez, 1993). Después, se toman 200 ml de la solución patrón de cromo VI, y se colocan en un matraz Erlenmeyer de 200 ml y se le añade 1 g de lodo natural (este es el tipo de bioadsorbente con el cual se obtuvieron mejores resultados), y se incuba a  $28^{\circ}\text{C}$  en un baño con agitación constante (Yamato constant temp. shaking bath model 131-25), tomando alícuotas de 10 ml a 0, 2, 4, 24, y 48 hrs, y el bioadsorbente se remueve por centrifugación (3000 rpm/5 min Centrífuga Clínica Solbat) y al sobrenadante se le determina el porcentaje de cromo VI no adsorbido por el bioadsorbente, y por diferencia se determina la cantidad adsorbida por el mismo. El valor obtenido en el sobrenadante debe ser inverso al adsorbido por el lodo. El tiempo óptimo de incubación se determinó comparando los porcentajes de remoción del metal a los diferentes tiempos analizados, siendo el óptimo a las 24 hrs de incubación, pues con una incubación de 48 hrs se obtiene el mismo porcentaje de remoción (30.5 %).

## 5.7 DETERMINACION DEL pH OPTIMO

Se preparan siete soluciones estándar de cromo VI (71.98 mg/lit), en agua tridesionizada; se ajustan a los siguientes pH: 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 y  $8.0 \pm 0.2$  (Potenciómetro de bolsillo PS-15, Corning). Después, a 7 matraces Erlenmeyer de 200 ml se les añade (a cada uno) 200 ml de la solución patrón de Cromo VI 1 g de bioadsorbente (lodo natural) y se incuban a  $28^{\circ}\text{C}$  durante 24 hrs en un baño con agitación constante (Yamato constant temp. shaking bath model 131-25), y se tomaron alícuotas de 10 ml a 0 y 24 hrs, y el bioadsorbente se remueve por centrifugación (3000 rpm/5 min Centrífuga Clínica Solbat) y al sobrenadante se le determina el porcentaje de cromo VI no

adsorbido por el lodo, y por diferencia se determina la cantidad adsorbida, el valor obtenido en el sobrenadante debe ser inverso al adsorbido por el bioadsorbente. El pH óptimo de incubación se determinó comparando los porcentajes de remoción de metal a los diferentes pH analizados, siendo el óptimo de 3.0, pues fue en el que se obtuvo el mayor porcentaje de captación (33 %).

## 5.8 DETERMINACION DE LA TEMPERATURA OPTIMA

Se prepara una solución estándar de cromo VI (71.98 mg/lit), en agua tridesionizada; se ajusta a un pH de  $3.0 \pm 0.2$  (Potenciómetro de bolsillo PS-15, Corning), donde se obtiene la mayor captación de metal. Después, a 3 matraces Erlenmeyer de 200 ml se les añade (a cada uno) 200 ml de la solución patrón de cromo VI 1 g de bioadsorbente (lodo natural). Posteriormente los matraces se incuban a 28, 37 y 42 °C durante 24 hrs en un baño con agitación constante (Yamato constant temp. shaking bath model 131-25), tomando alícuotas de 10 ml a 0 y 24 hrs, el bioadsorbente se remueve por centrifugación (3000 rpm/5 min Centrífuga Clínica Solbat) y al sobrenadante se le determina el porcentaje de cromo VI no adsorbido por el lodo natural y por diferencia se determina la cantidad adsorbida por el bioadsorbente. El valor obtenido en el sobrenadante debe ser el inverso al adsorbido por el lodo natural. La temperatura óptima de incubación se determino comparando los porcentajes de remoción a las diferentes temperaturas analizadas, siendo la óptima de 37 °C pues es la temperatura a la cual se obtiene el mayor porcentaje de captación (98%).

## 5.9 DETERMINACION DE CADMIO POR EL METODO DE LA DITIZONA Greenberg y cols., 1992

### FUNDAMENTO

Los iones cadmio reaccionan con la ditizona para formar un compuesto de color rosa a rojo que puede ser extraído con cloroformo. Los extractos obtenidos con el cloroformo son medidos fotométricamente y la concentración de cadmio es obtenida a partir de una curva patrón del mismo metal. (figura No.1)



CUADRO NO. 2

REPETIBILIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO DE LA DITIZONA PARA LA DETERMINACION DE CADMIO

CONCENTRACION mg/lit

ABSORBANCIA	50	100	150	200	300
1	0.080	0.155	0.212	0.300	0.339
2	0.081	0.159	0.210	0.336	0.336
3	0.079	0.157	0.215	0.330	0.330
4	0.080	0.154	0.209	0.341	0.341
5	0.078	0.158	0.213	0.337	0.337
X	0.0796	0.1566	0.2118	0.3014	0.3366
D.E.	0.00114	0.00207	0.00239	0.00365	0.00416
C.V.	1.4%	1.3%	1.13%	1.2%	1.2%

n	m	b	r
1	0.00106	0.04751	0.9680
2	0.00104	0.05073	0.96628
3	0.001030	0.05232	0.95251
4	0.00107	0.04559	0.96753
5	0.00105	0.05854	0.96678
X	0.00105	0.04894	0.96422
D.E.	0.000016		
C.V.	1.55%		

n: número de ensayo  
 m: pendiente de la recta  
 b: ordenada al origen  
 r: coeficiente de correlación  
 C.V.: coeficiente de variación

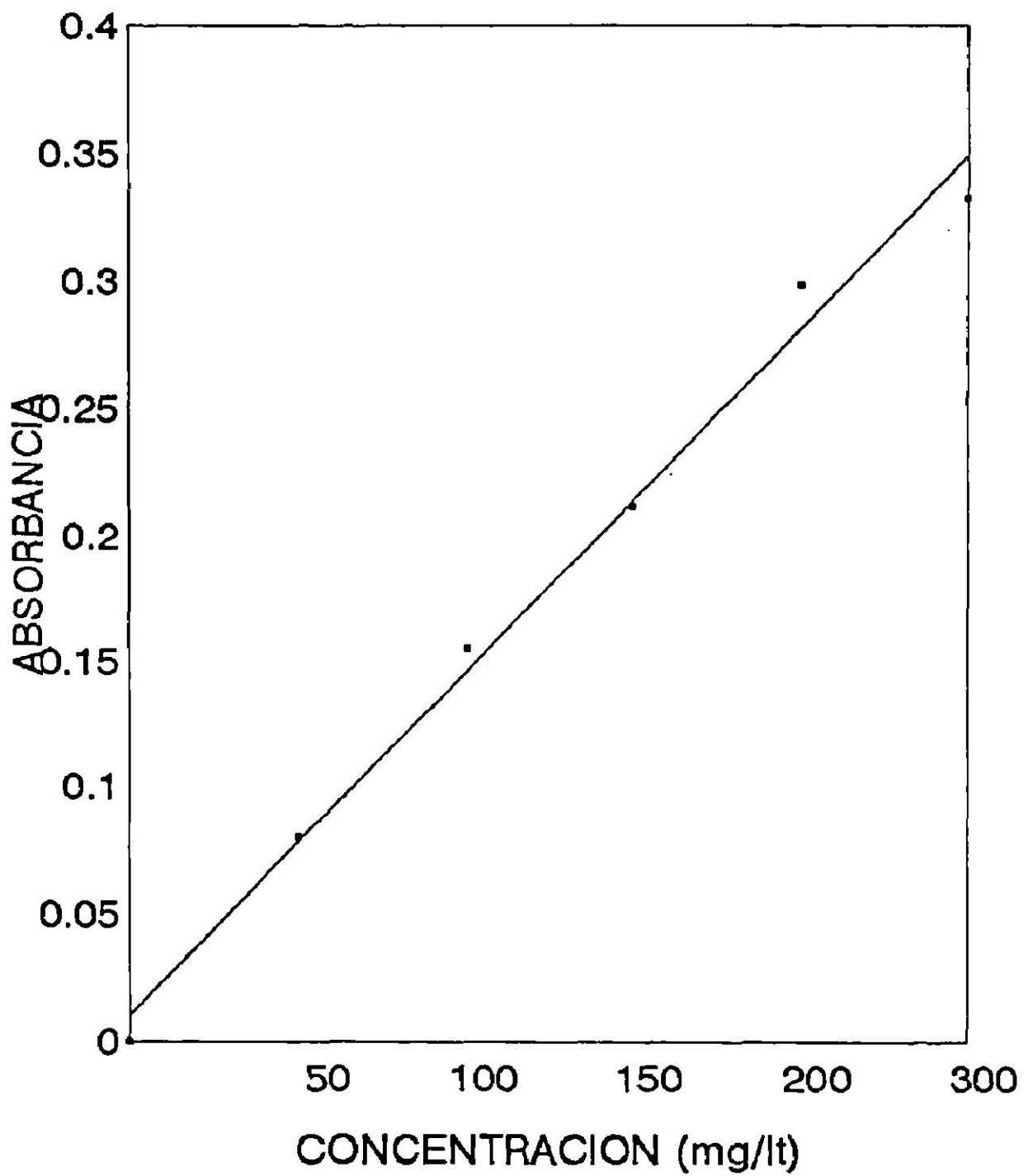
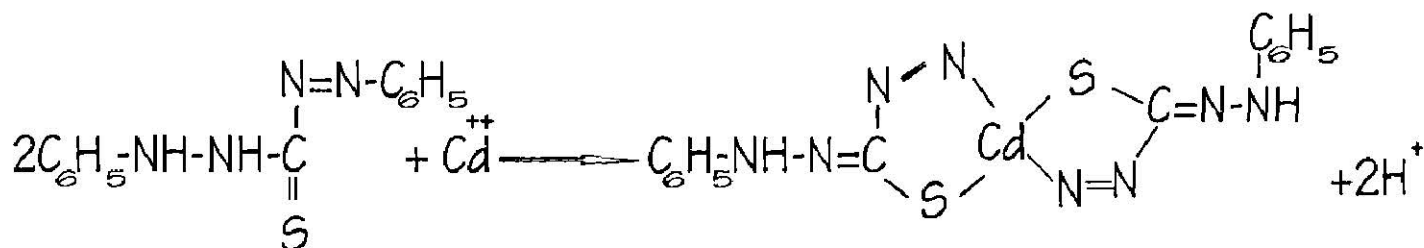


Figura No.1-CURVA DE CALIBRACION DE CADMIO POR EL METODO DE LA DITIZONA.

## REACCION QUIMICA



## DITIZONA

## DITIZONATO DE CADMIO

## INTERFERENCIAS

Las concentraciones de los iones metálicos normalmente encontradas en el agua no interfieren. Tampoco la luz normal del cuarto afecta el color del ditizonato de cadmio.

## APARATOS

Espectrofotómetro de luz UV Shimadzu modelo 160-A.

## REACTIVOS

a.- Solución stock de cadmio.- Disolver 0.2272 g de cloruro de cadmio en 1 lt de agua tridesionizada, 1 ml de esta solución es igual a 100 µg de cadmio. Esta solución se guarda a 4 °C en un frasco de polietileno.

b.- Solución de tartrato de sodio y potasio.- Disolver 250 g de tartrato de sodio y potasio en agua tridesionizada y aforar a 1 lt.

c.- Soluciones de hidróxido de sodio-cianuro de potasio.

Solución I.- Disolver 400 g de hidróxido de sodio y 10 g de cianuro de potasio en agua tridesionizada y aforar a 1 lt. Guardar a 4 C en un frasco de polietileno. Estable por 1 mes.

Solución II.- Disolver 400 g de hidróxido de sodio y 0.5 g de cianuro de potasio en agua tridesionizada y aforar a 1 lt. Guardar a 4 °C en un frasco de polietileno. Estable por 1-2 meses.

d.- Solución de hidrocloreuro de hidroxilamina.- Disolver 20 g de hidrocloreuro de hidroxilamina en agua tridesionizada y aforar a 100 ml. guardar a 4 °C en recipiente de polietileno.

e.- Solución stock de Ditizona.- Se prepara según el siguiente procedimiento:

1e.- Disolver 100 mg de ditizona en 50 ml de cloroformo y filtrar a través de un papel filtro (Whatman No. 42).

2e.- Recibir el filtrado en un embudo de separación, lavando el papel filtro con 3 porciones de 5 ml de cloroformo.

3e.- Adicionar 100 ml de hidróxido de amonio (1:99 v/v en agua tridesionizada) al embudo de separación y agitar por 1 min, dejar que se separen las fases de cloroformo y la acuosa.

4e.- Transferir la fase de cloroformo a un segundo embudo de separación, reteniendo la capa acuosa de color naranja en el primer embudo, repitiendo la extracción en la fase de cloroformo del segundo embudo usando 100 ml de hidróxido de amonio.

5e.- Transferir las fase acuosas a un tercer embudo de separación, desechando las fases de cloroformo.

6e.- Adicionar porciones de 2 ml de ácido clorhídrico 1:1 (v/v con agua tridesionizada) al tercer embudo que contiene las fases acuosas, mezclando después de cada adición hasta que los precipitados de ditizona y la solución no presenten un color naranja.

7e.- Extraer los precipitados de ditizona con 3 porciones de 25 ml de cloroformo, diluir los extractos combinados ajustando con cloroformo a 1 lt; 1 ml de la solución stock corresponde a 100 µg de ditizona.

f.- Solución de trabajo de ditizona.- Diluir la solución stock de ditizona con cloroformo para producir una solución de trabajo de 10 µg/ml. Esta solución debe de prepararse diariamente.

g.- Cloroformo. Grado reactivo. Marca Productos Químicos Monterrey, S.A.

h.- Solución de ácido tartárico.- Disolver 20 g de ácido tartárico en agua tridesionizada y aforar a 1 lt. Guardar a 4 °C. Este reactivo debe de usarse frío.

i.- Acido clorhídrico concentrado. Productos Químicos Monterrey, S.A.  
j.- Hidróxido de sodio 6 N.

## PROCEDIMIENTO

1.- Colocar la solución de cadmio en un embudo de separación. Añadir 1 ml de solución de tartrato de sodio y potasio, 5 ml de solución 1 de cianuro de potasio-hidróxido de sodio, 1 ml de solución de hidrocioruro de hidroxilamina y 15 ml de solución stock de ditizona.

2.- Agitar por un minuto pasando la capa clorofórmica a un segundo embudo de separación que contiene 25 ml de solución de ácido tartárico frío.

3.- Adicionar 10 ml de cloroformo al primer embudo, agitar y pasar la capa clorofórmica al segundo embudo, sin permitir que la capa acuosa pase

al segundo embudo, debido a que el ditizonato formado se descompone al contacto con el álcali.

4.- Agitar el segundo embudo por dos minutos y descartar la capa de cloroformo, adicionar 5 ml de cloroformo, agitar un minuto y descartar la capa de cloroformo (debido a que el complejo que forma el metal con la ditizona, se ha transferido a la solución de ácido tartárico).

5.- Enseguida adicionar en el siguiente orden: 0.25 ml de solución de hidrocioruro de hidroxilamina, 15 ml de solución de trabajo de ditizona (la cual se preparó en cloroformo) y 5 ml de solución II de cianuro de potasio-hidróxido de sodio.

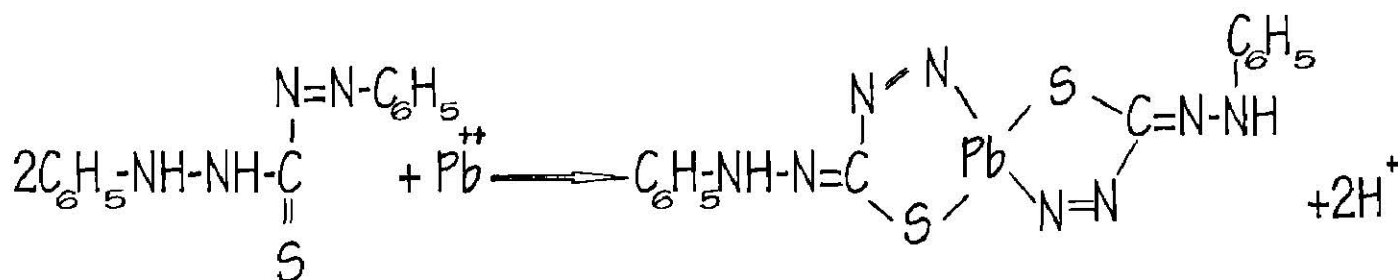
6.- Agitar inmediatamente por un minuto y transferir la capa de cloroformo a una celdilla; leer la absorbancia de la muestra a 518 nm. La cantidad mínima detectable es de 0.5 µg/15 ml de solución de ditizona.

5.10 DETERMINACION DE PLOMO POR EL METODO DE LA DITIZONA  
Greenberg y cols., 1992

FUNDAMENTO

La muestra acidificada conteniendo pequeñas cantidades de plomo (ppm) se pone a reaccionar con la solución reductora de citrato de cianuro amoniacal y se extrae con Ditizona en cloroformo para formar un ditizonato de plomo de color rojo cereza. El color resultante es medido fotométricamente a una longitud de onda de 510 nm. (Figura No. 2).

