



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

**TESIS PRESENTADA EN OPCIÓN AL TÍTULO
DE MÁSTER EN BIOTECNOLOGÍA**

MENCIÓN AMBIENTAL

**Título: Bioadsorción de metales
pesados de la Laguna Azul del Cobre
por biomasa de *Kluyveromyces
marxianus* CCEBI 2011**

Autora: Lic. Magda Fernández Villalón

Tutora: Dra.C. Rosa María Pérez Silva

Consultante: Dr. C. Manuel de Jesús Serrat Díaz

2018

“Año 60 de la Revolución”

RESUMEN

Numerosos estudios han demostrado que la biomasa de residuos lignocelulósicos de diferentes especies microbianas, son capaces de concentrar en sus estructuras, iones metálicos que se encuentran en ambientes acuáticos a baja concentraciones, mediante el proceso de bioadsorción. En este trabajo se determinaron los factores de mayor influencia sobre la capacidad de adsorción que tiene la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 sobre la eficiencia de remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) presentes en las aguas de la Laguna Azul del Cobre de Santiago de Cuba. Para los experimentos de adsorción se utilizaron $0,25 \text{ g.L}^{-1}$ de biomasa, 3 niveles de pH (4,4; 5,0 y 6,2 U), así como 3 niveles de concentraciones de los metales cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) y cinco tiempos de contacto (15, 30, 45, 60 y 90 min). Las concentraciones de los metales fueron determinadas por ICP en el Laboratorio "Elio Trincado" de la Empresa Geominera Oriente. De los 3 niveles de pH estudiado, el de mejor comportamiento fue de 6,2 U. Los ensayos a las concentraciones estudiadas mostraron diferencias significativas en los porcentajes de remoción, evidenciándose un mejor comportamiento a concentraciones inferiores, obteniéndose para cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) porcentajes de remoción de 74,0 %; 98,8 % y 55% en concentraciones de 25, 2 y 10 mg.L^{-1} , respectivamente. De los tres modelos de isotermas de absorción aplicadas, Langmuir fue la de mejor ajuste. La cinética de adsorción para los tres metales, se ajusta mejor al modelo de pseudo-segundo orden, lo que indica que es un proceso mediado por la adsorción química. La biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 fue capaz de remover en un 51,8, 22,7 y 13,6 % el cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) respectivamente, presentes en aguas de la Laguna Azul del Cobre, valores de remoción inferiores a los logrados con soluciones sintéticas. Los resultados evidencian la influencia del pH, tiempo de contacto y concentración inicial del ión metálico en el proceso de adsorción.

Palabras claves: Bioadsorción, *Kluyveromyces marxianus*, metales pesados, Laguna Azul del Cobre, isotermas de adsorción.

ABSTRACT

Numerous studies have shown that the biomass of lignocellulosic residues of different microbial species, are able to concentrate in their structures, metal ions that are found in aquatic environments at low concentrations, through the bioadsorption process. In this work, the most influential factors on the adsorption capacity of the dry biomass of *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 were determined on the removal efficiency of copper (II), zinc (II), and manganese (II) present in the waters of Laguna Azul del Cobre in Santiago de Cuba. Adsorption experiments used 0.25 gL⁻¹ of biomass, 3 pH levels (4.4, 5.0 and 6.2 U), as well as 3 levels of copper (II), zinc metal concentrations (II) and manganese (II) and five contact times (15, 30, 45, 60 and 90 min). The concentrations of the metals were determined by ICP in the "Elio Trincado" Laboratory of the Geominera Oriente Company. Of the 3 pH levels studied, the one with the best performance was of 6.2 U. The tests at the studied concentrations showed significant differences in the percentages of removal, showed a better behavior at lower concentrations, obtaining for copper (II), zinc (II), and manganese (II) removal rates of 74,0 %; 98,8 % and 55% in concentrations of 25, 2 and 10 mg.L⁻¹, respectively. Of the three adsorption isotherms models applied, Langmuir was better adjusted. The adsorption kinetic of the three metals, is better adjusted pseudo-second order model, also indicates that a process is mediated for a chemical adsorption. The dry biomass of *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 was able to remove by 51,8, 22,7 and 13,6 % copper (II), zinc (II) and manganese (II) respectively, present in waters of the Laguna Azul del Cobre, removal values lower than those achieved with synthetic solutions. The results show the influence of pH in the adsorption process.

Keywords: Bioadsorption, *Kluyveromyces marxianus*, heavy metals, Laguna Azul del Cobre, adsorption isotherms.

INDICE

Contenido	Págs.
I. INTRODUCCIÓN	1
Problema científico.....	2
Hipótesis.....	2
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos	3
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	4
II.1.- Contaminación del agua por metales pesados	4
II.2.- Características y toxicidad del cobre, zinc y manganeso	5
II.3.- Tecnologías de tratamiento de aguas contaminadas por metales pesados.....	7
II.4.- Biorremediación de metales pesados de aguas residuales por bioadsorción.....	7
II.4.2.- Factores que influyen en el proceso de bioadsorción.....	9
II.4.2.1.- Efecto del pH.....	9
II.4.2.2.- Efecto de la concentración inicial del ión metálico (soluto).....	9
II.4.2.3.- Tiempo de contacto.....	10
II.4.3.- Cinética de la bioadsorción	10
II.4.4.- Tipos de isothermas de adsorción.....	11
II.4.4.1.- Isoterma de Langmuir.....	12
II.4.4.2.- Isoterma de Freundlich.....	12
II.4.4.3.- Isoterma de Dubinin-Radushkevich.....	13
II.5.- Selección de bioadsorbentes. Características generales del bioadsorbente empleado en la investigación.....	13
II.5.1.- Características generales del bioadsorbente <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011	14
II.6.- Características químicas de las aguas de la Laguna Azul del Cobre...	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	16
III.1.- Obtención de la biomasa seca como bioadsorbente	16

III.1.1.- Selección de la cepa microbiana.....	16
III.1.2.- Cultivo microbiano	16
<i>III.1.2.1.- Preparación del pre-inóculo</i>	16
<i>III.1.2.2.- Cultivo de <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011</i>	16
III.1.3.- Recuperación y secado de la biomasa	17
III.2.- Preparación de las soluciones de cobre, zinc y manganeso.....	17
III.3.- Cuantificación de cobre, zinc y manganeso	17
III.4.- Muestreo, conservación y análisis de las muestras de agua de la Laguna Azul	18
III.5.- Análisis estadístico de los resultados	18
III.6.- PROTOCOLOS EXPERIMENTALES	18
III.6.1.- Protocolo para la determinación de los parámetros óptimos para la adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de la cepa <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011.....	19
III.6.2. - Protocolo para la determinación de los parámetros de equilibrio y estudio de la cinética de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II), por la biomasa seca de <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011.....	20
<i>III.6.2.1- Protocolo para la determinación de los parámetros de equilibrio</i>	20
<i>III. 6.2.2- Estudio de la cinética de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de <u><i>Kluyveromyces marxianus</i></u> CCEBI 2011</i>	22
III.6.3.- Protocolo para la evaluación de la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por el bioadsorbente estudiado en la matriz real.....	23
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
IV.1. Cultivos microbianos y obtención de biomasa seca.....	24
IV.2.- Determinación de los factores de mayor influencia sobre la capacidad de bioadsorción de la biomasa seca de <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011 para remover cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en soluciones acuosas.....	25

IV.2.1.- Selección del pH óptimo para la adsorción del cobre (II), zinc (II) y manganeso (II).....	26
IV.2.2.- Determinación del tiempo óptimo para la adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa de <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011.....	28
IV.2.3.- Evaluación de la influencia de concentración inicial del metal en el proceso de remoción.....	30
IV.3.- Isotermas y cinética de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en soluciones acuosas por la biomasa seca de <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011.....	31
IV.3.1.-Isotermas de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en soluciones acuosas por la biomasa seca de <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011.....	32
IV.3.2.- Descripción de la cinética de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de <i>Kluyveromyces marxianus</i> CCEBI 2011.....	36
IV.4.- Evaluación de la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por el bioadsorbente estudiado en la matriz real.....	38
V. CONCLUSIONES.....	41
VI. RECOMENDACIONES.....	42
VII. BIBLIOGRAFÍAS CONSULTADAS.....	43
VIII. ANEXOS	

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más señalados por la sociedad a nivel mundial que ocupa un lugar prominente en los programas sociales y políticos, es la de destacar la progresiva degradación de los recursos naturales causada por la gran diversidad de contaminantes tóxicos orgánicos e inorgánicos tanto en la atmósfera, agua, suelo y subsuelo, procedentes de diversas actividades naturales y antropogénicas, generando un irremediable deterioro en el ambiente. (Pineda, 2004).

Entre los contaminantes inorgánicos más nocivos para los seres vivos están los metales pesados (Anexos, figura 1) derivados principalmente de actividades mineras que dan lugar a la pérdida irreversible de los recursos naturales por no ser biodegradables. (Pineda, 2004). El aumento de la contaminación de las aguas residuales urbanas e industriales por iones de metales pesados, tales como Cu, Cd, Cr, Mn, Zn, Hg, Pb, etc., es un problema medioambiental de importancia creciente, porque aun en muy baja concentración son altamente tóxicos. (Maldonado y col., 2012).

Los métodos convencionales para el tratamiento de estas aguas residuales con metales pesados resultan costosos e ineficientes, especialmente cuando la concentración es muy baja (Tejada, 2014). Por esto, la búsqueda de nuevos métodos de tratamiento es un desafío en estos últimos tiempos para minimizar el impacto que ocasionan estos metales al medio ambiente.

El desarrollo de nuevas tecnologías, en base a la materia prima nacional, es una tarea pendiente para los investigadores de países en vías de desarrollo. Varios estudios han demostrado que la biomasa de residuos lignocelulósicos de diferentes especies de bacterias, hongos y algas, son capaces de concentrar en sus estructuras, iones metálicos que se encuentran en ambientes acuáticos a bajas concentraciones (Maldonado, 2012) mediante el proceso de bioadsorción, tecnología emergente, que puede ser usada en los procesos “limpios” de remediación ambiental, para recuperación de metales y descontaminación de aguas residuales contaminadas con iones de metales pesados.

El uso de biomasa no vivas evita problemas de contaminación y no son costosos ya que el biomaterial puede ser regenerado (Muñoz, 2007).

En Cuba, en la provincia de Santiago de Cuba, en el poblado del Cobre, la actividad minera por más de cuatro siglos en la modalidad de minería a cielo abierto, ha traído como consecuencia una afectación considerable al medio ambiente de la localidad, dado a la contaminación de las suelos y aguas con metales pesados y otros compuestos tóxicos, por tal motivo se desarrollan diferentes acciones para el tratamiento y recuperación de estos ecosistemas impactados según la política medioambiental del país.

Con este trabajo se busca una alternativa de tratamiento a las aguas contaminadas de la Laguna Azul del Cobre (Anexos, figura 2), cuyo color turquesa se debe a la acción que el cobre y otros metales desarrollaron durante su explotación, con el objetivo de disminuir su carga contaminante y reutilizar las mismas en la propia actividad minera y otros usos.

En el marco de estos antecedentes, planteamos como problema científico e hipótesis los siguientes:

Problema científico

El uso de microorganismos no viables y vivos ha demostrado ser una estrategia para el tratamiento de residuales contaminados con metales pesados. Sin embargo, aún no son suficientes las evidencias experimentales, que apoyen el uso de biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 para la adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en efluentes resultantes de la actividad minera.

Hipótesis

Si se demuestra la capacidad de adsorción de la cepa *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 para remover cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) entonces es posible el tratamiento de medios contaminados por estos metales pesados mediante las técnicas de bioadsorción.

Y como objetivos:

Objetivo general

1. Evaluar las potencialidades de adsorción de la levadura *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 para remover cobre (II), zinc (II) y manganeso (II).

Objetivos específicos

1. Determinar los factores de mayor influencia sobre la capacidad de adsorción de la biomasa de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 y sobre la eficiencia de remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) de las aguas de la Laguna Azul del Cobre de Santiago de Cuba.
2. Establecer la cinética y naturaleza de los procesos de adsorción del cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por biomasa de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.
3. Determinar la capacidad de bioadsorción de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 en la matriz real.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

II.1.- Contaminación del agua por metales pesados.

La contaminación por metales pesados es uno de los problemas ambientales más importantes de la actualidad. Actualmente existe un creciente interés mundial por encontrar métodos eficientes para el tratamiento de estos contaminantes por medio de materiales con alta capacidad de adsorción, para lo cual se han realizado constantes investigaciones con el propósito de determinar las capacidades de remoción de estos contaminantes en el agua mediante diferentes mecanismos (Jaramillo, 2014).

Muchos de los metales pesados son esenciales para el crecimiento humano como el Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn y Mo en bajas concentraciones; el Cu, Zn, y Mn que son esenciales para el crecimiento microbiano y otros como el Au, Ag, Pb, Cr y Cd son altamente tóxicos para las células vivas (Chicaiza, 2016).

La recalcitrancia y consiguiente persistencia de los mismos en el agua, hace que por medio de procesos naturales como la biomagnificación, su concentración llegue a ser tan elevada que alcance niveles tóxicos para la vida. Estos son considerados los contaminantes inorgánicos más perniciosos para el medio ambiente, aún cuando se encuentren presentes en pequeñas cantidades, incluso indetectables.

En la tabla 1 de los anexos se exponen algunos de los efectos sobre la salud que provoca la exposición prolongada a niveles superiores a los niveles límites establecidos para estos elementos (US EPA, 2009, Ruchita y col. 2015).

En muchos países han sido adoptadas legislaciones estrictas que establecen concentraciones permisibles de metales pesados en los ecosistemas acuáticos y en dependencia del uso que se le den a las aguas del cuerpo receptor (Ahmaruzzaman, 2011).

Al igual que en el resto del mundo, la legislación cubana cuenta con normas y procedimientos referentes a aguas superficiales y contenido de metales pesados para el proceso en la minería. Existe la norma NC 1021: 2014 Higiene comunal. Fuentes de abastecimiento de agua. Calidad y protección sanitaria, en el término 3.2: Fuentes de abastecimiento superficiales, que establece los límites máximos permisibles de contenido de metales pesados para el uso de estas aguas (tabla 1) y los Procedimientos Tecnológicos de la Planta Química (PO 1602 Lixiviación y PO 1603 Precipitación) pertenecientes a la Unidad Empresarial de Base Servicios Mineros de la Empresa GEOMINERA Oriente, que establece igualmente los límites máximos permisibles (tabla 2) del contenido de metales pesados para el uso de estas aguas en el proceso de obtención de oro.

II.2.- Características y toxicidad del cobre, zinc y manganeso.

II.2.1.- Características y toxicidad del cobre.

Elemento químico, de símbolo Cu, con número atómico 29; uno de los metales de transición e importante metal no ferroso (anexos tabla 2).

