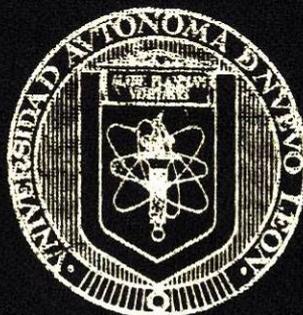


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

25



ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE SORCION
Y RECUPERACION DE METALES PESADOS
EN BIOMASA BACTERIANA LIBRE
E INMOVILIZADA EN ALGINATO DE CALCIO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE:
LICENCIADO EN QUIMICA INDUSTRIAL

PRESENTA:

MARIA DEL ROCIO RAMIREZ GONZALEZ

MONTERREY, N. L., MARZO DE 2002

TL

TD475

.R36

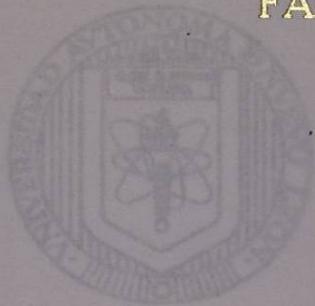
2002

c.1



1080124514

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



MARZO DE 2002

Q. F. B. EMILIA EDITH VÁSQUEZ FARRAS
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

La tesis elaborada por la Srta. María del Rocío Ramírez González

Estudio de la capacidad de sorción y recuperación de metales pesados en biomasa bacteriana libre e inmovilizada en alginato de calcio

Ha sido aceptada como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Químico Industrial.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE:
LICENCIADO EN QUIMICA INDUSTRIAL

M. Teresa Garza González
M. C. Ma. Teresa Garza González

Asesor y Presidente

M. C. Sergio Fernández
M. C. Sergio Fernández

Asesor y Secretario

PRESENTA:

MARIA DEL ROCIO RAMIREZ GONZALEZ

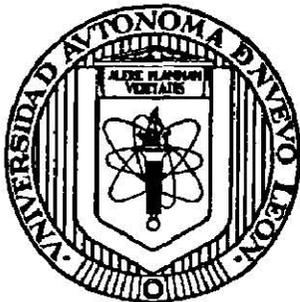
M. C. Sergio Fernández

Veed y Ponente

MONTERREY, N. L., MARZO DE 2002







UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

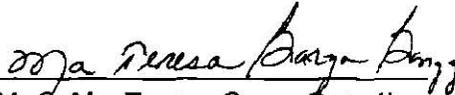
MARZO DE 2002

Q. F. B. EMILIA EDITH VÁSQUEZ FARIÁS
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

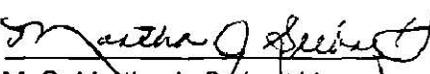
La tesis elaborada por la Srita. María del Rocío Ramírez González titulada:

“Estudio de la capacidad de sorción y recuperación de metales pesados en biomasa bacteriana libre e inmovilizada en alginato de calcio.”

Ha sido aceptada como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Químico Industrial.


M. C. Ma. Teresa Garza González

Asesor y Presidente


M. C. Martha A. Suárez Herrera

Asesor y Secretario



M. C. Sergio Fernández D.

Vocal y Revisor

DEDICATORIA

A Dios por permitir que todo esto exista y que sea además maravilloso.

A mis padres por confiar siempre en mí porque aunque en algún momento los defraudé siempre siguieron allí ofreciéndome su ayuda incondicional en todos los sentidos. Perdón por aquellos malos momentos de desvelo y presión que me ocasionaban mal humor. Lola y Jaime los amo!!

A mi hermana Belinda que espero comprenda que mi carácter es a veces difícil y más cuando me encuentro muy presionada.

A Holger por llenar ese espacio tan vacío en mi vida y que ahora se ha convertido en algo muy sólido y especial. Gracias por el apoyo recibido en todo momento, por impulsarme a la superación cada día, por las regañadas, porque este trabajo es mejor también gracias a él.

A mi pequeño trocito de vida que pronto gozará de mucho amor y contacto con el mundo exterior.

A todos mis amigos que directa o indirectamente contribuyeron en la realización de este trabajo, en especial a Martha, Keta, Carsten, Diego, Mis, Les, Licha, Tona, Rox, Kelly, Luka, Alex, Tavo, Betty, Jenny.....y también a aquellos que haya olvidado pero que saben que tienen un lugar muy especial en mí.

A mis tías: Blanca, Linda, a mis primas: Luka, Clauss, Alicia por estar siempre conmigo.

Especialmente a Gaby y Luz por todo lo que pasamos juntas, a Oscar, Fabiola y Erick del Laboratorio de Procesos Biotecnológicos por el apoyo recibido.

Al laboratorio de Procesos Biotecnológicos por hacer posible la realización de este trabajo.

Al Laboratorio de Química Medicinal, muy especialmente al Dr. Ramiro Quintanilla y a los asistentes de este laboratorio por todo el apoyo brindado en la utilización del Espectrofotómetro de Absorción Atómica y las campanas para digestión.

A la Dra. Leticia Torres y al Dr. Azael Martínez por motivarme a hacer la maestría y lanzarme hacia esa maravillosa experiencia.

A todos los maestros y doctores que contribuyeron en mi formación y en todos mis conocimientos.

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a mi asesora la M. C. Tere Garza por su asesoría, dedicación y paciencia, por darme la oportunidad de obtener experiencia en el transcurso de este trabajo, en la parte teórica, experimental y en la redacción del mismo.

A la M. C. Martha Suárez por su tiempo y ayuda brindados en el transcurso de este trabajo, gracias por su apoyo.

Al M. C. Sergio Fernández por el apoyo y consejos recibidos y su disposición en la revisión de este trabajo.

Al soporte brindado dentro del PROGRAMA DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA PAICYT 2000 clave CN335-00.

RESUMEN

María del Rocío Ramírez González

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del estudio: Estudio de la capacidad de sorción y recuperación de metales pesados en biomasa bacteriana libre e inmovilizada en alginato de calcio.

Gran parte de los residuos industriales contienen comúnmente metales pesados como: cobre, zinc, plomo, cromo, cadmio, molibdeno, arsénico, mercurio, uranio, radio, torio, oro, plata, níquel, cobalto, entre otros. Una de las características que distingue a los metales de otros contaminantes es que no son biodegradables y representan una amenaza biológica para todos los organismos vivos.

La toxicidad y el valor comercial de los metales son aspectos esenciales que sugieren su remoción y recuperación de las soluciones diluidas, que en algunos casos, resultan de tratamientos primarios y secundarios de aguas residuales o de procesos de extracción de metales valiosos.

Tomando en cuenta la creciente demanda de los metales, su baja disponibilidad y su inestabilidad económica, hace que estos factores sean fuente de estímulo para la búsqueda de métodos alternativos de bajo costo para la recuperación de los metales de aguas residuales tratadas o sin tratar, que además al ser descargadas a los ríos provocan serios problemas de contaminación.

Desde hace mucho tiempo se conoce que los microorganismos son capaces de sorber iones metálicos, proceso conocido como *biosorción*. En este proceso es posible utilizar la biomasa viva o muerta, libre o inmovilizada, lo cual es altamente atractivo, desde el punto de vista económico, ecológico y tecnológico.

Sin embargo, el éxito de la aplicación técnica de la biosorción depende de la facilidad para la recuperación tanto del elemento metálico como de la biomasa con el fin de reutilizarla en múltiples cargas de metal.

De ahí este estudio tiene como fin evaluar el número de cargas de metal que soporta la biomasa bacteriana libre e inmovilizada en alginato de calcio de los géneros *Enterobacter* y *Bacillus*, su capacidad de retención de los metales Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{6+} , Zn^{2+} y Cd^{2+} , la desorción de dichos metales, su posible recuperación y comparar los resultados de biomasa libre con los obtenidos de biomasa inmovilizada en alginato de calcio. La variación de la concentración del metal en la solución fue determinada mediante Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS). Fue posible reutilizar la biomasa con varias cargas de metal mostrando variabilidad en la eficiencia según el tipo de biomasa y el metal utilizado. La capacidad de retención del metal en la biomasa inmovilizada fue mayor en biomasa de *Bacillus* que en biomasa de *Enterobacter*. La afinidad por los metales en biomasa libre de *Bacillus* fue: níquel > cadmio > zinc > cobre > plomo > cromo y en *Enterobacter*: plomo > níquel > cadmio > cromo > cobre > zinc. Para biomasa de *Bacillus* inmovilizada fue: plomo > níquel > cobre > cadmio > cromo > zinc y de *Enterobacter*: plomo > níquel > cadmio > cobre > cromo > zinc. El número de cargas soportadas por la biomasa con buena capacidad de retención fue de 4 a 8 según el tipo de biomasa y el metal retenido. Se encontró que el mejor desorbente de los probados en ambos tipos de biomasa fue el HCl $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Finalmente, después de múltiples cargas de metal la biomasa tanto libre como inmovilizada puede ser tratada para recuperar el metal en solución.

ÍNDICE

	Página
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	1
CAPÍTULO II. HIPÓTESIS.....	14
CAPÍTULO III. OBJETIVOS.....	15
3.1 Objetivo General.....	15
3.2 Objetivos Específicos.....	15
CAPÍTULO IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
4.1 Reactivos.....	16
4.1.1 Biomasa bacteriana.....	17
4.2 Equipo.....	17
4.3 Metodología.....	18
4.4 Procedimientos realizados.....	19
4.4.1 Valoración de la sorción de los metales de prueba en los cuatro tipos de sorbentes utilizados: biomasa de <i>Bacillus</i> , libre e inmovilizada y biomasa de <i>Enterobacter</i> , libre e inmovilizada, sometida a varias cargas sucesivas de metales.....	19
4.4.2 Capacidad de retención de metal en biomasa libre e inmovilizada en alginato de calcio.....	19
4.4.3 Tratamiento de la biomasa para recuperación del metal.....	20
4.4.3.1 Desorción del metal de la biomasa.....	20
4.4.3.1.1 Efecto de la concentración de ácido clorhídrico en la desorción de metales sobre biomasa bacteriana libre e inmovilizada.....	20
4.4.3.1.2 Reutilización de la biomasa.....	21

	Página
4.4.3.2 Digestión de la biomasa con metal.....	21
4.4.4 Determinación analítica de las muestras.....	22
4.4.5 Disposición de los desechos generados.....	24
CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
5.1 Valoración de la sorción de los metales de prueba en los cuatro tipos de sorbentes utilizados: biomasa de <i>Bacillus</i> , libre e inmovilizada en alginato de calcio y biomasa de <i>Enterobacter</i> , libre e inmovilizada en alginato de calcio, todos sometidos a varias cargas sucesivas de metales.....	25
5.2 Capacidad de retención de metal en biomasa libre e inmovilizada en alginato de calcio.....	32
5.3 Tratamiento de la biomasa para recuperación del metal.....	33
5.3.1 Desorción del metal de la biomasa.....	33
5.3.1.1 Efecto de la concentración de ácido clorhídrico en la desorción de metales sobre biomasa bacteriana libre e inmovilizada.....	35
5.3.1.2 Reutilización de la biomasa.....	39
5.3.2 Digestión de la biomasa con metal.....	42
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES.....	43
CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES.....	45
CAPÍTULO VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Fig. 1. Espectrofotómetro de Absorción Atómica utilizado.....	24
Fig. 2. Sorción de níquel en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E) sometida a ocho cargas sucesivas de metal.....	25
Fig. 3. Sorción de plomo en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E) sometida a ocho cargas sucesivas de metal.....	26
Fig. 4. Sorción de cromo en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E) sometida a ocho cargas sucesivas de metal.....	27
Fig. 5. Sorción de cadmio en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E) sometida a ocho cargas sucesivas de metal.....	28
Fig. 6. Sorción de cobre en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E) sometida a ocho cargas sucesivas de metal.....	29
Fig. 7. Sorción de zinc en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E) sometida a ocho cargas sucesivas de metal.....	30
Fig. 8. Aspecto de los pellets después de someterlos a ocho cargas de metal.....	31
Fig. 9. Efecto de diferentes desorbentes sobre la elución de metales de biomasa-metal libre.....	34
Fig. 10. Efecto de la concentración de HCl en la desorción de níquel sorbido en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E).....	35
Fig. 11. Efecto de la concentración de HCl en la desorción de plomo sorbido en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E).....	36
Fig. 12. Efecto de la concentración de HCl en la desorción de cromo sorbido en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E).....	36
Fig. 13. Efecto de la concentración de HCl en la desorción de cadmio sorbido en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E).....	37

	Página
Fig. 14. Efecto de la concentración de HCl en la desorción de cobre sorbido en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E).....	37
Fig. 15. Efecto de la concentración de HCl en la desorción de zinc sorbido en biomasa libre (1) e inmovilizada (2) de <i>Bacillus</i> (B) y <i>Enterobacter</i> (E).....	38
Fig. 16. Comparación del comportamiento de biomasa inmovilizada sometida a 3 ciclos de sorción de níquel/desorción con HCl.....	40
Fig. 17. Comparación del comportamiento de biomasa inmovilizada sometida a 3 ciclos de sorción de plomo/desorción con HCl.....	40
Fig. 18. Comparación del comportamiento de biomasa inmovilizada sometida a 3 ciclos de sorción de cromo/desorción con HCl.....	41
Fig. 19. Comparación del comportamiento de biomasa inmovilizada sometida a 3 ciclos de sorción de cobre/desorción con HCl.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Límites máximos permisibles para contaminantes básicos.....	13
Tabla 2. Capacidad de retención de metal en biomasa libre después de un tratamiento con H ₂ O ₂ al 5% y digestión ácida.....	32
Tabla 3. Capacidad de retención de metal en biomasa inmovilizada después de un tratamiento con Na ₂ CO ₃ /NaHCO ₃ y digestión ácida.....	32
Tabla 4. Comportamiento de biomasa inmovilizada en contacto con distintos desorbentes.....	34

I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La acumulación de algunos contaminantes como los metales pesados en el ambiente ha provocado grandes riesgos a los que está expuesto el crecimiento saludable del mundo. Estos contaminantes, tales como cadmio, plomo, cromo, cobre, níquel y zinc, penetran al medio ambiente a través de desechos industriales, residuos de fábricas y, éstos a su vez entran en contacto con suelos y cuerpos de agua. Se ha encontrado que la exposición a la contaminación de metales pesados causa serios daños en órganos del cuerpo humano y anemia en bajas dosis, y en dosis altas, los metales pesados pueden ser carcinogénicos y teratogénicos [8].

El cadmio es un elemento altamente tóxico el cual, en humanos, puede causar serios daños a los riñones y huesos.

La toxicidad del cromo es tal que se encuentra en la lista de prioridad de contaminantes definida por la Agencia de Protección Ambiental en Estados Unidos. En el ambiente acuático puede existir cualquiera de sus formas hexavalente o trivalente. Y ambas, tienen una gran toxicidad crónica en peces [32]. Una vez dentro del organismo, el cromo llega a inmovilizarse como cromo trivalente y por tanto, tiende a acumularse [2,12].

Para humanos, el cobre es un elemento esencial y el cuerpo puede regular su nivel homeostáticamente, aunque grandes dosis pueden resultar dañinas y hasta mortales. Existe evidencia que sugiere que el cobre puede ser carcinogénico [30]. El cobre puede causar daños a una gran variedad de fauna acuática (peces e invertebrados). Además, el cobre es fitotóxico y ha sido utilizado como algicida y para controlar el crecimiento de algas [10].