REACCION QUIMICA



DITIZONA

DITIZONATO DE PLOMO

CUADRO NO. 3

REPETIBILIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO DE LA DITIZONA  
PARA LA DETERMINACION DE PLOMO

CONCENTRACION mg/lit

ABSORBANCIA	50	100	150	200	300
1	0.062	0.121	0.188	0.235	0.312
2	0.063	0.120	0.183	0.233	0.310
3	0.063	0.122	0.186	0.237	0.314
4	0.064	0.124	0.190	0.240	0.317
5	0.062	0.119	0.185	0.231	0.311
X	0.0628	0.1212	0.1864	0.2352	0.3128
D.E.	0.00084	0.00192	0.00270	0.00349	0.00277
C.V.	1.3%	1.5%	1.4%	1.48%	0.88%

n	m	b	r
1	0.00100	0.02308	0.9918
2	0.00099	0.02284	0.99364
3	0.00101	0.02297	0.99298
4	0.00100	0.02362	0.99238
5	0.00100	0.02173	0.99358
X	0.001	0.02285	0.99288
D.E.	0.000007		
C.V.	0.707%		

n: número de ensayo  
m: pendiente de la recta  
b: ordenada al origen  
r: coeficiente de correlación  
C.V.: coeficiente de variación



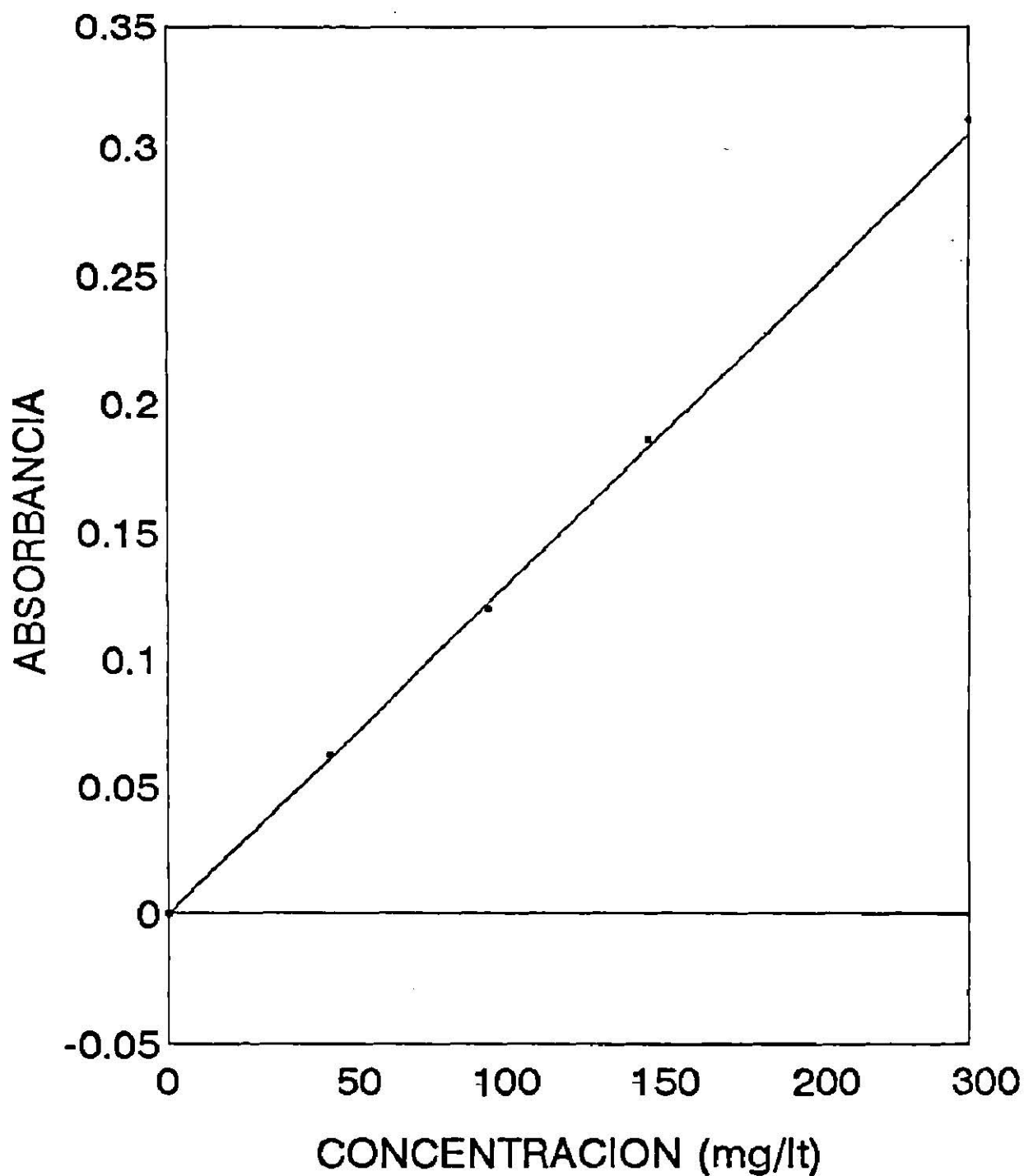


Figura No.2.- CURVA DE CALIBRACION DE PLOMO POR EL METODO DE LA DITIZONA.

## INTERFERENCIAS

En una solución de cianuro amoniacal débil (pH 8.5 a 9.5), la Ditizona forma complejos coloridos con bismuto, estaño y talio monovalente.

## APARATOS

Espectrofotómetro luz UV Shimadzu modelo 160-A.

## REACTIVOS

a.- Solución stock de plomo. Disolver 0.1599 g de nitrato de plomo en 200 ml de agua y adicionar 10 ml de ácido nítrico concentrado y diluir a 1 000 ml con agua. 1 ml= 100 µg de plomo.

b.- Solución de trabajo de plomo.- Diluir 20 ml de solución stock de plomo a 1 000 ml con agua. 1 ml= 2 µg de plomo.

c.- Acido nítrico 1 a 5.- Diluir 200 ml de ácido nítrico concentrado a 1000 ml con agua.

d.- Hidróxido de amonio 1 a 10.- Diluir 10 ml de hidróxido de amonio concentrado a 100 ml con agua.

e.- Solución reductora de cianuro-citrato.- Disolver 400 g de citrato de amonio dibásico, 20 g de sulfito de sodio anhidro, 10 g de hidrocloreuro de hidroxilamina y 40 g de cianuro de potasio en agua y diluir a 1 000 ml; mezclar esta solución con 2 lt de hidróxido de amonio concentrado.

f.- Solución stock de Ditizona.- Ver metodología de cadmio.

g.- Solución de trabajo de Ditizona.- Diluir 100 ml de solución stock de Ditizona a 250 ml con cloroformo; 1ml= 40 µg de Ditizona.

h.- Solución de sulfito de sodio.- Disolver 5 g de sulfito de sodio anhidro en 100 ml de agua.

## PROCEDIMIENTO

1.- A 5 ml de la muestra problema, se le añade 1 ml de ácido nítrico concentrado, y se incuba a 4 °C hasta su procesamiento.

2.- Adicionar 20 ml de ácido nítrico 1 a 5 y filtrar en papel filtro Whatman No. 541 recibiendo el filtrado en un embudo de separación de 250 ml, enjuagar el matraz con 50 ml de agua y adicionar al filtrado.

3.- Añadir 50 ml de la solución citrato-cianuro amoniacal, mezclar y dejar enfriar a temperatura ambiente.

4.- Adicionar 10 ml de solución de trabajo de Ditizona, agitar vigorosamente y dejar que se separen las capas, descartar 1 ó 2 ml de la capa de cloroformo.

5.- Medir la absorbancia del extracto a 510 nm utilizando como blanco solución de trabajo de Ditizona. La cantidad mínima detectable por esta técnica es de 1 µg/10 ml de solución de Ditizona.

## 5.11 DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE CROMO HEXAVALENTE Cr VI Greenberg y cols., 1992

### FUNDAMENTO

La concentración del Cr VI en solución acuosa se determina por un método colorimétrico indirecto. El método se basa en la reacción del Cr VI y difenilcarbazida que produce un complejo de color rojo violeta de composición desconocida. La reacción es sensible y específica.

### REACTIVOS Y SOLUCIONES

1.- Acido sulfúrico (Productos Químicos Monterrey). Preparar una solución de ácido sulfúrico 1:1

Mezclar volúmenes iguales de ácido sulfúrico concentrado y agua tridesionizada.

2.- Acido fosfórico al 85%. Esta solución reactivo es de la marca Merck.

3.- Solución de difenilcarbazida (Fisher Scientific Co.) Se disuelven 0.2 g de 1,5-difenilcarbazida en 100 ml de alcohol etílico, esta solución se agrega a una solución previamente preparada mezclando 40 ml de ácido sulfúrico concentrado con 36 ml de agua tridesionizada. El reactivo debe refrigerarse para mantener la estabilidad.

4.- Solución stock de Cromo. Se seca el dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) durante 2 hrs. en estufa (Felisa) a 110 °C. Se pesan 203.3 mg de dicromato de potasio, se agregan a un matraz volumétrico de 1 lt y se adiciona agua tridesionizada aforando hasta la marca. Esta Solución tiene una concentración de 71.98 mg de Cr VI /lt.

CUADRO NO. 4

REPETIBILIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO DE LA DIFENILCARBAZIDA  
PARA LA DETERMINACION DE CROMO VI

CONCENTRACION mg/lit

ABSORBANCIA	15	30	45	60
1	0.059	0.125	0.187	0.245
2	0.060	0.128	0.189	0.246
3	0.059	0.124	0.184	0.244
4	0.059	0.123	0.182	0.241
5	0.061	0.125	0.185	0.243
X	0.0596	0.1248	0.1854	0.2438
D.E.	0.00089	0.0017	0.00270	0.00192
C.V.	1.49%	1.4%	1.45%	0.8%

n	m	b	r
1	0.00413	-0.001	0.99958
2	0.00413	0.001	0.99920
3	0.0041	-0.001	0.99980
4	0.00403	0.0	0.99979
5	0.00404	0.002	0.99975
X	0.00409	0.0002	0.99962
D.E.	0.00005		
C.V.	1.18%		

n: número de ensayo  
m: pendiente de la recta  
b: ordenada al origen  
r: coeficiente de correlación  
C.V.: coeficiente de variación

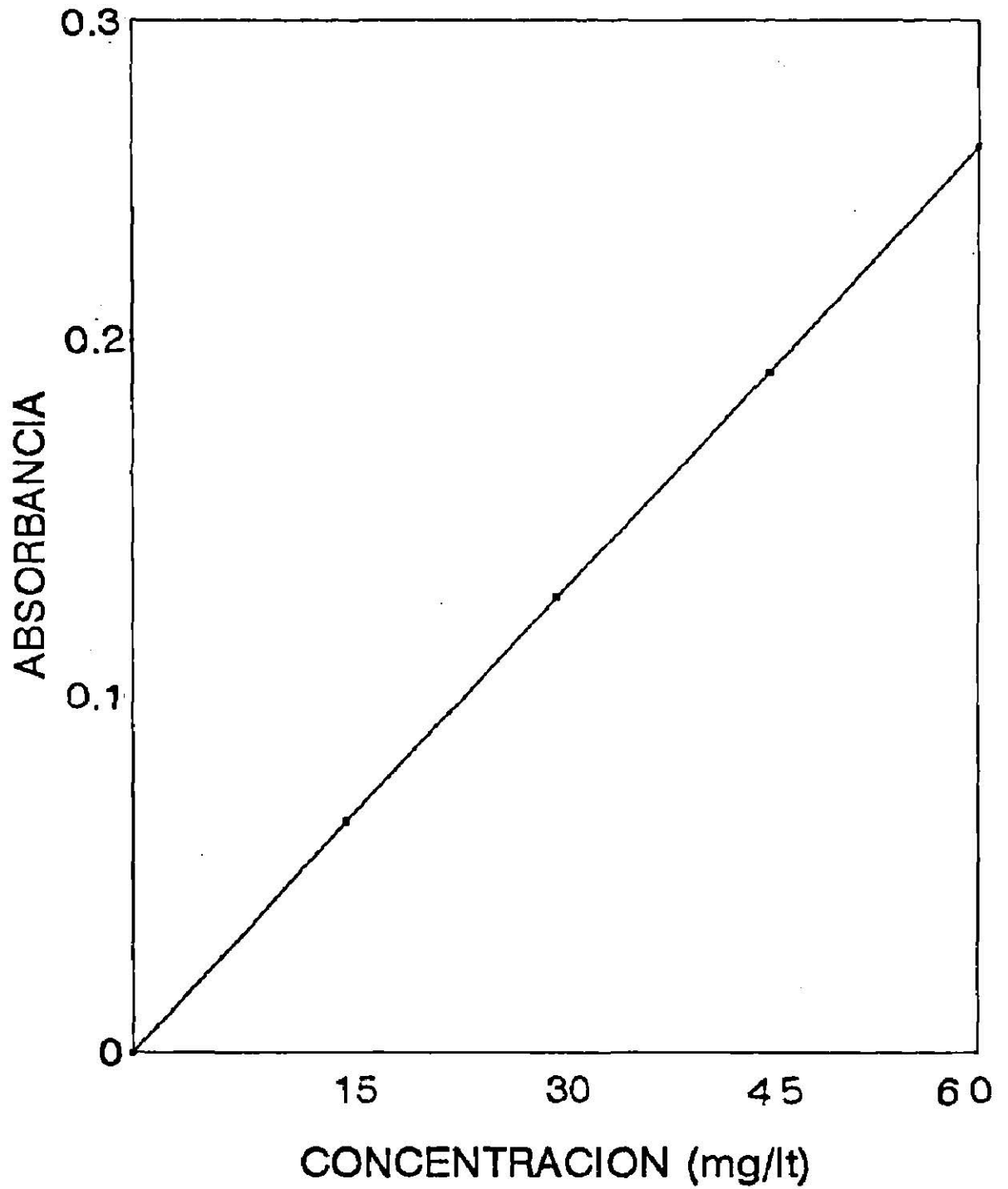


Figura No.3.-CURVA DE CALIBRACION DE CROMO (VI) POR EL METODO DE LA DIFENILCARBAZIDA.

5.- Solución patrón de Cromo. Se pipetea 5 ml de la solución stock de cromo a un matraz volumétrico de 50 ml y se afora con agua tridesionizada. La concentración de esta solución patrón es de 7.19 mg de Cr VI /lt.

## PROCEDIMIENTO

1.- Se colocan 5 ml de muestra en un matraz volumétrico de 50 ml. La muestra debe tener una concentración en el rango de 0.154 a 0.616 mg/lt. En caso de que la concentración sea mayor se deberán hacer las diluciones adecuadas.

2.- Se adicionan 0.5 ml de una solución de ácido sulfúrico y se agita leve-mente durante 1 min.

3.- Se adicionan 0.1 ml de ácido fosfórico al 85%, y se afora a la marca con agua tridesionizada del pH deseado y se agita levemente durante 30 seg.

4.- Se agrega 1 ml de solución de difenilcarbazida y se agita levemente durante 1 min.

5.- Se deja reposar por espacio de 10 min. para que se desarrolle comple-tamente el color.

6.- La absorbancia de la muestra se mide en un Espectrofotómetro de doble haz (Espectrofotómetro de luz Uv Shimadzu modelo 160-A) a una longitud de onda de 540 nm y usando como referencia un blanco preparado con agua tridesionizada de acuerdo al procedimiento anterior. La concentración de la muestra se determina por medio de una curva de calibración. (figura No. 3).

La curva de calibración de la concentración de Cr VI contra Absorbancia, que se usa para calcular la concentración de la muestra a partir de la Absorbancia, se hace cada vez que se prepara una nueva solución de difenilcarbazida (mínimo 2 veces y por duplicado), y se obtiene por el siguiente procedimiento:

1.- Se pipetea de 1 a 4 ml de la solución patrón de Cr VI de concentración de 7.19 mg/lt en matraces volumétricos de 50 ml.

2.- Se desarrolla el color y se mide la Absorbancia de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente (punto no.6).

3.- Los datos de concentración contra Absorbancia se grafican para observar si son lineales.

4.- Los datos de concentración Contra Absorbancia se correlacionan por medio de la ecuación.



CONCENTRACION= K \* ABSORBANCIA B

donde: K= Pendiente

B= Ordenada al origen

## 5.12 DETERMINACION DE COBRE Y ARSENICO EN SOLUCION POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA (Asha, 1987)

### FUNDAMENTO

Esta técnica se fundamenta en las características propias de los átomos. Cada átomo tiene un número específico de electrones asociado con su núcleo, en una estructura orbital, la cual es única para cada elemento. La configuración electrónica más estable de un átomo conocida como "estado basal" es la configuración orbital normal de menor energía de un átomo. Si se aplica energía de magnitud adecuada a un átomo, éste absorbe dicha energía y un electrón exterior será promovido a una configuración orbital superior inestable o "estado excitado". El átomo de manera espontánea e inmediata regresa a su estado basal inicial, emitiendo la energía radiante equivalente a la cantidad de energía inicialmente absorbida.

La cuantificación de interés en Absorción Atómica es medir la cantidad de luz absorbida a determinada longitud de onda, cuando su trayectoria pasa a través de una nube de átomos. (Greenberg y cols., 1992).

El uso de fuentes de luz especiales y la selección cuidadosa de la longitud de onda específica, permite la determinación cuantitativa individual de los elementos en presencia de otros. La nube atómica requerida para las determinaciones en Absorción Atómica, es producida por el suministro suficiente de energía térmica a la muestra para disociar los compuestos químicos en átomos libres. Para este propósito, un volumen de la solución de la muestra se conduce a la flama alineada en la trayectoria de la luz.