Cuando se ingiere sulfato de cobre, también conocido como piedra azul o azul vitriolo, en cantidades del orden de gramos, se producen náuseas, vómitos, diarrea, sudoración, hemólisis intravascular y posible fallo renal; en raras ocasiones, se observan también convulsiones, coma y la muerte. Cuando se beben aguas carbonatadas o zumos de cítricos que han estado en contacto con recipientes, cañerías, grifos o válvulas de cobre se puede producir irritación del tracto gastrointestinal, que pocas veces llega a ser grave.

II.2.2.- Características y toxicidad del zinc.

El zinc es un elemento químico de aspecto azul pálido grisáceo y pertenece al grupo de los metales de transición. El número atómico del zinc es 30 (anexos tabla 3).

La solubilidad del zinc en líquidos ligeramente ácidos, en presencia de hierro, ha provocado la ingestión accidental de grandes cantidades de zinc por la preparación de alimentos ácidos, como zumos de frutas, en recipientes de hierro galvanizado desgastados. Entre 20 minutos y 10 horas después de la ingestión se

Tabla 1. Requisitos establecidos para las fuentes de abastecimiento superficiales según NC 1021:2014.

Componente	LMP (mg/L)
Cobre	2,0
Zinc	5,0
Manganeso	0,4

Tabla 2. Requisitos establecidos para el proceso de obtención de oro.

Componente	LMP (mg/L)
Cobre	< 20,0
Zinc	< 20,0
Manganeso	< 1,0

presenta fiebre, náuseas, vómitos, dolor de estómago y diarrea. Varias sales de zinc pueden entrar al organismo por inhalación, a través de la piel o por ingestión y producir intoxicación. El cloruro de zinc produce úlceras cutáneas. Varios compuestos de zinc presentan riesgo de incendio y de explosión. La fabricación electrolítica de zinc puede producir nieblas que contengan ácido sulfúrico y sulfato de zinc y que pueden irritar el aparato respiratorio y digestivo y producir erosión dental.

II.2.3.- Características y toxicidad del manganeso.

El manganeso pertenece al grupo de los metales de transición, también llamados elementos de transición (anexos tabla 4).

El estado del manganeso en su forma natural es sólido (generalmente no magnético). El manganeso es un elemento químico de aspecto plateado metálico. El número atómico del manganeso es 25. El símbolo químico del manganeso es Mn. El punto de fusión del manganeso es de (diamante) 1517 grados Kelvin o de - 272,15 grados celsius o grados centígrados. El punto de ebullición del manganeso es de 2235 grados Kelvin o de 1962,85 grados celsius o grados centígrados.

II.3.-Tecnologías de tratamiento de aguas contaminadas por metales pesados.

Existen numerosos métodos físicos, químicos y biológicos para el tratamiento y la remoción de metales pesados presentes en soluciones acuosas. Entre los químicos están la precipitación y el tratamiento electroquímico, que son considerados inefectivos en especial cuando la concentración del metal en la solución se encuentra entre 1 y 100 mg. L⁻¹; además, el primero de ellos produce grandes cantidades de lodo que debe ser posteriormente tratado. Entre los tratamientos físicos, el intercambio iónico y la adsorción sobre carbón activado son procesos caros cuando se tratan grandes volúmenes de agua y efluentes conteniendo metales pesados en baja concentración por lo que no pueden ser usados a gran escala.

Entre los biológicos está la biorremediación, la cual se efectúa a través de varios mecanismos que son: bioacumulación, biomineralización, biotransformación, quimiosorción y bioadsorción.

II.4.- Biorremediación de metales pesados de aguas residuales por bioadsorción.

Algunos organismos y sus productos son de gran aplicación en procesos de bioadsorción o bioacumulación de metales pesados en solución, los mismos ofrecen una alternativa a las técnicas convencionales para la eliminación o recuperación de metales. En base a lo anterior se ha generado un gran interés en la extracción de iones de metales pesados de aguas residuales utilizando procesos biotecnológicos (Villegas, 1995).

II.4.1 Fundamento teórico.

La bioadsorción es un proceso físico-químico, que se define como la remoción de sustancia de una solución a través de materiales biológicos. Es realizada por organismos o sus componentes tanto en estado vivo como muerto y se ha impulsado como una tecnología promisorio debido a su simplicidad, analogía

operativa con el intercambio iónico, eficiencia aparente y disponibilidad de la biomasa y bioproductos de desechos (Kelly y col. 2012).

La utilización a escala industrial de los bioadsorbentes aun se encuentra lejos de la realidad. Para que un bioadsorbente pueda llegar a ser considerado como un material competitivo y valioso a escala industrial, debe cumplir varias características importantes (Macek y col., 2011): Tener una alta capacidad de adsorción; estar disponible en cantidades suficientes en una localidad determinada; ser barato y no tener valor para otros usos; el metal adsorbido debe ser fácilmente recuperado y el adsorbente tiene que ser capaz de ser reutilizado.

Varios materiales han sido reportados como bioadsorbentes para la remoción de metales pesados de soluciones acuosas. Entre ellos se han citado bacterias, hongos, levaduras, algas, plantas, desechos de industrias alimenticias y agrícolas, entre otros (Ghaedi y col. 2013). Por otro lado la producción masiva de ciertos hongos y levaduras a nivel industrial (producción de ácidos orgánicos, alcohol, enzimas, etc.), hace de estos microorganismos una alternativa para su uso como materiales biosorbentes para la retención de metales pesados en efluentes contaminados.

El uso de biomasa muerta, explotando las propiedades químicas del material biosorbente, presenta algunas ventajas, tales como: bajo costo, alta eficiencia de retención y regeneración potencial, lo cual ha despertado el interés de desarrollar filtros biosorbentes con estos materiales. Un numeroso grupo de cultivos fúngicos, que son empleados a nivel industrial, comienzan a ser examinados para determinar su capacidad de secuestro y retención de iones metálicos. (Gutiérrez, 2002).

En los microorganismos los grupos funcionales presentes en la pared celular son los responsables de la adsorción de los iones metálicos en solución. Durante este proceso ocurren interacciones entre el metal y los grupos funcionales presentes en la pared celular de los biomateriales. Los mecanismos de adsorción presentes en estos casos son la formación de complejos y compuestos por coordinación, quelación, intercambio iónico, precipitación inorgánica, o una combinación de estos procesos (Joo y col. 2010).

Los principales grupos funcionales que actúan como sitios activos son los aminos (-NH₃), carboxilatos (-COO⁻), las amidas (-NH₂), los fosfatos (PO₄³⁻), los tioles (-SH) y los hidróxidos (-OH) (Onyanha y col, 2008), disponibles como sitios de adsorción capaces de retener especies metálicas en su pared, las cuales no son incorporadas a su metabolismo por su carácter tóxico y pesado, los que posteriormente pueden ser tratados y recuperados.

II.4.2.- Factores que influyen en el proceso de bioadsorción.

Varios son los factores que afectan la bioadsorción de iones metálicos por la biomasa, son de mayor importancia el pH, la dosis de biomasa utilizada, la concentración inicial del ión metálico y el tiempo de contacto.

II.4.2.1.-Efecto del pH.

La concentración de iones H⁺ es uno de los factores más importantes que afectan en la adsorción (Pagnanelli, 2003). Los metales en disolución acuosa se encuentran en forma de diferentes especies químicas en función del pH de la disolución, esto es indicativo de la fuerte dependencia que existirá entre el pH de la disolución y la posibilidad de recuperación del metal, ya que si varían las características de las especies, sobre todo volumen y carga total, también varían las posibles interacciones entre el metal y la superficie del material adsorbente.

Además, cabe considerar que la superficie del material se puede ver afectada al ponerse en contacto con disoluciones ácidas o básicas, provocando reacciones con su superficie que modifiquen la capacidad de establecer interacciones con el metal. Una variación del pH provoca modificaciones en los grupos funcionales que se encuentran en la superficie del material, pudiendo alterar la capacidad de interacción con las especies metálicas; por tanto, la capacidad de adsorción puede verse afectada por el pH.

II.4.2.2.- Efecto de la concentración inicial del ión metálico (soluto).

Uno de los parámetros más importantes, ya que normalmente un aumento de la

cantidad de metal en disolución permite aumentar su recuperación. Este aumento está causado por el equilibrio que se establece entre el metal en disolución y el metal adsorbido por el material adsorbente, equilibrio que depende en cada caso de la cantidad de metal inicial de la disolución.

Para conocer la efectividad de un adsorbente es necesario conocer cuál es la cantidad máxima de metal (capacidad máxima) que puede adsorber. Los materiales adsorbentes establecen diferentes equilibrios de recuperación de metal cuando se ponen en contacto con disoluciones de diferente concentración de metal. Estos equilibrios dependen en todos los casos de las condiciones experimentales y son diferentes para cada temperatura. Al representar los resultados de los equilibrios entre la cantidad de metal adsorbido y la cantidad que queda en la disolución, para unas determinadas condiciones, se obtiene la isoterma de equilibrio y su ecuación se puede determinar utilizando distintos modelos.

II.4.2.3.- Tiempo de contacto.

Intervienen diversas etapas difusión externa, difusión interna, fijación superficial y transferencia de materia en el sistema. Por lo tanto para cada sistema metal-adsorbente se establecen unos equilibrios determinados y la velocidad de adsorción dependerá fundamentalmente de la naturaleza de estas relaciones. En todos los procesos de adsorción es necesario conocer el tiempo que el sistema tarda en alcanzar el equilibrio, es decir el momento a partir del cual, por más que se mantenga el contacto entre el adsorbato y el metal no se producirá más adsorción.

II.4.3- Cinética de la bioadsorción.

Las isotermas de adsorción han sido ampliamente usadas para modelar el equilibrio de bioadsorción y para predecir las interacciones del metal a diferentes concentraciones y condiciones ambientales.

Las ecuaciones más comúnmente utilizadas para describir los datos experimentales son las isotermas de Freundlich y de Langmuir, ambos son

modelos no lineales que sugieren que el metal cubre una sola capa en la superficie de la biomasa.

El modelo de pseudo-primer orden, también denominado modelo de Lagergren, asume que el ión metálico se une solo a un sitio de adsorción en la superficie del adsorbente (Ghaedi y col. 2013).

El modelo cinético de pseudo-segundo orden asume que el paso limitante de la reacción involucra interacciones químicas que conducen a la unión del ión metálico a la superficie a través de enlaces tan fuertes como los enlaces covalentes (Gupta, 2011).

El criterio para determinar la conveniencia del ajuste de un modelo a una serie de datos experimentales incluye el coeficiente de correlación (R^2) y el valor de q_e calculado. Cuando la R^2 del modelo se acerca a la unidad y la q_e calculada es igual a la q_e experimental, entonces se asume que el modelo muestra el mejor ajuste a los datos experimentales.

La bioadsorción de los iones metálicos sobre varios bioadsorbentes ha sido reportada por varios autores que sigue una cinética de pseudo-segundo orden. Esto sugiere que el paso limitante en la bioadsorción de los iones metálicos puede deberse a la quimiadsorción incluyendo fuerzas de valencia a través del intercambio de electrones entre el sorbato y el bioadsorbente, formación de complejos por coordinación y quelación (Kushwaha, 2013).

II.4.4.- Tipos de isothermas de adsorción.

La relación en equilibrio entre un adsorbente y un soluto son explicadas satisfactoriamente a través de las isothermas de adsorción (Mittal y col. 2010).

Las isothermas de adsorción describen la relación entre la masa de soluto adsorbida por unidad de masa de adsorbente y la concentración de este soluto en la solución. Son caracterizadas por parámetros definidos que expresan las propiedades superficiales y la afinidad de un adsorbente y también pueden ser usados para comparar las capacidades de los adsorbentes para diferentes solutos bajo determinadas condiciones físico-químicas (Bulgariu y col., 2012).

En la literatura son empleados varios modelos de isothermas de adsorción para ajustar los datos experimentales con el objetivo de estudiar la naturaleza de los procesos de bioadsorción. Estos modelos incluyen isothermas de dos parámetros como son la de Langmuir, Freundlich y Dubinin-Radushkevich (Abdel y col., 2014).

II.4.4.1.-Isotherma de Langmuir.

El modelo de *Langmuir* asume que la adsorción ocurre únicamente en una monocapa, con una superficie uniforme, homogéneamente estructural y que puede ocurrir en un número fijo de sitios localizados del adsorbente, con todos los puntos de adsorción idéntica y energéticamente equivalentes y sin interacción entre las especies adsorbidas en los sitios adyacentes. (Balanta, 2010). Este modelo fue desarrollado por Irving Langmuir en 1916 y asume que una vez que el sitio ha sido ocupado, no podrá continuar la adsorción en él.

De esta forma, la superficie eventualmente alcanzará un punto de saturación que representa el estado máximo de adsorción (Farhan y col. 2013). La característica esencial puede ser expresada en términos de un parámetro adimensional denominado Factor de separación (R_L) que indica si la naturaleza de la adsorción será favorable o desfavorable. El proceso de adsorción como función del Factor de separación puede ser descrito como desfavorable si $R_L > 1$, lineal si $R_L = 1$, favorable si $0 < R_L < 1$ e irreversibles en caso de que $R_L = 0$ (Esmaeili y col., 2015).

II.4.4.2.- Isotherma de Freundlich.

Este modelo es empleado para corregir los defectos de la isoterma de *Langmuir*, en particular para determinadas regiones de concentración. El modelo de la isoterma de Freundlich se aplica para describir los procesos de adsorción en múltiples sitios indistintamente de su distribución sobre superficies heterogéneas con la interacción entre las especies adsorbidas, sin presentar una barrera energética. (Balanta, 2010). La aplicación de la ecuación de Freundlich también sugiere que la energía de adsorción decrece exponencialmente al ocuparse los centros de adsorción de un adsorbente (Farhan y col. 2013). La isoterma de

Freundlich es una ecuación empírica basada en la adsorción de los iones sobre una superficie heterogénea (Esmaeili y Beni, 2014).

Los valores de n indican el grado de no linealidad entre la masa de soluto adsorbido y su concentración en la solución de tal forma que si $n=1$, entonces la adsorción es lineal, si $n<1$, se dice que la adsorción es un proceso químico y si $n>1$, entonces la adsorción es un proceso físico (Farhan y col. 2013).

II.4.4.3.- Isoterma de Dubinin-Radushkevich.

La ecuación de Dubinin-Radushkevich, es una ecuación semi-empírica donde el proceso de adsorción sigue un mecanismo de llenado de los poros del adsorbente. Este modelo asume que la adsorción tiene un carácter multicapas, que involucra las fuerzas de Van der Waals y es aplicable a los procesos de adsorción física (Boparai y col. 2011).

La Energía libre media de adsorción (E) por mol de bioadsorbente que es transferida a la superficie del sólido desde una distancia infinita en el seno del fluido puede ser obtenida a partir de las constantes dadas por el modelo de Dubinin-Radushkevich y es un parámetro habitualmente usado para distinguir un proceso de adsorción física de uno de adsorción química (Itodo e Itodo, 2010; Dada y col., 2012; Esmaeili y Beni, 2015).