El plomo es un metal tóxico en humanos, fauna acuática y animales. En el ambiente acuático, existe principalmente en el estado inorgánico divalente. También puede existir en el estado tetravalente [18,50]. Además, es otro metal que se acumula en tejidos del cuerpo, aunque es principalmente el plomo inorgánico el que tiene estas características. El plomo es considerado como un veneno acumulativo, los efectos de su toxicidad en humanos incluyen hipertensión y daño cerebral.

El níquel es muy similar al cobre en que este metal, en solución, no tiene serios efectos en humanos pero cuenta con una apreciable fitotoxicidad. Y por tanto, ha sido restringida su concentración en lodos como fertilizante para aplicarse en campos de agricultura. El níquel también puede ser dañino en algunas especies de peces [49].

El zinc es utilizado ampliamente, con mayor presencia en el ambiente acuático y puede provenir de manufactura de aleaciones, galvanizados y producción de papel [33]. Es uno de los metales pesados que se encuentra en todas partes, estando presente en la mayoría del agua natural, como la lluvia, pero no se percibe que cause serios daños a la salud humana. De cualquier modo, es fitotóxico y se limita su concentración en lodos aplicados a tierras para agricultura.

Existe un gran interés en la remoción de estos iones provenientes de suelos contaminados y desechos en cuerpos de agua principalmente por dos aspectos: el ecológico y el económico. En el aspecto ecológico se pretende que al remover estos iones en solución disminuya la toxicidad de algunos residuos industriales y puedan ser descargados a los ríos, sin dañar el medio ambiente; y en el aspecto económico, recuperar al metal para que posteriormente sea utilizado para fines prácticos evitando así la sobreexplotación de los recursos naturales.

Por todo lo anterior es necesario desarrollar una tecnología limpia, de bajo costo y de operación sencilla que pueda ser aplicada en la industria. Se han empleado métodos tradicionales para la remediación de aguas que consisten en remover metales pesados por filtración, floculación, carbón activado y resinas de intercambio iónico, aunque son difíciles de ser implantados [8].

Diferentes materiales biológicos pueden ser empleados como sorbentes para la eliminación y/o recuperación de metales pesados en solución basándose en propiedades de secuestro de metales, siendo tan eficientes como las resinas iónicas pero más baratos.

La biomasa microbiana puede retener iones metálicos por sorción "pasiva" y/o complejamiento. Este proceso es conocido como *biosorción*. La especie metálica llega a ser inmovilizada en la biomasa por determinado tiempo y bajo ciertas condiciones. Al modificar las condiciones el metal puede ser "desalojado", proceso conocido como *desorción* [45,46].

La biomasa microbiana, inactivada o no viva, puede servir como base para el desarrollo de potentes materiales biosorbentes para la concentración y recuperación de metales pesados estratégicos o muy costosos. Además es posible utilizar biomasa derivada de procesos de fermentación industrial. Los microorganismos presentan grupos funcionales en los cuales las especies metálicas se pueden ligar por distintos mecanismos. Muchas clases de biopolímeros microbianos, como las proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos, proveen sitios en los que el ion metálico se puede unir [45,46].

El mecanismo inicial para la unión de metales por microorganismos es una atracción electrostática entre iones metálicos cargados en solución y grupos funcionales cargados en la pared microbiana. Las paredes celulares están compuestas de macromoléculas con grupos funcionales (principalmente carboxilato, amino, imidazol, fosfato, sulfhidrilo y sulfato) que contribuyen una carga negativa neta para la superficie del microorganismo. Estos grupos funcionales permanecen activos aun cuando el microorganismo se encuentra sin vida. La unión electrostática es una reacción rápida y la estabilidad va a depender del tipo de unión entre el grupo funcional y el ion metálico. La unión del metal con los grupos funcionales de la pared celular es altamente dependiente de la química del agua, y de las características químicas del metal. Si las condiciones son excesivamente ácidas, los H^+ se unen preferentemente a sitios cargados negativamente, excluyendo la unión de metales pesados. Muchos metales pesados forman complejos cargados negativamente en ciertos valores de pH. Luego, a causa de que la carga neta en todas partes de la pared celular es negativa, estos compuestos aniónicos no se unen a la biomasa [20].

Una vez unidos a la pared celular, los metales pueden permanecer ahí o ser transportados activamente a través de la membrana celular por los microorganismos vivos. Este proceso, llamado bioacumulación, es mucho más lento que la unión electrostática, y requiere consumo de energía por el microorganismo. Aunque no entendido definitivamente, se cree que el mecanismo de transportación de metales pesados tóxicos dentro de la célula sea igual al mecanismo que los organismos usan para acumular metales esenciales como sodio, calcio y magnesio. Es probable que el mecanismo de transporte sea incapaz de diferenciar entre iones metálicos esenciales y metales tóxicos de radios atómicos y carga similares [20].

La capacidad metalosorbente en biomasa microbiana puede ser evaluada a través de isotermas de equilibrio experimental similares a las utilizadas para evaluar carbón activado. Se llevan a cabo poniendo en contacto una concentración diluida del material biosorbente con una serie de soluciones con concentraciones crecientes de metal soluble y se establece un equilibrio entre la concentración de metal sorbido y la concentración de metal que permanece en solución [48].

Algunas bacterias han sido estudiadas por la habilidad que presentan para remover metales.

En 1991, Scott y Palmer obtuvieron una cepa de *Klebsiella spp.* con capacidad para secuestrar metales mediante compuestos extracelulares [20].

En 1993, Beech y Chung aislaron bacterias reductoras de sulfato a partir de sedimento marino y estudiaron el efecto de del cromo, níquel y molibdeno en la producción de exopolímeros [4].

En 1995, Macaskiey y colaboradores probaron cepas de *Citrobacter sp.* para remoción de metales pesados [31].

En 1996, Valentine y Boltron aislaron cepas de *Bacillus simplex* y demostraron su capacidad sorbente de cationes divalentes de cadmio, cobalto, níquel y estroncio [43].

En 1997, Veglio y colaboradores estudiaron la biosorción de cobre, manganeso, níquel y plomo con cultivos de *Arthrobacter sp.* [44].

En 1998, Lee, Bradley y Tebo utilizaron esporas de cepas marinas de *Bacillus sp.* para remoción de cobre divalente [29].

Otros investigadores encontraron que cepas de *Pseudomonas maltophilia* y *Staphylococcus aureus* eran capaces de acumular 300 mg de plata por gramo de biomasa [20].

La inmovilización de la biomasa es una alternativa para aumentar su tiempo de vida útil. Las técnicas de inmovilización de células han sido clasificadas en tres categorías: adsorción, acoplamiento y atrapamiento; explicadas brevemente a continuación.

a).- Adsorción:

Esta técnica se basa en una interacción electrostática entre el soporte cargado y la célula cargada. El soporte cargado puede ser orgánico o inorgánico. Esta técnica es muy simple y no toma más de treinta minutos. Se debe enfatizar que la carga en la superficie de la célula cambia con la edad de la célula y el pH del medio. Tiene diversas ventajas comparada con otras técnicas: la célula permanece viva y su actividad enzimática no se ve afectada. La única desventaja de este método es que las interacciones electrostáticas son influenciadas por cambios en el pH que ocurren durante el mecanismo fúngico.

b).- Acoplamiento:

Esta técnica es muy diferente a adsorción y atrapamiento; se basa en la formación de enlaces covalentes entre el soporte activado y las células. Cada uno de los diversos agentes de acoplamiento (aminosilano, isocianato, carbodiimida, glutaraldehído) coloca un grupo específico en la superficie de la célula, el cual reacciona después con un grupo reactivo sobre la superficie de la célula. Sin embargo, los agentes de acoplamiento pueden dañar severamente las células.

c).-Atrapamiento:

Este método es el más extensamente investigado y utilizado. Los geles que han sido empleados son: agar, alginato, κ -carrageenan, pectato, poliacrilamida, resina epóxica, poliéster, poliestireno, y poliuretano. De estos, la poliacrilamida, el alginato y el κ -carrageenan han sido los más utilizados. En algunos casos el único mecanismo responsable para la inclusión de la célula es el atrapamiento mecánico. En otros casos, además del atrapamiento físico, se forman enlaces parciales covalentes entre la célula y el soporte, como es el caso del pectato y del gel κ -carrageenan. El atrapamiento utilizando gel de alginato es extremadamente económico, pero las dificultades surgen cuando niveles moderados de fosfato se encuentran presentes ya que tienden a romper la estructura del gel.

De estos tipos de inmovilización, la técnica de atrapamiento parece ser la que más ventajas presenta debido a que es simple, rápida y fácil de operar [11,24].

Se han desarrollado algunos sorbentes comerciales con microorganismos inmovilizados, utilizando diferentes agentes enlazantes:

- Polietilenimina y glutaraldehído para biomasa bacteriana (BIOCLAIM) aplicada en reactores de cama fija y fluidizada [6].
- Sílica gel para biomasa de algas (ALGASORB) utilizada en reactores de cama fija para remover metales en agua subterránea [20].
- Polisulfonatos y formaldehído (BIOFIX) para biomasa bacteriana, algica y flora acuática, utilizada en reactores de tanque agitado y en columnas de camas fijas y camas fluidizadas, para remoción de arsénico, cadmio, cobre, mercurio, plomo, magnesio y zinc [21].
- Espuma de poliuretano para inmovilización de algas en la remoción de cobalto [20].

El ciclo de secuestro del metal inmovilizado en el material sólido biosorbente tiene que continuar con otro ciclo en el cual el metal sea liberado logrando su mayor concentración. Esta parte del proceso, similar al de intercambio iónico, consiste en la elución del metal con un volumen de una solución apropiada, la cual regeneraría idealmente el biosorbente sin dañar su capacidad para un uso subsecuente [45,46].

Lo mencionado anteriormente se conoce como desorción. Este proceso consiste en romper los enlaces de los complejos formados entre la superficie cargada del microorganismo y los iones metálicos en solución. La superficie del microorganismo se encuentra cargada de aniones principalmente carboxilato, amino, imidazol, fosfato, sulfhidrilo y sulfato, los cuales forman enlaces con los iones metálicos en la superficie del microorganismo; al ponerse en contacto dicho microorganismo con una solución eluyente, ésta puede favorecer la ruptura de dichos enlaces por un efecto de sustitución en donde iones positivos provenientes de esta solución eluyente se depositan sobre la superficie del microorganismo dejando libres a los iones metálicos otra vez en solución para que puedan ser recuperados y tratados finalmente según sea el objetivo.

El biosorbente puede ser sometido a varias cargas de metal y reutilizarse en múltiples ciclos de biosorción/desorción. Para esto es necesario elegir adecuadamente la solución con la que se va a eluir el metal para que no lo dañe en forma significativa y mantenga su capacidad sorbente en varios ciclos, ya que se ha reportado que algunos tipos de biomasa se han reutilizado por 10 o más ciclos, utilizando la solución desorbente adecuada para dicho caso [45].

Como desorbentes se pueden utilizar una gran variedad de soluciones, pero cada una presenta diferentes efectos sobre la biomasa. La elección de la solución desorbente a utilizar y la eficiencia de los múltiples ciclos depende de los sitios activos presentes en la superficie de los biosorbentes, ya que los iones difieren según sea el tipo de biomasa. Otro de los aspectos importantes a considerar es el radio iónico del metal, el cual afecta considerablemente el proceso de sorción y por tanto el de desorción.

En 1983, se encontró que el bicarbonato de sodio era un eluente efectivo. Galun observó que el uranio fue desorbido con carbonato de amonio y carbonato de sodio de biomasa de *Penicillium* y *Rhizopus*. El ácido etilendiaminotetracético (EDTA) fue el eluente menos efectivo, pero incrementó la biosorción del uranio al doble para uso subsecuente [13,19,42].

La desorción de uranio de la biomasa de *Rhizopus arrizus* ha sido estudiada desde 1984 [41]. Los carbonatos han probado ser los mejores eluentes, mientras que los ácidos minerales, dañaron el biosorbente. Los resultados experimentales indicaron que prácticamente todo el uranio fue eluido de la biomasa con soluciones de carbonato, con altas relaciones (S/L) resultantes de eluentes con concentraciones de uranio en rangos de miles de miligramos por litro. El bicarbonato como eluente deja a la biomasa intacta con 90% de la capacidad original de biosorción del uranio [2,12].

En 1989, se trabajó con un biosorbente secuestrador de oro basado en alga marina *Sargassum natans* [28,47], la solución eluente más eficiente fue una mezcla de tiourea 0.1 mol-L^{-1} y sulfato férrico de amonio 0.02 mol-L^{-1} .

Otro sistema biosorbente cubierto con cobalto fue eluido exitosamente por Volesky y Kuyucak con una solución de CaCl_2 0.1 mol-L^{-1} [26,27].

En 1992, Gamham y colaboradores desorbieron cobalto, zinc y manganeso de *Chlorella salina* y otras algas con soluciones de HCl 0.1 mol·L⁻¹ [15,17].

En 1996, Gardea-Torresdey trabajó con biomasa de *Medicago sativa* (alfalfa) para la desorción de Cd(II), Cr(III), Cr(VI), Pb(II) y Zn(II). Se trató el sistema con soluciones de HCl 0.1 mol·L⁻¹, siendo removidos con mucho éxito el Cd(II) y Pb(II) más de un 99%, el Zn(II) casi un 70% y el Cr(III) sólo un 13.9%. Mientras tanto, el Cr(VI) no mostró algún tipo de reacción con la biomasa vegetal [14].

En 1997, Ling Tau Chuan trató la desorción de algunos metales (plomo, cadmio, cobre y aluminio) en biomasa cargada de *Rhizopus oligosporus* usando HCl y NaOH. La eficiencia en la desorción se vio incrementada al tratar con soluciones más concentradas de HCl y NaOH. El HCl resultó todavía más eficiente que el NaOH [9,15].

En 1998, un hongo aislado, *Cladosporium cladosporioides* fue usado en biosorción de oro en soluciones. Pethkar y Paknikar encontraron que el oro pudo ser removido de la solución en presencia de carbonato y agentes complejantes como citrato, sulfito y tiosulfato aunque con poca eficiencia [38].

En el mismo año, Zhao y Duncan trataron la desorción de cromato sorbido en *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada en formaldehído por la técnica de acoplamiento. Ellos utilizaron NaOH 0.1 mol·L⁻¹ obteniendo sólo un 5.2% de Cr(VI) y deterioro en la biomasa [52].

En 1999, Volesky junto con otros 2 investigadores, eluyó oro-cianida (AuCN₂) en presencia de L-cisteína de biomasa protonada *Bacillus subtilis*, *Penicillium chrysogenum* y *Sargassum fluitans* con soluciones de NaOH 0.1 mol·L⁻¹ a pH 3, 4 y 5. Siendo el oro eluido con una eficiencia excedente del 90% a pH 5 en las tres biomásas [35].

La capacidad de biosorción de Cu(II), Fe(II), Ni(II) y Zn(II) sobre cianobacteria *Phormidium laminosum* inmovilizada en polisulfonato y resinas epóxicas fue investigada por Blanco y tres colaboradores más [16]. El metal fue completamente desorbido de la biomasa con HCl 0.1 mol·L⁻¹. La biomasa pudo ser reutilizada, al menos, diez ciclos consecutivos de biosorción/desorción sin pérdida aparente de eficiencia después de reacondicionarla, haciendo lavados con NaOH 0.1 mol·L⁻¹ [5].