Las fuentes de luz con líneas estrechas de longitud de onda, no sólo proporcionan alta sensibilidad, sino que también hacen de la Absorción Atómica una técnica analítica muy específica con pocas interferencias espectrales.

## INTERFERENCIAS

A pesar de la alta especificidad de la técnica de Absorción Atómica pueden existir interferencias que disminuyan su capacidad analítica. Sin embargo, puesto que estas interferencias están bien definidas, es fácil eliminarlas o compensarlas. Entre ellas, las más comunes son la interferencia de matriz y la absorción de fondo. La primera ocurre cuando las características físicas de la muestra (viscosidad, tensión superficial y características de temperatura) y del standard difieren considerablemente. Esto puede suceder, cuando la solución de la muestra tiene una alta concentración de sales disueltas o ácido, cuando se han usado diferentes solventes en las soluciones de la muestra y del standard o cuando las soluciones de la muestra y del standard están a temperaturas radicalmente diferentes. (Asha, 1987).

Una de las formas que compensan las interferencias de matriz es el empleo del método de adiciones de standard, ésta es una técnica útil que a menudo hace posible trabajar en la presencia de una interferencia y aún hacer determinaciones precisas de la concentración del analito. En el método de adiciones de standard se toman tres alícuotas de la muestra. Se diluye la primera a un volumen conocido con el solvente adecuado. A la segunda y tercer alícuotas se le añaden cantidades adecuadas de estándares conocidos y se lleva al mismo volumen, para que las soluciones finales contengan diferentes adiciones del metal a ser analizado. Se determina la absorbancia de cada solución. Se grafican las lecturas obtenidas de absorbancia contra la concentración añadida y se extrapola la línea resultante hasta cero de absorbancia. El intercepto sobre el eje de las X da la concentración del metal en la solución de la muestra diluída. Con esto, tanto la solución de la muestra como la de los estándares se ajusta a las mismas condiciones.

La interferencia por absorción de fondo se debe a dos causas: dispersión de la luz por partículas en la flama y absorción molecular de la luz de la lámpara por diferentes moléculas presentes en la flama. Ciertas muestras cuando son atomizadas, absorben o dispersan la luz de la fuente debido a la existencia de especies moleculares gaseosas, partículas salinas, etc., etc. La absorbancia molecular puede controlarse a menudo, usando una flama de temperaturas más altas, que rompa a las especies moleculares absorbentes. Afortunadamente, la absorción de fondo puede distinguirse de la absorción debida al elemento de interés. El elemento puede absorber sólo la línea estrecha emitida por la fuente primaria; la absorción de fondo es menos específica y se extiende sobre una amplia banda de longitud de onda. (Asha, 1987).

La manera más común de compensar esta absorción de fondo, es usar un corrector de fondo, el cual emplea una fuente continua (una ámpara de arco de deuterio en el ultravioleta o una lámpara de ioduro-tungsteno para las longitudes de onda visible). Una fuente continua emite luz de un amplio espectro de longitudes de onda en lugar de líneas específicas. Con la corrección de fondo, se obtiene simultáneamente la compensación a la misma longitud de onda usada para medir la Absorción Atómica. Con este sistema, la luz de la fuente primaria y de la fuente continua pasan alternativamente a través de la flama. El elemento a determinar absorbe la luz sólo de la fuente igualmente. Por tanto, cuando electrónicamente se miden ambos haces de luz, el efecto de la absorbancia de fondo es eliminada.

El método espectrofotométrico de Absorción Atómica es tan preciso y exacto que para obtener resultados confiables, las técnicas empleadas requieren de controles estrictos en la realización de cada una de las etapas del proceso (mediciones adecuadas, un gran cuidado al realizar la técnica, calibración correcta del aparato, etc). (Asha, 1987; Greenberg y cols., 1992).

## APARATOS

En este trabajo, se utilizó un Atomic Absorption Spectrometer Varian, Modelo Spectr AA-20, localizado físicamente en el Centro de Investigación y Estudios de Posgrado de esta Facultad.

### 5.13 SISTEMA DE ATOMIZACION DE FLAMA PARA LA DETERMINACION DE COBRE Y ARSENICO EN SOLUCION.

(Greenberg y cols., 1992)

## FUNDAMENTO

Este método, es simple y fácil de usar, y proporciona un medio ambiente estable para el Análisis por Absorción Atómica. El primer paso es la conversión de la muestra en solución en un vapor atómico. El proceso involucra nebulización o atomización, la selección y distribución de las gotas de vapor de la medida correcta, el mezclado del vapor seleccionado con la flama del gas, y su introducción en el mechero (quemador del aparato).

El sistema de flama utilizado más comúnmente en Análisis de Absorción Atómica es el de Aire-Acetileno. La temperatura de la flama es 2 aproximadamente de 2 300°C, y requiere un flujo de acetileno de 4 lt/min. además, es recomendable y muy seguro, sobre todo en longitudes de onda de cerca de 2 000 Amstrongs, y se utiliza para analizar la mayoría de elementos que no forman óxidos refractarios. Por este sistema se realizó la determinación de cobre de las muestras en estudio.

## PROCEDIMIENTO

1.- El aparato se calibra con estándares de concentración conocida del mismo metal (la concentración depende de la naturaleza de la muestra).

2.- Se coloca la muestra en el sistema de capilaridad del aparato (mínimo 25 ml), el cual absorberá automáticamente la cantidad necesaria para

dar la lectura correspondiente a la concentración del metal contenido en la solución.

#### 5.14 METODO DEL ELECTRODO PARA LA DETERMINACION DE FLUOR (Greenberg y cols., 1992)

##### FUNDAMENTO

El método se basa en el uso de un electrodo de Ión Específico, diseñado para usarse junto con un electrodo de referencia de Calomel y un potenciómetro que tenga una escala expandida en mV. El elemento clave del Electrodo Selectivo para fluoruros es un cristal de fluoruro de lantano a través del que se establece un potencial en soluciones de fluoruros a diferentes concentraciones. El cristal contacta con la solución o muestra por un lado y una solución interna de referencia por otro lado.

La actividad del fluoruro depende de la fuerza iónica total de la solución y del pH, así como de las especies acomplejantes de fluoruros. La adición de un amortiguador apropiados (TISAB= Total Ionic Strength Activity Buffer), provee una fuerza iónica suficiente para ajustar el pH y romper los complejos de manera que en efecto el electrodo mida concentración.

##### INTERFERENCIAS

Los cationes polivalentes como el Al III, Fe III y Si IV acomplejan el ión fluoruro. El grado al cual sucede el acomplejamiento depende del pH de la solución y los niveles relativos de fluoruros y especies acomplejantes.

Sin embargo, la adición de CDTA (ácido ciclohexileno diamino tetra-cético) citrato de sodio, acomplejaron preferentemente concentraciones de aluminio superiores a 5 mg/lit. y liberaron fluoruro como ión libre; de la misma manera los iones hidrógeno en solución ácida formaron complejos con el ión fluoruro, pero el acomplejamiento es insignificante si el pH es superior a 5. En

soluciones alcalinas, el ión hidroxilo interferirá con la respuesta del electrodo, cuando la concentración del ión fluoruro sea mayor a 1/10 del nivel del ión fluoruro. A pH menor ó igual a 8, la concentración de hidróxido es menor ó igual a  $10^{-6}$  M y no causaron interferencia.

El electrodo de fluoruro no responde al ión fluoroborato ( $\text{BF}_4$ ); si se sospecha que una muestra contiene fluoroboratos, destilar para activar la hidrólisis del fluoroborato a fluoruro libre.

## APARATOS

a) Medidor de pH con escala expandida, digital y/ó medidor del ión selectivo.

b) Electrodo de referencia tipo manga (ORION .90-0100. Beckman 43462, CORNING 476012 ó equivalente.). No usar electrodos de referencia de punta fibra, debido a que muestran un comportamiento errático en soluciones muy diluídas.

c) Electrodo de fluoruros.

d) Agitador magnético, con barras de agitación cubiertas de teflón.

e) Cronómetro.

## REACTIVOS

a) Solución stock de fluoruros. Disolver 221 mg de fluoruro de sodio anhidro en agua tridesionizada y diluir a 1000 ml; un ml. equivale a 100  $\mu\text{g}$  de flúor.

b) Solución standard de fluoruros. Diluir 100 ml. de la solución stock de fluoruros a 1000 ml. con agua tridesionizada; un ml. equivale a 10  $\mu\text{g}$  de flúor.

c) Solución buffer de ajuste ó regulación de fuerza iónica total (TISAB). Poner aproximadamente 500 ml. de agua tridesionizada en un vaso de 1lt y añadir 57 ml. de ácido acético glacial, 58 g. de cloruro de sodio y 4 g. de 1-2 ácido ciclohexileno diamino tetracético (en lugar de CDTA pueden usarse 12 g de citrato de sodio dihidratado, pero puede haber alguna pérdida de sensibilidad). Agitar para disolver. Poner el vaso en un baño de agua fría y añadir



lentamente hidróxido de sodio 6 N (125 ml. aproximadamente) con agitación, hasta que el pH está entre 5 y 5.5. Transferir a un matraz volumétrico de 1 lt y añadir agua tridesionizada hasta la marca.

## PROCEDIMIENTO

### a) Calibración del aparato.

Normalmente no se requieren mayores ajustes del medidor de pH, si se usan electrodos en el rango de 0.2 a 2 mg. de flúor por lt. Para aquellos instrumentos con 0 en la escala central, ajustar el control de calibración, de manera que el standard de 1 mg. de flúor por lt lea en el cero (100 mV); cuando el medidor esté en la posición de escala expandida, esto no puede hacerse en algunos medidores que no tienen un control de calibración de mV.

### b) Preparación de los estándares de fluoruro.

Preparar una serie de estándares añadiendo respectivamente 0.5, 5, 10 ml. de solución standard de fluoruro en matraces volumétricos de 100 ml. A cada matraz añadir 50 ml. de la solución TISAB y diluir a 100 ml con agua tridesionizada; mezclar bien. Estos estándares son equivalentes a 0.5, 1 y 2 mg de flúor por litro (debido a que la concentración de la muestra se reduce a la mitad por la adición de la solución TISAB, multiplicar por 2 la concentración verdadera de los estándares, para que se pueda leer la concentración original de la muestra directamente).

### c) Tratamiento de la muestra.

En un matraz volumétrico de 100 ml añadir 50 ml. de la muestra (solución problema de flúor); diluir a la marca con TISAB y mezclar bien; ajustar tanto los estándares como la muestra a la misma temperatura.

### d) Medición del electrodo.

Transferir cada standard y muestra a una serie de vasos de 150 ml. Introducir los electrodos y medir el potencial desarrollado mientras se agita en

un agitador magnético. Evitar la agitación antes de introducir los electrodos a la solución, debido a que se atrapa aire alrededor del cristal y pueden producirse lecturas erróneas ó fluctuaciones de la aguja. Dejar que los electrodos permanezcan en la solución 3 min., antes de tomar una lectura final positiva en mV. Enjuagar los electrodos en agua destilada y secar con papel entre cada lectura. En algunos casos, alargar el periodo de medición a 5 min. para alcanzar el equilibrio. Para disminuir los cambios de temperatura es útil una capa de material aislante como corcho, entre el agitador y el contenedor de la muestra.

Cuando se usen medidores de pH de escala expandida medidores de ión selectivo, recalibrar frecuentemente el electrodo, checando la lectura del potencial del estandar de 1 mg. de fluor por lt y ajustar el control de calibración, si es necesario, hasta que el medidor lea como antes. Confirmar la calibración después de la lectura de cada standard.

Graficar los potenciales medidos de los estándares de flúor contra la concentración, en papel semilogarítmico de 2 ciclos. Graficar mg de flúor/lt. en el eje logarítmico con la menor concentración al final de la página.

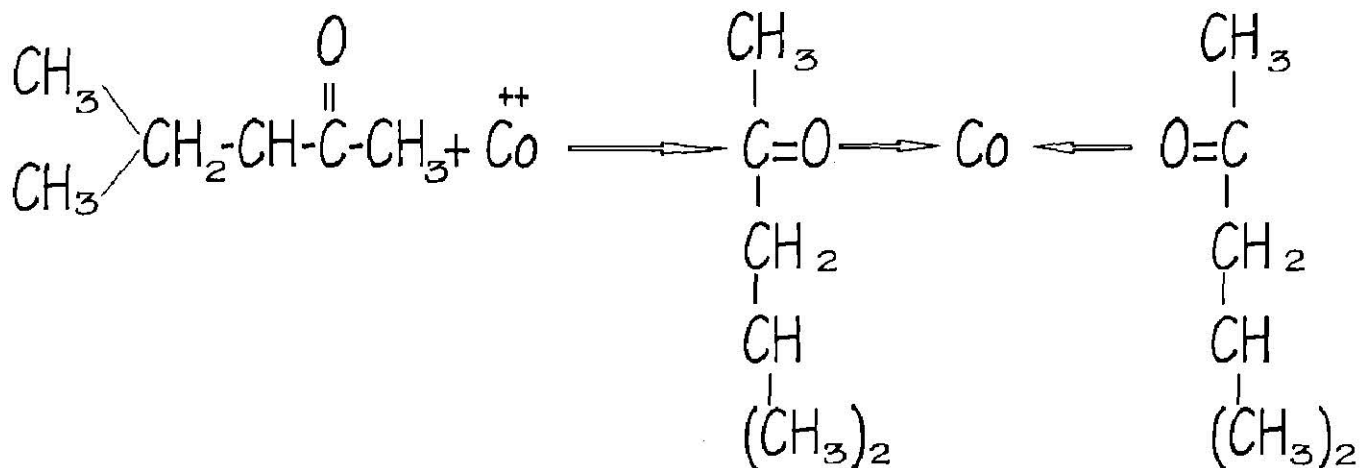
Usando el potencial medido de cada muestra, leer la concentración correspondiente de fluoruro de la curva estándar

## 5.15 DETERMINACION DE COBALTO POR EL METODO COLORIMETRICO DE LA METILISOBUTILCETONA (Charlot, 1976)

### FUNDAMENTO

Los iones cobalto, en presencia de tiocianato de amonio reaccionan con la metilisobutilcetona para formar un complejo azul estable.

### REACCION QUIMICA



METILISOBUTILCETONA

COMPLEJO AZUL

## INTERFERENCIAS

Algunas veces puede haber interferencias por iones férricos, pero estas se eliminan por la adición de fluoruro de sodio a la mezcla de reacción.

## APARATOS

Espectrofotómetro de luz Uv-visible Shimadzu 160-A.

## REACTIVOS

a.- Solución stock de cobalto.- Disolver 500 mg. de nitrato de cobalto en 100 ml de agua tridesionizada. Un ml de esta solución equivale a 5 mg de nitrato de cobalto.

b.- Solución de tiocianato de amonio al 20% (p/v).- Disolver 20 g de tiocianato de amonio en 100 ml de agua tridesionizada. Guardar a temperatura ambiente en recipiente de cristal.

c.- Fluoruro de sodio en cristales. Productos Químicos Monterrey, S.A.

d.- Metilisobutilcetona. Marca Productos Químicos Monterrey, S.A.

## PROCEDIMIENTO

1.- En un embudo de separación, a la solución problema se le agrega 0.5 ml de solución de tiocianato de amonio al 20% (p/v).