Para valores de E menores de $8,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$, se infiere que el proceso de bioadsorción es de naturaleza física en la que intervienen las fuerzas de interacción débiles electrostáticas de Van der Waals; valores de E entre $8,0$ y $16,0 \text{ kJ/mol}$, indican que en el proceso de bioadsorción predomina el intercambio de iones y para valores de E superiores a $16,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$, entonces se considera que la bioadsorción es de naturaleza química, predominando la formación de enlaces estables entre el adsorbente y los iones metálicos (Boparai y col. 2011).

II.5.- Selección de bioadsorbentes. Características generales del bioadsorbente empleado en la investigación.

A pesar de que se han encontrado diferentes tipos de bioadsorbentes, que son efectivos para concentrar y recuperar metales pesados (Villaescusa, 2000). Uno

de los factores principales al seleccionar un bioadsorbente es su origen. Éstos pueden ser los siguientes (Vieira y Volesky, 2003):

- Residuos procedentes de procesos industriales, por lo que deberían obtenerse gratuitamente o a muy bajo costo.
- Organismos fácilmente disponibles y en grandes cantidades en la naturaleza.
- Organismos que se reproduzcan rápidamente, especialmente cultivados para procesos de bioadsorción.

II.5.1.- Características generales del bioadsorbente *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

La *K. marxianus* es un microorganismo unicelular, nucleado, sin motilidad, homotalico, perteneciente a la subclase de los hemiascomicetos (tabla 3), se reproduce por gemación multilateral, liberándose las esporas al llegar a su madurez, sus esporas son esféricas. Posee capacidad de crecer en un amplio intervalo de temperaturas (4 °C a 52 °C): característica esta que la hace aplicable en fermentaciones a elevada temperatura, exhibe altas velocidades de crecimiento. Es una levadura respirofermentativa (aerobia-facultativa), por lo que puede obtener energía tanto por el ciclo del ácido tricarboxílico (fosforilación oxidativa) como por fermentación etanólica. Es considerada generalmente como segura o GRAS (Generally Regarded As Safe) permitiendo la aplicación del microorganismo y sus derivados en las industrias alimenticia, farmacéutica y biotecnológica. (Urdaneta y col., 2016)

La pared celular de la levadura *Kluyveromyces marxianus*, posee una composición de quitina que oscila entre 0,57 y 1,9 % en base a peso seco, lo cual está en dependencia de las condiciones de cultivo en cuanto a composición del sustrato, temperatura del cultivo y pH, similares a los obtenidos en otras levaduras, destaca el hecho que en los cultivos limitados de nitrógeno (estrés nutricional) y a 40 °C (estrés físico) los valores son significativamente superiores (Serrat y col., 2011); por su parte la relación glucanos/carbohidratos totales está en el orden de 60 - 75 %. Tanto quitina como los compuestos péptidos-glucanos presentes en la pared

celular de hongos y levaduras (Anexos, figura 3), son los protagonistas en la adsorción de metales pesados, existiendo una fuerte atracción de los iones metálicos por los grupos funcionales de estas macromoléculas.

II.6.- Características químicas de las aguas de la Laguna Azul del Cobre.

Las minas del Cobre, ubicadas en el poblado del mismo nombre en Santiago de Cuba, comenzó su explotación desde el siglo XVI hasta finales del XX, en la modalidad de minería a cielo abierto. Las labores mineras de más de cuatro siglos de “El Cobre” han conllevado a la contaminación de los recursos hídricos, la atmósfera y la degradación de los suelos, impactando significativamente al medio ambiente del lugar.

Los resultados de la caracterización química de las aguas de la Laguna Azul del Cobre según Pérez y col., 2017 (tabla 4) demuestran que el pH varía en un rango entre 4,32 y 4,95 unidades y la concentración de los metales se comporta de la siguiente manera $Cu > Mn > Al > Zn$. Siendo el ión cobre el componente mayoritario, seguido del manganeso, sobrepasando los límites máximos permisibles según la NC 1021: 2014 y las NT del proceso de obtención del Oro, el zinc se encuentra dentro de los límites máximos permisibles.

Investigaciones realizadas revelan la existencia en el yacimiento “El Cobre” de una mineralización polimetálica (Zn-Cu-Mn) asociada a la de cobre tradicionalmente explotada. (Pérez y col., 2017).

Tabla 3. *Kluyveromyces marxianus*. Clasificación científica.

Filo	<i>Ascomycota</i>
Subfilo	<i>Saccharomycotina</i>
Clase	<i>Saccharomycetes</i>
Orden	<i>Saccharomycetales</i>
Familia	<i>Saccharomycetaceae</i>
Genero	<i>Kluyveromyces</i>
Especie	<i>K. marxianus</i>
Nombre binomial	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
Sinonimia	<i>Kluyveromyces fragilis; Kluyveromyces cicerisporus; Candida pseudotropicalis; Candida kefy.</i>

Tabla 4. Concentración de metales pesados en muestras de aguas provenientes del “Lago Azul del Cobre”.

Metales	Conc.(mg/L) 1 metro			NC 1021	PT
	Punto1	Punto2	Punto3	LMP	LMP
Ag	---	---	---	---	---
Al	5,43 -5,68	5,30 – 5,72	5,03 – 7,00	---	---
Ba	0,01– 0,04	0,02 – 0,04	0,02 – 0,04	---	---
As	---	---	---	---	---
Be	---	---	---	---	---
Cd	0,05– 0,06	0,05 – 0,06	0,05 – 0,06	---	---
Co	0,15– 0,18	0,15 – 0,18	0,15 – 0,17	---	---
Cr	0,01– 0,03	0,02 – 0,03	0,01 – 0,03	---	---
Cu	43,36–45,44	42,15– 45,72	40,39– 44,33	2	20,0
Fe	0,22– 0,48	0,13 – 0,42	0,28 – 0,56	0,3	0,3
Mn	23,01– 25,65	22,63– 25,77	22,70– 24,67	0,1	1,0
Mo	0,03– 0,06	0,03 – 0,05	0,03 – 0,07	---	---
Ni	0,006– 0,012	0,009– 0,012	0,001– 0,012	---	---
Pb	0,01– 0,04	0,02 – 0,04	0,02 – 0,04	---	---
Sb	0,11– 0,18	0,11 – 0,24	0,11 – 0,14	---	---
Sr	0,35– 0,46	0,34 – 0,44	0,34 – 0,43	---	---
V	0,001– 0,009	0,005– 0,009	0,004– 0,011	---	---
Zn	3,61– 4,07	3,66 – 4,07	3,43 – 3,90	5	20,0
Sn	0,058– 0,096	0,016– 0,023	0,023– 0,096	---	---
Hg	---	---	---	---	---
Na	52,52– 64,14	59,83– 62,13	59,00– 63,13	---	200
K	5,61– 6,43	5,58 – 6,13	5,58 – 6,13	---	---

Nota: NC 1021:2014 Higiene comunal. Fuentes de abastecimiento de agua. Calidad y protección sanitaria. Fuentes de abastecimiento superficiales; PT: Procedimientos Tecnológicos de la Planta Química (1602 Lixiviación y 1603 Precipitación).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI) y los Laboratorios de Química Ambiental del Departamento de Química, perteneciente a la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Oriente y el Laboratorio de Minerales “Elio Trincado” de la Empresa Geominera Oriente.

La preparación de las soluciones para los ensayos químicos se realizó según los procedimientos normativos de operación de cada una de las técnicas de análisis establecidas en la unidad analítica del CEBI (APHA, 1998).

III.1.- Obtención de la biomasa seca como bioadsorbente.

III.1.1- Selección de la cepa microbiana.

La cepa seleccionada para cumplir los objetivos propuestos en este trabajo fue *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 perteneciente a la colección de cepas del CEBI.

III.1.2.- Cultivo microbiano.

III.1.2.1.- Preparación del pre-inóculo.

Para el estudio (Anexos, esquema experimental 1) se partió de muestras frescas (18 h de incubación) tomada de la cepa seleccionada, y se inoculó en 100 mL de caldo YPG (Extracto de levadura 1,0 g.L⁻¹, peptona micológica 2,0 g.L⁻¹ y glucosa 2,0 g.L⁻¹), bajo cabina de flujo laminar (CLB 20103-Korea), contenido en frasco erlenmeyer de 250 mL de capacidad. El cultivo se incubó durante 48 h a 150 rpm y 32 °C ± 2 a pH 7,0 ± 0,2 unidades.

III.1.2.2.- Cultivo de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

Para el cultivo de *K. marxianus* CCEBI 2011 se tomaron los 100 mL del pre-inóculo y se sembraron en erlenmeyers de 2,0 L de capacidad, conteniendo 1,0 L de caldo YPG estéril. El cultivo se dejó crecer entre 6-7 días a 32 °C ± 2 con agitación continua a 150 rpm en minizaranda (Mizard, 2001-Cuba) y a pH 7± 0,2 unidades.

Este procedimiento se repitió 3 veces hasta obtener toda la biomasa necesaria para el estudio.

III.1.3.- Recuperación y secado de la biomasa.

Los cultivos se centrifugaron a 4500 rpm durante 10 min en centrífuga de laboratorio (Neofuge 15, 2009-China). El precipitado se lavó 3 veces con agua destilada para eliminar iones u otros residuos propios del medio, el cual una vez limpio se depositó en cápsula de porcelana para conocer la masa húmeda con ayuda de la balanza técnica (IP 30, 1983 RDA). Posteriormente se procedió al secado en estufa (AISET-YLD-6000-China) a 105 °C durante un tiempo aproximado de 12 horas hasta peso constante, transcurrido el mismo se determinó el peso seco según APHA, 1998. La biomasa seca se pulverizó por medio de un mortero, se pesó y conservó en frascos secos herméticamente cerrados.

III.2.- Preparación de las soluciones de cobre, zinc y manganeso.

Las disoluciones de cobre empleadas para este estudio, se prepararon a partir del sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) grado reactivo MERCK, las de zinc a partir del sulfato de zinc hidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) grado reactivo MERCK, y las de manganeso a partir del sulfato de manganeso tetrahidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) grado reactivo MERCK. Se pesaron las masas correspondientes para obtener soluciones madres de concentración $1,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ para cada una de las sales, a partir de las cuales se lograron todas las disoluciones necesarias en frascos de 150 mL para llevar a cabo los ensayos propuestos en este trabajo. A todas las disoluciones mediante el pH-metro (PACITONIC-Alemania) con electrodo de vidrio combinado se les ajustó el pH utilizando NaOH 0,01N o HCL 0,01N, según fuera necesario, acorde a los experimentos a realizar. Los pH de trabajo oscilaron entre 4,4 y 6,2 unidades. Todas las disoluciones se prepararon con agua destilada.

III.3.- Cuantificación de cobre, zinc y manganeso.

Las concentraciones de los metales se determinaron por Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica mediante Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES) en un

espectrómetro AMETEK, ALEMANIA. Para ello, transcurrido el tiempo de contacto bajo agitación continua en minizaranda a 175 rpm (2,91 s⁻¹) (Anexos, esquema experimental 2), las muestras se centrifugaron a 4500 rpm en centrifuga (Neofuge 5 Heal Force, CHINA) durante 10 minutos; la solución sobrenadante se filtró por medio de jeringuillas con filtros Milipore acoplado (White GSWP, 0,22 ± 0,2 µm) de 20 mm de diámetro (Jong y Parry, 2004), para eliminar los sólidos que pueden interferir en el análisis, los filtrados obtenidos se conservaron a 4 °C hasta su posterior lectura.

III.4.- Muestreo, conservación y análisis de las muestras de agua de la Laguna Azul.

Las muestras de análisis (matriz real) de la Laguna Azul del Cobre en Santiago de Cuba fueron tomadas en envases de plástico de 1,5 L de capacidad. La toma y conservación de las mismas, se realizó mediante la metodología establecida en APHA (1998). Considerando que en los procesos de adsorción influyen los parámetros químicos como pH y concentración del metal de interés, se procede a la determinación de estos en las muestras tomadas de la matriz real, según el procedimiento establecido en APHA (1998).

III.5.- Análisis estadístico de los resultados.

Los datos fueron procesados en una LAPTOP TOSHIBA, con ayuda del Sistema Estadístico Statgraphics plus, versión 5.1. Todos los gráficos fueron realizados en Microsoft Excel versión 2010. Para detectar diferencias significativas se realizó una comparación de varias muestras.

III.6.- PROTOCOLOS EXPERIMENTALES.

El plan de trabajo experimental se llevó a cabo a través de la ejecución de los siguientes protocolos.

III.6.1.- Protocolo para la determinación de los parámetros óptimos para la adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de la cepa *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

a. Selección del pH óptimo para la bioadsorción del cobre (II), zinc (II) y manganeso (II).

Para los experimentos de adsorción con la cepa estudiada se seleccionó 0,25 g.L⁻¹ de biomasa, valor inferior que el reportado por Tur y col., 2013, para experimentar el comportamiento de la biomasa a estos niveles. Las soluciones de cobre (II) fueron preparadas a partir de un patrón primario de CuSO₄·5H₂O, para el zinc, ZnSO₄·H₂O, y para el manganeso MnSO₄·4H₂O, obtenidas de una solución estándar de 1,0 mg·L⁻¹. La concentración seleccionada para el cobre (II) fue de 45,0 mg.L⁻¹, para el zinc (II) 4,0 mg.L⁻¹ y para el manganeso (II) 22,0 mg.L⁻¹, escogidos de acuerdo a los niveles de concentración en que se encuentra en las aguas de la Laguna Azul del Cobre (valores similares a la media), bajo agitación en zaranda a 175 rpm (2,91 s⁻¹) durante 90 min. El estudio se realizó a tres niveles de pH (4,4; 5,2 y 6,2), teniendo en cuenta los valores en que se encuentran en las aguas de la Laguna Azul y los resultados obtenidos por Tur y col. en el 2013. Para el ajuste del pH se utilizó un pH-metro (PATROCINIC), por adición de soluciones diluidas de HCl (Uni-chem) e NaOH (UNI-CHEM). Una vez alcanzado el tiempo de contacto establecido de la solución con el bioadsorbente, se procede a la determinación de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) según lo descrito en el epígrafe III.3.

b. Determinación del tiempo óptimo para la adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II).

Para conocer el tiempo óptimo de adsorción del cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa, se realiza la experimentación teniendo en cuenta el pH óptimo resultante del experimento anterior, bajo las mismas condiciones de agitación, nivel de concentración de los metales y dosis del adsorbente. La concentración de los metales se determinó a los tiempos 15, 30, 45, 60 y 90 min, mediante la técnica establecida en el epígrafe III.3.

c. *Evaluación de la influencia de concentración inicial del metal, para la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en las muestras analizadas.*

La evaluación de la influencia de la concentración de los metales en el proceso de adsorción por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, se realiza teniendo en cuenta los parámetros óptimos alcanzados en los experimentos anteriores y en las mismas condiciones de experimentación. Los niveles de concentración estudiados fueron 25,0; 45,0 y 60,0 mg·L⁻¹ para el cobre (II), 2,0; 4,0 y 15,0 mg·L⁻¹ para el zinc (II) y 10,0; 22,0 y 40,0 mg·L⁻¹ para el manganeso (II), seleccionados de acuerdo a los niveles de concentración en que se encuentran en las aguas de la Laguna Azul del Cobre, valores que están similares, por debajo y por encima de la media. La concentración se determinó según lo descrito en el epígrafe III.3.