La biomasa de *Oscillatoria angustissima* mostró una gran capacidad biosorbente de Zn²⁺ en solución y fue comparada con una resina de intercambio iónico IRA-400C por Ahuja y dos colaboradores más. El zinc unido a la biomasa pudo ser atrapado usando EDTA 10 mmol·L⁻¹ y la biomasa fue usada eficientemente para múltiples ciclos de sorción/desorción lavándola entre cada uno con agua. La biomasa natural también pudo remover zinc de efluentes obtenidos en industrias mineras en la India [1].

Se estudió la biosorción de cobalto en un nuevo biosorbente, PFB1. Suhasini y tres investigadores más realizaron estudios de la desorción/readsorción en 3 ciclos con desorbentes ácidos, básicos y neutros y las desorciones más eficientes fueron de 92.5% y 70.5% al final del primer y tercer ciclo respectivamente, siendo obtenidos estos valores con HCl 0.1 mol·L⁻¹ como desorbente [40].

En 2001, Jianlong investigó la remoción de plomo en biomasa fúngica *Aspergillus niger* proveniente de desechos en la industria de la fermentación del ácido. La biomasa pudo ser regenerada eficientemente un 93% utilizando HNO₃ 0.1 mol·L⁻¹ [22].

Kratochvil ha trabajado en la biosorción de cromato de biomasa *Sargassum siliquosum*. Él encontró que la condición óptima para la sorción del mismo es muy cerca a pH 2. El cromato unido a la biomasa fue difícil de desorber utilizando H₂SO₄ 0.2 mol·L⁻¹ sin reducir primero el Cr(VI) a Cr(III) [7,25,51].

Klimmek estudió la biosorción de una mezcla de cadmio, plomo, níquel y zinc realizada en biomasa de *C. vulgaris*. La competencia de los protones por los sitios activos de la superficie de la célula redujo la cantidad de metal sorbida a bajos valores de pH, pero más del 90% de los metales pudieron ser desorbidos a pH 1 utilizando HCl 0.1 mol-L⁻¹ [23].

Para determinar la concentración de metal se recomiendan las técnicas de colorimetría y la Espectroscopia por Absorción Atómica (AAS). Esta última se emplea en la determinación cualitativa y cuantitativa de aproximadamente 70 elementos. Además, es sensible, precisa, exacta y no genera residuos.

El uso de biosorbentes en la industria representa una gran importancia para el estado de Nuevo León debido a la gran variedad de industrias que generan residuos con metales pesados, algunos de los cuales son vertidos, insuficientemente purificados, a los ríos que posteriormente abastecen las presas que suministran de agua potable en el estado (25% de la misma se encuentra contaminada por sustancias que resultan nocivas [34,37]). Por todo esto, el gobierno mexicano ha declarado el asunto del agua como un importante problema por resolver [34].

Existen tratamientos para aguas residuales industriales en los que la concentración de metales es reducida pero a niveles que aún son tóxicos, ya que los tratamientos químicos resultan ineficientes para remover metales cuando se encuentran en concentraciones bajas. Por lo tanto en esta investigación se estudian biosorbentes como una alternativa de tratamiento secundario o terciario del agua para reducir la concentración de metal a niveles dentro de los límites permitidos, de acuerdo a la normatividad. Este es el caso de la norma oficial mexicana NOM-001-ECOL-1996, la cual dice que: la concentración de contaminantes básicos, **metales pesados** y cianuros para las descargas de aguas residuales a aguas y bienes nacionales, no debe exceder el valor indicado como límite máximo permisible de dicha norma. El rango permisible del potencial hidrógeno (pH) es de 5 a 10 unidades. Dichos valores se ilustran en la Tabla 1 [36].

TABLA. 1. LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA CONTAMINANTES BÁSICOS [36]

PARAMETROS (*)	RIOS						EMBALSES NATURALES Y ARTIFICIALES						AGUAS COSTERAS						SUELO		HUMEDALES NATURALES (B)	
	Uso en riego agrícola (A)		Uso público urbano (B)		Protección de vida acuática (C)		Uso en riego agrícola (B)		Uso público urbano (C)		Explotación pesquera, navegación y otros usos (A)		Recreación (B)		ESTUARIOS (B)		Uso en riego agrícola (A)					
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.
Arsénico	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2
Cadmio	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2
Cianuro	2.0	3.0	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0	1.0	2.0
Cobre	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0
Cromo	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0
Mercurio	0.01	0.02	0.005	0.01	0.005	0.01	0.01	0.02	0.005	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.005	0.01	0.005	0.01	0.005	0.01
Níquel	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4
Plomo	0.5	1	0.2	0.4	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	0.5	1
Zinc	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20

NOM-001-ECOL-1996 publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de enero de 1997.

(*) Medidos de manera total.

P.D. = Promedio Diario P.M. = Promedio Mensual N.A. = No es aplicable
 (A), (B) y (C): Tipo de Cuerpo Receptor según la Ley Federal de Derechos.

II. HIPÓTESIS

La biomasa de *Bacillus* y *Enterobacter* libre e inmovilizada en alginato de calcio tiene capacidad para sorber varias cargas de soluciones de los metales: Pb(II), Ni(II), Cu(II), Cd(II), Cr(VI) y Zn(II), los cuales pueden ser posteriormente recuperados en solución tratando adecuadamente el biosorbente.

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad de sorción de los metales Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{6+} y Zn^{2+} en biomasa bacteriana de *Bacillus* y de *Enterobacter* libre e inmovilizada en alginato de calcio y determinar si es posible la recuperación del metal de ambos sorbentes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Valorar la sorción de la biomasa libre e inmovilizada en alginato de calcio de *Bacillus* sometida a varias cargas de soluciones de cada uno de los metales $Pb(II)$, $Ni(II)$, $Cu(II)$, $Cd(II)$, $Cr(VI)$ y $Zn(II)$ y determinar los porcentajes de retención de los metales.
2. Valorar la sorción de la biomasa libre e inmovilizada en alginato de calcio de *Enterobacter* sometida a varias cargas de soluciones de cada uno de los metales $Pb(II)$, $Ni(II)$, $Cu(II)$, $Cd(II)$, $Cr(VI)$ y $Zn(II)$ y determinar los porcentajes de retención de los metales.
3. Determinar la concentración total final de cada metal retenida en biomasa libre e inmovilizada.
4. Tratar la biomasa para recuperar el metal.
5. Comparar los resultados obtenidos de los cuatro biosorbentes utilizados.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Reactivos

- Agua desionizada y bidestilada
- Ácido nítrico (HNO_3) al 3 %
- Ácido nítrico (HNO_3) al 10 %
- Ácido clorhídrico (HCl) $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.4 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ y $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Hidróxido de sodio (NaOH) $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Carbonato de sodio (Na_2CO_3) $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Bicarbonato de sodio (NaHCO_3) $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Solución saturada de $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$
- Estándar de referencia de plomo marca RICCA Chemical Co.
- Estándar de referencia de cobre marca RICCA Chemical Co.
- Estándar de referencia de cadmio marca RICCA Chemical Co.
- Estándar de referencia de níquel marca RICCA Chemical Co.
- Estándar de referencia de cromo marca RICCA Chemical Co.
- Estándar de referencia de zinc marca RICCA Chemical Co.

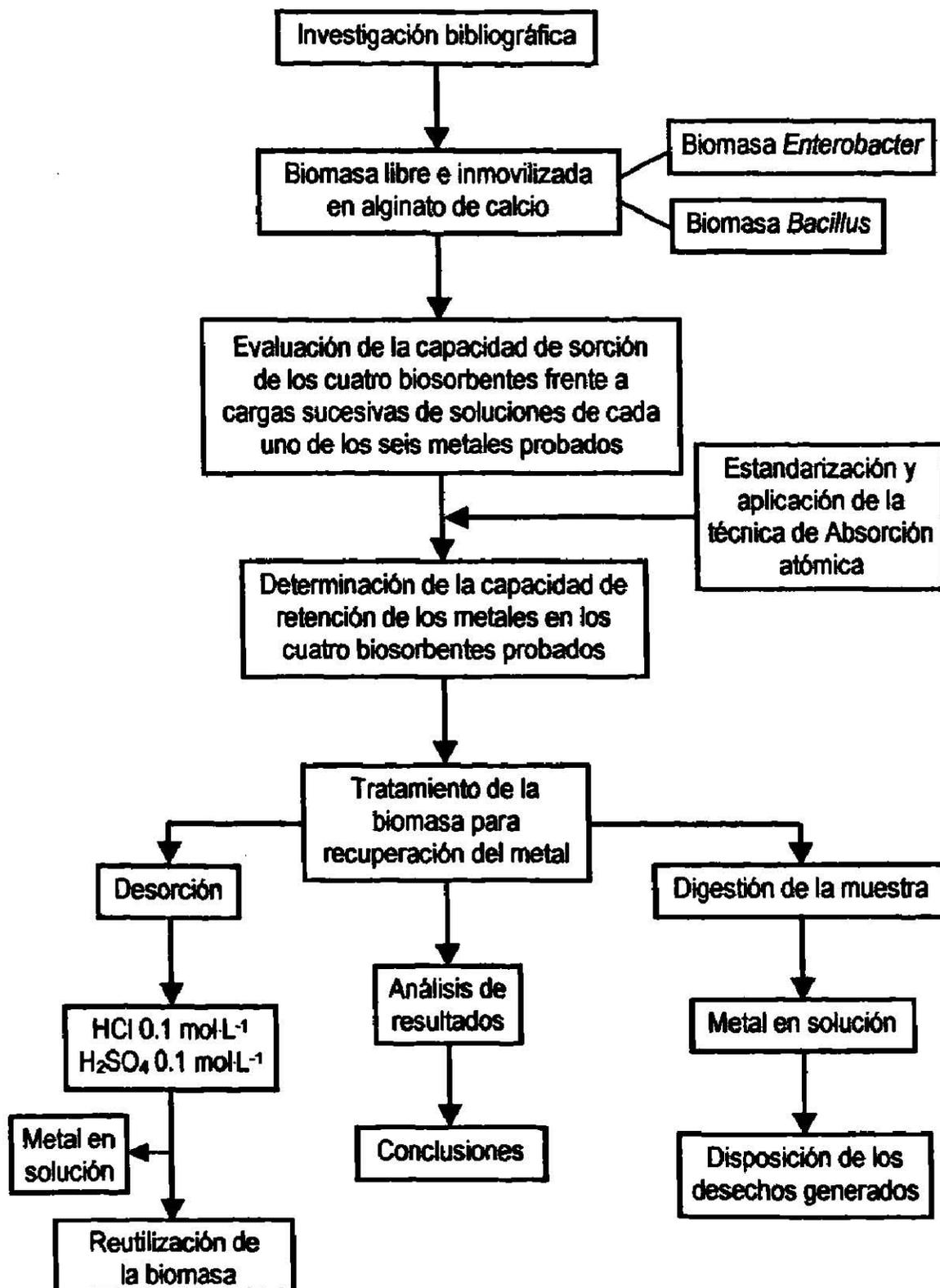
4.1.1 Biomasa bacteriana

Para la realización de este trabajo la biomasa bacteriana de los géneros *Bacillus* y *Enterobacter* fue proporcionada tanto en forma libre como inmovilizada por el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. El género *Bacillus* fue aislado de sedimentos de un río en la zona metropolitana de la ciudad de Monterrey, y el género *Enterobacter* del drenaje de una industria refresquera en la ciudad de Monterrey. Cabe mencionar que los microorganismos utilizados fueron aislados y seleccionados por presentar alta resistencia a la presencia de metales y capacidad de sorción de los mismos. La biomasa fue producida en fermentadores de 14 L, posteriormente se trató hasta obtener un polvo fino. La inmovilización de la biomasa en alginato de calcio se realizó por la técnica de atrapamiento en matrices poliméricas, obteniéndose esférulas de tamaño uniforme.

4.2 Equipo

- Espectrofotómetro de absorción atómica. GBC modelo 932 AA
- Potenciómetro ORION modelo 720 A
- pH-metro Conductronic 120
- Agitador
- Parrilla de calentamiento con agitación magnética
- Frascos de polipropileno

4.3 Metodología



4.4 Procedimientos realizados

4.4.1 Valoración de la sorción de plomo(II), cobre(II), níquel(II), cadmio(II), zinc(II) y cromo (VI) en los cuatro tipos de sorbentes utilizados: biomasa de *Bacillus*, libre e inmovilizada en alginato de calcio y biomasa de *Enterobacter*, libre e inmovilizada en alginato de calcio, sometida a varias cargas sucesivas de metales

0.2 g de cada uno de los biosorbentes fueron puestos en contacto con soluciones de 50 mg·L⁻¹ de cada uno de los metales: plomo(II), cobre(II), níquel(II), cadmio(II), zinc(II) y cromo (VI), durante 2 h a 120 rpm, a temperatura ambiente. Posteriormente la suspensión fue filtrada y el sobrenadante fue analizado por Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS) a fin de determinar la concentración de metal residual. Para determinar la máxima sorción de cada uno de los metales en la biomasa antes mencionada, el proceso fue repetido hasta 8 veces. La concentración de equilibrio de los metales fue determinada al final de cada carga. La concentración total de metal en la biomasa fue determinada después de las ocho cargas de metal.

4.4.2 Capacidad de retención de metal en biomasa libre e inmovilizada en alginato de calcio

La biomasa libre de los dos microorganismos sometida a las ocho cargas sucesivas de metal fue digerida con H₂O₂ y HNO₃ para eliminar interferencias de materia orgánica y posteriormente se determinó la concentración total final de cada metal por AAS.

La biomasa inmovilizada de ambos géneros, producto de la sorción de las ocho cargas de metal, fue tratada con 50 mL de solución $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ para disolver el pellet y después se realizó una digestión ácida. Finalmente se determinó la concentración total final de metal contenido por AAS.

4.4.3 Tratamiento de la biomasa para recuperación del metal

4.4.3.1 Desorción

La biomasa conteniendo metales fue puesta en contacto con soluciones de HCl, H_2SO_4 , NaOH y Na_2CO_3 todas a una concentración de $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, por un tiempo de 3 horas a temperatura ambiente, a 120 rpm. Se determinó la concentración de metal en cada solución por AAS y se observó el efecto de cada desorbente sobre la biomasa a fin de no deteriorarla y poder reutilizarla. Y biomasa inmovilizada sin metal fue puesta en contacto con los mismos desorbentes a igual concentración para ver el comportamiento de la biomasa frente a ellos.

4.4.3.1.1 *Efecto de la concentración de ácido clorhídrico en la desorción de metales sobre biomasa bacteriana libre e inmovilizada*

El experimento se realizó con 10 mg de biomasa inmovilizada y 10 mg de biomasa libre *Enterobacter* y *Bacillus*. La biomasa conteniendo metal con concentración conocida fue puesta en contacto con soluciones de HCl a concentraciones de $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.4 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, y $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, a 120 rpm por 3 h a temperatura ambiente. Posteriormente la biomasa fue filtrada y la concentración de metal residual se determinó por AAS.

4.4.3.1.2 Reutilización de la biomasa

Se realizaron 3 ciclos de sorción/desorción para analizar el comportamiento de la biomasa y el curso de la desorción con HCl $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Se trabajó con 20 pellets de biomasa bacteriana inmovilizada por experimento. Los pellets se pusieron en contacto con una solución de metal a concentración de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, por 2 h a 120 rpm a temperatura ambiente, al término de este tiempo se filtró la biomasa y el metal residual se determinó por AAS. La biomasa filtrada se lavó con agua desionizada y se puso en contacto con el HCl, se colocó en un agitador por 2 h a 120 rpm a temperatura ambiente y al término de este tiempo se filtró para completar el ciclo, la concentración del metal recuperado en la solución se determinó por AAS. La biomasa fue reutilizada hasta completar tres ciclos de sorción/desorción.