CUADRO NO. 5

REPETIBILIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO  
DE LA METILISOBUTILCETONA PARA LA DETERMINACION DE COBALTO

CONCENTRACION mg/lit

ABSORBANCIA	50	100	150	200	300
1	0.096	0.195	0.301	0.386	0.505
2	0.095	0.194	0.299	0.383	0.502
3	0.097	0.196	0.303	0.388	0.504
4	0.093	0.193	0.300	0.386	0.508
5	0.096	0.196	0.305	0.387	0.510
X	0.0954	0.1948	0.3016	0.386	0.5058
D.E.	0.00151	0.00130	0.00241	0.00187	0.00319
C.V.	1.5%	0.66%	0.799%	0.48%	0.6%

n	m	b	r
1	0.00164	0.03338	0.99081
2	0.00163	0.03289	0.99094
3	0.00164	0.03545	0.98985
4	0.00166	0.02897	0.99127
5	0.00166	0.03281	0.99101
X	0.00164	0.0327	0.99078
D.E.	0.000013		
C.V.	0.8%		

n: número de ensayo  
m: pendiente de la recta  
b: ordenada al origen  
r: coeficiente de correlación  
C.V.: coeficiente de variación

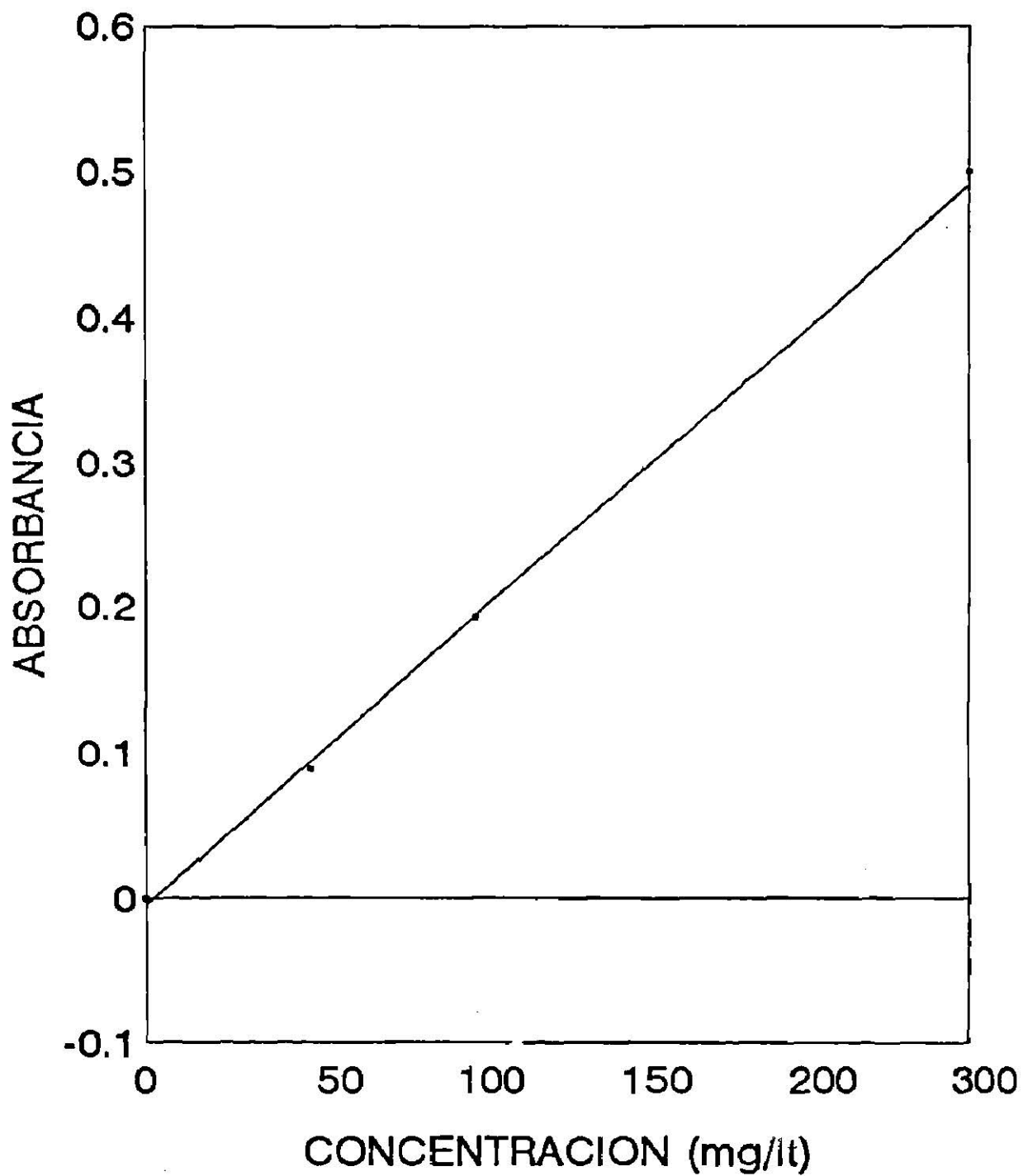


Figura No.4.- CURVA DE CALIBRACION DE COBALTO POR EL METODO DE LA DIMETILISOBUTILCETONA

2.- Después se le agregan 5 mg. de fluoruro de sodio para eliminar el fierro y algunos iones interferentes de la muestra problema.

3.- Agregar 4 ml de metilisobutilcetona y agitar suavemente durante 1 min.

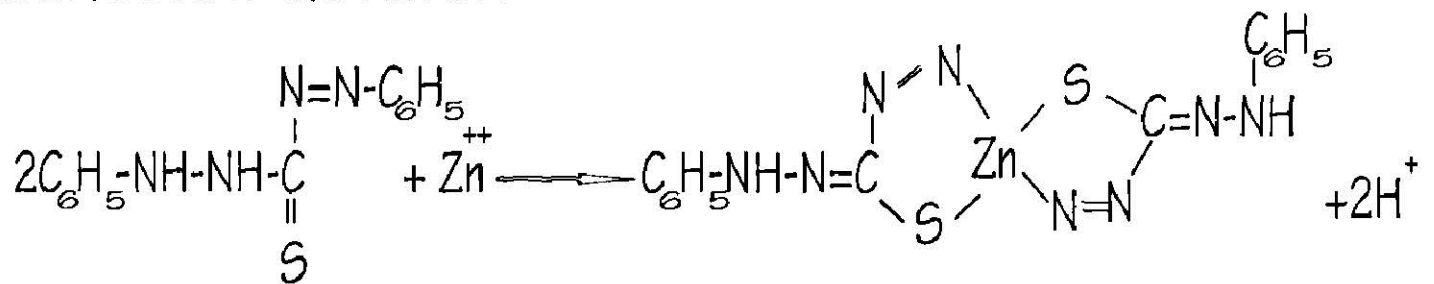
4.- La aparición en el disolvente de un color azul, indica la presencia de cobalto, siendo la intensidad directamente proporcional a la concentración del metal (sensibilidad hasta 25 ppm), y se lee a una absorbancia de 622 nm, obteniéndose la concentración del metal en base a una curva patrón. (figura No. 4).

5.16 DETERMINACION DE ZINC POR EL METODO DE LA DITIZONA  
Greenberg y cols., 1992

FUNDAMENTO

El zinc es separado de otros metales por extracción con Ditizona y se determina midiendo el color rojo del complejo zinc-Ditizona en tetracloruro de carbono, a una absorbancia de 535 nm. (figura No. 5).

REACCION QUIMICA



DITIZONA

DITIZONATO DE ZINC

INTERFERENCIAS

Puede haber interferencias con cadmio, cobre, plomo y níquel.

APARATOS

Espectrofotómetro luz UV Shimadzu modelo 160-A.

## REACTIVOS

a.- Solución stock de zinc.- disolver 100 mg de zinc metálico en un pequeño exceso de ácido clorhídrico 1 a 1 (aproximadamente 1 ml). Diluir a 1 000 ml con agua. 1ml= 100 mg.

b.- Solución estandar de zinc.- Diluir 10 ml de solución stock de zinc a 1 000 ml con agua, 1 ml = 1 mg de zinc.

c.- Acido clorhídrico 0.02N.- Diluir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado a 600 ml con agua.

d.- Acetato de sodio 2 M.- Disolver 68 g de acetato de sodio trihidratado y diluir a 250 ml con agua.

e.- Acido acético 1:8.- Diluir 1 ml. de ácido acético en 7 ml de agua tridesionizada.

f.- Solución buffer de acetatos.- Mezclar volúmenes iguales (125 ml de c/u) de acetato de sodio 2 M y ácido acético 1:8. Lavar con porciones de 10 ml de solución de Ditizona, hasta que el último extracto permanezca verde (3 veces), y posteriormente, la solución se lava con 2 porciones de 10 ml c/u de tetracloruro de carbono para eliminar el exceso de Ditizona.

g.- Solución de tiosulfato de sodio.- Disolver 25 g de tiosulfato de sodio pentahidratado en 100 ml de agua, purificar como en el paso anterior.

h.- Solución stock de Ditizona.- Ver metodología de cadmio.

i.- Solución I de Ditizona.- Diluir 40 ml de solución stock de Ditizona a 100 ml con tetracloruro de carbono. Preparar diariamente.

j.- Solución II de Ditizona.- Diluir 10 ml de solución I de Ditizona a 100 ml con tetracloruro de carbono. Preparar diariamente.

k.- Tetracloruro de carbono. Grado reactivo. Productos químicos Monterrey S.A.

## PROCEDIMIENTO

1.- Colocar 5 ml de muestra en un embudo de separación de 250 ml, adicionar 5 ml de buffer de acetatos y 1 ml de tiosulfato de sodio y mezclar, el pH debe de estar entre 4.0 -5.5.

2.- Adicionar 10 ml de solución II de Ditizona y agitar vigorosamente por 4 min. y dejar reposar 5 min, midiendo la formación de color rojo de ditizonato de zinc a 535 nm. La cantidad mínima detectable es de 1 µg de zinc en 15 ml de solución.



CUADRO NO. 6

REPETIBILIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO DE LA DITIZONA  
PARA DETERMINACION DE ZINC

CONCENTRACION mg/lit

ABSORBANCIA	50	100	150	200	300
1	0.100	0.205	0.316	0.394	0.535
2	0.102	0.207	0.318	0.396	0.538
3	0.101	0.203	0.313	0.392	0.533
4	0.103	0.205	0.315	0.394	0.534
5	0.103	0.202	0.311	0.391	0.532
X	0.1018	0.2044	0.3146	0.3934	0.5344
D.E.	0.00130	0.00195	0.00270	0.00195	0.00230
C.V.	1.20%	0.95%	0.86%	0.49%	0.43%

n	m	b	r
1	0.00174	0.03238	0.99357
2	0.00174	0.03397	0.99375
3	0.00173	0.03216	0.99419
4	0.00172	0.03456	0.99402
5	0.00172	0.03294	0.99478
X	0.0173	0.03320	0.99406
D.E.	0.00001		
C.V.	0.58%		

n: número de ensayo  
m: pendiente de la recta  
b: ordenada al origen  
r: coeficiente de correlación  
C.V.: coeficiente de variación

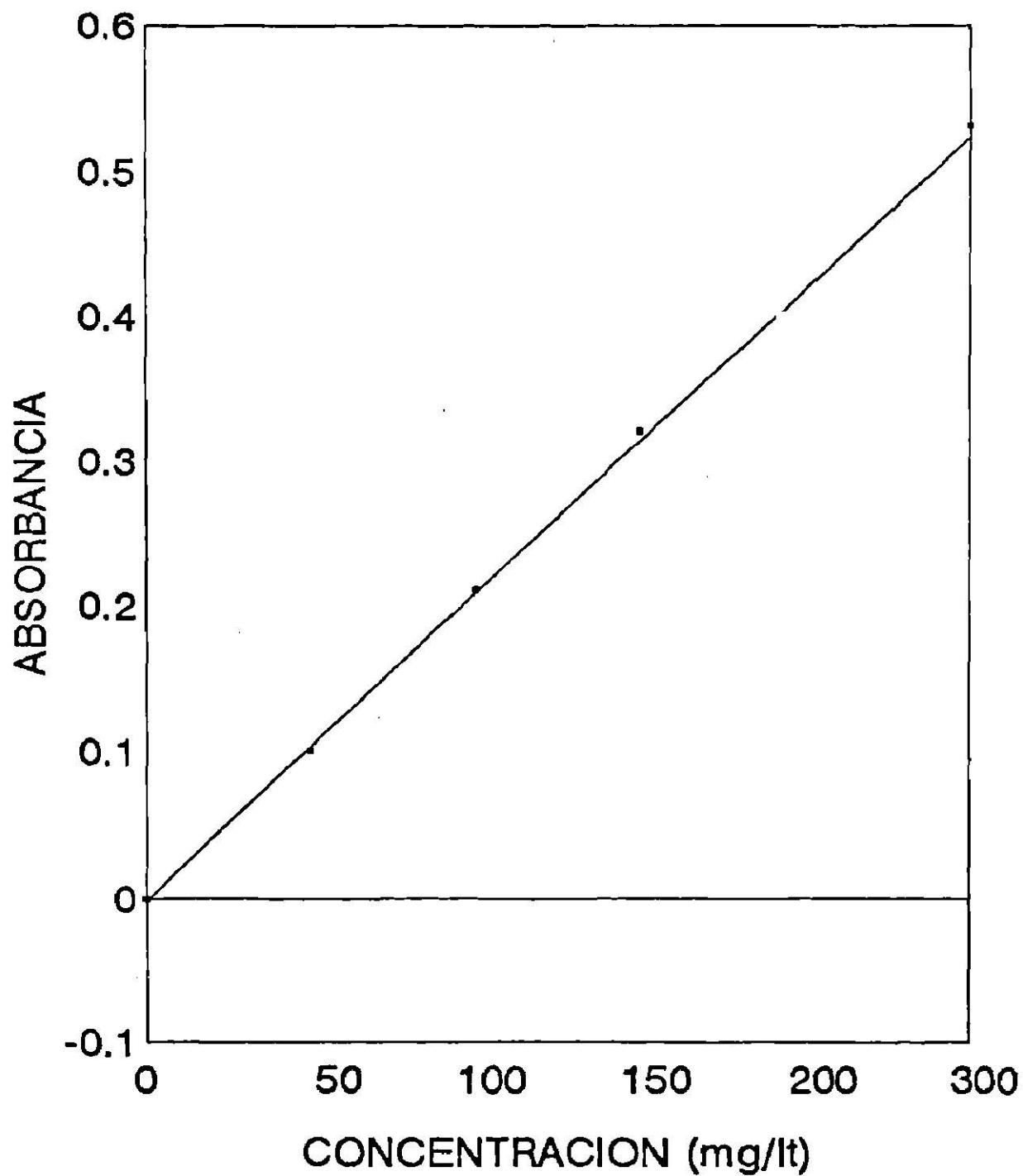


Figura No.5.- CURVA DE CALIBRACION DE ZINC POR EL METODO DE LA DITIZONA

## 5.17 ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de Tukey.

RESULTADOS

## 6.0 RESULTADOS

En este trabajo, se analizó la capacidad de remoción de arsénico, cobre, zinc, cadmio, cromo (VI), cobalto, plomo y flúor por tres especies de *A. flavus*, dos de *A. fumigatus*, y un lodo residual obtenido de la laguna del Tanque Tenerio, obteniendo diferentes porcentajes de captación de los diferentes metales pesados y el flúor para cada bioadsorbente estudiado. Los métodos analíticos usados en las determinaciones de cadmio, plomo, cobre, cobalto, cromo VI y zinc fueron validados estadísticamente, los resultados aparecen en los cuadros 2, 3, 4, 5 y 6 donde se muestra que los métodos analíticos empleados son lineales y repetibles.

Inicialmente, se determinaron las condiciones en las cuales el lodo, era más eficiente en la captación de metales, determinando las condiciones óptimas utilizando la remoción de cromo (VI), por ser esta la técnica más rápida. Primeramente, se probó el lodo en cuatro condiciones diferentes, encontrando que el más eficiente en la remoción del cromo (VI) era el lodo natural pues tiene un porcentaje de bioadsorción de 30.5 %, seguido del lodo seco esterilizado (12%), mientras que los menos eficientes fueron el lodo natural esterilizado y el lodo lavado, seco y esterilizado (Figura No. 6). Posteriormente, se utilizó este tipo de lodo (lodo natural) para determinar las condiciones óptimas de remoción del metal, encontrando que el tiempo óptimo de incubación es de 24 horas, pues a las 48 horas, se obtiene el mismo porcentaje de captación (30.5%, Figura No. 7). El pH más eficiente fue el de  $3.0 \pm 0.2$  (Figura No. 8), y la temperatura óptima fue de  $37^{\circ}\text{C}$  (98% de remoción, Figura No. 9). En base a los resultados obtenidos, los experimentos de remoción de los diferentes metales pesados y flúor se realizaron a las 24 hrs de incubación en agitación constante, a un pH de  $3.0 \pm 0.2$  y una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$ .

Por otra parte, se tomaron dos bioadsorbentes al azar para determinar el pH óptimo de captación, encontrando que para el *A. flavus* V, utilizando plomo y para el *A. fumigatus* II utilizando cadmio, el pH óptimo fue el mismo ( $4.0 \pm 0.2$  con porcentajes de captación de 57 % y 36 % respectivamente) (Figuras No. 10 y 11).

Los porcentajes de remoción encontrados fueron los siguientes: el cadmio fue removido eficientemente por el *A. fumigatus* I (36 %), *A. flavus* IV (28 %) y *A. flavus* V (27 %), mientras que los otros tres bioadsorbentes fueron menos eficientes (Figura No. 12). Por otra parte, el plomo fue captado eficientemente por *A. flavus* V (57 %), *A. fumigatus* II (50 %) y *A. fumigatus* I (35 %) (Figura No. 13), el zinc lo fue por *A. flavus* III (38 %), el lodo natural (29.4 %) y por el *A. flavus* IV (28

%), pero no fué removido por el *A. flavus V* (Figura No 14). Por otro lado, el arsénico sólo fué captado por el *A. fumigatus II* y el *A. flavus V*, aunque en muy baja proporción (8.5 % y 3 % respectivamente) (Figura No 15).

Con respecto a cobre, éste fué removido en un rango de 17.17 % a 51 % siendo el más eficiente el *A. fumigatus I* y el menos eficiente *A. flavus V* (Figura No 16). El cromo VI fué eliminado más eficientemente por el lodo natural (98%), seguido por el *A. flavus V* (53 %) y el *A. fumigatus I* (47 %) (Figura No 17), mientras que el *A. fumigatus I* fué el que removió mayor porcentaje de cobalto (31 %), seguido del lodo natural (27%) (Figura No 18) y el bioadsorbente que más captó flúor fué el *A. fumigatus I* (38 %), y no fué captado por el *A. flavus III* (Figura No 19). Finalmente en el cuadro No 7 se resumen los resultados obtenidos.

Al realizar la prueba estadística de Tukey de los porcentajes de remoción de los metales por los bioadsorbentes, se demostró que sí existe una diferencia estadística significativa en los datos analizados.