III.6.2. - Protocolo para la determinación de los parámetros de equilibrio y estudio de la cinética de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II), por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

III.6.2.1- Protocolo para la determinación de los parámetros de equilibrio.

Para describir el comportamiento de la biomasa seca de la cepa *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 como bioadsorbentes de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II), a los resultados experimentales obtenidos les fueron aplicados los modelos de isotermas de adsorción de Langmuir, Freundlich, y Dubinin-Radushkevich. Estos modelos tienen el propósito de relacionar la concentración del ion metálico en solución con la cantidad adsorbida en la superficie del bioadsorbentes (Malkoc y col. 2005).

Los datos de adsorción fueron evaluados usando la isoterma de adsorción de Langmuir en su forma lineal según: $\frac{C_e}{q_{m\acute{a}x}} = \frac{K_d}{q_{m\acute{a}x}} + \frac{C_e}{q_{m\acute{a}x}}$, (ecuación 1), donde es C_e es la concentración del ión metálico en solución en equilibrio (mol·L⁻¹), K_d y $q_{m\acute{a}x}$ son la constante de Langmuir y la máxima capacidad de adsorción, respectivamente, $q_{m\acute{a}x}$ es la cantidad de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) absorbidos en el equilibrio (mol·g⁻¹).

La representación lineal, mostrará una recta si los datos experimentales se corresponden con el modelo. Las constantes $q_{m\acute{a}x}$ y b fueron calculadas a partir del

intercepto y la pendiente de la recta de mejor ajuste a los datos experimentales respectivamente.

El modelo de Freundlich evaluado por la ecuación 2: $\log q_e = \frac{1}{n} \log C_e + \log k$, donde q_e es la cantidad de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) adsorbidos en el equilibrio (mol/g), C_e son las concentraciones de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en solución en el equilibrio (mol/L), $1/n$ y K son las constantes de Freundlich y corresponden a la intensidad de adsorción y a la máxima capacidad de adsorción respectivamente.

La representación lineal de $\ln(q_e)$ contra $\ln(C_e)$, mostrará una recta si los datos experimentales se corresponden con el modelo. Las constantes K_f y n fueron calculadas a partir del intercepto y la pendiente de la recta de mejor ajuste a los datos experimentales respectivamente.

Para la aplicación del modelo de Dubinin-Radushkevich se utilizaron las ecuaciones 3 y 4.

Los datos fueron evaluados en su forma lineal (Helfferich J. y cols. 1962.), $\ln C_e = \ln a_{max} - \beta \varepsilon^2$, (ecuación 3), donde ε es el potencial de Polanyi que se calcula con la ecuación 4.

$\varepsilon = RT \ln \left(1 + \frac{1}{c_e} \right)$ (Ecuación 4), donde R es la constante de los gases, de 8,314 kJ/ mol.K y T es la temperatura absoluta en grados Kelvin.

Donde: q_{DR} es la capacidad máxima de adsorción (mmol/g), β_{DR} es el coeficiente de actividad relacionado con la energía libre de adsorción (mol^2/KJ^2) y ε es el potencial de Polanyi.

Las constantes q_{DR} y β_{DR} se determinaron a partir de la representación lineal de $\ln(q_e)$ vs ε^2 . La representación lineal de $\ln(q_e)$ contra ε^2 , mostrará una recta si los datos experimentales se corresponden con el modelo. Las constantes q_{DR} y β_{DR} fueron calculadas a partir del intercepto y la pendiente de la recta de mejor ajuste a los datos experimentales respectivamente.

III. 6.2.2- Estudio de la cinética de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

La cinética de adsorción es un elemento significativo en el tratamiento de un residual debido a que provee de información sobre los pasos y los mecanismos de las reacciones de adsorción (Gupta y col. 2010). A los procesos de bioadsorción le han sido aplicados varios modelos cinéticos entre los que se pueden destacar por su uso extendido el modelo de pseudo-primer orden y el modelo de pseudo-segundo orden. El modelo de pseudo-primer orden asume que el ión metálico se une solo a un sitio de adsorción en la superficie del adsorbente (Ghaedi y col. 2013).

Con el objetivo de evaluar el mecanismo cinético del proceso de bioadsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, fueron aplicados a los datos experimentales obtenidos en el estudio del tiempo óptimo, los modelos para reacciones de pseudo-primer y pseudo-segundo orden.

Para el modelo de pseudo-primer orden fue utilizada la ecuación dada por (Langergren, 1898 tomada de Sao y col. 2014), donde, q_e y q_t representan la cantidad de iones de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II), adsorbidos por la biomasa en el equilibrio y el tiempo t respectivamente, k_1 (1/min) es la constante de la razón de adsorción de pseudo-primer orden y se calculó a partir de la pendiente de la recta de mejor ajuste a los datos experimentales, los que fueron representados en un gráfico de $\log(q_e - q_t)$ vs t .

Para el modelo de pseudo-segundo orden fue utilizada la ecuación presentada por (Ho y McKay, 1999), para las condiciones límites cuando t y q_t tienden a 0, donde k_2 (g/mg·s) es la constante de la razón de adsorción de pseudo-segundo orden, la cual se calculó a partir del intercepto de la recta de mejor ajuste a los datos experimentales, los que fueron representados en un gráfico de t/q_t contra t .

III.6.3.- Protocolo para la evaluación de la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por el bioadsorbente estudiado en la matriz real.

En este estudio la matriz real fueron las aguas de la Laguna Azul del Cobre de Santiago de Cuba, los niveles de concentración de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) evaluados fueron de 43,36; 3,80 y 26,70 mg·L⁻¹ respectivamente, a pH 4,4 u, determinados según epígrafe III.4. y el tiempo de contacto fue establecido según los resultados de los estudios realizados en el epígrafe III.6.1., con la misma dosis del adsorbente y bajo las mismas condiciones de agitación. La concentración de los metales se determinó mediante la técnica establecida en el epígrafe III.3.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Cultivos microbianos y obtención de biomasa seca.

El uso de biomasa muerta para adsorción de metales tiene ventajas sobre las células vivas debido a que no es necesaria la adición de nutrientes. La biomasa muerta es inmune a la toxicidad o a condiciones de operación adversas, la recuperación de los metales es más fácil por medio de tratamientos que permiten la regeneración de la biomasa y la propia biomasa puede obtenerse de manera más económica, como un producto industrial de desecho. (Cañizares, 2000).

En la colección de cultivos microbianos (cepario) del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial de la Universidad de Oriente, se conservan cepas con potencialidades para degradar hidrocarburos y adsorber metales pesados, por lo que en principio se seleccionó una de ellas *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, para evaluar la capacidad que posee de adsorber cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en aguas contaminadas.

La cepa de microorganismo se escogió de acuerdo a los antecedentes que presenta esta especie sobre la remoción de metales pesados (Tur y col., 2013) y otros criterios para la selección de la misma se refieren a continuación:

Es una cepa aislada de residuales líquidos de la industria cafetalera, utilizada en la producción de etanol y enzimas pectinasas. Se destaca por ser una cepa floculante, termotolerante, con elevada velocidad de crecimiento y una amplia diversidad metabólica, lo que le permite crecer en sustratos muy variados (Serrat y col., 2002; Fonseca y col., 2008).

Para la obtención de biomasa a partir de la cepa mencionada, primeramente se obtuvo un pre-inóculo para obtener una mayor cantidad de masa celular en el cultivo subsiguiente. Este se realizó a temperatura ambiente en un período de 5-7 días, para garantizar el consumo de la mayor cantidad de sustrato y así lograr obtener una elevada cantidad de biomasa para su posterior secado.

La cepa *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 manifestó gran turbidez en el medio de cultivo (Anexos, figura 4) demostrando el crecimiento celular. Esta variable en una población o cultivo se puede expresar en función del incremento

de la masa del cultivo o del número de células. Para esto se calculó la masa del cultivo a través del peso seco, el cual resultó de $\pm 3,12$ g de biomasa/L⁻¹ de medio de cultivo utilizado, se realizaron tres réplicas obteniéndose aproximadamente 9,3 g de biomasa.

La producción y peso de la biomasa está relacionada con diferentes parámetros como son el tamaño, la composición celular y el tiempo de generación, que varían en función del tipo de microorganismo (Tur y col., 2013), además hay otros factores externos que pueden influenciar en el crecimiento microbiano como es el pH, temperatura, composición del medio de cultivo, concentración de sales, entre otros (Madigan, et. al., 2002 y Urdaneta y col., 2016).

El resultado logrado con la cepa *K. marxianus* CCEBI 2011 concuerda con lo planteado por diferentes autores, que se caracteriza por un rápido crecimiento y producción de biomasa aún a condiciones que no sean las idóneas para su crecimiento (Serrat y col., 2002; Fonseca y col., 2008), por la gran cantidad de biomasa lograda por litro de medio de cultivo utilizado sugiere que las condiciones en que fue llevado el experimento fueron adecuadas.

Aunque en este trabajo no se determinó el rendimiento de la biomasa de la cepa estudiada, el análisis se realizó en base a tres parámetros fundamentales que indican las potencialidades de biomazas microbianas para el proceso de adsorción, que son pH, concentración inicial del metal y tiempo óptimo. Lo anterior brinda información sobre el uso de esta cepa, permitiendo un proceso más económico y eficiente.

IV.2.- Determinación de los factores de mayor influencia sobre la capacidad de bioadsorción de la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 para remover cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en soluciones acuosas.

Como se comentó anteriormente, existen algunos factores que influyen en el proceso de bioadsorción; esto hace necesario ensayar detalladamente el proceso y conduce al estudio de las variables para el adsorbente utilizado en esta investigación.

IV.2.1.- Selección del pH óptimo para la adsorción del cobre (II), zinc (II) y manganeso (II).

El pH es el parámetro más importante a tener en cuenta en el proceso de bioadsorción debido a que afecta la solubilidad de los metales o la activación de los grupos funcionales en la biomasa, por lo tanto la interacción de los cationes metálicos con los sitios de unión de la biomasa es muy sensible a los valores de éste parámetro. Se ha demostrado que éste puede modificar la adsorción de los metales dependiendo del tipo de biomasa y del sorbato empleado.

El pH de la solución tiene un efecto significativo en la capacidad de bioadsorción, debido fundamentalmente al fenómeno de protonización que ocurre a bajos valores de pH y al efecto del mismo en la química de la solución.

Los sitios de unión más potenciales en los microorganismos son los grupos: carboxilos, aminos, amidas, fosfatos, sulfatos e hidroxilos. El aumento de estos sitios disponibles a grupos funcionales, se puede realizar mediante el desplazamiento de protones que está en función del pH (Gupta, 2000).

En el presente estudio se determinó el efecto del pH en el proceso de bioadsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) para la cepa *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, para lo cual se prepararon soluciones a valores de pH de 4,4; 5,2 y 6,2 unidades, con vistas a conocer el comportamiento de la cepa ensayada en la remoción de estos metales en solución.

La figura 1 muestra la variación del % de remoción para el cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en función del pH, el cual tiene un efecto notable en este proceso, es una de las variables más importantes, ya que la especiación del metal en la solución puede cambiar dependiendo de este valor (Volesky, 1995).

Para el ión cobre (II) el mayor valor fue de (46,2 %), para el zinc (II) (65,0 %) y para el manganeso (II) (42,3 %) para un valor de pH igual de 6,2 unidades. Los resultados coinciden con lo reportado por Álvarez en el 2007, que obtuvo la máxima capacidad de adsorción usando como bioadsorbente quitosano para la adsorción del ión cobre y zinc, a pH 6 unidades.

Con relación al incremento del pH (4,4 -5,0- 6,2) se observa un aumento del porcentaje de remoción. A pH bajos los protones (H^+) se encuentran en una

concentración elevada, donde existe una competencia con los iones metálicos por ocupar los sitios de unión en el biosorbente, esta competencia generalmente conlleva a una reducción de la inmovilización de los metales presentes en disolución. Es decir la protonación de la pared celular inhibe fuertemente la adsorción de metales, si el pH es muy ácido (Guibal, 1991).

Cuando el pH disminuye (H_3O^+ aumenta), la superficie de la célula tiende a estar más cargada positivamente, reduciendo la atracción entre la biomasa y los iones metálicos, existiendo competencia entre los iones hidronios y el metal. En contraste, a pH más altos se facilita la inmovilización de los metales, ya que la superficie de la pared celular se encuentra cargada negativamente (Chang 1997).

Para los tres metales el pH más adecuado en el proceso de bioadsorción por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 fue 6,2 unidades (figura 1), comparado con los resultados obtenidos para los otros dos pH ensayados en cuanto a la cantidad de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) removidos, y con lo reportado por Pérez y col. (2006), la cual obtuvo para la remoción de cobre por *Pseudomona aureginosa* un pH óptimo de 6,5 u, mientras que para zinc y manganeso fue de 7,0 u. Del mismo modo Tur y col. (2013), reportaron el pH 6,2 unidades como más adecuado para realizar el proceso de bioadsorción de Pb (II) por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, de igual modo Díaz y col. en el 2016, obtuvieron el mayor valor de adsorción de níquel por *Phyllanthus orbicularis* a pH 6,5 notándose un incremento de la capacidad de adsorción con el incremento del pH de la solución. Es conocido que a bajos valores de pH la mayoría de estos grupos no se encuentran disociados, pierden la capacidad de unirse a los iones metálicos presentes en la solución (Allaboun y Al-Rub, 2008); sin embargo pueden participar en reacciones de formación de complejos. Al incrementarse el pH, las cargas negativas en la biomasa aumentan y el estado iónico de algunos ligandos como los carboxilos, favorecen el establecimiento de enlaces con los iones metálicos. (Díaz, 2016).

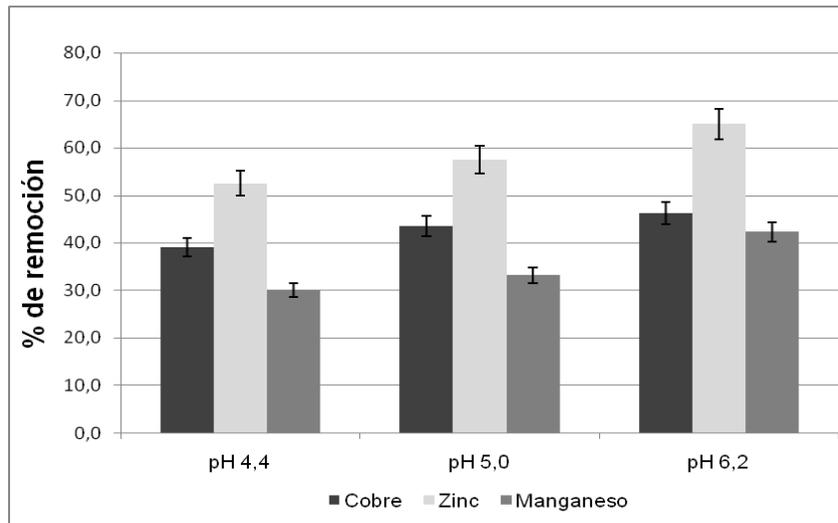


Figura 1. Influencia del pH en la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011. Condiciones experimentales: C_0 (Cu)=45 mg·L⁻¹, C_0 (Zn)=4 mg·L⁻¹ y C_0 (Mn)=22 mg·L⁻¹; a (2,91 s⁻¹); C (biomasa)= 0,25 g·L⁻¹ y tiempo de contacto de 60 min.