4.4.3.2 Digestión de la biomasa con metal

La biomasa con metal fue digerida para recuperar el metal sorbido. La biomasa-metal libre de cada género se suspendió en 5 mL de agua desionizada, se le adicionó una solución de H_2O_2 al 5% y HNO_3 concentrado en relación 5:1. La mezcla se evaporó hasta aproximadamente un volumen de 1 mL, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se completó hasta 10 mL con HNO_3 al 3% para luego filtrar y obtener la solución de metal recuperado de la biomasa.

La biomasa-metal inmovilizada de ambos géneros fue tratada con 50 mL de solución $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ para disolver el pellet. Después, se le agregaron 5 mL de HNO_3 concentrado para posteriormente evaporarla a 5 mL. Finalmente, la muestra se completó hasta 10 mL con HNO_3 al 3%, se filtró, quedando en el filtrado el metal en solución recuperado de la biomasa.

4.4.4 Determinación analítica de las muestras

La técnica empleada para la determinación de la concentración del metal en todas las muestras resultantes de cada experimento fue Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS). Las muestras obtenidas fueron tratadas con el fin de eliminar las interferencias y los residuos de materia orgánica presentes en la matriz.

Se elaboraron las curvas de calibración de cada metal, se midió la absorbancia de las muestras y se determinó la concentración del metal en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

La espectroscopia por absorción atómica se basa en la absorción, emisión o fluorescencia por átomos o iones elementales. Los espectros atómicos se obtienen mediante un tratamiento térmico adecuado que convierte los componentes de una muestra en átomos o iones elementales gaseosos. La emisión, absorción, o fluorescencia de la mezcla gaseosa resultante sirve a continuación para la determinación cualitativa y cuantitativa de uno o varios elementos presentes en la muestra.

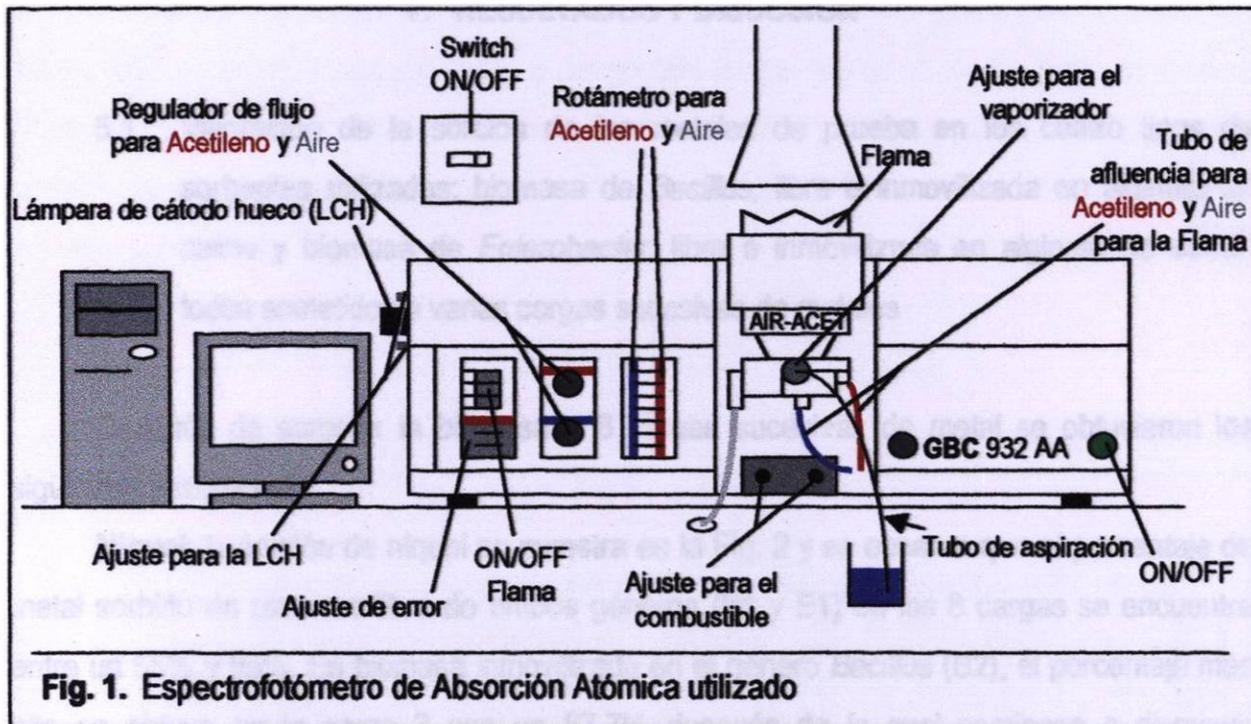
El proceso por el cual la muestra se convierte en un vapor atómico se denomina atomización. La muestra entra al atomizador de manera continua a una velocidad constante, de modo que la señal espectral es constante con el tiempo. Los espectros de absorción atómica obtenidos, constan predominantemente de líneas de resonancia que son el resultado de transiciones del estado fundamental a niveles superiores. En la atomización con llama una disolución de la muestra se pulveriza en una llama mediante un nebulizador, el cual transforma la disolución de la muestra en un aerosol constituido por gotas del líquido, el cual atraviesa por una serie de procesos que lo transforman en una mezcla de átomos del analito, iones del analito, moléculas de la muestra, moléculas del óxido del analito, etc.

El aerosol se mezcla con el combustible y pasa por una serie de deflectores donde se eliminan una serie de gotitas que no son muy finas; el aerosol, el oxidante y el combustible se queman en un quemador provisto de una ranura que produce una llama que por lo general es de 5 a 10 cm de longitud.

La fuente de radiación más común para las medidas de absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco, que consiste en un ánodo de tungsteno y un cátodo cilíndrico cerrados herméticamente dentro de un tubo de vidrio lleno con neón o argón a una presión de 133 a 666 Pascales (Pa) aproximadamente. El cátodo está construido con el metal cuyo espectro se desea obtener.

La absorción de la radiación proveniente de la lámpara de cátodo hueco por parte de la mezcla gaseosa en el interior de la llama es medida por un detector. De acuerdo con la Ley de Beer: $A = \epsilon \cdot b \cdot c$; en donde ϵ es la absorptividad molar y se expresa en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, b es la longitud de la trayectoria de la radiación en cm y c es la concentración en $mol \cdot L^{-1}$; dada en esta absorción de radiación es proporcional a la cantidad de analito presente. La característica de la lámpara de cátodo hueco es que emite radiación en una longitud característica para cada elemento, por lo cual la absorción de la radiación es debida a la cantidad de iones de ese metal presente.

En teoría, las medidas de absorción atómica habrían de cumplir la Ley de Beer, siendo la absorbancia directamente proporcional a la concentración. Sin embargo, se encuentran desviaciones de la linealidad, y es arriesgado realizar un análisis de absorción atómica sin revisar si existe o no linealidad, por consiguiente se debe realizar una curva de calibración que cubra el intervalo de concentraciones que se encuentran en la muestra [3,39].



4.4.5 Disposición de los desechos generados

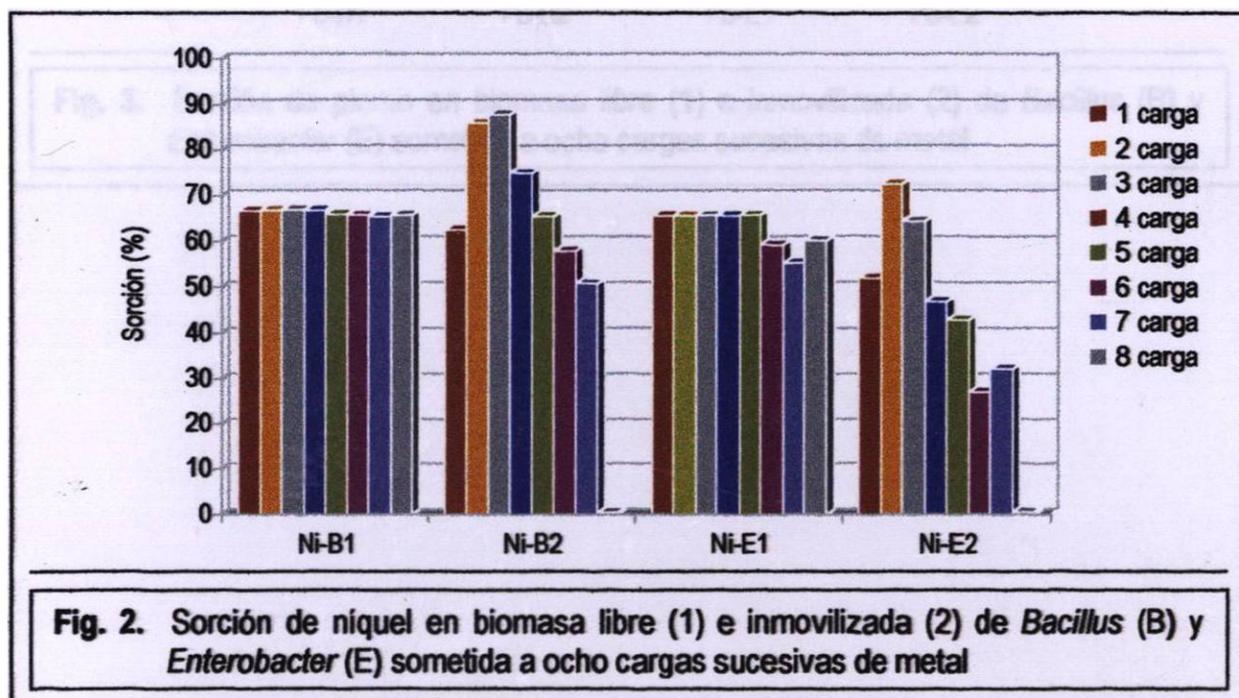
Los desechos generados fueron soluciones de metal y biomasa con metal. Las soluciones de metal fueron neutralizadas y posteriormente colectadas al contenedor E de tóxicos-cancerígenos-inorgánicos. La biomasa fue tratada para recuperar el metal en solución.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

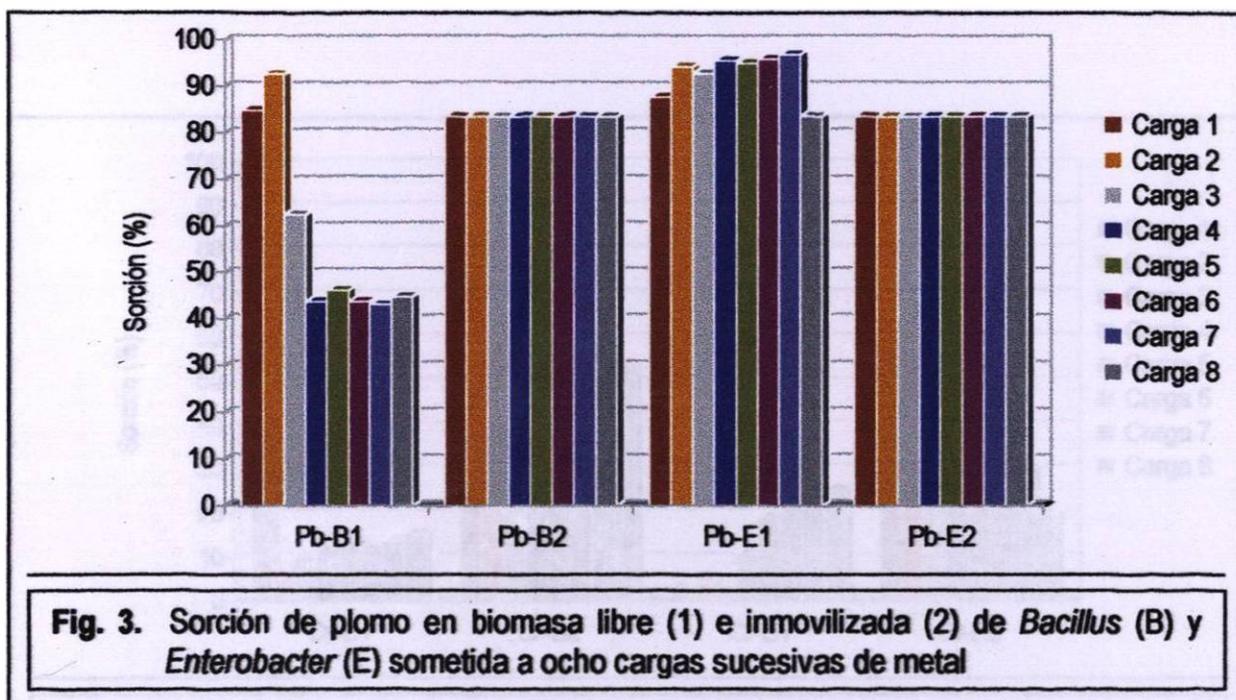
5.1 Valoración de la sorción de los metales de prueba en los cuatro tipos de sorbentes utilizados: biomasa de *Bacillus*, libre e inmovilizada en alginato de calcio y biomasa de *Enterobacter*, libre e inmovilizada en alginato de calcio, todos sometidos a varias cargas sucesivas de metales

Después de someter la biomasa a 8 cargas sucesivas de metal se obtuvieron los siguientes resultados.

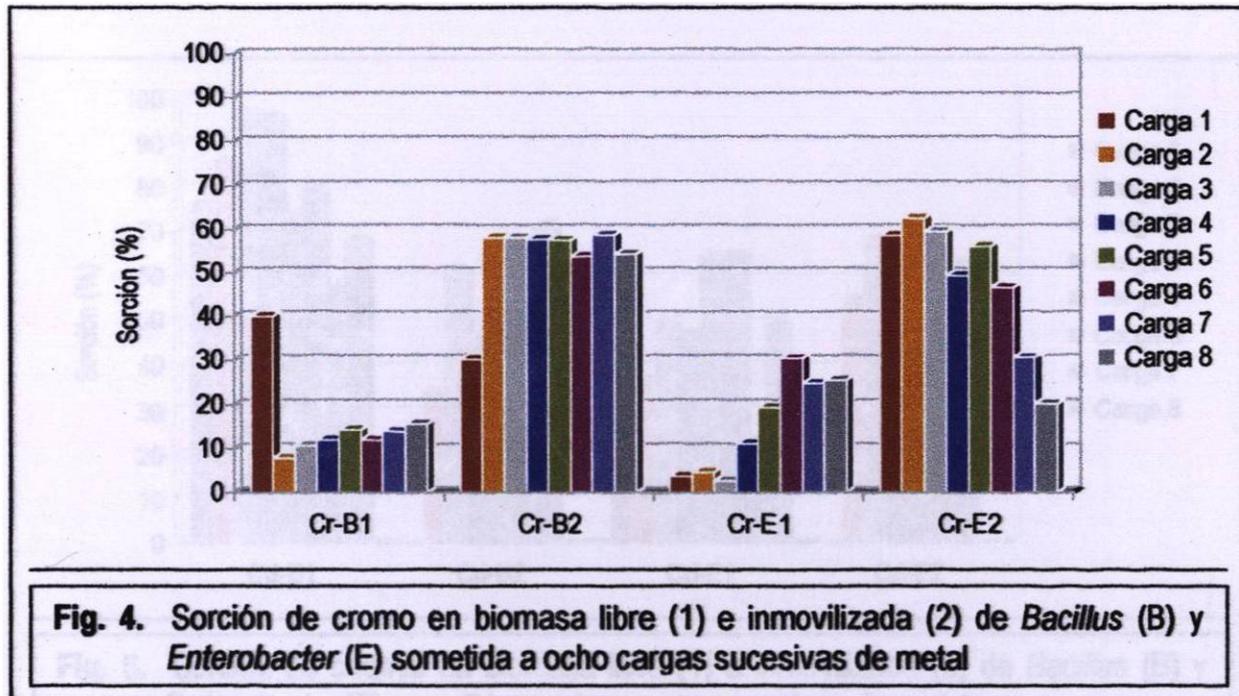
Níquel: la sorción de níquel se muestra en la Fig. 2 y se observa que el porcentaje de metal sorbido en biomasa libre de ambos géneros (B1 y E1) en las 8 cargas se encuentra entre un 55% y 65%. En biomasa inmovilizada en el género *Bacillus* (B2), el porcentaje más alto se obtuvo en la carga 3 con un 87.7% después de la cual comienza a disminuir lentamente la concentración de metal sorbido hasta terminar en 50% aproximadamente y en el género *Enterobacter* (E2), las cargas en que se presentó mayor sorción fueron de la 1 a la 5 con aproximadamente 65%.