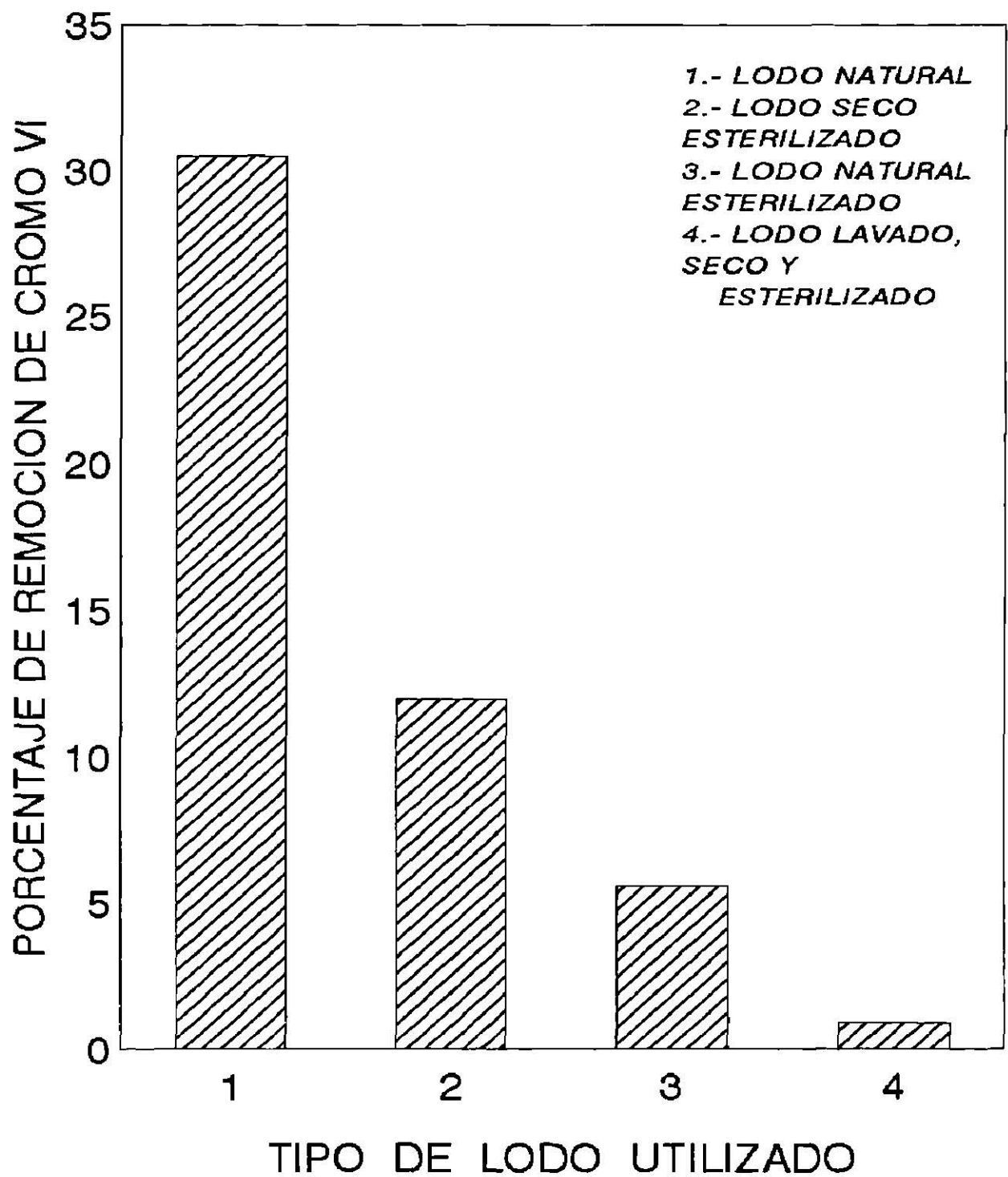


Figura No.6- PORCENTAJE DE BIOADSORCION DE CROMO (VI) POR LOS 4 TIPOS DE LODOS ANALIZADOS (20 ppm/100ml. 80 mg de lodo 28°C 24 hrs. de incubación. pH=4.0. Agitación constante).



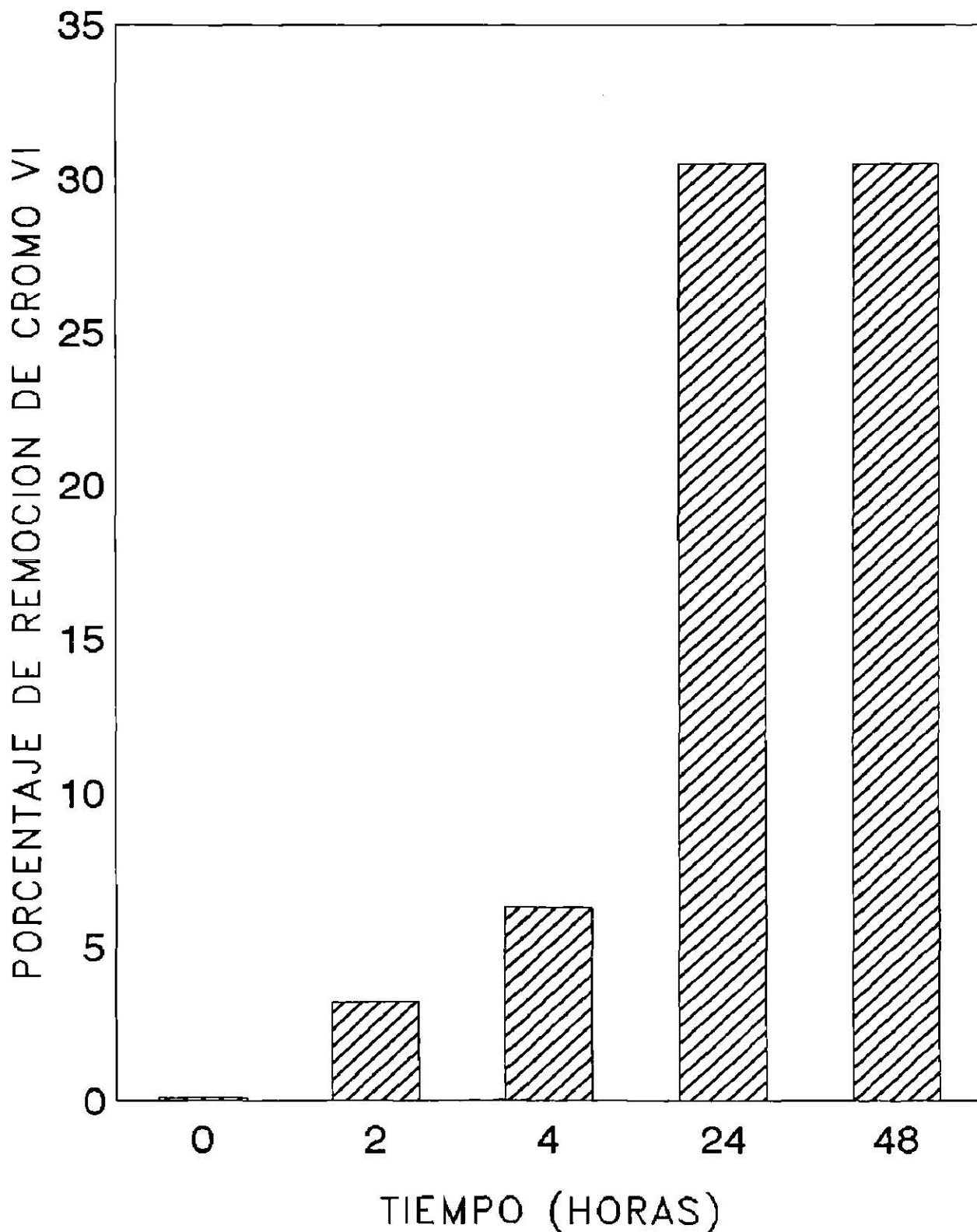


Figura No.7.-EFECTO DEL TIEMPO DE INCUBACION SOBRE LA BIOADSORCION DE CROMO VI POR EL LODO NATURAL (20ppm/100ml. 1 g de lodo natural 28°C. 24 hrs. de incubación. Agitación constante)

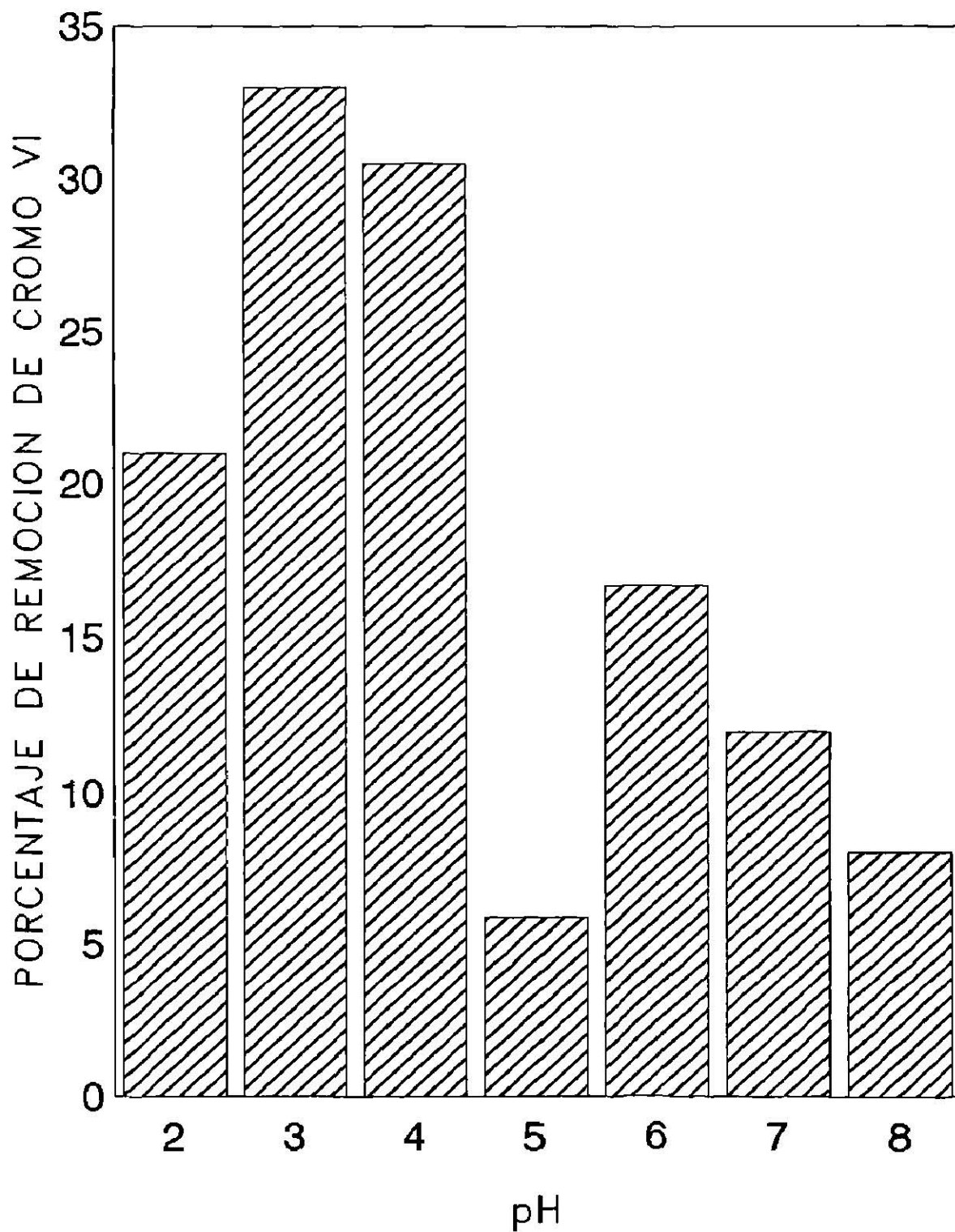


Figura No.8.— EFECTO DEL pH SOBRE LA BIOADSORCION DEL CROMO VI POR EL LODO NATURAL (20ppm/100ml. 1 g de lodo natural. 28°C. 24 hrs. de incubación. Agitación constante)

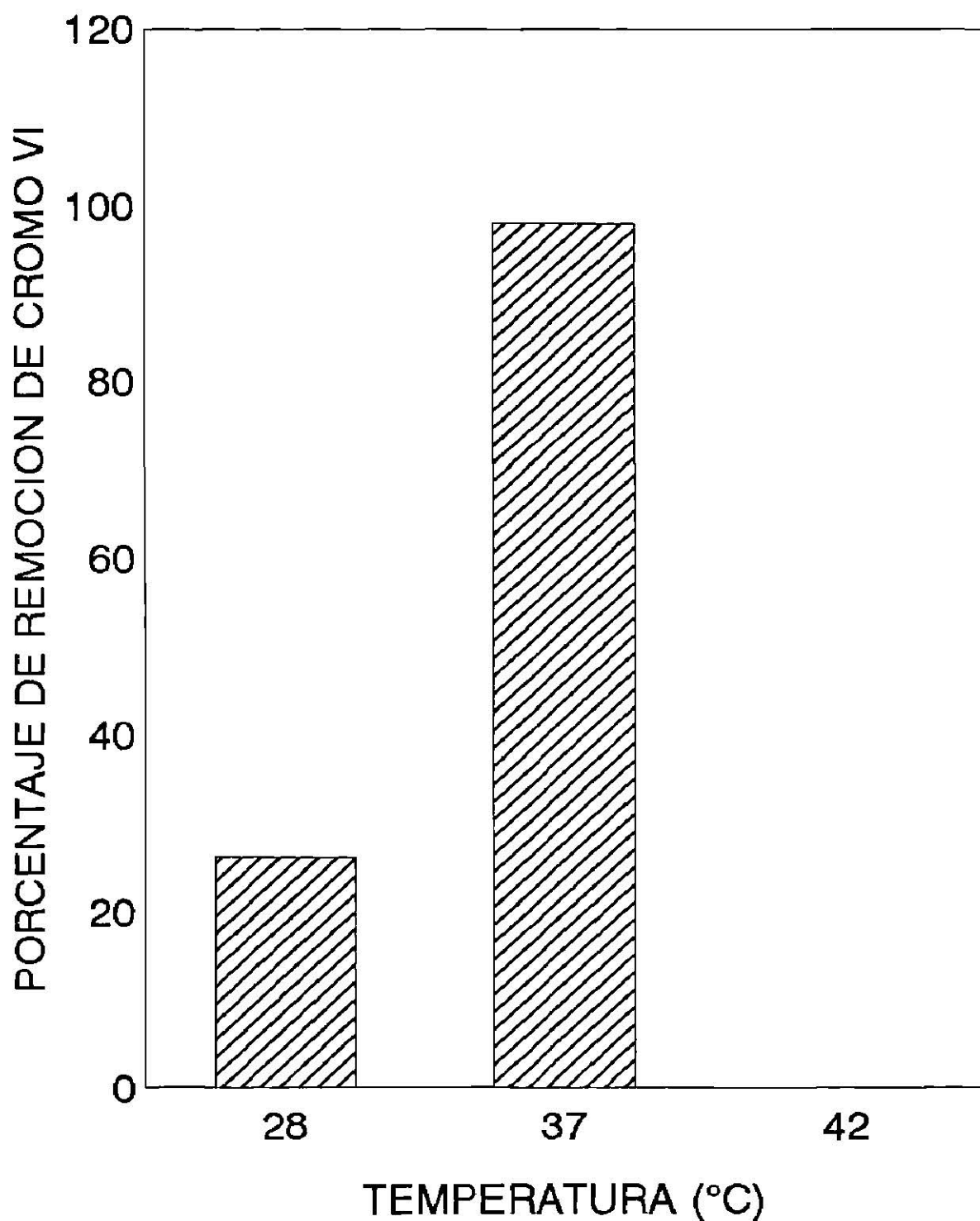


Figura No.9.-EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA BIOADSORCION DE CROMO VI POR EL LODO NATURAL A pH= 3.0 (20ppm/100ml. 1 g de lodo natural. 28°C. 24 hrs. de incubación. Agitación constante)