Para determinar las diferencias entre los porcentos de remoción de cada metal a diferentes valores de pH, se realizó una comparación de varias muestras (Anexos, tablas 5, 6 y 7), mostrando un análisis de varianza (ANOVA), el cual reveló que no existen diferencias significativas para un nivel de 95 % de confianza, para cada uno de los metales.

IV.2.2.- Determinación del tiempo óptimo para la adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

Para conocer el tiempo óptimo de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por *K. marxianus* CCEBI 2011, se realizó un estudio del proceso teniendo en cuenta la concentración del metal removida en función del tiempo.

La concentración de los metales cuando se alcanza el equilibrio de bioadsorción se calculó en soluciones para cada uno de los metales. Se ensayaron soluciones de 45,0 mg·L⁻¹; 4,0 mg·L⁻¹ y 22,0 mg·L⁻¹ para cobre (II), zinc (II) y manganeso (II), respectivamente, utilizando 0,25 g·L⁻¹ de biomasa seca de la cepa seleccionada a 5 tiempos, en un intervalo de 15 - 90 minutos. En la tabla 5 se muestra la cantidad adsorbida de cada uno de los metales por la biomasa en el tiempo y los porcentos de remoción que representan. Se observa en todos los casos aumento de la adsorción con el transcurso del tiempo hasta los 60 minutos, tiempo a partir del cual no se aprecia aumento considerable del proceso.

Tabla 5. Influencia del tiempo de contacto del biosorbente con las disoluciones de cobre (II) ($25,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), zinc (II) ($2,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) y manganeso (II) ($10,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), en los porcentajes de remoción de estos metales.

Tiempo (min)	Cobre (II)		Zinc (II)		Manganeso (II)	
	Cantidad metal absorbido ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Remoción (%)	Cantidad metal absorbido ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Remoción (%)	Cantidad metal absorbido ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Remoción (%)
15	8,60	19,11	1,30	32,5	1,80	14.09
30	13,10	29,11	2,10	52,5	3,70	30.00
45	18,50	41,11	2,40	60,0	5,00	40.45
60	20,80	46,22	2,60	65,0	5,50	42.30
90	20,80	46,22	2,60	65,0	5,50	42.30

Los resultados infieren que la bioadsorción del cobre (II), manganeso (II) y zinc (II) es dependiente del tiempo, lo cual sugiere que la retención del ión, puede ser por la interacción con grupos funcionales localizados en la superficie de la biomasa utilizada. A partir de los 60 minutos de contacto del bioadsorbente con las soluciones estudiadas, se adsorbe el 46,22 % del cobre (II), el 65,0 % del zinc (II) y el 42,30 % del manganeso (II) existentes en el medio, alcanzando rápidamente el equilibrio. De acuerdo a los resultados, el metal mejor adsorbido fue el zinc (II), seguido por el cobre (II) y luego el manganeso (II), aunque se debe destacar que el zinc (II) fue el de menor concentración de partida ($4,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y cobre (II) el mayor concentración ($45,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Los resultados obtenidos en esta investigación, sobre el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio, concuerdan con lo informado por la mayoría de los autores de los trabajos revisados, donde se ensaya la adsorción de cromo, plomo, cobre, zinc y otros metales pesados utilizando otros biosorbentes. Tur y col. (2013) igual reportó un tiempo óptimo de 60 min para la remoción de plomo por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

Sin embargo otros trabajos han demostrado que la cinética de adsorción en la superficie microbiana presenta un equilibrio muy rápido, con una adsorción total de 5 a 30 minutos (Hadi, 2003; Atkinson, 1998; Palacios y col., 2007). *Saccharomyces cerevisiae* removió Pb con elevados porcentajes de remoción a los 4 minutos de iniciado el proceso (Palacios y col., 2007). Estudios específicos con *Pseudomonas aeruginosa* en la inmovilización de Cu, Cd y Pb, demuestran que a los 5 minutos del proceso de bioadsorción se ha removido el 90 % de los metales (Chang 1996). Agudelo y col. en el 2012 reportaron 30 min como tiempo óptimo para la remoción de cromo a partir del zuro de maíz.

Los mejores porcentajes de remoción de cobre (II) para una cepa de *Bacillus sp.* fueron obtenidos entre los 60 y 90 minutos de exposición, en un estudio realizado para caracterizar la remoción de metales por esta cepa inmovilizada, según lo referido por Xu y col. (2011).

El tiempo de equilibrio no sólo está en función de los sitios disponibles de unión, sino también por el tipo, tamaño, forma y estado físico de la biomasa (activo o inerte), así como el metal implicado en el proceso de bioadsorción (Sala, 2002).

IV.2.3.- Evaluación de la influencia de concentración inicial del metal en el proceso de remoción.

Para evaluar la capacidad de adsorción de los iones metálicos por la cepa estudiada, se tuvieron en cuenta los resultados del experimento anterior, por lo que se fijaron los parámetros pH (6,2 unidades) y tiempo de contacto (60 min); la dosis de adsorbente utilizada fue $0,25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Se ensayaron concentraciones iniciales de cobre (II) de (60,0; 45,0 y 25,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); para zinc (II) (15,0; 4,0 y 2,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y manganeso (II) (40,0; 22,0 y 10,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

La figura 2 muestra el comportamiento del porcentaje de remoción para las diferentes concentraciones estudiadas. En los tres casos los mayores valores de remoción del ión metálico, se obtienen a la menor concentración ensayada, parámetro que ejerce influencia en la capacidad de adsorción. Resultados que concuerdan con lo planteado por Tur y col. (2013) en que de todas las concentraciones de plomo ensayadas con *K. marxianus* CCEBI 2011, la mejor eficiencia de remoción fue lograda a la menor concentración del metal (2,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y Matus y col. (2011) obtuvieron que a medida que aumenta la concentración inicial de cobre (II) el porcentaje de adsorción disminuye.

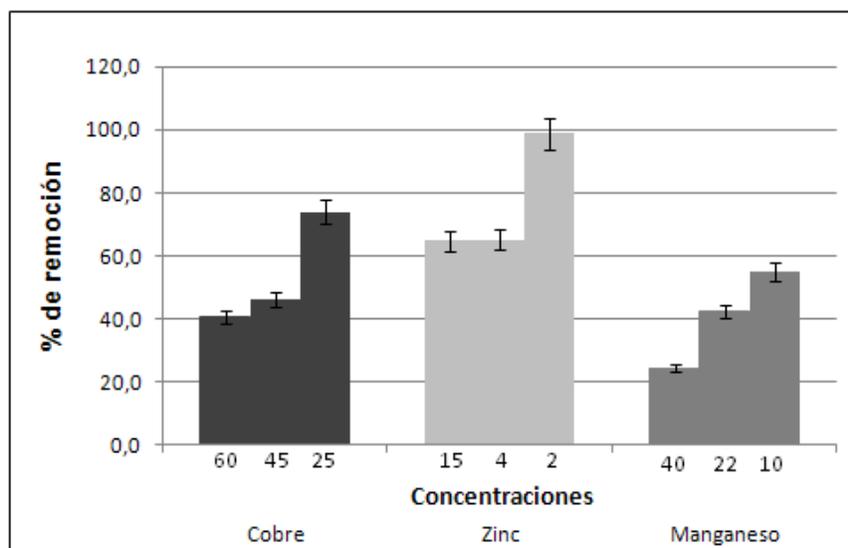


Figura 2. Influencia de la concentración inicial de los metales cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en la remoción por biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011. Condiciones experimentales: $C_0 = 25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $a (2,91 \text{ s}^{-1})$; $C (\text{biomasa}) = 0,25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y tiempo de contacto de 60 min.

Tabla 6. Parámetros obtenidos de la adsorción por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) a 3 niveles de concentración.

Cobre (II)			Zinc (II)			Manganeso (II)		
C_0 (mg.L ⁻¹)	C_e (mg.L ⁻¹)	R (%)	C_0 mg.L ⁻¹	C_e (mg.L ⁻¹)	R (%)	C_0 (mg.L ⁻¹)	C_e (mg.L ⁻¹)	R (%)
60,0	35,8	40,3	15,0	5,3	64,7	40,0	30,20	24,5
45,0	24,2	46,2	4,0	1,4	65,0	22,0	12,70	42,3
25,0	6,5	74,0	2,0	0,025	98,8	10,0	4,5	55,0

Para los tres casos (tabla 6) a valores bajos de concentración del metal 25,0; 2,0 y 10,0 mg·L⁻¹ de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II), respectivamente la biomasa estudiada mostró los mayores valores de porcentaje de remoción (superiores al 90%) para el zinc (II), para cobre (II) (superiores al 70 %) y superiores al 50 % para el manganeso (II); sin embargo, para altos valores de concentración (60,0 mg·L⁻¹ para el cobre (II) y 40,0 mg·L⁻¹ para el manganeso (II)) se obtienen valores de remoción inferiores al 50 %, no siendo así para el zinc (II), que para (15,0 mg·L⁻¹) se obtuvieron valores por encima del 60 %.

La remoción de cobre (II) y manganeso (II) fue estadísticamente significativa a los tres niveles de concentraciones ensayadas para un 95 % de confianza. En cambio para zinc (II) a concentraciones de 2 mg·L⁻¹ existe diferencias estadísticamente significativas con los niveles de concentración de 4 y 15 mg·L⁻¹ para un 95% de confianza, el valor-P (0,042) rechazando la hipótesis nula para alfa= 0,05.(Anexos, tablas 8, 9 y 10) En todos los casos al determinar los valores óptimos de los factores de mayor influencia en la adsorción de los metales pesados por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, el manganeso (II) resultó ser el menos adsorbido, con menor porcentaje de remoción, coincidiendo con los resultados obtenidos por Pérez, 2009 pero con *P. aeruginosa* AT18. Esto podría estar condicionado a que los compuestos del manganeso (II) son más solubles que los de cobre (II) y zinc (II), siendo posible que parte del manganeso (II) que fue atraído por los grupos funcionales del ligando fuera desorbido a la disolución.

IV.3.- Isotermas y cinética de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en soluciones acuosas por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

La adsorción de una especie química presente en la solución (adsorbato) por los constituyentes de la fase sólida del adsorbente, ocurre debido a la interacción entre la superficie activa de las partículas sólidas y el adsorbato. La cantidad adsorbida de una determinada especie depende no sólo de la composición del

sólido (biomasa) sino también de la especie química de la que se trata y de su concentración en la solución.

Las isothermas de adsorción han sido ampliamente usadas para modelar el equilibrio de bioadsorción y para predecir la retención de los metales por los grupos funcionales de la pared celular en la superficie del adsorbente, de igual modo son parte esencial para el diseño, cálculo de eficiencias y costos de la adsorción. Las isothermas también permiten estimar el grado de purificación que puede ser alcanzado, la cantidad de adsorbente requerido, y la sensibilidad del proceso respecto a la concentración del producto; es por ello que en el presente estudio se construyeron las isothermas de adsorción cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

IV.3.1.-Isothermas de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en soluciones acuosas por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

Para describir el comportamiento de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, fueron probados los datos obtenidos sobre el efecto de la concentración inicial usando los modelos de isothermas de adsorción de Langmuir, Freundlich y Dubinin-Radushkevich (D-R), que permiten describir el comportamiento del bioadsorbente, los parámetros obtenidos para cada modelo se muestran en las tablas 7,8 y 9.

El modelo de Langmuir es usado con frecuencia, debido a que contiene solo dos parámetros de fácil comprensión que reflejan dos importantes características de los sistemas de adsorción (Esmaeili y Beni, 2015). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que este modelo originalmente fue desarrollado a partir de los trabajos realizados con carbón activado como adsorbente para especies moleculares, por tanto, la capa monomolecular considerada por el modelo implica una adsorción basada en la superficie, lo cual no se aplica completamente para los fenómenos de bioadsorción, donde la biomasa suele comportarse como un gel transparente p Los datos fueron evaluados primeramente usando la isoterma de adsorción de Langmuir para los tres metales en su forma lineal (ecuación 1).

Tabla 7. Parámetros de los modelos de adsorción de cobre (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

Modelo	Parámetros	Valores
Langmuir	$q_{\text{máx}}$ (mol.g ⁻¹)	0,138
	Kd	0,018
	R ²	0,983
Freundlich	n	2,766
	Kf (mol.g ⁻¹)	58,32
	R ²	0,915
Dubinin-Radushkevich	q_s (mg.g ⁻¹)	7,360
	β (mol ² /KJ ²)	0,0045
	E (kJ.mol ⁻¹)	10,541
	R ²	0,884

Tabla 8. Parámetros de los modelos de adsorción de zinc (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

Modelo	Parámetros	Valores
Langmuir	$q_{\text{máx}}$ (mol.g ⁻¹)	0,072
	Kd	0,0016
	R ²	0,981
Freundlich	n	2,780
	Kf (mol/g)	60,3
	R ²	0,976
Dubinin-Radushkevich	q_s (mg.g ⁻¹)	12,430
	β (mol ² /KJ ²)	0,004
	E (kJ.mol ⁻¹)	12,91
	R ²	0,949

Tabla 9. Parámetros de los modelos de adsorción de manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

Modelo	Parámetros	Valores
Langmuir	$q_{\text{máx}}$ (mol.g ⁻¹)	0,064
	Kd	0,022
	R ²	0,993
Freundlich	n	3,000
	Kf (mol/g)	100,00
	R ²	0,973
Dubinin-Radushkevich	q_s (mg.g ⁻¹)	13,37
	β (mol ² /KJ ²)	0,0100
	E (kJ.mol ⁻¹)	7,071
	R ²	0,922

La isoterma de Langmuir es probablemente el modelo más extensamente aplicado para una isoterma de adsorción. En esta isoterma se estima que la absorción ocurre a través de una monocapa y supone que todos los sitios activos en la superficie del adsorbente tienen la misma afinidad por el sorbato. Esta ecuación es usada empíricamente para simular curvas favorables en el sistema de equilibrio, principalmente cuando se estudia el equilibrio de adsorción en solución de una sola especie.