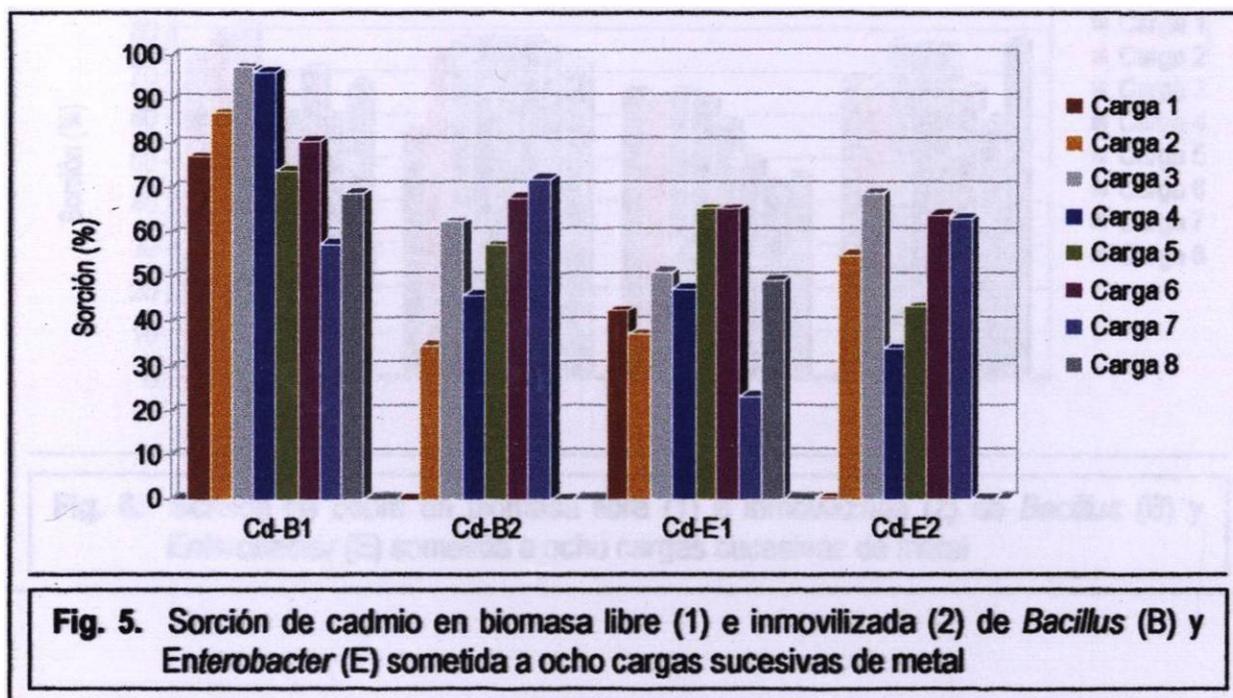
Plomo: La Fig. 3 muestra que la sorción en biomasa libre del género *Bacillus* (B1) fue mayor en la carga 2 con un 93% y luego disminuye hasta un 43%. Para el género *Enterobacter* (E1) los porcentajes fueron de 83.7 a 97% y el más alto se observó en la carga 7. En biomasa inmovilizada para los dos géneros (B2 y E2) la sorción fue de 83.7% en las ocho cargas.



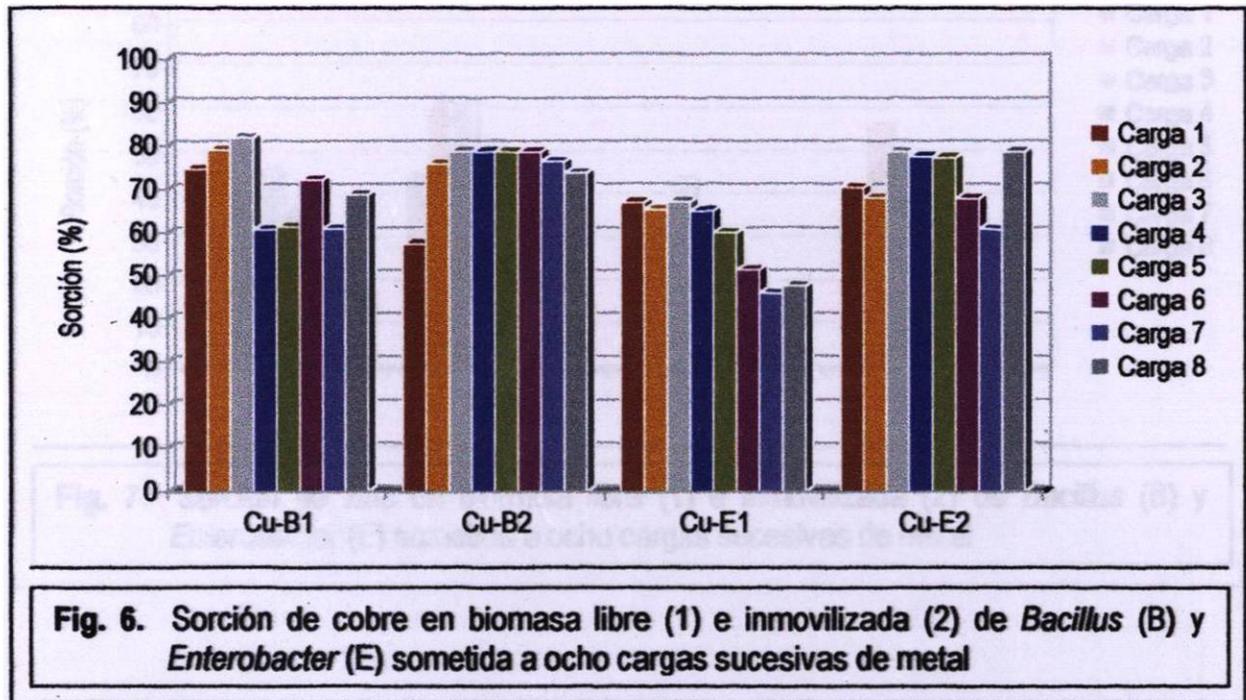
Cromo: la Fig. 4 muestra que en biomasa libre de *Bacillus* (B1) la sorción más alta fue en la carga 1 con 40%, luego disminuyó hasta 8% y al final se mantuvo entre un 10 y 15% las cargas restantes, y en *Enterobacter* (E1), el mayor porcentaje de sorción se observó en la carga 6 con un 30%. En biomasa inmovilizada de *Bacillus* (B2), la sorción se mantuvo entre 50 y 60% a excepción de la carga 1, y en *Enterobacter* (E2), se observó que el mayor porcentaje de metal sorbido ocurrió en la carga 2 (62.8%), después se mantuvo entre 50 y 60% las siguientes 4 cargas y en las últimas 2 disminuyó hasta un 30 y 20%.



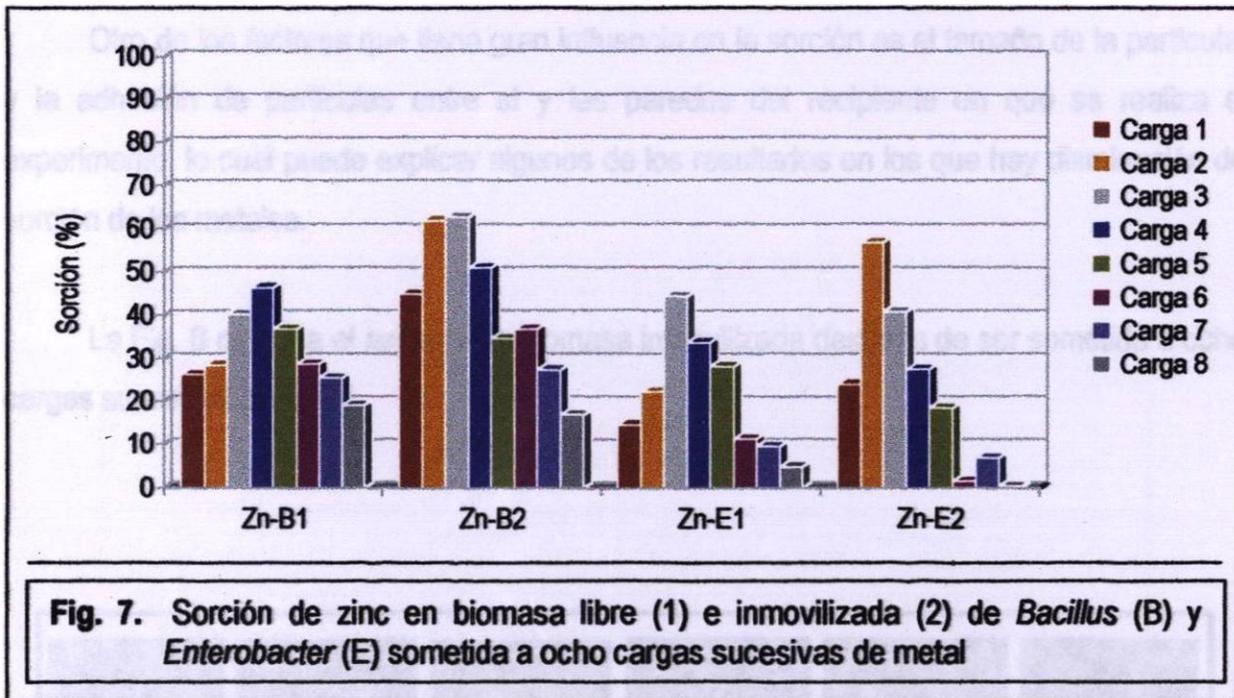
Cadmio: la Fig. 5 muestra que las sorciones en biomasa libre de *Bacillus* (B1) fueron de 97 y 96% en las cargas 3 y 4 respectivamente y disminuyeron a 50 y 60% en las últimas 4 cargas de metal. En *Enterobacter* (E1) la mayor sorción fue de 65% en las cargas 5 y 6. En biomasa inmovilizada de *Bacillus* (B2) se notó que el mayor porcentaje de metal sorbido ocurrió en la carga 7 con un 72% y que en las 2 primeras cargas la remoción del metal fue menor. En el género *Enterobacter* (E2) el mayor porcentaje de sorción ocurrió en la carga 3 con un 69%, luego disminuyó notoriamente en las siguientes 2 cargas hasta un 33% y al final aumentó de nuevo hasta un 64 y 63% en las cargas 6 y 7 respectivamente.



Cobre: La Fig. 6 muestra que la mayor sorción de cobre en biomasa libre de *Bacillus* (B1) fue de 82% en la carga 3 y en *Enterobacter* (E1) de 65% en las primeras 4 cargas y después disminuyó hasta un 47%. En biomasa inmovilizada de *Bacillus* (B2) la mayor sorción fue de 78.7% entre las cargas 3 y 6 y en *Enterobacter* (E2), ocurrió un máximo de sorción con un 77.6% en las cargas 4 y 5 y luego disminuyó hasta un 60% y terminó en 78% en la carga 8.



Zinc: En la Fig. 7 se muestra que la mayor sorción en biomasa libre de *Bacillus* (B1) fue de 46.5% en la carga 4 y en *Enterobacter* (E1) fue de 44.6% en la carga 3. En biomasa inmovilizada de *Bacillus* (B2) el mayor porcentaje fue 61% en la carga 3 y en *Enterobacter* (E2), fue de casi 60% en la carga 2.



Como se puede observar en los resultados anteriores la biomasa inmovilizada en la mayoría de los casos presenta mayor sorción que la biomasa libre lo cual puede explicarse ya que el alginato presenta sitios adicionales para la unión de los metales. Además la diferencia de composición química de la pared celular de las bacterias utilizadas afecta su capacidad de sorción de metales ya que es distinta la disponibilidad y tipos de grupos funcionales presentes en su estructura.

Otro de los factores que tiene gran influencia en la sorción es el tamaño de la partícula, y la adhesión de partículas entre sí y las paredes del recipiente en que se realiza el experimento, lo cual puede explicar algunos de los resultados en los que hay disminución de sorción de los metales.

La Fig. 8 muestra el aspecto de biomasa inmovilizada después de ser sometida a ocho cargas sucesivas de metal.



5.2 Capacidad de retención de metal en biomasa libre e inmovilizada en alginato de calcio

En las tablas 2 y 3 se muestra que la capacidad de retención de metal en biomasa de *Bacillus* tanto libre como inmovilizada es mayor que en biomasa de *Enterobacter* para todos los metales excepto para plomo. Estas diferencias pueden deberse a la composición de la pared celular entre las dos bacterias ya que una es Gram positiva (*Bacillus*) y la otra es Gram negativa (*Enterobacter*).

Tabla 2. Capacidad de retención de metal ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en biomasa libre después de un tratamiento con H_2O_2 al 5% y digestión ácida

Metal	Biomasa <i>Bacillus</i>	Biomasa <i>Enterobacter</i>
Ni	281.5	268.1
Pb	141.7	201.1
Cr	43.6	41.0
Cd	211.8	203.3
Cu	217.9	166.0
Zn	121.1	109.3

Tabla 3. Capacidad de retención de metal ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en biomasa inmovilizada después de un tratamiento con $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ y digestión ácida

Metal	Biomasa <i>Bacillus</i>	Biomasa <i>Enterobacter</i>
Ni	323.1	262.0
Pb	216.9	188.7
Cr	198.5	102.2
Cd	103.1	98.9
Cu	76.14	41.6
Zn	133.8	90.1

Los resultados muestran una buena capacidad de retención en la mayoría de los casos. Sin embargo, se observa que los resultados de cobre en la biomasa inmovilizada no fueron los esperados de acuerdo a los resultados del experimento anterior. Esto puede deberse a un tratamiento inadecuado de la muestra.

5.3 Tratamiento de la biomasa para recuperación del metal

5.3.1 *Desorción del metal de la biomasa*

La desorción es una de las formas de recuperar el metal, con la ventaja de que la biomasa puede ser reutilizada, siempre y cuando se utilice el desorbente adecuado.

Las soluciones probadas para eluir el metal de la biomasa mostraron marcadas diferencias, tanto en su capacidad de desorción como en su efecto sobre la biomasa. En la Tabla 4 se encuentran los resultados del comportamiento de la biomasa inmovilizada frente a los diferentes desorbentes. Las soluciones alcalinas no fueron apropiadas ya que destruyeron el pellet de biomasa inmovilizada mientras que los desorbentes ácidos no la dañaron. En la Fig. 9 se observa que bajo las condiciones probadas, el HCl resultó ser mejor desorbente que el H₂SO₄ en todos los casos, especialmente para plomo, cobre y zinc; no obstante, la eficiencia de la desorción fue baja, por lo que se probaron diferentes concentraciones de HCl.