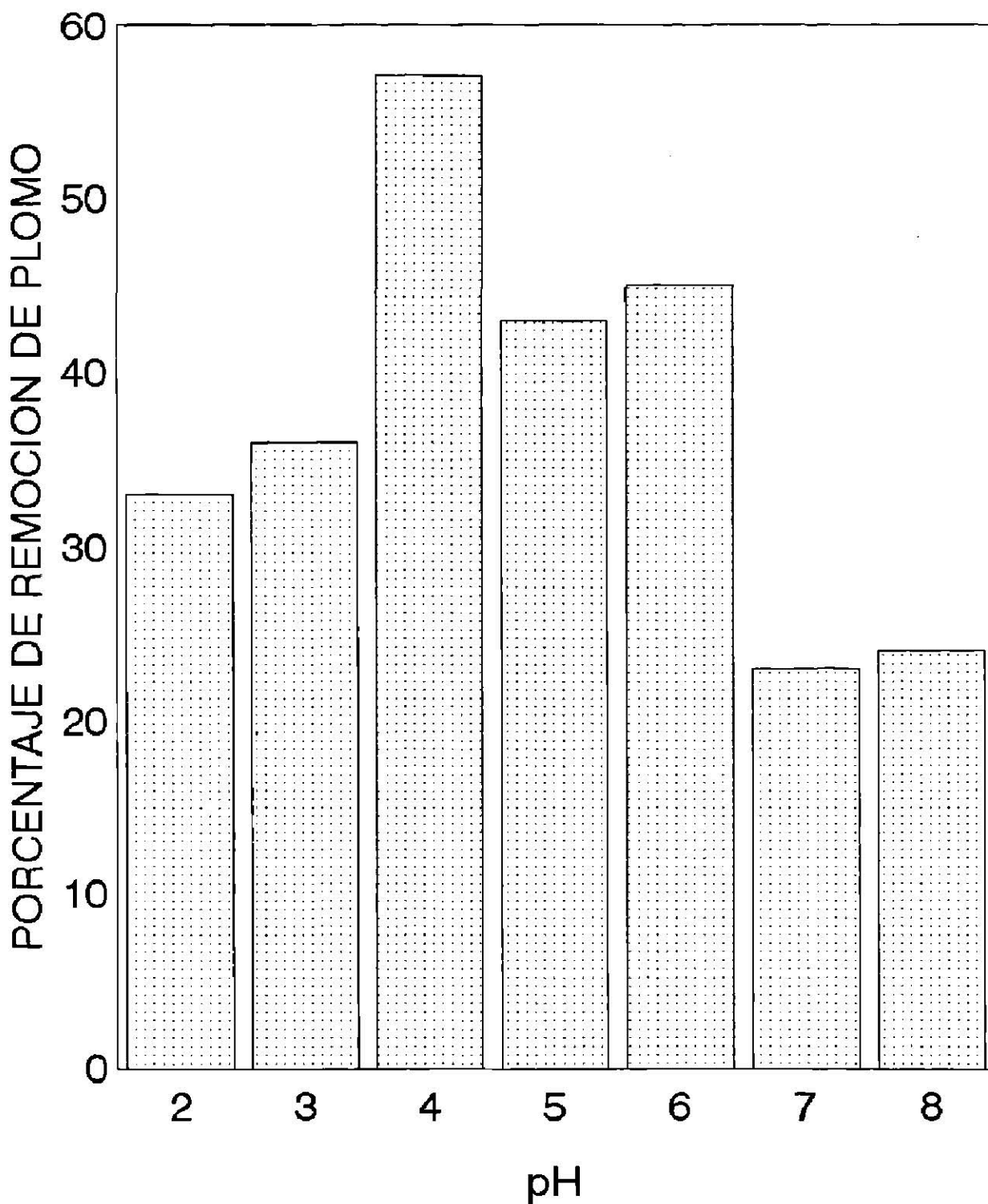


Figura No.10.- EFECTO DEL pH SOBRE LA BIOADSORCION DE PLOMO POR *A. flavus V* (200ppm/100ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. de incubación. Agitación constante)

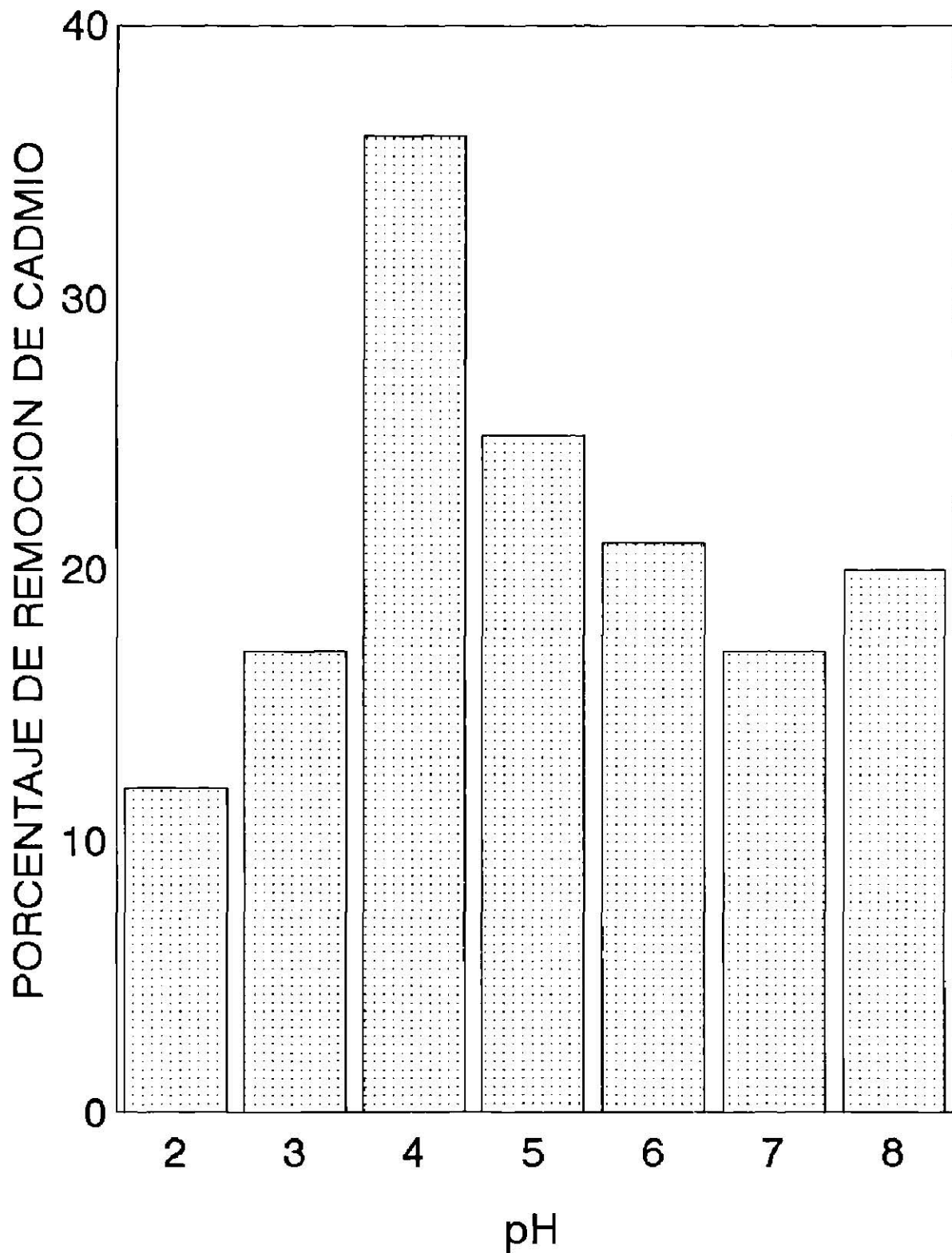


Figura No.11.- EFECTO DEL pH SOBRE LA BIOADSORCION DE CADMIO POR *A. fumigatus II* (200ppm/100ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. de incubación. Agitación constante)

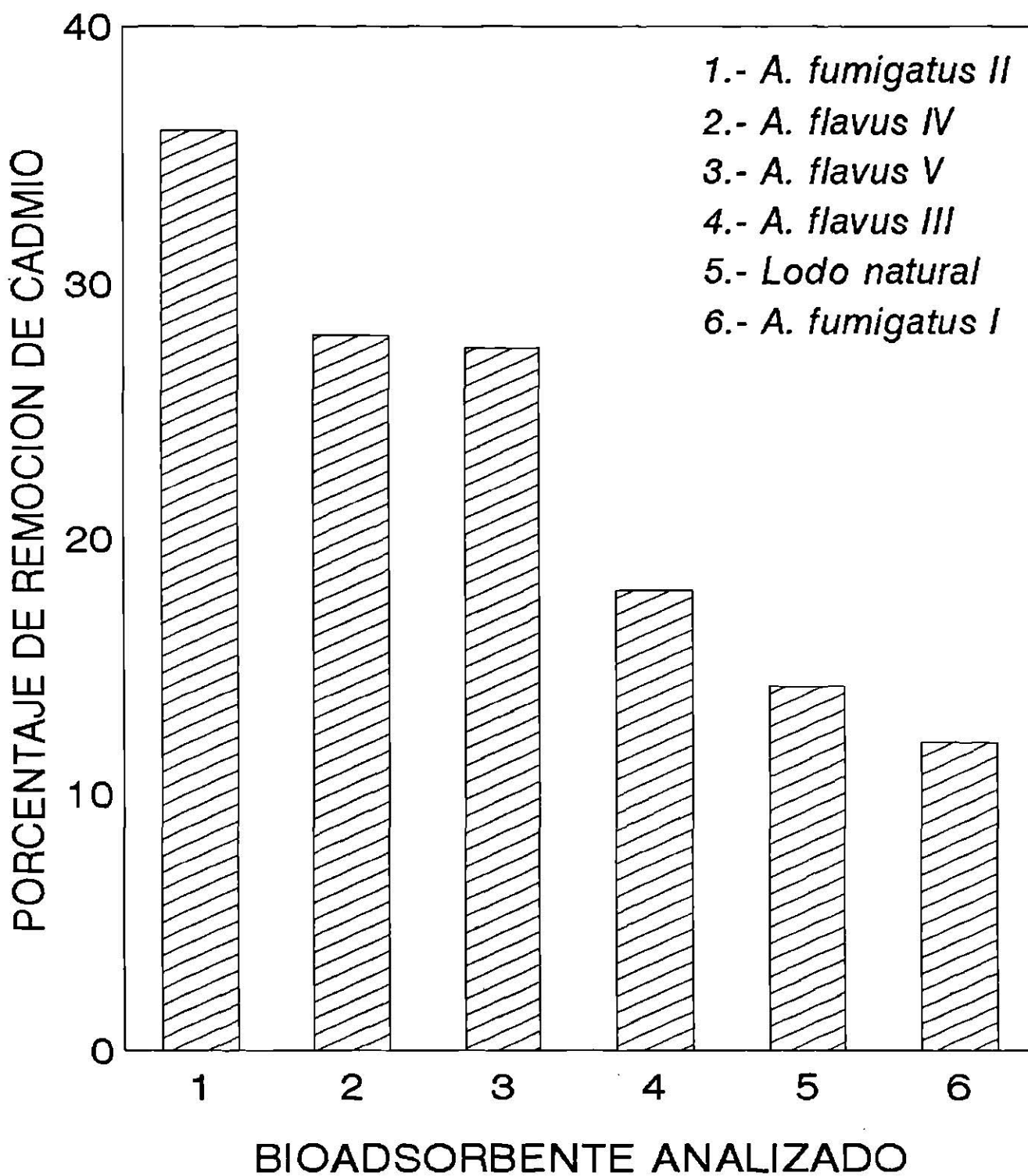


Figura No.12.- PORCENTAJE DE BIOADSORCION DE CADMIO POR LOS BIOADSORBENTES ANALIZADOS (200ppm/200ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. Agitación constante pH=4.0).

NOTA: se utilizó 1 g de lodo natural a 37°C. pH=3.0).

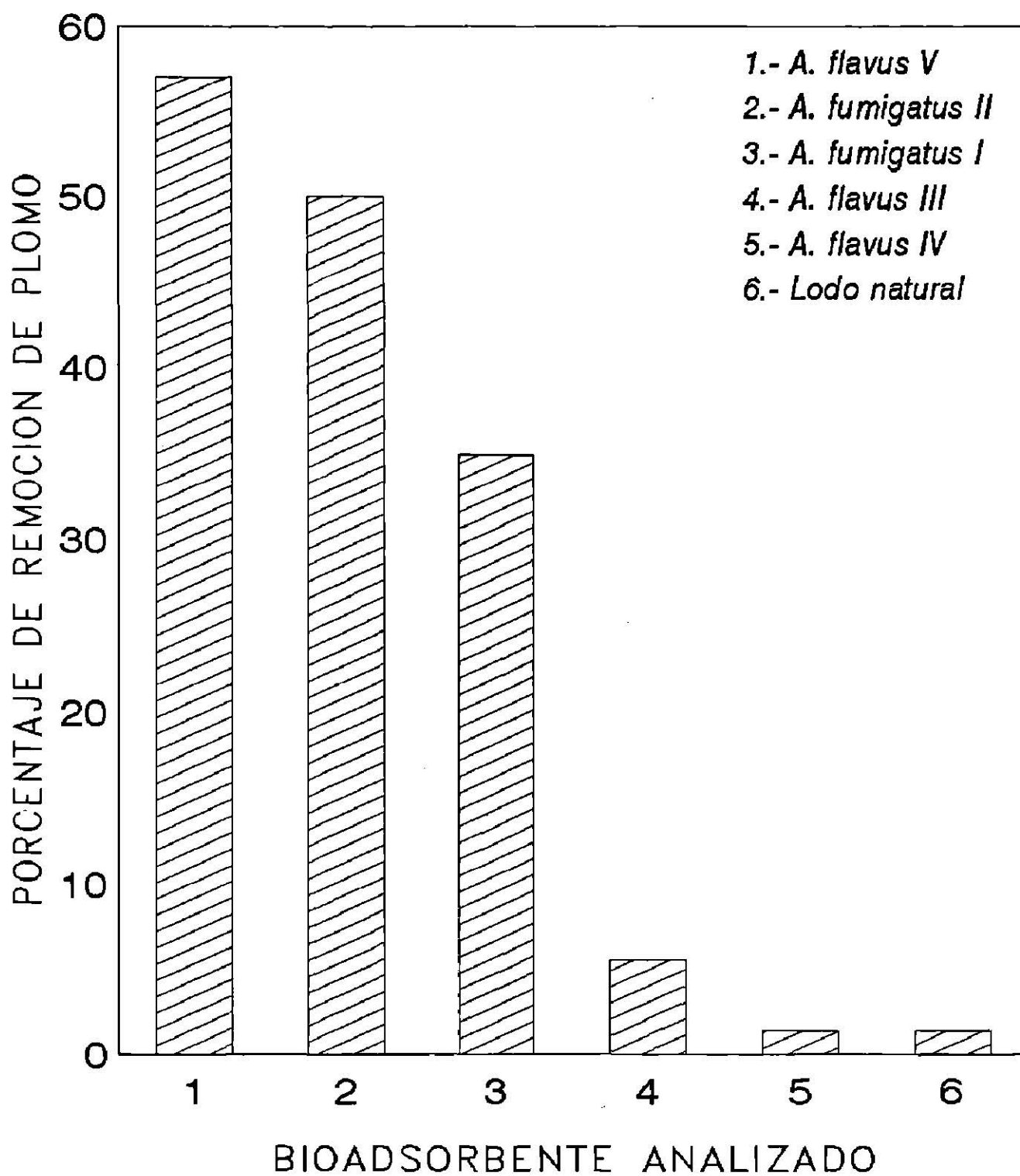


Figura No.13- PORCENTAJE DE BIOADSORCION DE PLOMO POR LOS BIOADSORBENTES ANALIZADOS (200ppm/200ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. Agitación constante pH=4.0).  
 NOTA: se utilizó 1 g de lodo natural a 37°C. pH=3.0).



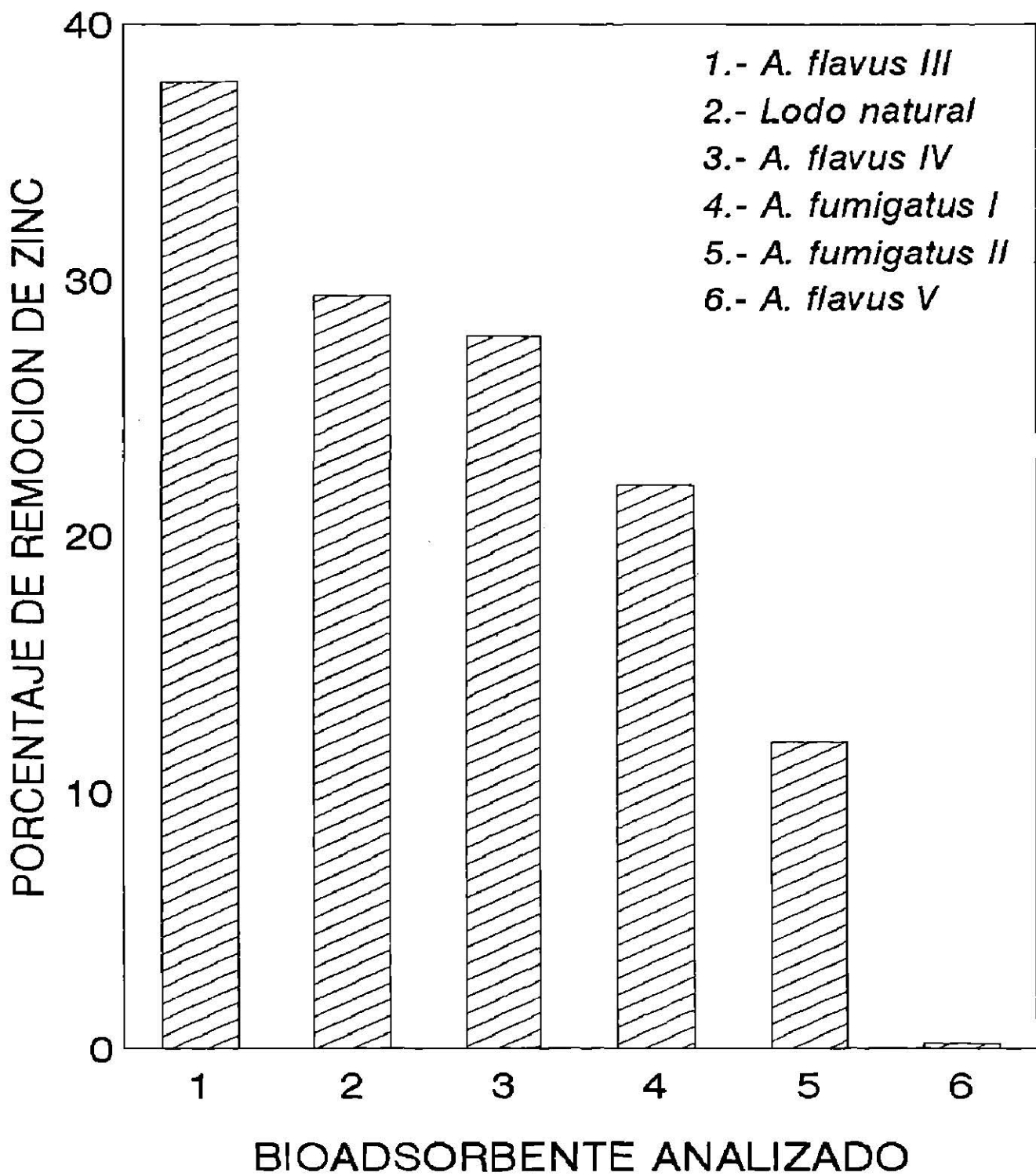


Figura No.14.- PORCENTAJE DE BIOADSORCION DE ZINC POR LOS BIOADSORBENTES ANALIZADOS (200ppm/200ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. Agitación constante pH=4.0).