Para el cobre (II) se obtuvo una línea recta cuando se graficó sobre el intervalo de concentración investigado (Figura 3); la linealidad indica que la adsorción obedece el modelo de Langmuir. De la pendiente de la línea recta y la intercepción se obtuvieron los valores de la $q_{\text{máx}}$ y K_d de $0,138 \text{ mol.g}^{-1}$ y $0,018$; respectivamente, con un coeficiente de correlación $R^2 = 0,983$. Para el zinc (II) se obtuvieron valores de $q_{\text{máx}}$ y K_d de $0,072 \text{ mol.g}^{-1}$ y $0,0016$; respectivamente y coeficiente de correlación de $0,981$ y para el manganeso (II) valores de $q_{\text{máx}}$ y K_D de 0.064 mol.g^{-1} y $0,022$, respectivamente, y coeficiente de correlación de $0,993$. (Figuras 4 y 5) Como puede observarse, los datos experimentales en los tres casos presentan un buen ajuste con el modelo de Langmuir ($R^2_{\text{Cu}}=0,983$, $R^2_{\text{Zn}}=0,981$, $R^2_{\text{Mn}}=0,993$).

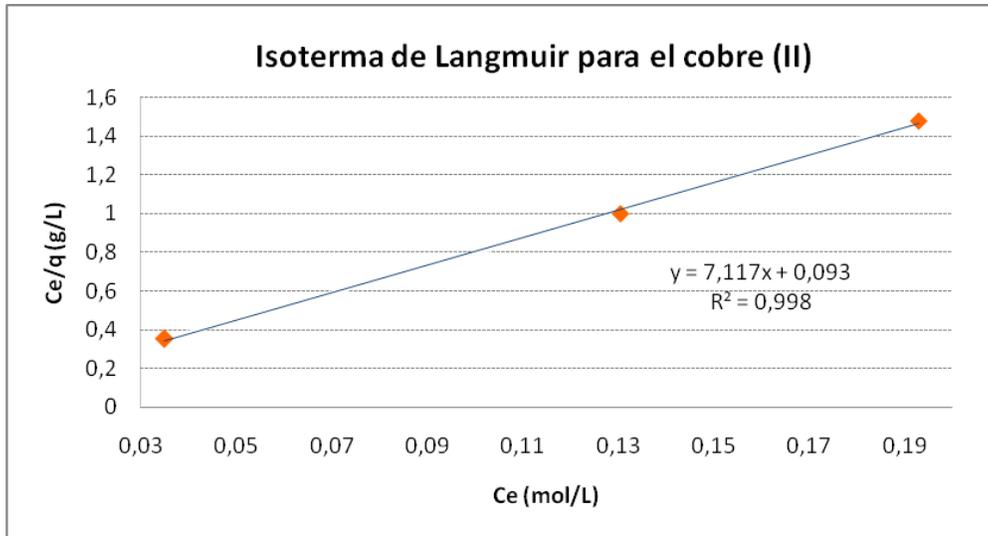


Figura 3. Isoterma de adsorción de Langmuir para cobre (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (pH 6,2 unidades, dosis de adsorbente 0.25 g.L⁻¹ y tiempo de contacto 1 hora a 2,91 s⁻¹).

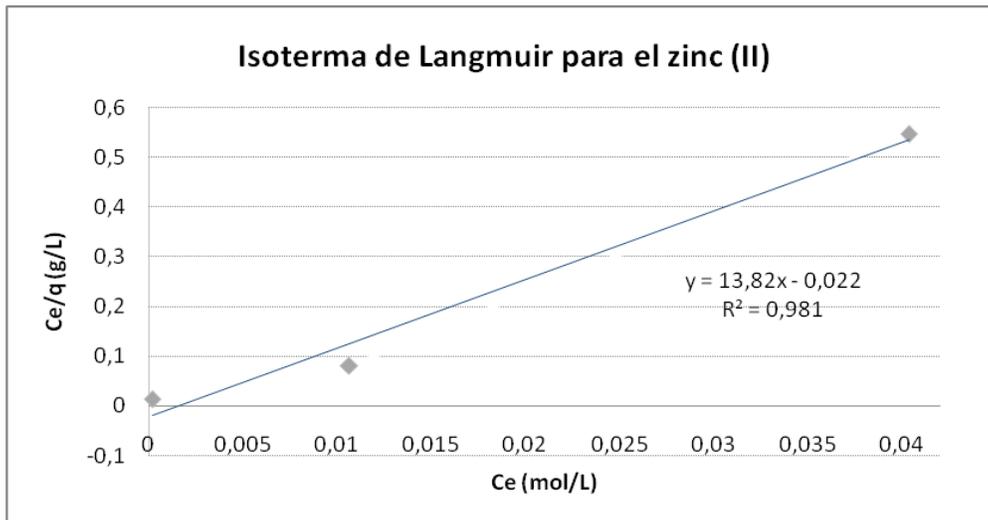


Figura 4. Isoterma de adsorción de Langmuir para zinc (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (pH 6,2 unidades, dosis de adsorbente 0.25 g.L⁻¹ y tiempo de contacto 1 hora a 2,91 s⁻¹).

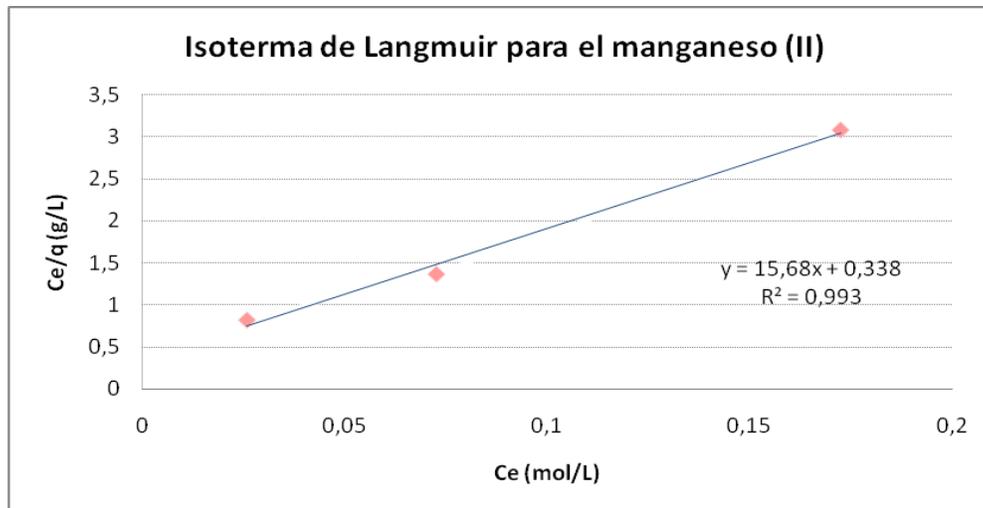


Figura 5. Isoterma de adsorción de Langmuir para manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (pH 6,2 unidades, dosis de adsorbente $0,25 \text{ g.L}^{-1}$ y tiempo de contacto 1 hora a $2,91 \text{ s}^{-1}$).

Los datos de adsorción también fueron evaluados, usando la isoterma de adsorción de Freundlich que responde a la ecuación 2.

Este modelo empírico puede ser aplicado tanto para una adsorción ideal sobre superficies heterogéneas como para una adsorción en multicapas. Los valores de $1/n$ y K , corresponden a la intensidad de adsorción y a la máxima capacidad de adsorción respectivamente; estos valores fueron obtenidos con la ayuda de la pendiente e intercepción de la línea recta mostrada en las figuras 6, 7 y 8; y los valores correspondientes encontrados para el cobre (II) fueron 0,14 y 58,32 mol·g⁻¹, respectivamente; 0,284 y 60,3 mol·g⁻¹ para el zinc (II) y 0,31 y 100 mol·g⁻¹ para el manganeso (II).

Valores fraccionales relativamente altos de $1/n$ entre 0 y 1 demuestran una validez de la clásica isoterma de Freundlich sobre el intervalo de concentración de los metales estudiados. Y analizando los datos anteriores, la capacidad máxima de adsorción de la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 para los tres metales es superior a los reportados por Tur y col. (2013), la cual reportó 1,08 mol·g⁻¹. En Las tablas 10, 11 y 12, se encuentran los valores obtenidos para cada ión metálico.

Por otro lado, los datos también fueron evaluados con la isoterma de adsorción de Dubinin-Radushkevich (D-R) en su forma lineal (Helfferich J. y cols. 1962.) (ecuación 3 y 4). En las figuras 9, 10 y 11 se muestra una gráfica de $\ln q_e$ vs. ϵ^2 .

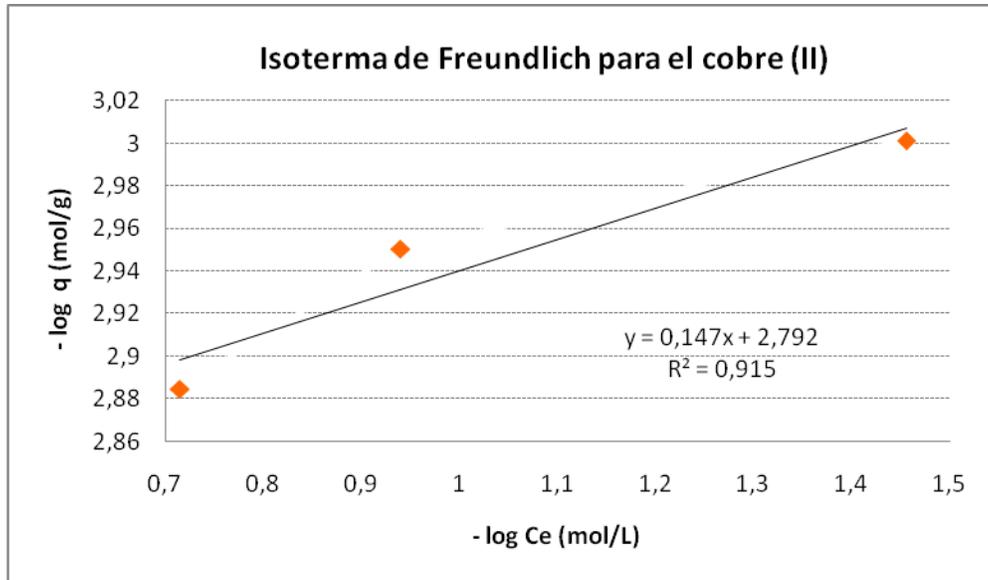


Figura 6. Isoterma de adsorción de Freundlich para cobre (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (pH 6,2 unidades, dosis de adsorbente 0.25 g.L⁻¹ y tiempo de contacto 1 hora a 2,91 s⁻¹).

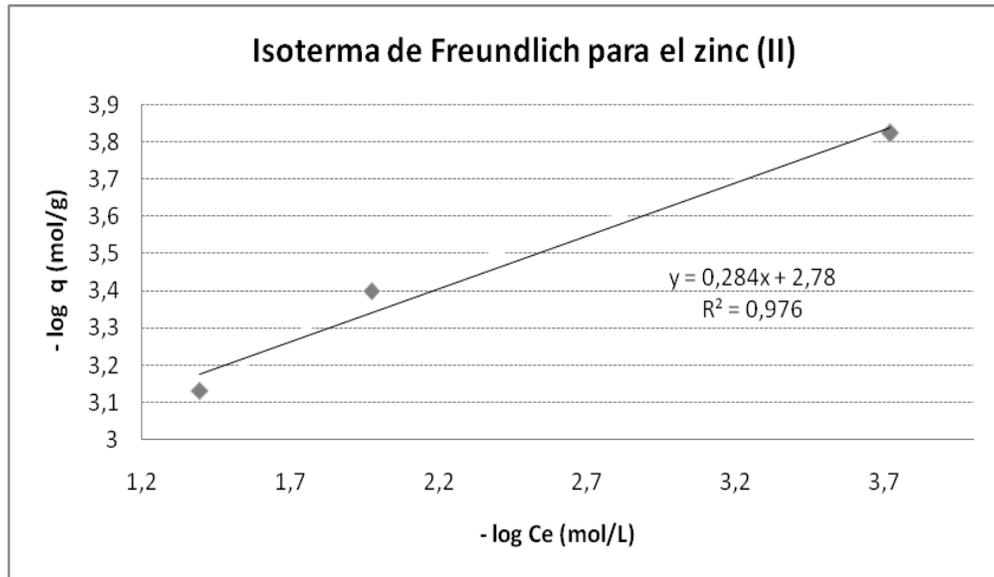


Figura 7. Isoterma de adsorción de Freundlich para zinc (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (pH 6,2 unidades, dosis de adsorbente 0.25 g.L⁻¹ y tiempo de contacto 1 hora a 2,91 s⁻¹).

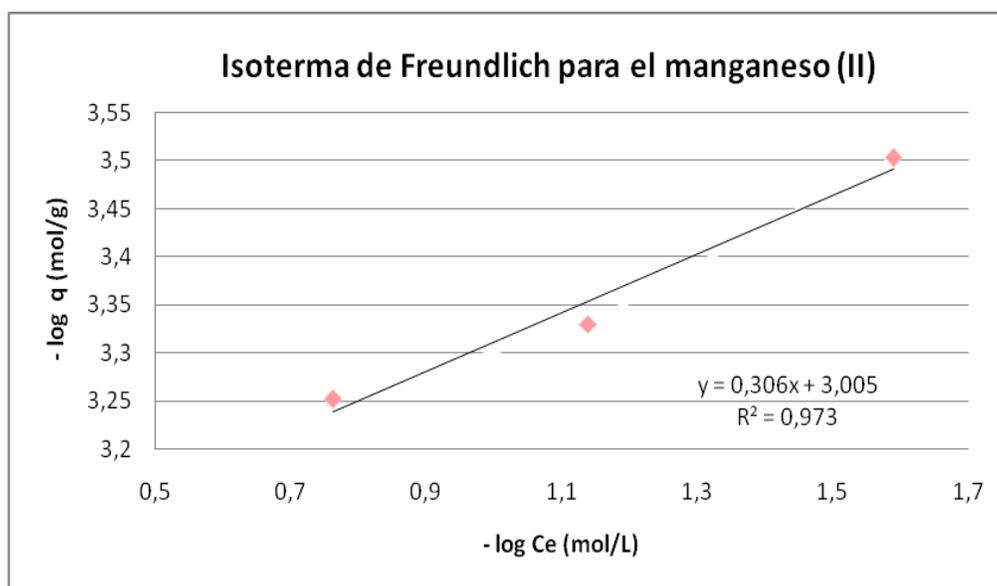


Figura 8. Isoterma de adsorción de Freundlich para manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (pH 6,2 unidades, dosis de adsorbente 0.25 g.L⁻¹ y tiempo de contacto 1 hora a 2,91 s⁻¹).