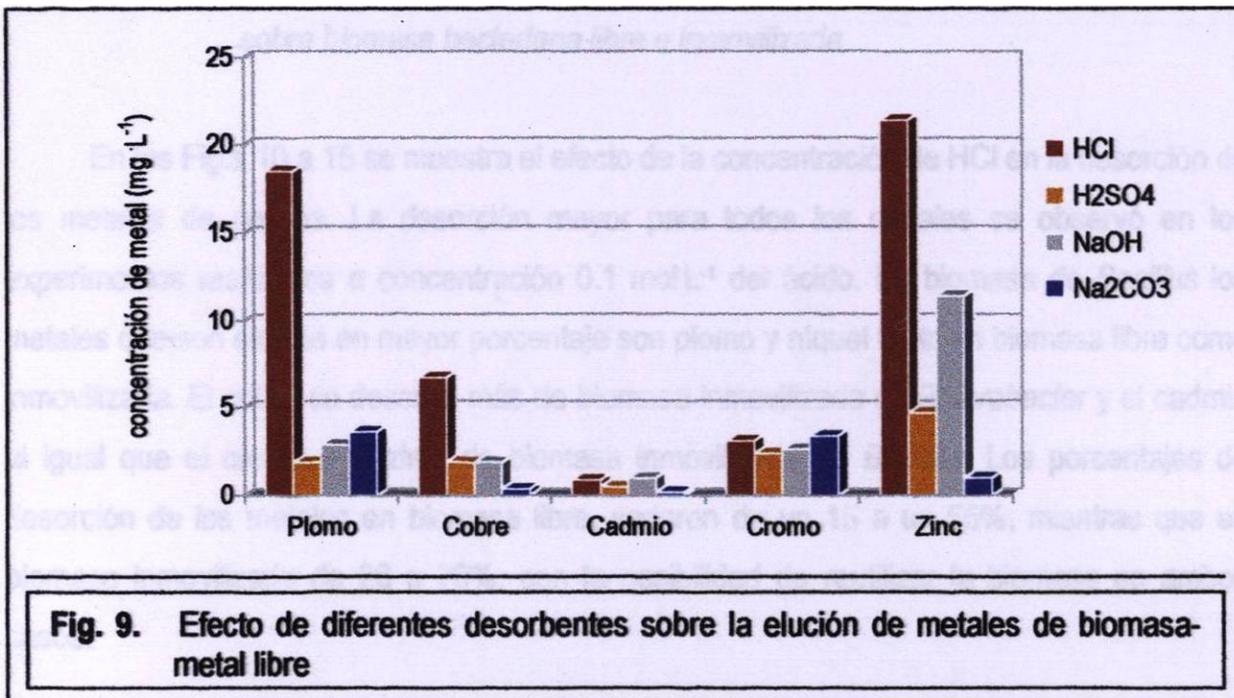
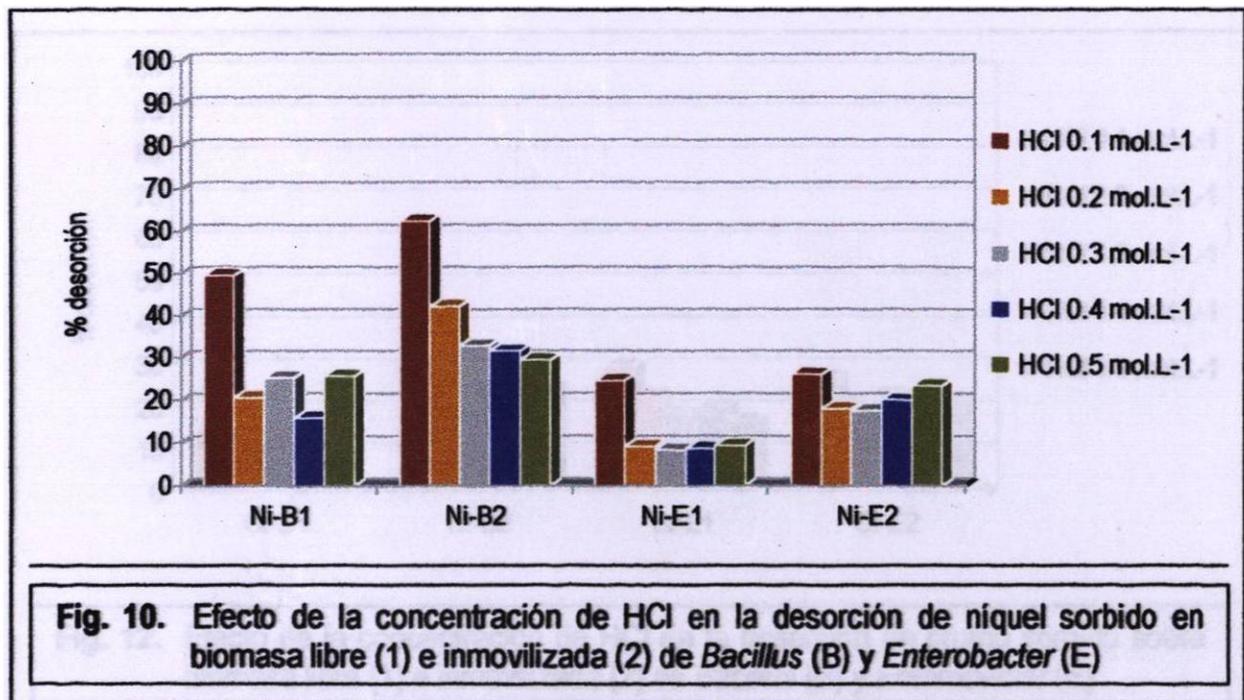


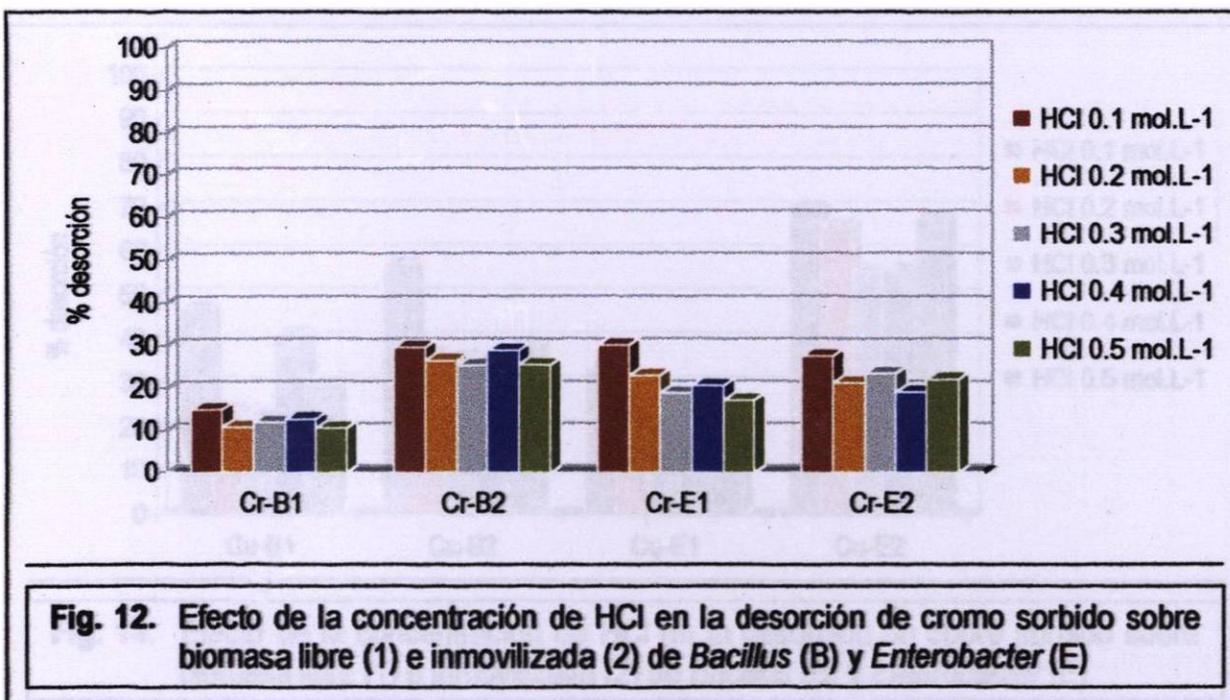
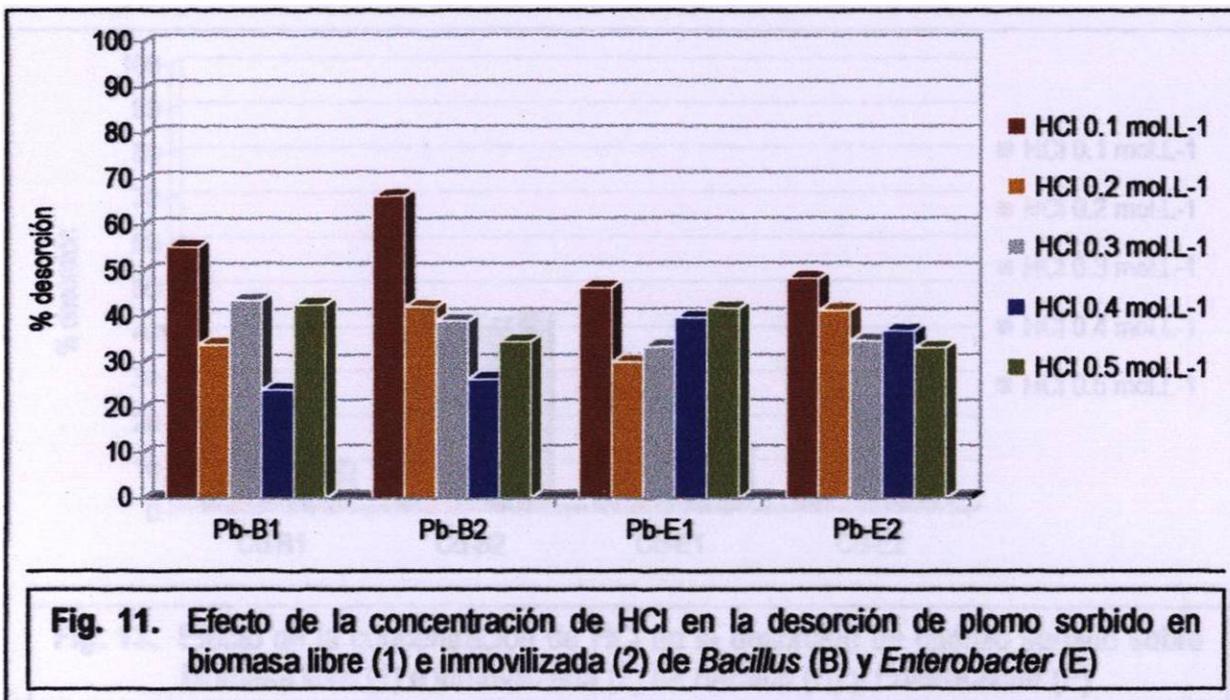
Tabla 4. Comportamiento de biomasa inmovilizada en contacto con distintos desorbentes

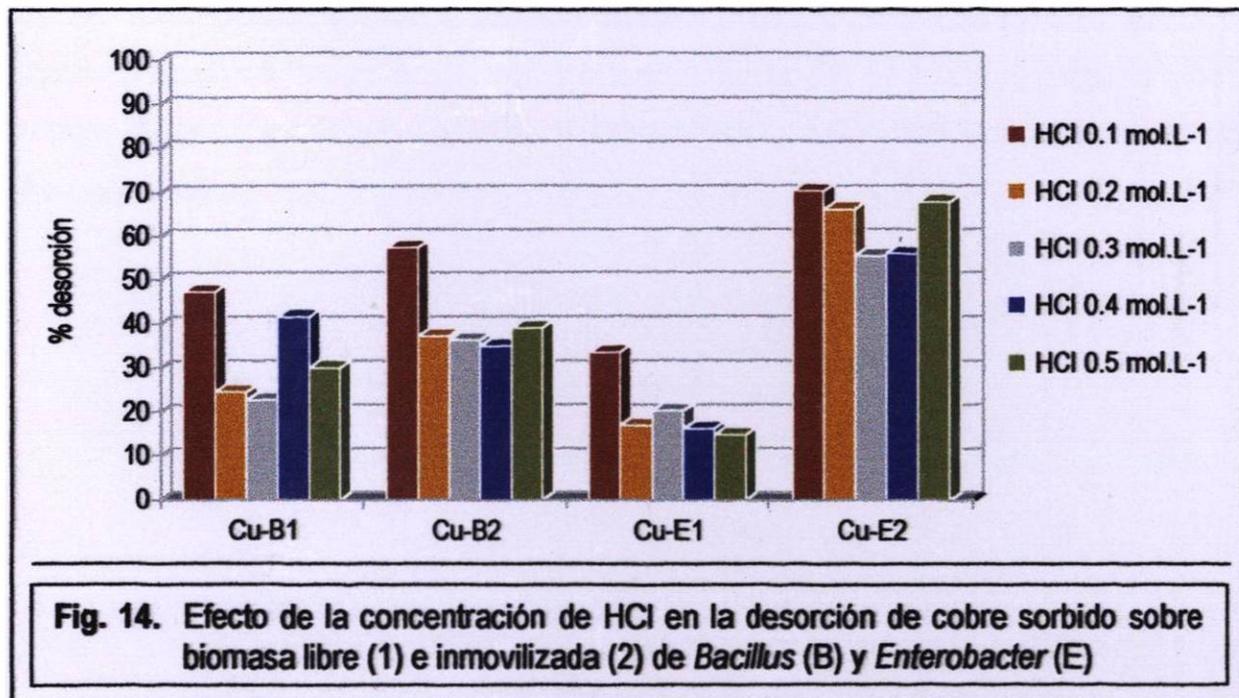
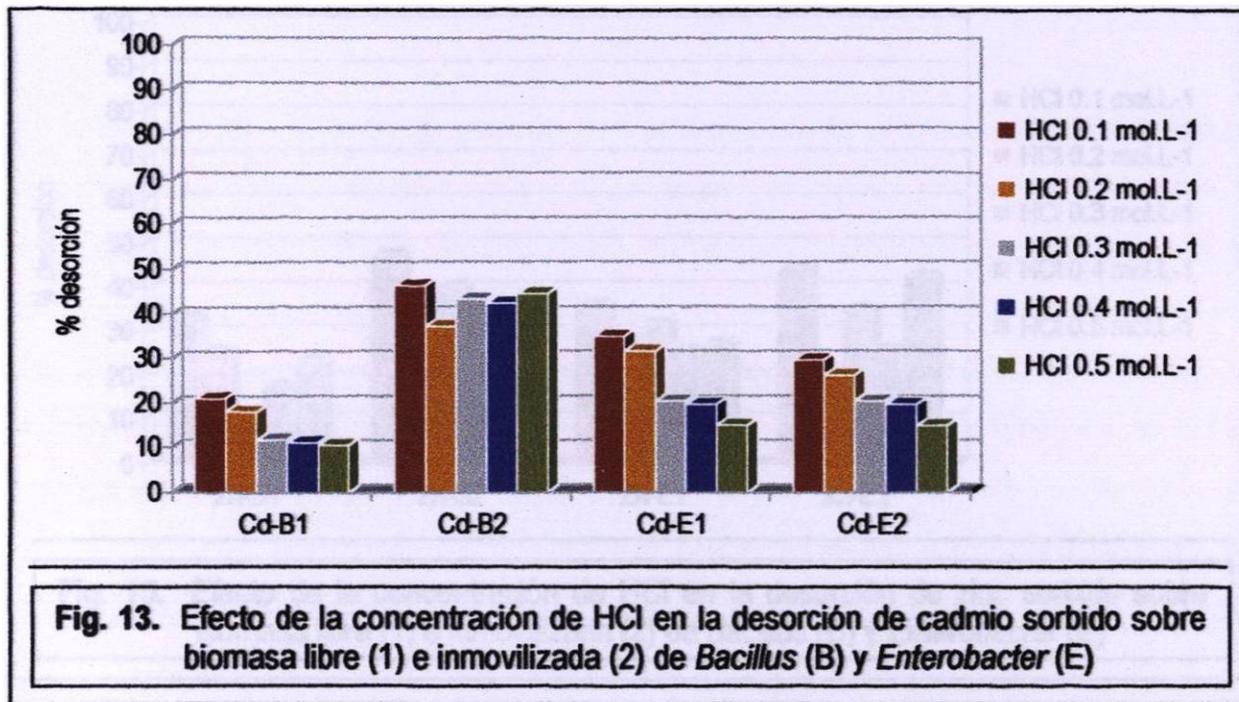
Desorbentes	Pellets
HCl 0.1 mol·L ⁻¹	No sufre cambio
H ₂ SO ₄ 0.1 mol·L ⁻¹	No sufre cambio
NaOH 0.1 mol·L ⁻¹	Se disolvió parcialmente
Na ₂ CO ₃ 0.1 mol·L ⁻¹	Se disolvió completamente
NaHCO ₃ 0.1 mol·L ⁻¹	Se disolvió completamente