NOTA: se utilizó 1 g de lodo natural a 37°C. pH=3.0).

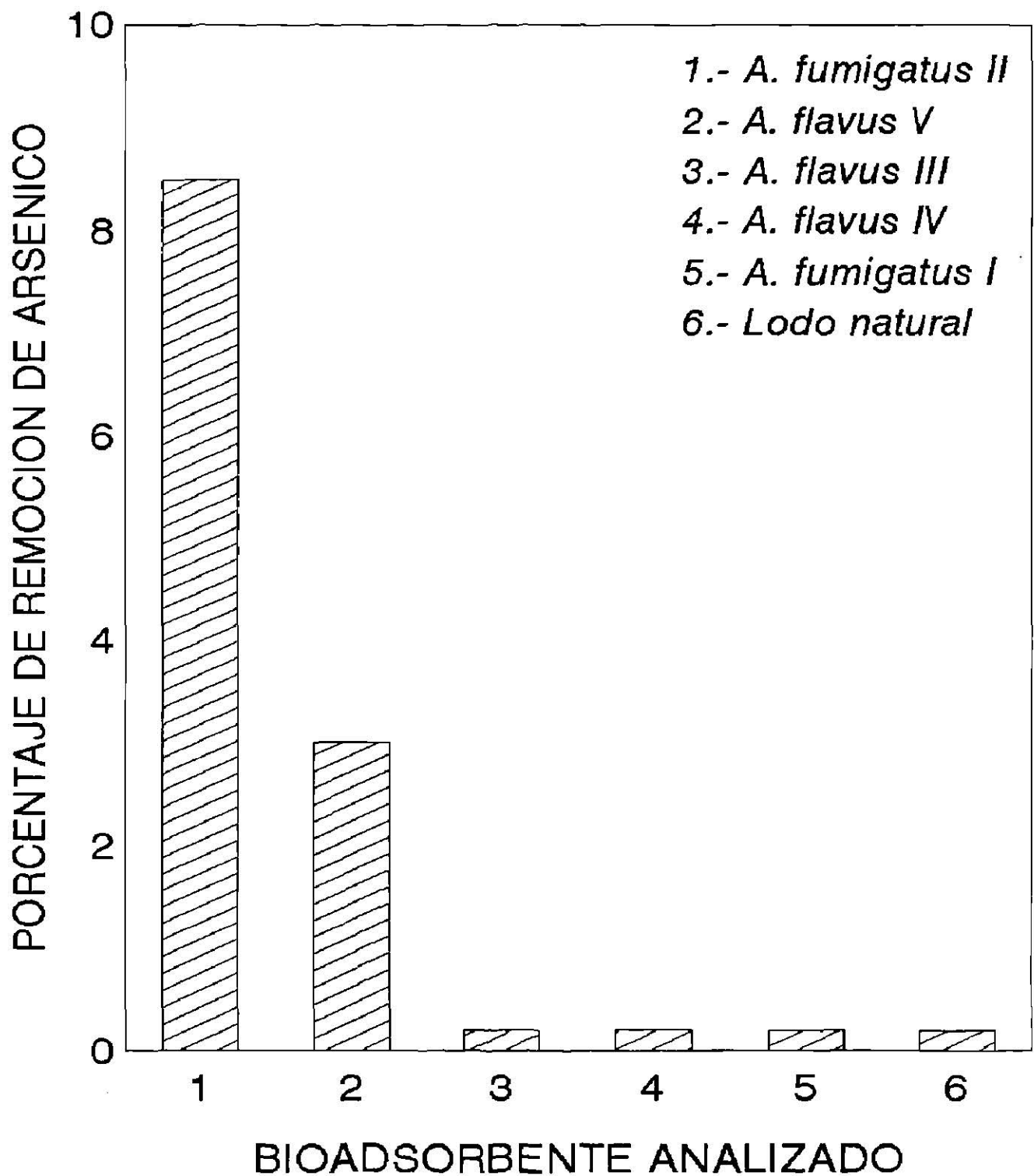


Figura No.15.- PORCENTAJE DE BIOADSORCION DE ARSENICO POR LOS BIOADSORBENTES ANALIZADOS (200ppm/200ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. Agitación constante pH= 4.0).

NOTA: se utilizó 1 g de lodo natural a 37°C. pH=3.0).

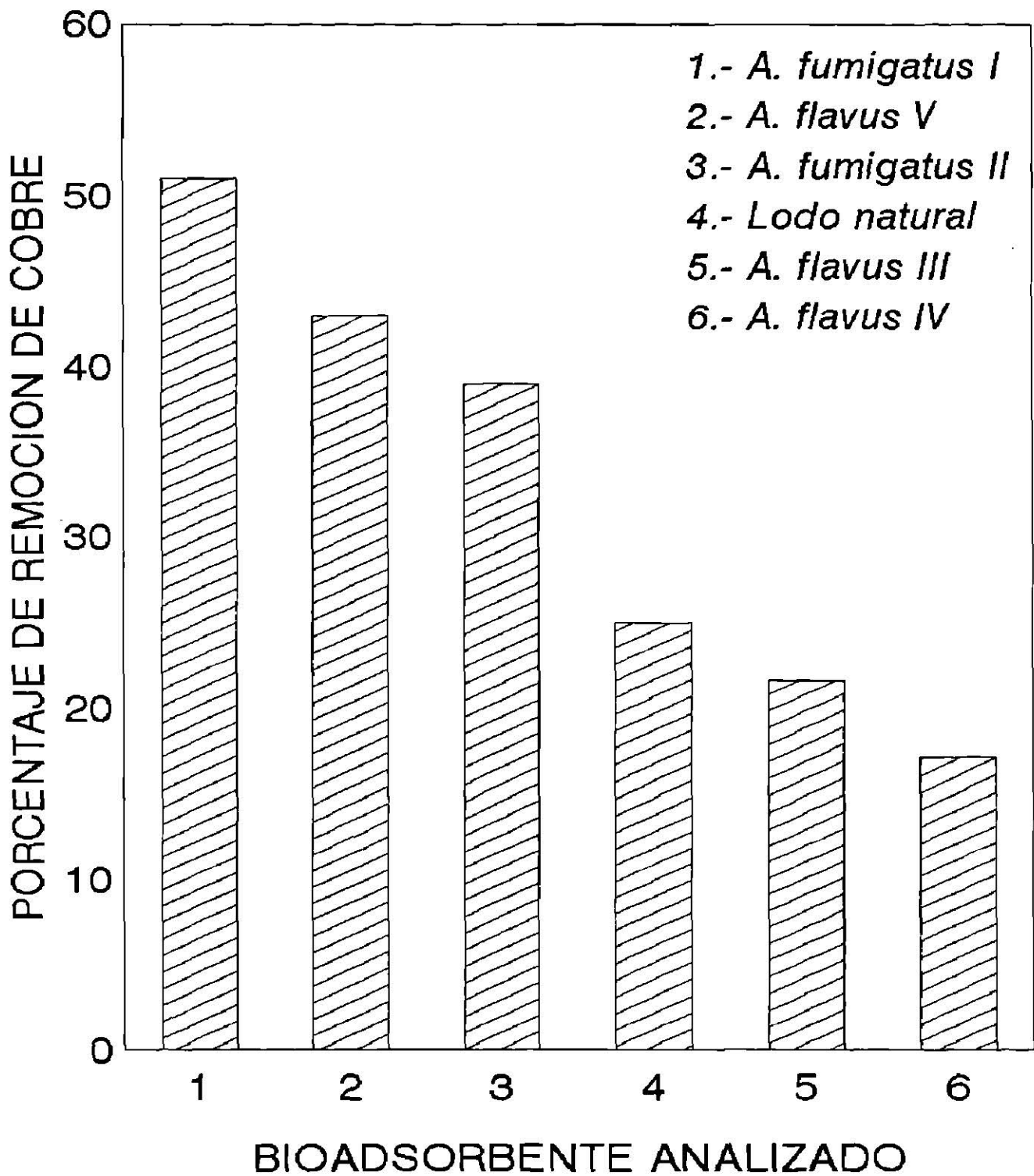


Figura No.16.- PORCENTAJE DE BIOADSORCION DE COBRE POR LOS BIOADSORBENTES ANALIZADOS (200ppm/200ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. Agitación constante pH=4.0).

NOTA: se utilizó 1 g de lodo natural a 37°C. pH=3.0).

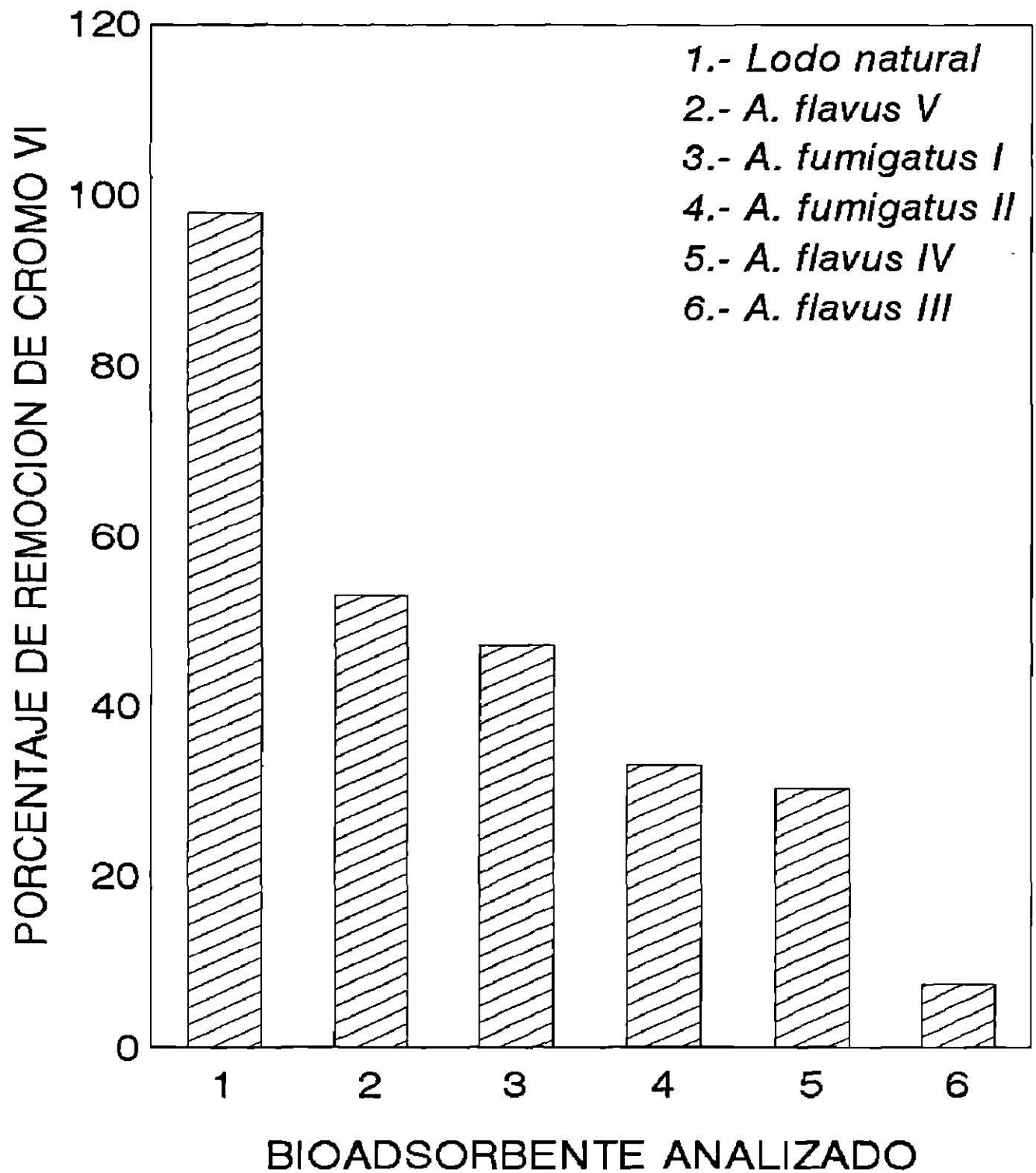


Figura No.17- PORCENTAJE DE BIOADSORCION DE CROMO VI POR LOS BIOADSORBENTES ANALIZADOS (20ppm/200ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. Agitación constante pH=4.0).  
 NOTA: se utilizó 1 g de lodo natural a 37°C. pH=3.0).

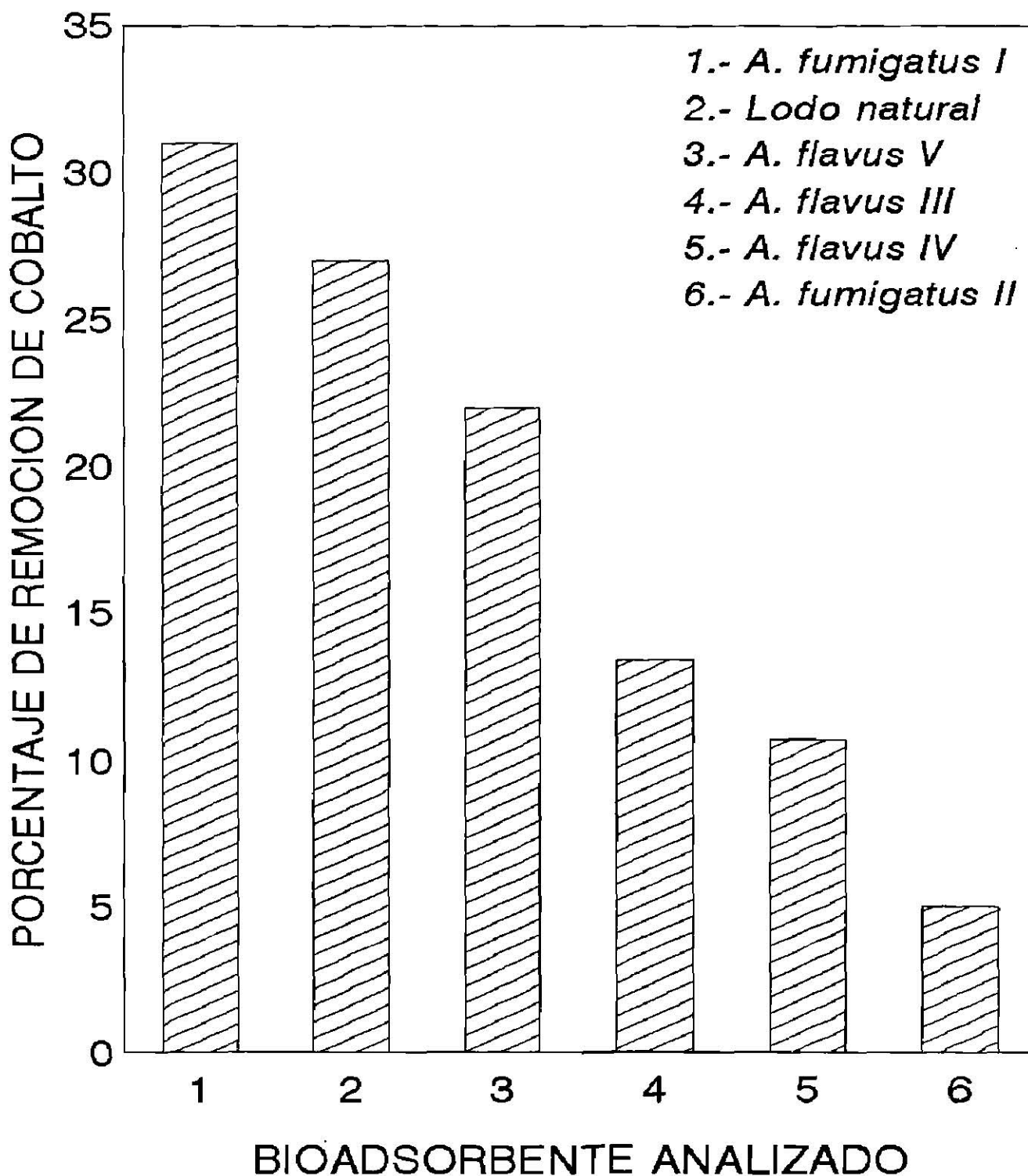


Figura No.18 PORCENTAJE DE BIOADSORCIÓN DE COBALTO POR LOS BIOADSORBENTES ANALIZADOS (200ppm/200ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. Agitación constante pH=4.0).