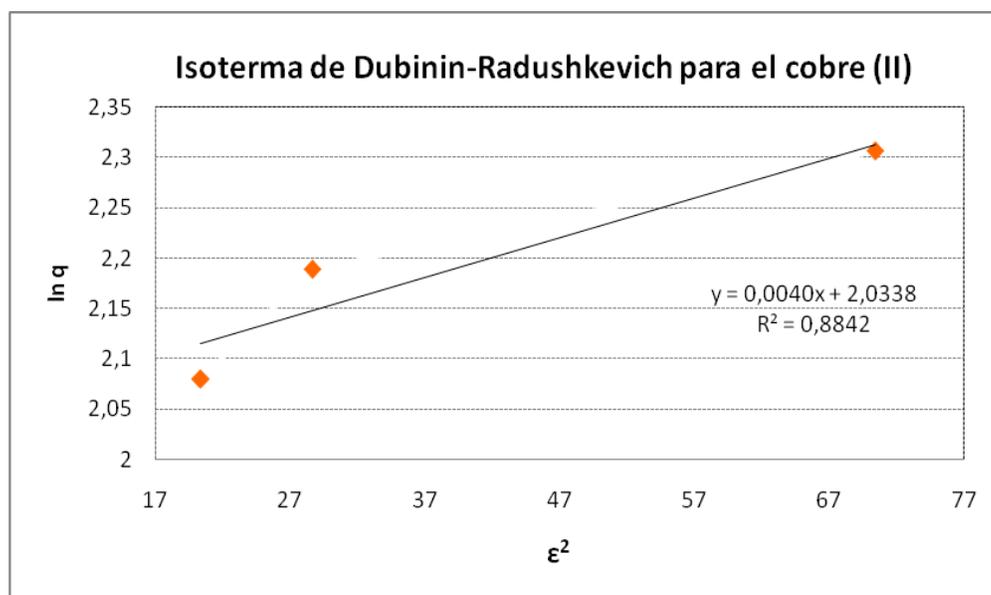


Figura 9. Isoterma de adsorción de Dubinin-Radushkevich para cobre (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (pH 6,2 unidades, dosis de adsorbente 0.25 g.L⁻¹ y tiempo de contacto 1 hora a 2,91 s⁻¹).

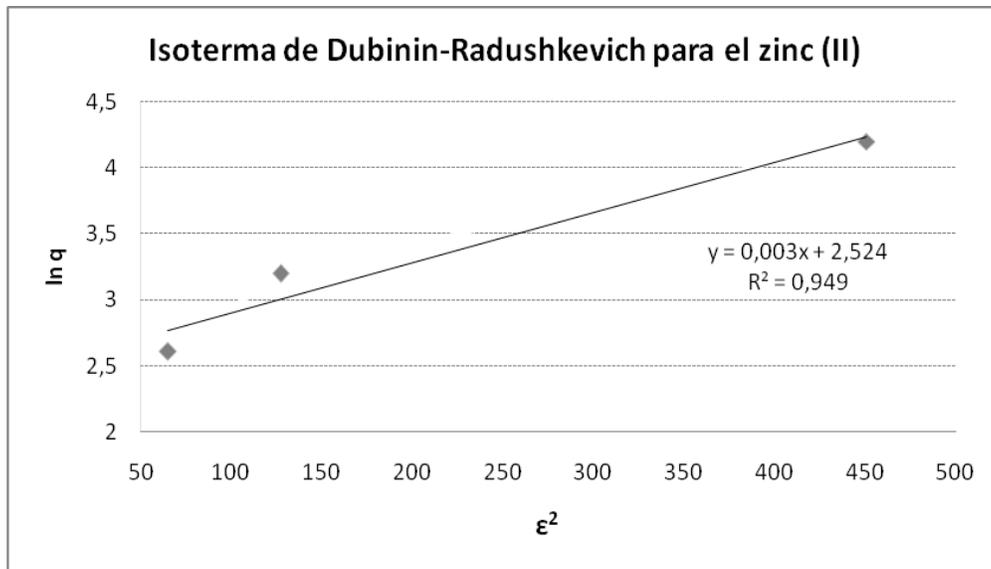


Figura 10. Isoterma de adsorción de Dubinin-Radushkevich para zinc (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (pH 6,2 unidades, dosis de adsorbente 0.25 g.L^{-1} y tiempo de contacto 1 hora a $2,91 \text{ s}^{-1}$).

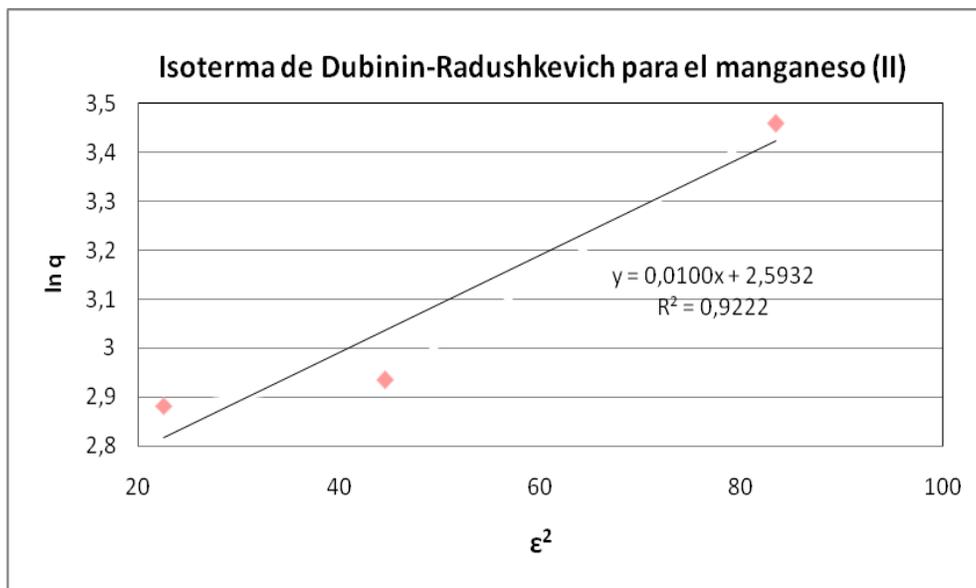


Figura 11. Isoterma de adsorción de Dubinin-Radushkevich para manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 (pH 6,2 unidades, dosis de adsorbente 0.25 g.L^{-1} y tiempo de contacto 1 hora a $2,91 \text{ s}^{-1}$).

Este parámetro es habitualmente usado para distinguir un proceso de adsorción física de uno de adsorción química (Itodo e Itodo, 2010, Dada y col. 2012, Esmaeili y Beni, 2015).

Los valores obtenidos de la máxima cantidad de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) que pueden ser adsorbidos por la biomasa y de la energía media de adsorción, obtenidas de la pendiente e intercepción de esta línea recta, fueron de q_s de 7,36 mg.g^{-1} y $E= 10,54 \text{ kJ.mol}^{-1}$, para el cobre (II); q_s de 12,43 mg.g^{-1} y $E= 12,91 \text{ kJ.mol}^{-1}$ para el zinc (II); q_s de 13,37 mg.g^{-1} y $E= 7,07 \text{ kJ.mol}^{-1}$ para el manganeso (II). La energía media de adsorción (E) fue valorada usando la relación $E= 1/(2\beta)^{1/2}$.

Según los valores de E obtenidos teniendo en cuenta lo planteado por Boparai y col. en el 2011 indican que para el caso del cobre (II) y el zinc (II) predomina el intercambio de iones $\geq 8,0$ y $\leq 16,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$ y para el caso del manganeso predomina un proceso de naturaleza física en la que intervienen las fuerzas de Van der Waals $< 8,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$. Criterios que no son considerados teniendo en cuenta de que los experimentos en los tres casos a la isoterma que mejor se ajustan es a la Dubinin-Radushkevich teniendo en cuenta los valores de R^2 .

De manera general los datos experimentales a la isoterma que mejor se ajustan es a la de Langmuir, lo que indica una mejor linealidad, dado que presenta los valores más grandes de R^2 entre 0,98 y 0,99, a diferencia de los valores R^2 presentados por Freundlich y Dubinin-Radushkevich para los tres iones metálicos, lo que sugiere que estos iones empleados en este estudio al ajustarse mejor al modelo de *Langmuir* exhiben isotermas de adsorción química (tipo I), en monocapa sobre la superficie del bioadsorbente, coincidiendo con lo reportado por Balanta y col. (2010), el cual planteó que el modelo que más se ajusta es el de Langmuir en el caso del cobre y plomo utilizando como bioadsorbente el micelio de *Aspergillus niger*. Por otra parte Elena Bustamante planteó que el modelo de Langmuir fue el modelo que mejor se ajustó a los valores experimentales obtenidos para la adsorción de Pb (II) y Cu (II) con residuos de café modificados químicamente, del mismo modo Dada y col. (2012), comprobaron que de las cuatro isotermas

estudiadas la de Langmuir fue la de mejor ajuste para la remoción de zinc (II) con cáscara de arroz modificada.

IV.3.2.- Descripción de la cinética de adsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

La cinética de adsorción es un elemento significativo en el tratamiento de un residual debido a que provee de información sobre los pasos y los mecanismos de las reacciones de adsorción (Gupta y col. 2010). A estos procesos le han sido aplicados varios modelos cinéticos entre los que se pueden destacar por su uso extendido, el modelo de pseudo-primer orden y el de pseudo-segundo orden. (Sao y col., 2014, Ho y McKay, 1999).

El mecanismo cinético del proceso de bioadsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 fue aplicado a los datos experimentales obtenidos en el epígrafe IV.2.1. La adsorción de los iones metálicos por la biomasa se realizó como una función del tiempo de contacto vs la concentración; en $0,25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de biomasa.

El modelo de pseudo-primer orden, también denominado modelo de Lagergren, asume que el ión metálico se une solo a un sitio de adsorción en la superficie del adsorbente (Ghaedi y col. 2013). Mientras que, el modelo cinético de pseudo-segundo orden asume que el paso limitante de la reacción involucra interacciones químicas que conducen a la unión del ión metálico a la superficie a través de enlaces tan fuertes como los enlaces covalentes (Gupta y Bhattacharyya, 2011).

Los valores de los parámetros obtenidos para ambos modelos son presentados en la tabla 10. Las figuras 12-17 muestran los modelos linealizados de las ecuaciones cinéticas aplicadas a los datos experimentales obtenidos del proceso de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

La linealidad de los dos gráficos para cada uno de los iones metálicos indica la aplicabilidad de los dos modelos. Sin embargo, el valor del coeficiente de regresión obtenido para el modelo de pseudo-segundo orden ($R^2= 0,91$; $R^2=0,942$; $R^2=0,992$) para cobre (II), zinc (II) y manganeso (II), respectivamente

demuestra un mayor grado de ajuste de los datos experimentales a una cinética de pseudo-segundo orden, lo que también es una indicación de la prevalencia de un mecanismo de adsorción química, como el paso limitante de la velocidad de reacción (Zavvar y Seyedi, 2011), lo cual está acorde con lo obtenido en el estudio de las isoterma de adsorción de Langmuir, lo que indica que para estas condiciones experimentales, existen evidencias de un proceso mediado por la adsorción química. Coincide además con lo reportado por Matus y col. en el 2011, en el estudio de la cinética de adsorción de Cu y Hg a partir de soluciones binarias usando quitosano, el cual obtuvo que el modelo cinético que mejor describe la cinética de adsorción es el modelo de pseudo-segundo orden; por lo tanto, el mecanismo controlante de la velocidad de adsorción, es la reacción de adsorción del ión cobre (II) en el adsorbente y no la transferencia de masa.

El valor de la constante de la razón de adsorción de pseudo-segundo orden, k_2 , para estas mismas condiciones de adsorción se estimó en 3,99 g/mg·s para el cobre (II); 0,58 g/mg·s para el zinc (II) y 36,9 g/mg·s para el Manganeso (II).

Tabla 10. Parámetros de los modelos cinéticos aplicados a la bioadsorción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

Parámetros	Pseudo- primer orden	Pseudo-segundo orden
Cobre (II)		
qe (mg.g ⁻¹)	14,2	0,162
k ₁ (1/min)	0,034	-
k ₂ (g/mg.s)	-	3,99
R ²	0,883	0,91
Zinc (II)		
qe (mg.g ⁻¹)	1,73	0,023
k ₁ (1/min)	0,029	-
k ₂ (g/mg.s)	-	0,58
R ²	0,916	0,942
Manganeso (II)		
qe (mg.g ⁻¹)	2,29	3,88
k ₁ (1/min)	0,005	-
k ₂ (g/mg.s)	-	36,9
R ²	0,978	0,992

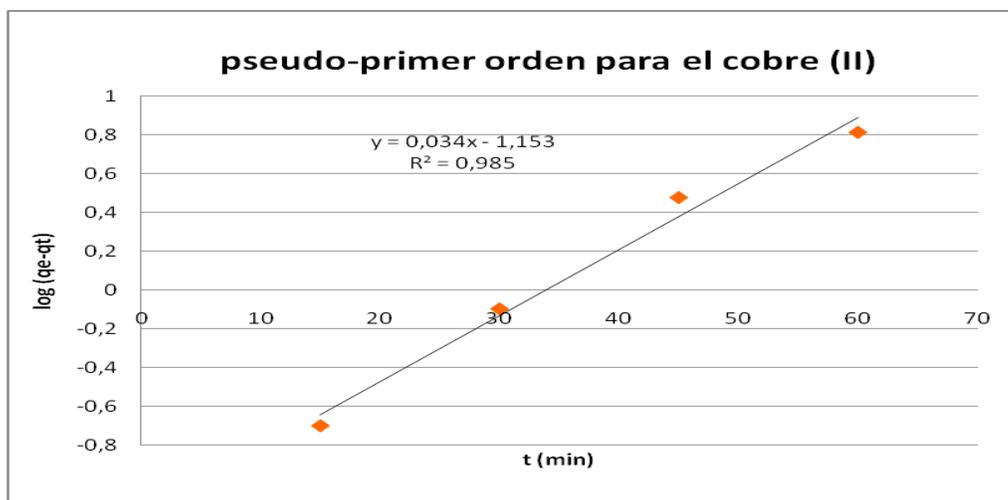


Figura 12. Modelos linealizados de las cinéticas aplicadas (pseudo-primer orden) al proceso de bioadsorción de cobre (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

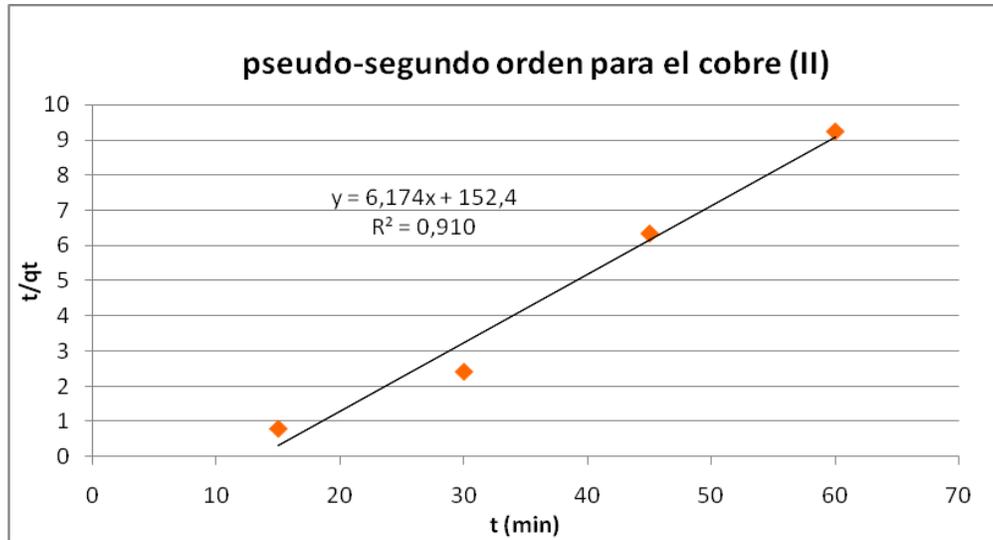


Figura 13. Modelos linealizados de las cinéticas aplicadas (pseudo-segundo orden) al proceso de bioadsorción de cobre (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