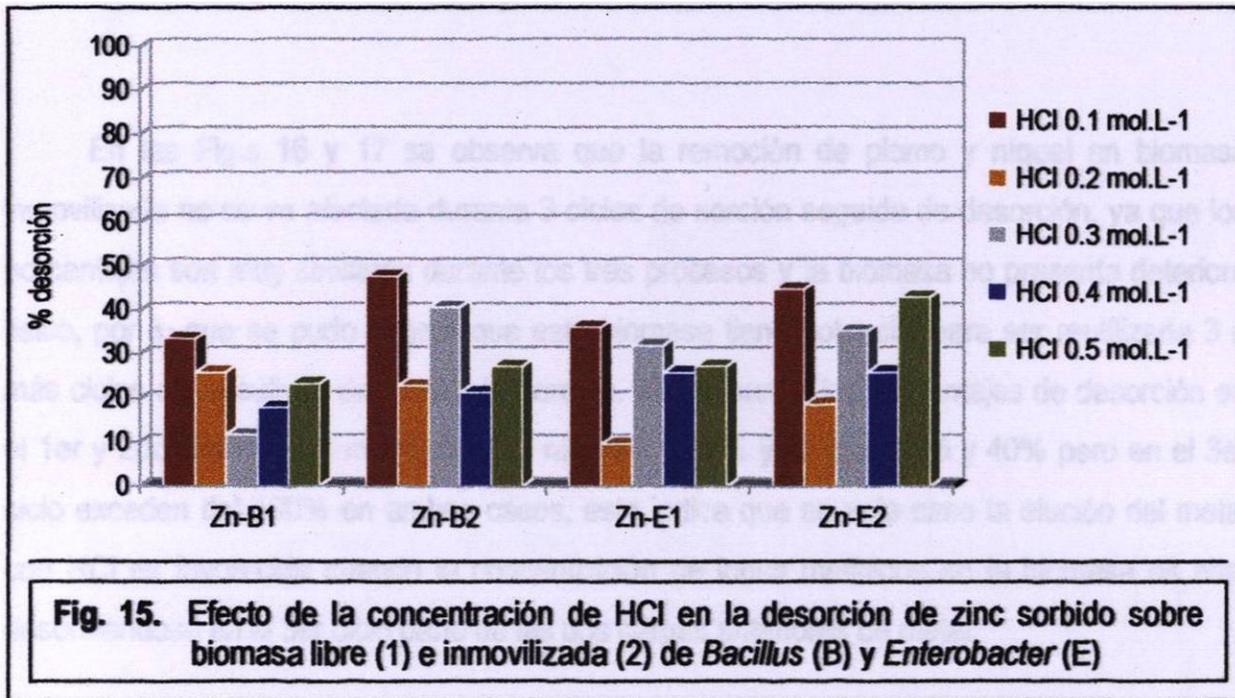
5.3.1.1 Efecto de la concentración de ácido clorhídrico en la desorción de metales sobre biomasa bacteriana libre e inmovilizada

En las Figs 10 a 15 se muestra el efecto de la concentración de HCl en la desorción de los metales de prueba. La desorción mayor para todos los metales se observó en los experimentos realizados a concentración $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ del ácido. En biomasa de *Bacillus* los metales que son eluidos en mayor porcentaje son plomo y níquel tanto en biomasa libre como inmovilizada. El cobre se desorbe más de biomasa inmovilizada de *Enterobacter* y el cadmio al igual que el cromo y el zinc, de biomasa inmovilizada de *Bacillus*. Los porcentajes de desorción de los metales en biomasa libre, variaron de un 15 a un 55%, mientras que en biomasa inmovilizada de 26 a 70%, con la posibilidad de reutilizar la biomasa en ambos casos.





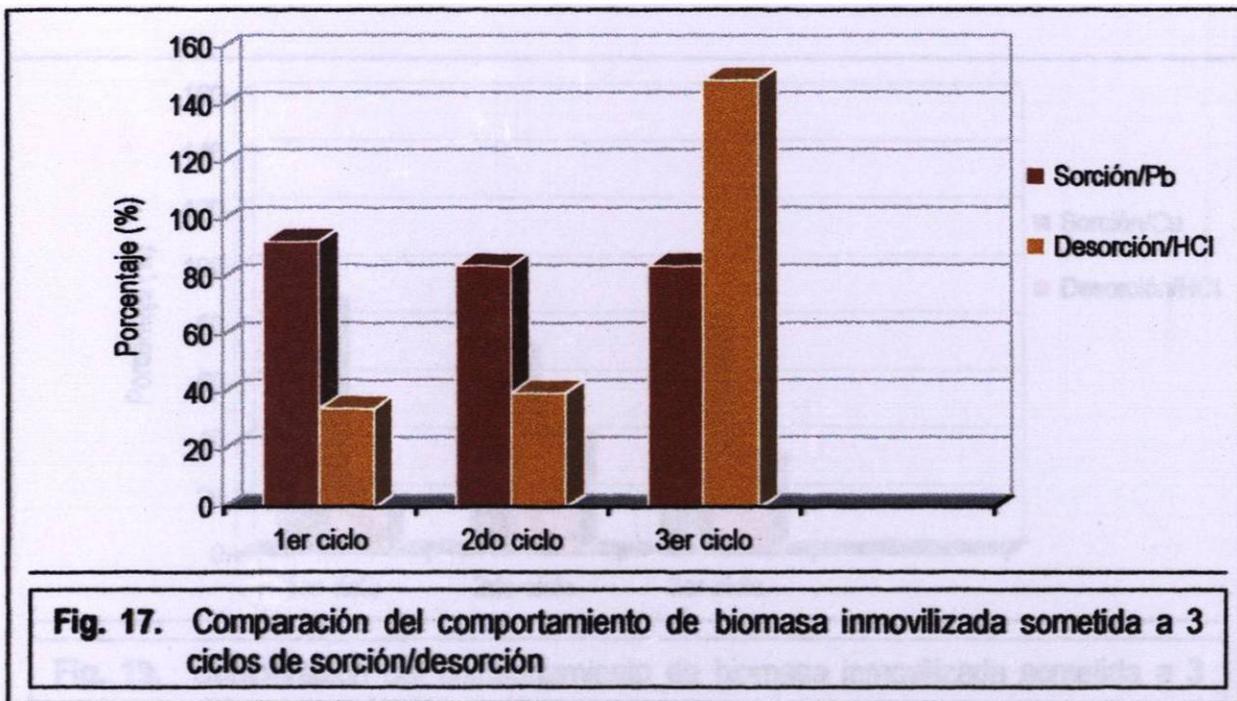
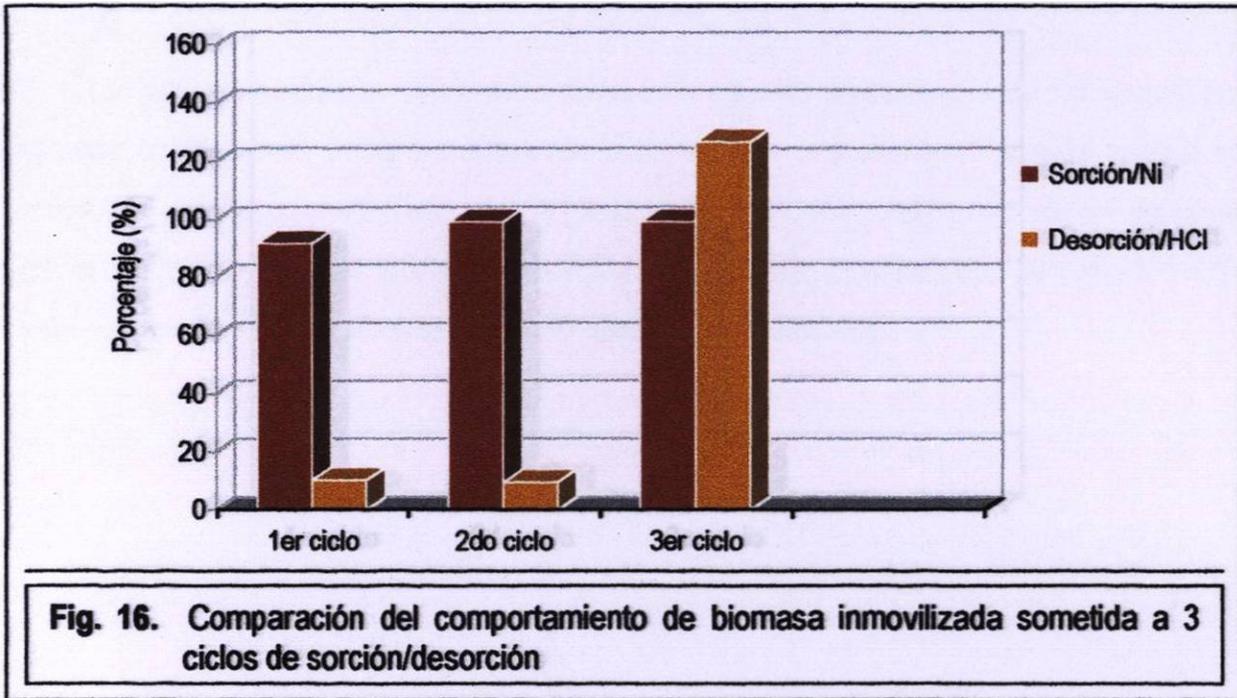


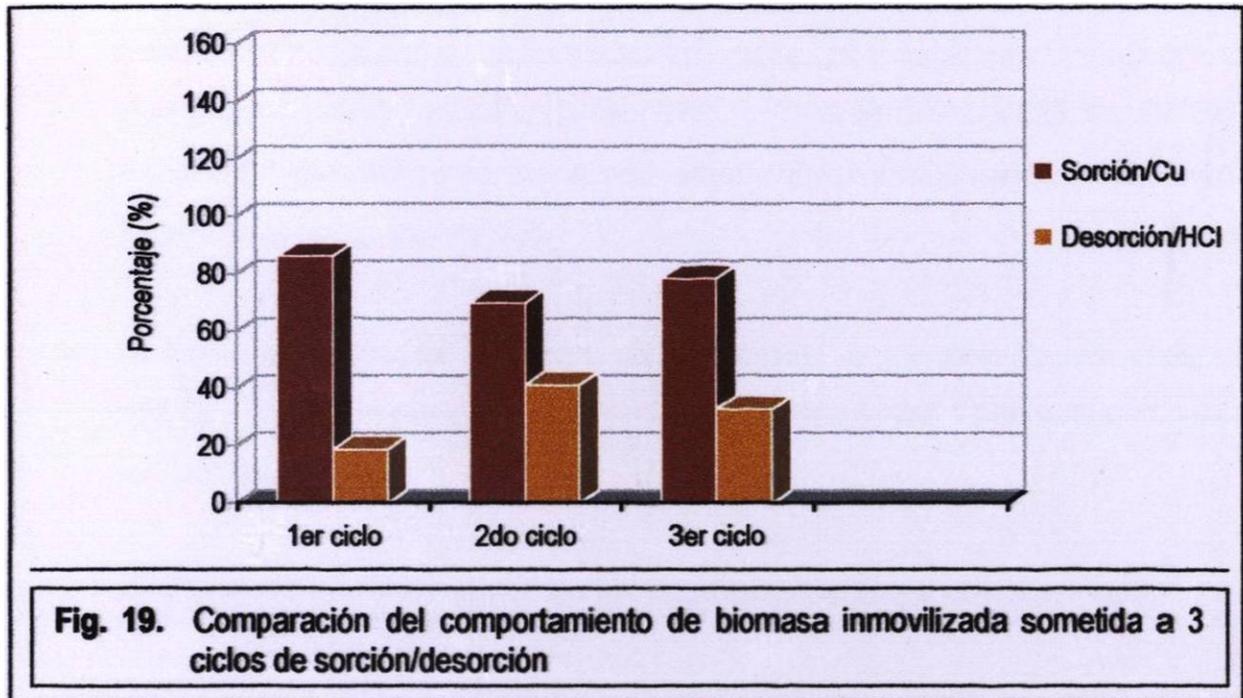
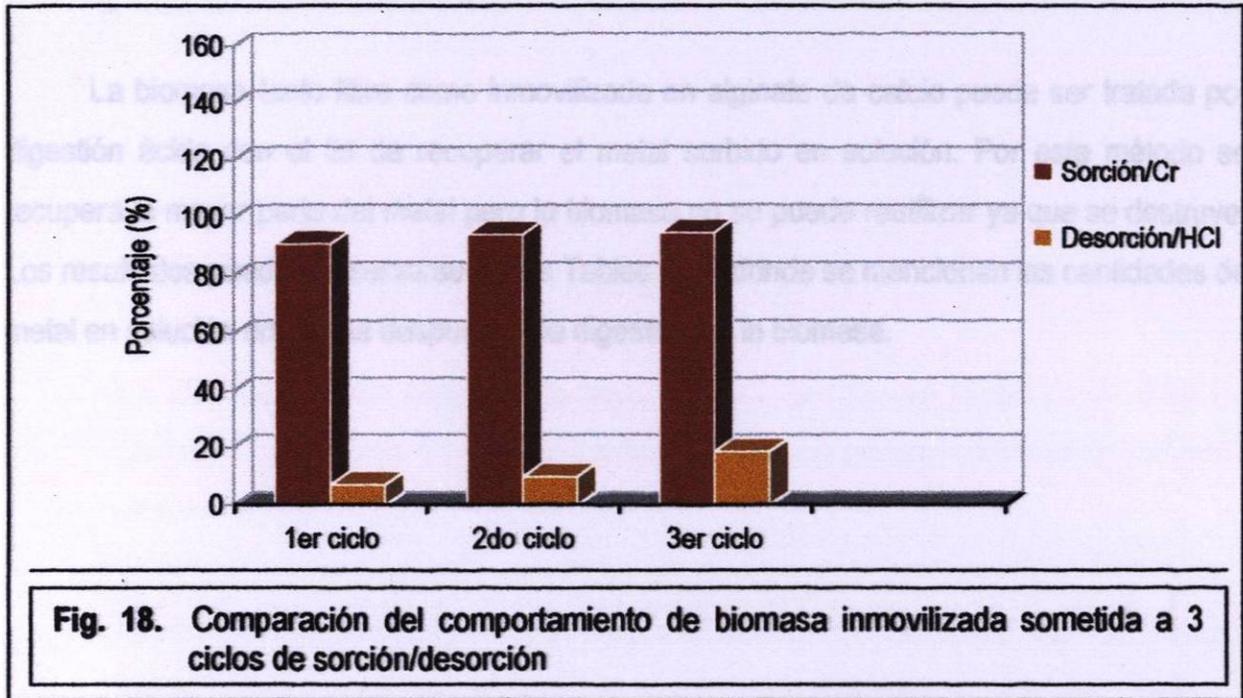


5.3.1.2 *Reutilización de la biomasa*

En las Fig.s 16 y 17 se observa que la remoción de plomo y níquel en biomasa inmovilizada no se ve afectada durante 3 ciclos de sorción seguida de desorción, ya que los porcentajes son muy similares durante los tres procesos y la biomasa no presenta deterioro físico, por lo que se pudo sugerir que esta biomasa tiene potencial para ser reutilizada 3 o más ciclos consecutivos de sorción/desorción. Sin embargo, los porcentajes de desorción en el 1er y 2do ciclo fueron muy bajos, en níquel 9 y 10% y en plomo 35 y 40% pero en el 3er ciclo exceden del 100% en ambos casos, esto indica que en este caso la elución del metal con HCl es favorecida cuando la concentración de iones metálicos en la biomasa es alta, desorbiéndose en el 3er ciclo parte de las dos cargas anteriores de metal.