NOTA: se utilizó 1 g de lodo natural a 37°C. pH=3.0).

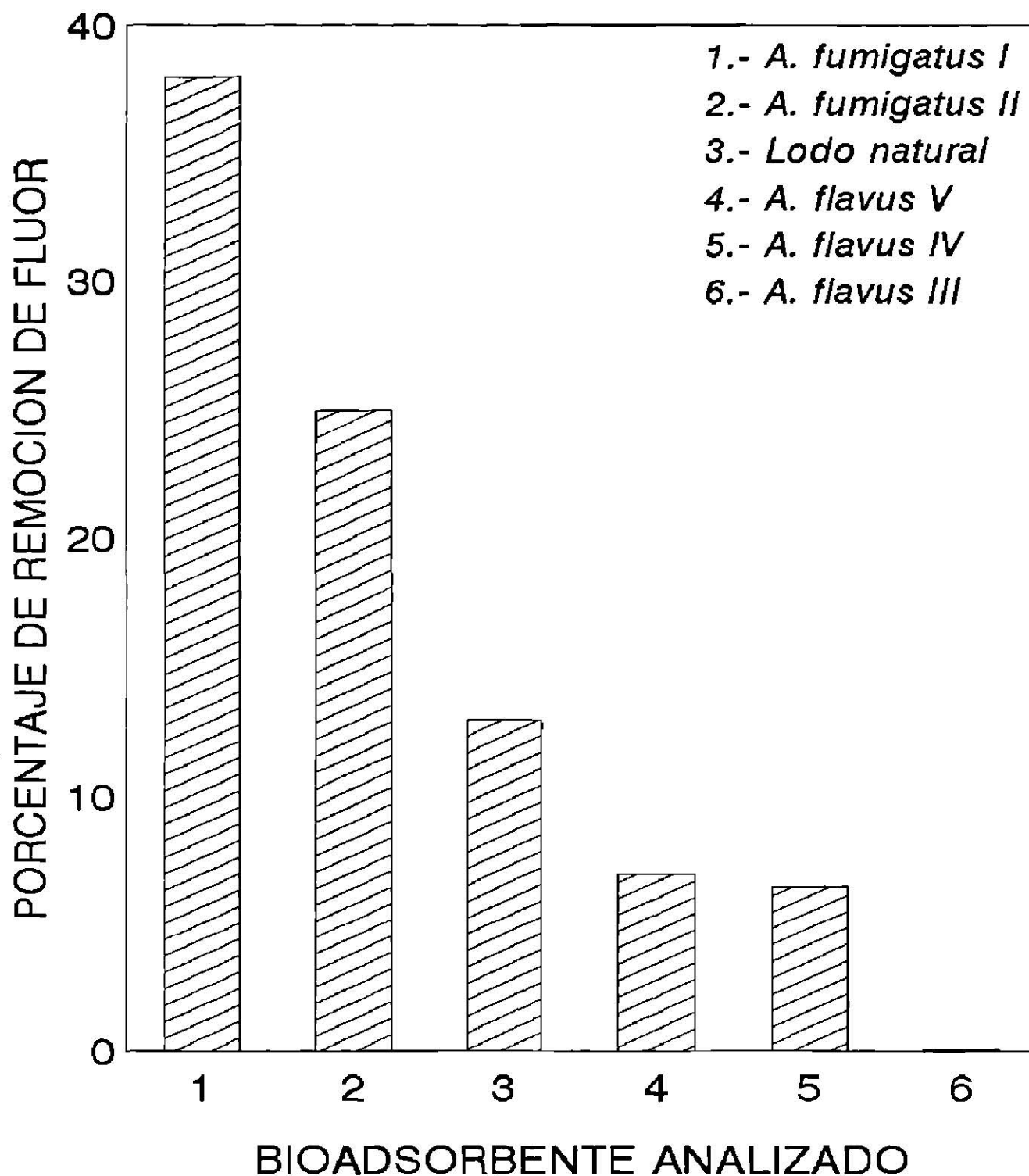


Figura No.19.-PORCENTAJE DE BIOADSORCION DE FLUOR POR LOS BIOADSORBENTES ANALIZADOS (200ppm/200ml. 80 mg de bioadsorbente. 28°C. 24 hrs. Agitación constante pH=4.0).

NOTA: se utilizó 1 g de lodo natural a 37°C. pH=3.0).

PORCENTAJES DE BIOADSORCION DE LOS METALES ANALIZADOS  
Y FLUOR EN SOLUCION POR LOS DIFERENTES BIOADSORBENTES

METAL	A. flavus III (%)	A. flavus IV (%)	A. flavus V (%)	A. fumigatus I (%)	A. fumigatus II (%)	Lodo natural (%)
Arsénico	0	0	3	0	8.5	0
Cobre	21.56	17.17	43.0	51.0	39.0	24.95
Cadmio	18.0	28.0	27.0	12.0	36.0	14.2
Zinc	37.8	27.78	0	22.0	12.0	29.4
Cromo VI	7.4	30.15	53.0	47.0	33.0	98.0
Cobalto	13.4	10.7	22.0	31.0	5.0	27.0
Plomo	5.6	1.4	57.0	35.0	50.0	1.4
Flúor	0	6.45	7.0	38.0	25.0	12.94

Bioadsorbente fúngico: pH 4, temperatura 28 °C, 24 horas de incubación, agitación constante, 80 mg de bioadsorbente.

Bioadsorbente natural: pH 3, temperatura 37 °C, tiempo de incubación 24 horas, agitación constante, un gramo de lodo natural.



# DISCUSION DE RESULTADOS

## 7.0 DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente trabajo, se analizó la capacidad de remoción de metales pesados y flúor en solución por 6 diferentes bioadsorbentes, de los cuales 5 corresponden a hongos del género *Aspergillus* resistentes a plomo, cobre y zinc aislados a partir de desechos mineros (jales) de una mina de Zimapán Hgo, y un lodo natural obtenido de la laguna del tanque Tenorio, pues en la literatura hay reportes de que los lodos son eficientes para remover metales pesados en solución (Davis, 1984).

Los bioadsorbentes analizados presentan diferentes porcentajes de captación de los diferentes metales pesados y flúor estudiados, lo cual puede deberse a cambios no conocidos en los componentes de la pared celular de los hongos del género *Aspergillus*, pues se han reportado diferencias en la exposición de sitios con afinidad por metales, aún en hongos de la misma especie (Gadd, 1992). Los bioadsorbentes estudiados presentan diferentes porcentajes de captación de los diferentes iones metálicos evaluados presentando estos, deferencias estadísticamente significativas, según el análisis de comparación múltiple de Tukey, por ejemplo, el cobre fué removido en un rango de 17.17 % a 51 % por los 6 bioadsorbentes y el cadmio en un rango entre 12 % a 36 % , mientras que el arsénico fué removido únicamente por 2 de los bioadsorbentes en muy baja proporción (8.5 % *A. fumigatus* II y 3 % *A. flavus* V).

La capacidad de captación del lodo natural se puede deber a las reacciones de complejación de los metales con los grupos químicos de la materia orgánica contenida en el lodo (Davis, 1984), el cual en este caso específico puede tener más afinidad por el cromo VI pues éste metal fué el que se removió más eficientemente.

CONCLUSIONES

## 8.0 CONCLUSIONES

- 1.- Los bioadsorbentes analizados presentan diferentes porcentajes de remoción de los diferentes metales pesados y flúor en solución.
- 2.- El cromo VI fué removido más eficientemente por el lodo natural, el flúor por el *A. fumigatus I*, el plomo por el *A. flavus V*, el cobalto por *A. fumigatus I*, el zinc por *A. flavus III*, el cadmio por el *A. fumigatus II*, el cobre por el *A. fumigatus I*, mientras que el arsénico sólo fué captado por el *A. fumigatus II* y por el *A. flavus V* aunque en muy baja proporción.
- 3.- Como éste trabajo forma parte de un proyecto para la eliminación de cobre a partir de soluciones ricas en oro, plata y cobre en solución a partir de desechos mineros, los bioadsorbentes que se pueden utilizar para este fin pueden ser el *A. fumigatus I*, el *A. flavus V* y el *A. fumigatus II*, pues son los que presentan mayor capacidad de remoción del metal, y se pueden utilizar solos o en mezclas.
- 4.- Algunos de los bioadsorbentes también se pueden utilizar en la remoción de cromo VI, principalmente el lodo natural, el *A. flavus V* y el *A. fumigatus I*, sobre todo en mantos acuíferos cercanos a la planta productora de papel destintado de esta ciudad y en León Gto., donde la contaminación por este metal es alarmante.
- 5.- En base, al análisis estadístico de comparación múltiple de Tukey se observó que los porcentajes de remoción de los metales y flúor en solución por los diferentes bioadsorbentes presentaron una diferencia estadísticamente significativa.

# BIBLIOGRAFIA

## 9.0 BIBLIOGRAFIA

Aiache, J. M. Biofarmacia, Ed. Manual Moderno. 1983.

Arenas, R. 1993. Micología Médica Ilustrada. Ed. Interamericana. McGraw-Hill. pp 40.

Armienta, M.A., Ceniceros, N., Rodríguez, R., Cruz, O., Juárez, F. y.

Aguayo, A. 1995. Movilidad del cromo en suelos contaminados de León, Guanajuato. Actas Inageq. Vol. 1. pp 19-22.

Asha, V. 1987. Handbook of atomic absorption analysis. Vol. 1. CRC Press, Inc. pp 7-14.

Azab M. S. and Peterson P. J. 1989 The removal of cadmium from water by the use of biological sorbents. Wat. Sci. Technol. 21, 1705-1706.

Bartnicki-García, S. 1968. Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungi. Ann. Rev. Microbiol. Vol. 22. pp 87-108.

Beveridge, T. J. and Murray, R. G. E. 1980. Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. J. Bacteriol. Vol. 141. No. 2. pp 876-877.

Bonifaz, A. 1990. Micología Médica Básica. Ed. Méndez Cervantes. pp 333.

Cardona, A. y Carrillo, J. 1995. Control equilibrio-solubilidad en la concentración de fluoruro en el agua subterránea del centro de México. Actas Inageq. Vol. 1. pp 51-56.

Charlot, G. 1976. Análisis cualitativo rápido de cationes y aniones. 2a. ed. Alhambra, pp 568-573.

Chávez Marín, G., Cano Rodríguez, I., Mendoza Olivares, D., Amézquita López, F., Caracheo Aguilar, S., Obregón Herrera, A., Ramírez Salgado, P., Sosa Luna, L., Martínez Cadena, G. y Gutiérrez Corona, F. 1993. Proteínas inducibles por cobre en cepas de *Mucor rouxii* tolerantes y sensibles al metal. Biotecnología. Vol. No. 3 y 4 pp AM 189-AM 192.

Cortés Penagos y cols., 1993. Mecanismos de resistencia a metales pesados en *Trichoderma* sp1. Biotecnología. Vol. 3 y 4. pp AM 214-AM 223.,

Davis, J. 1984. Complexation of trace metals by adsorbed natural organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. Vol. 48. pp 679-691.

Díaz Pérez, M.P. 1994. Aislamiento de hongos tolerantes a metales pesados a partir de desechos mineros. Tesis Licenciatura. Químico Farmacobiólogo. Facultad de Ciencias Químicas. UASLP.

Gadd, G.M. 1992. Microbial control of heavy metals pollution. In: Fry, J.C., Gadd, G.M., Herbert, R.A., Jones, C.W. Watson-Crick. Microbial Control of Environmental Pollution. pp 59-88.

García Meza, V., Sosa, L., Cano, C., Ponce, P., Obregón, A., Vázquez, G. Ramos, R., Gutiérrez, M. y Montoya, A. 1995. Biotecnología ecológica para el tratamiento de residuos mineros. Actas Inageq. Vol. 1. pp 175-180.

Greenberg, A.E., Clesceri, L.S. and Eaton, A.D. 1992. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. 18 ed. Academic Press. pp 49-50, 83-83, 107-109, 119-120.

González, L. y Alfaro, C. 1995. Efecto de los desechos urbanos sobre la calidad de aguas de ríos. Actas Inageq. Vol. 1. pp 11-12.

Gutiérrez, S. y Domínguez, E. 1995. Estudio hidrogeoquímico del agua subterránea en los alrededores de una industria papelera en el Valle de Villa de Reyes, San Luis Potosí, S.L.P. Actas Inageq. Vol. 1. pp 71-76.

Horikoshi, T., Nakajima, A. and Sakaguchi, T. 1981. Metal sequestering by *Chlorella vulgaris*. Agric. Biol. Chem. Vol. 45 pp 781-783.

Khalid, A. M.; Ashfaq, S. R.; Bhatti, T. M.; Anwar, M. A.; Shemsi, A. M.; Akhtar, K. The uptake of microbially leached uranium by immobilized microbial biomass. In Biohydrometallurgical Technologies; Torma, A. E., Apel, M. L., Brierley, C. L., Eds.; The Minerals, Metals and Materials Society: Warrendale, PA, 1993a; Vol. 2, pp 299-308.

Krishnan S. S., Cancilla A. and Jervis R. E. (1987) Industrial wastewater treatment for toxic heavy metals using natural materials as adsorbents. J. Radiol. Nucl. Chem. 110, 373-378.

Kumar, P. and Dara, S.S. 1981. Binding heavy metal ions with polymerized onion skin. J. Polym. Sci. Vol. 19. pp 397-402.

Kuyucak, N.; Volesky, B. 1988. Biosorbent for Gold. U.S. Patent 4,769, 233.

Larsen V.J. and Schierup H.H. 1981 The use of straw for removal of heavy metals from wastewater. J. Envir. Qual. 10, 188-193.

Laws, E.A. 1993. Aquatic pollution: John Wiley. N.Y. pp 611.

Leyva Ramos, R., Juárez Martínez, A. and Guerrero Coronado, R.M. 1994. absorption of chromium (VI) from aqueous solutions on activated carbon. Wat. Sci. Tech. Vol. 30. No. 9. pp 191-197.

Martín Polo, J.J. 1995. Consecuencias y acciones sobre la contaminación por metales en el estado de Guanajuato. Actas Inageq. Vol. 1. pp 15.

Montante, A.D., Alfaro, M.C. y Medellín, P. 1995. Estudio geoquímico de elementos traza en una laguna artificial de aguas residuales. *Actas Inageq*. Vol. 1. pp 33-38.

Namasivayan, C. and Ranganathan, K. 1994. Removal of Cd (II) from wastewater by adsorption on "waste" Fe (III)/Cr(III) hydroxide. *Water Res.* Vol. 29. No. 7. pp 1737-1744.

O'Neill, B. (1994) Mining the heart of a continent. *New Scientist*. 144: 54-58.

Poon, C. P. C. (1986) Removal of cadmium from wastewaters. In *Cadmium in the Environment* (Edited by Mislin H. and Revera O.), pp. 46-55. Birkha User, Basel, Switzerland.

Ramos, R., Sosa, L. y Gutiérrez, M. 1993. Microalgas que crecen sobre desechos de minas de oro y plata. *Biotecnología*. Vol. No. 3 y 4 pp. AM 232-AM 235.

Rodríguez, P.C., Botello, A.V. y Villanueva, S.F. 1995. Metales tóxicos en sedimentos y biota de las lagunas de la mancha y el llano, Veracruz, México. *Actas Inageq*. Vol. 1. pp 169-173.

Rosales, L., Carranza, A. y Santiago, S. 1995. Análisis de sedimentos del río Coatzacoalcos y su relación con el impacto ambiental. *Actas Inageq*. Vol. 1. pp 29-30.

Ruíz-Herrera, J. 1967. Chemical components of the cell wall of *Aspergillus* species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Vol. 122. pp 118-125.

Ruíz-Herrera, J. 1993. La quitina. *Investigación y Ciencia*. pp 42-49.

San Blas, G. 1982. The cell wall of fungal human pathogens: its possible role in host-parasite relationships. *Mycopathologia*. Vol. 79. pp 159-184.

Tobin, J.M., Cooper, D.G. and Neufeld, R.J. 1984. Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 47. No. 4. pp 821-824.

Tornabene, T.G. and Edwards, H.W. 1972. Metal sequestering capabilities by *Azotobacter* sp1. *Science*. Vol. 176. pp 1334-1335.

Townsley, C.C.; Ross, J.S.; Atkins, A.S. Biorecovery of metallic residues from various industrial effluents using filamentous fungi. In *Fundamental and Applied Biohydrometallurgy*; Lawrence, R. W., Branion, R.M.R., Ebner, H.G., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 1986; pp 279-289.

Ulloa, M. y Herrera, T. 1990. El reino de los hongos. *Micología Básica y Aplicada*. Ed. Fondo de Cultura Económica. pp 183.

Volesky, B. 1987. *Biosorbents for metal recovery*. Elsevier Publications. Cambridge. pp 96-101.



Volesky, B. and Holan, Z.R. 1995. Biosorption of heavy metals. *Biotechnol. Prog.* Vol 11 pp 235-250.

Yadava K.P., Tyagi B.S., Pandey K.K. and Singh, V.N. (1987) Fly ash for the treatment of cadmium (II) rich effluents. *Envir. Technol. Lett.* 8, 220-234.