En la Fig. 18 se muestra que los porcentajes de sorción de cromo en biomasa inmovilizada fueron de 91, 94 y 95%, y en la Fig. 19 los porcentajes de sorción de cobre fueron de 86, 70 y 78% respectivamente en cada ciclo. Sin embargo, los porcentajes de desorción de cromo fueron de 7, 10 y 18% y de cobre de 20, 41 y 33%. Lo anterior puede deberse a que las condiciones de desorción aplicadas no son las adecuadas para el caso de estos dos metales.





5.3.2 Digestión de la biomasa con metal

La biomasa tanto libre como inmovilizada en alginato de calcio puede ser tratada por digestión ácida con el fin de recuperar el metal sorbido en solución. Por este método se recupera la mayor parte del metal pero la biomasa no se puede reutilizar ya que se destruye. Los resultados pueden observarse en las Tablas 2 y 3 donde se mencionan las cantidades de metal en solución obtenidas después de la digestión de la biomasa.

VI. CONCLUSIONES

- La capacidad de retención del metal tanto en biomasa libre como inmovilizada fue mayor en biomasa del género *Bacillus* que en biomasa de *Enterobacter*.
- La afinidad por los metales de biomasa libre del género *Bacillus* fue: níquel > cadmio > zinc > cobre > plomo > cromo, y para el género *Enterobacter*: plomo > níquel > cadmio > cromo > cobre > zinc >.
- La afinidad por los metales de biomasa inmovilizada del género *Bacillus* fue: plomo > níquel > cobre > cadmio > cromo > zinc. Y para el género *Enterobacter*: plomo > níquel > cadmio > cobre > cromo > zinc.
- La biomasa libre de *Bacillus* presenta buen poder de retención en 8 ó más cargas de níquel, 4 ó 5 de cadmio y zinc, hasta 3 ó 4 de cobre, 2 ó 3 de plomo y 1 ó 2 de cromo, y en *Enterobacter* 8 ó más cargas de plomo, hasta 6 de cromo y cadmio, 5 ó 6 de níquel, 3 ó 4 de cobre y zinc, soportando mayor carga de metal el género *Bacillus* que *Enterobacter* en los seis metales.
- La biomasa inmovilizada de ambos géneros puede ser utilizada con alta eficiencia más de 8 cargas de plomo, de 5 a 7 para cobre, de 3 a 6 para cromo y cadmio, y de 2 a 4 para níquel y zinc.
- Se encontró que el ácido clorhídrico fue mejor desorbente que el ácido sulfúrico

-
- La concentración de ácido clorhídrico que presentó mayor desorción en los experimentos fue de $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.
 - La biomasa inmovilizada no se ve afectada en 3 ciclos de sorción/desorción. La mayor desorción ocurrió en el 3er ciclo debido al saturamiento del metal en la biomasa y a la afinidad del mismo con la solución desorbente.
 - El metal puede ser recuperado en solución a partir del sorbente inmovilizado mediante la disolución de los pellets con tratamiento de $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ y posterior digestión ácida, y de la biomasa libre por tratamiento de H_2O_2 y HNO_3 .

VII. RECOMENDACIONES

Para complementar este estudio se recomienda:

- Realizar el experimento con soluciones de mezclas de metales y muestras de aguas residuales.
- Evaluar la desorción del metal a concentraciones diferentes a las utilizadas y probar otros desorbentes.
- Estudiar el comportamiento de la biomasa con un número mayor de ciclos sorción/desorción.
- Buscar métodos alternos para tratar a la biomasa con el fin de hacerla más eficiente entre cada carga de metal.
- Optimizar el proceso de recuperación del metal.
- Determinar la factibilidad del uso de los sorbentes obtenidos a nivel industrial.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ahuja, P., Gupta, R., Saxena, R. K., Zn(II) biosorption by *Oscillatoria angustissima*, *Proc. Biochem.*, 1999, 34(1), 77-85.
- [2] Anon., *Ambient water quality criteria for chromium*. Ref. Pb 81-117467, US Environmental Protection Agency, 1980.
- [3] Antanasopoulos, N., *Flame Methods For Atomic Absorption* by GBC Scientific Equipment, PTY LTD., Australia.
- [4] Beech, I. B., Cheung, C. W. S., Interactions of exopolymers produced by sulfate-reducing bacteria with metal ions, *Biosorption and Bioremediation*, 1995, 35(1-3), 59-72.
- [5] Blanco, A., Sanz, B., Llama, M. J., Serra, J. L., Biosorption of heavy metals to immobilized *Phormidium laminosum* biomass, *J. Biotechnol.*, 1999, 69(2-3), 227-240.
- [6] Brierley, C. L., Brierley, J. A., Immobilization of biomass for industrial application of biosorption, Troma, M. L., Apel, Brierley, C. L., Brierley (ed.), *Biohidrometalurgical Technol.*, (T. M. S., Warrandale, Pennsylvania, USA), 1993, 2, 35-44.
- [7] Cabatingan, L. K., Agapay, R. C., Rakels, J. L., Ottens, M., Van der Wielen, L., A. M., Potential of Biosorption for the Recovery of Chromate in Industrial Wastewater, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2001, 40, 2302-2309.

-
- [8] Carson, B. L., Ellis, H. V., Mc Cann, J. L., *Toxicology and Biological Monitoring of Metals in Humans*, Lewis Publishers, Chelsea, Michigan, 1986, 65, 71, 97, 133, 165, 297.
- [9] Chuan, L. T., *Heavy Metal Biosorption by Powdered *Rhizopus oligosporus* Biomass*, *Environ. Eng.*, Universiti Putra Malaysia, 1997.
- [10] Darnall, D. W., Greene, B., Hosea, M., McPherson, R. A., Henzl, M., Alexander, M. D., *recovery of metals by immobilized algae*, In: *Trace Metal Removal from Aqueous Solutions*, Thompson, R. (Ed), Litho Ltd., Whitstable, Kent, 1986, 1-24.
- [11] Demain, A. L., Solomon, N. A., *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*, American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1986.
- [12] Elwood, J. W., Beauchamp, J. J., Allen, C. P., *Chromium levels in fish from a lake chronically contaminated with chromium from cooling towers*, *J. Environ. Studies*, 1980, 14, 289-290.
- [13] Galun, M., Keller, P., Malki, D., *Removal of uranium(VI) from solution by fungal biomass and fungal wall related biopolymers*, *Sci.*, 1983, 219, 285-286.
- [14] Gardea-Torresdey, J. L., et. al, *Ability of Silica-immobilized *Medicago Sativa* (alfalfa) to remove copper ions from solution*, *J. Hazard. Materials*, 1996, 48, 181-190.
- [15] Garnham, G. W., Codd, G. A., Gadd, G. M., *Accumulation of cobalt, zinc and manganese by the estuarine green microalgal *Chlorella salina* immobilized in alginate microbeads*, *Environ. Sci. Technol.*, 1992, 26, 1764-1769.

- [16] Greene, B., Damall, D. W., Microbial oxygenic photoautotrophes (cyanobacteria and algae) for metal-ion binding, In: *Microbial Mineral Recovery*, Ehrlich, H. L., Brierly, C. L. (Eds.), Mc Graw Hill, New York, 1990, 227-302.
- [17] Harris, P. O., Ramelow, G. J., Binding of metal ions by particulate biomass derived from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda*, *Environ. Sci. Technol.*, 1990, 24, 220-234.
- [18] Harrison, R. M., Laxen, D. P., Natural sources of tetra-alkyl lead in air, *Nature (London)*, 1978, 275, 738-740.
- [19] Horikoshi, T., Nakajima, A. Sakaguchi, T., Studies on the accumulation of heavy metal elements in biological systems IV, Uptake of uranium by *Chlorella regularis*, *Agriculture, Biol., Chem.*, 1979, 43, 617-623.
- [20] Hurst, C. J., *Manual of Environmental Microbiology*, ASM Press, Washington, D. C., 1997.
- [21] Jefferson, T. H., Corwin, R. R., Waste water remediation using immobilized biological extractants, *Biohidrometallurgical Technol.*, 1993, 2, 1-14.
- [22] Jianlong, W., Xinmin, Z., Decai, D., Ding, Z., Bioadsorption of lead(II) from aqueous solution by fungal biomass of *Aspergillus niger*, *J. Biotechnol.*, 2001, 87(3), 273-277.
- [23] Klimmek, S., Stan, H. J., Wilke, A., Bunke, G., Buchholz, R., Comparative Analysis of the Biosorption of Cadmium, Lead, Nickel, and Zinc by Algae, *Environ. Sci. Technol.*, 2001, 35, 4283-4288.

- [24] Kolot, F. B., *Immobilized Microbial Systems: Principles, Techniques and Industrial Applications*, Robert E. Krieger Publishing Company, Malabar, Florida, 1988.
- [25] Kratochvil, D., Pimentel, P., Volesky, B., Removal of Trivalent and Hexavalent Chromium by Seaweed Biosorbent, *Environ. Sci. Technol.*, 1998, 32(18), 2693-2698.
- [26] Kuyucak, N., Volesky, B., Biosorbents for the recovery of metals from industrial solutions, *Biotechnol. Lett.*, 1988, 10, 137-142.
- [27] Kuyucak, N., Volesky, B., Desorption of cobalt-laden algal biosorbent, *Biotechnol. Bioeng.*, 1989, 33(7), 815.
- [28] Kuyucak, N., Volesky, B., The elution of gold sequestered on a natural biosorbent, *Biorecov.*, 1989, 1, 155.
- [29] Lee, M. H. E., Bradely, M., Tebo, Surface charge properties of Cu(II) adsorption by spores of the marine *Bacillus* sp. strain SG-1, *Appl. Env. Microbiol.*, 1998, 64(3), 1123-1129.
- [30] Luckey, T. D., Venugopal, B., Metal toxicity in mammals, In: *Physiological and Chemical basis for Metal Toxicity*, Vol. 1, Plenum Press, New York and London, 1977, 65-90.
- [31] Macaskie, L. E., et. al., Biomass production for the removal of heavy metals from aqueous solutions at low pH using growth-decoupled cells of a *Citrobacter* sp., *Biosorption and Bioremediation*, 1995, 35(1-3), 73-92.

- [32] Mance, G., Brown, V. M., Gardiner, J., Yates, J., Proposed environmental quality standards for List II substances in water: chromium, *Technical Report TR 207*, Medmenham: Water Research Center, 1984.
- [33] Mance, G., Yates, J., Proposed environmental quality standards List II substances in water: lead, *Technical Report TR 209*, Medmenham: Water Research Center, 1984.
- [34] Monge, R., Ortiz, S., El país se seca, *EL NORTE*, 06.05.2001, 16A.
- [35] Niu, H., Volesky, B., Gomes, N. C. M., Enhancement of gold-cyanide biosorption by L-cysteine, *Dept. of Chem. Eng.*, McGill University, Montreal, Canadá, 1999.
- [36] Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales.
- [37] OECD-Bericht (paper), The environmental information system of Mexico, de: <http://www.oecd.org/env/docs/gd96172.pdf>, 1996, 33.
- [38] Pethkar, A. V., Paknikar, K. M., Recovery of gold from solutions using *Cladosporium cladosporioides* biomass beads, *J. Biotechnol.*, 1998, 63(2), 121-136.
- [39] Skoog, D. A., Leary, J. J., Análisis Instrumental, 4ª Ed., Mc Graw Hill, Madrid, España, 1994.
- [40] Suhasini, I. P., Sriram, G., Asolekar, S. R., Sureshkumar, G. K., Biosorptive removal and recovery of cobalt from aqueous systems, *Proc. Biochem.*, 1999, 34(3), 239-247.

- [41] Treen-Sears, M. E., Propagation and Characterization of *Rhizopus* Biosorbents, Ph.D., Thesis, McGill University, Montreal, Canadá, 1986.
- [42] Tsezos, M., Recovery uranium from biological adsorbents-desorption equilibrium, *Biotechnol. Bioeng.*, 1984, (26), 973-981.
- [43] Valentine, N. B., Bolton, H., Biosorption of cadmium, cobalt, nickel, and strontium by a *Bacillus simplex* strain isolated from the vadose zone, *J. Ind. Microbiol.*, 1996, 16(3), 189-196.
- [44] Veglio, F., Beolchini, F., Biosorption of toxic metals: An equilibrium study using free cells of *Arthrobacter* sp., *Proc. Biochem.*, 1997, 32(2), 99-105.
- [45] Volesky, B., Biosorption of heavy metals, CRC Press Inc., Montreal, Canadá, 1990.
- [46] Volesky, B., Holan, Z. R., Biosorption of heavy metals, *Biotechnol. Prog.*, 1995, 11, 235-250.
- [47] Volesky, B., Kuyucak, N., Biosorbent for Gold. U. S. Patent 4, 769, 223, 1988.
- [48] Volesky, B., Removal and recovery of heavy metals by biosorption, In B. Volesky (ed.), *Biosorption of heavy metals*, CRC Press, Boca Raton, Fla, 1990, 8-43.
- [49] Wase, J., Forster, C., Biosorbents for metal ions, Taylor & Francis Publishers, Gran Bretaña, 1997.
- [50] Wong, P. T., Chau, Y. K., Luxon, P. L., Methylation of lead in the environment, *Nature (London)*, 1975, 253, 263-264.

-
- [51] Yun, Y. S., Park D., Park J. M., Volesky B., Biosorption of Trivalent Chromium on the Brown Seaweed Biomass, *Environ. Sci. Technol.*, 2001, 35(21), 4353-4358.
- [52] Zhao, M., Duncan, J. R., Column sorption of Cr(VI) from electroplating effluent using formaldehyde cross-linked *Saccharomyces cerevisiae*, *Biotechnol. Lett.*, 1998, 20(6), 603.