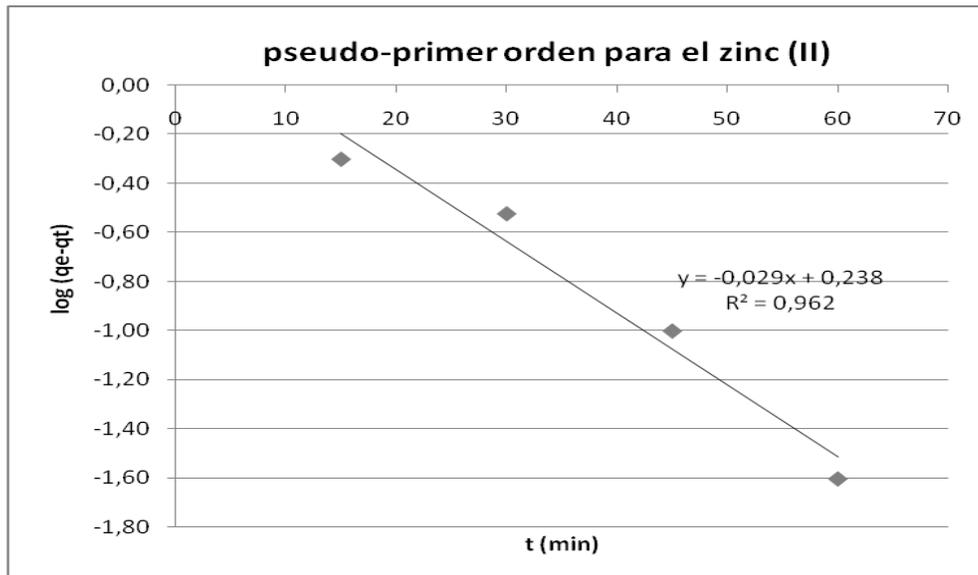


Figura 14. Modelos linealizados de las cinéticas aplicadas (pseudo-primero orden) al proceso de bioadsorción de zinc (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

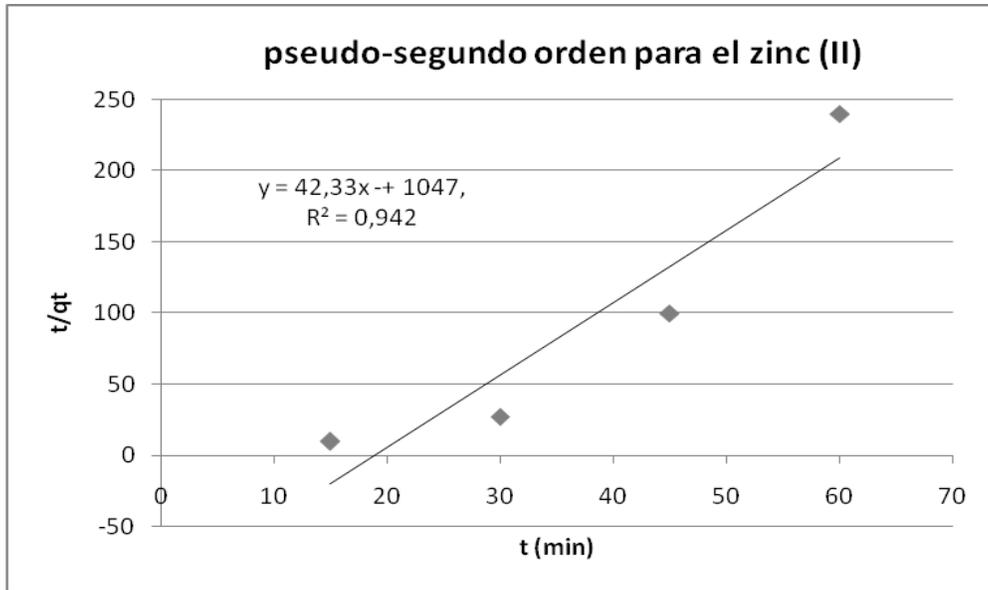


Figura 15. Modelos linealizados de las cinéticas aplicadas (pseudo-segundo orden) al proceso de bioadsorción de zinc (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

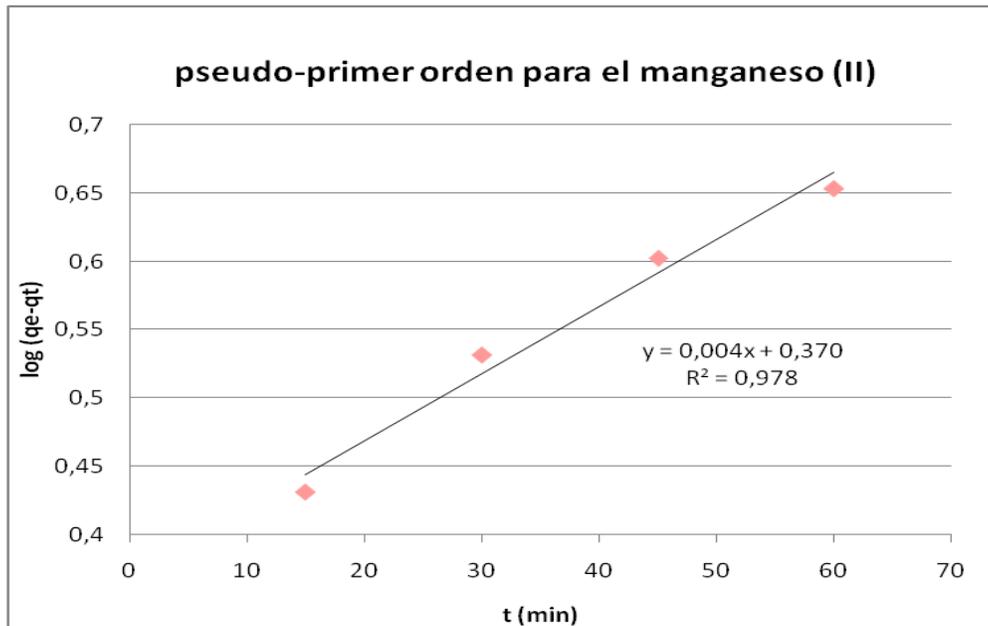


Figura 16. Modelos linealizados de las cinéticas aplicadas (pseudo-primer orden) al proceso de bioadsorción de manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

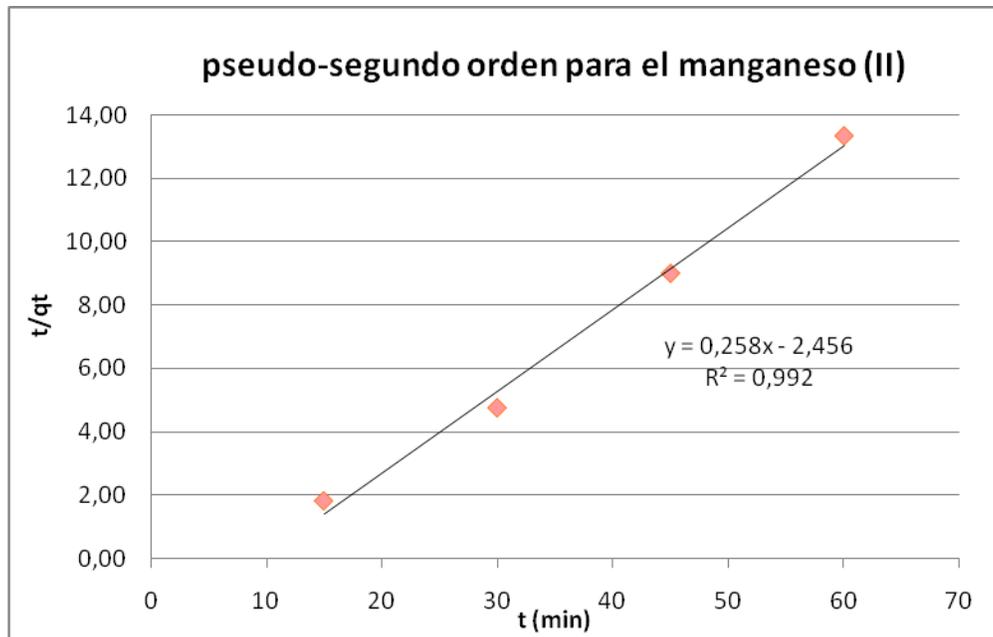


Figura 17. Modelos linealizados de las cinéticas aplicadas (pseudo-segundo orden) al proceso de bioadsorción de manganeso (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

IV.4.- Evaluación de la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por el bioadsorbente estudiado en la matriz real.

La evaluación de la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa obtenida a partir de la cepa *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 en muestras de las aguas de la Laguna Azul del Cobre, se obtuvieron valores de porcentajes de 51,8 para el cobre (II); 22,7 para el zinc (II) y 13,6 para el manganeso (II). (Tabla 11 y Figura 18), valores de remoción inferior a los logrados con las soluciones sintéticas.

Resultados que pueden estar condicionado a la composición metálica de las aguas de la Laguna Azul del Cobre, en la que se encuentran presentes además de iones de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II), iones de otros metales como el Al, Na, K, y otros, que compiten con los iones de los metales en estudio por ocupar los sitios activos de la pared celular de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, dando como resultado una capacidad más baja de adsorción. El de mayor porcentaje de remoción fue el cobre (II), seguido del zinc (II) y este del manganeso (II).

El grado de afinidad de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 con los iones metálicos, cuando se trabaja con estos tres metales presentes en la misma solución, sigue la secuencia: cobre (II)>zinc (II)>manganeso (II).

Tabla 11. Parámetros obtenidos de la adsorción por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en la matriz real.

Cobre (II)			Zinc (II)			Manganeso (II)		
C_0 (mg.L ⁻¹)	Ce (mg.L ⁻¹)	R (%)	C_0 mg.L ⁻¹)	Ce (mg.L ⁻¹)	R (%)	C_0 (mg.L ⁻¹)	Ce (mg.L ⁻¹)	R (%)
43,36	20,87	51,88	3,80	2,93	22,70	26,70	23,05	13,63

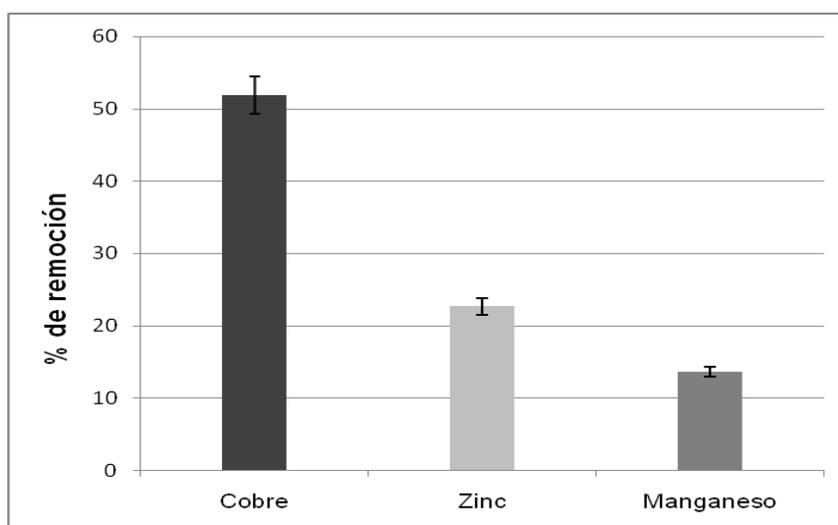


Figura 18. Eficiencia de remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 en la matriz real. *Condiciones experimentales:* C_0 (Cu)²⁺ = 43,36 mg.L⁻¹; C_0 (Zn)²⁺ = 3,80 mg.L⁻¹; C_0 (Mn)²⁺ = 26,70 mg.L⁻¹ a (2,91 s⁻¹); C (biomasa) = 0,25 g.L⁻¹ y tiempo de contacto de 60 min.

Tabla 12. Concentración de metales remanentes en la solución (matríz real) a los 60 min de tratamiento comparados con la norma NC 1021 y los procedimientos PT.

Metal	Concentración remanente en solución (mg/L⁻¹)	NC 1021 (LMP)	PT (LMP)
Cobre (II)	20.87	2.0	20,0
Zinc (II)	2.93	0,1	1,0
Manganeso (II)	23.05	5,0	20,0

Nota: NC 1021: 2014. Higiene comunal. Fuentes de abastecimiento de agua. Calidad y protección sanitaria. Acápites 3.2 Fuentes de abastecimiento superficiales; PT: Procedimientos Tecnológicos de la Planta Química.

Luego del tratamiento se observó que la cantidad de metales remanentes (tabla 12), se comportó de la siguiente manera:

- el cobre (II) se encuentra por encima de los límites máximos permisibles (2,0 mg/L) para las fuentes de abastecimiento superficiales y ligeramente por encima de los establecidos (< 20,0 mg/L) según procedimientos tecnológicos,
- el zinc se encuentra por debajo de los límites máximos permisibles (5,0 mg/L) para las fuentes de abastecimiento superficiales y de los establecidos (< 20,0 mg/L) según procedimientos tecnológicos,
- el manganeso se encuentra por encima de los límites máximos permisibles (0,4 mg/L) para las fuentes de abastecimiento superficiales y de los establecidos (< 1,0 mg/L) según procedimientos tecnológicos.

No obstante los resultados obtenidos en este trabajo evidencian que la biomasa microbiana empleada tiene potencialidades para la remoción de metales pesados en solución, lo cual podría valorarse como alternativa de tratamiento para la descontaminación de aguas residuales con contenido metálico para reducir el impacto sobre los ecosistemas.

La bioadsorción resulta ser una de las tecnologías más prometedoras, no solamente por su bajo costo, sino porque se trata de un proceso rápido que

permite tratar grandes volúmenes de agua con bajas concentraciones de metal en forma eficaz. Además la posibilidad de emplear biomasa muerta o productos derivados de su metabolismo, supera problemas de toxicidad e incluso permite la regeneración y reutilización del biomaterial por varios ciclos de adsorción/desorción. (Plaza, 2012)

V. CONCLUSIONES

1. La biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 es capaz de adsorber cobre (II), zinc (II) y manganeso (II). Los valores óptimos para la remoción se lograron a pH de 6,2 unidades; tiempo de contacto 1 hora y concentraciones iniciales del ión metálico de cobre (II) 25 mg/L⁻¹, zinc (II) 2 mg/L⁻¹ y manganeso (II) 10 mg/L⁻¹ con porcentajes de remoción de 70%, 95 % y 50 %, respectivamente.
2. De los tres modelos de isotermas de absorción aplicadas, Langmuir fue la de mejor ajuste, dado que sus valores de R² son del orden de 0,98 y 0,99, a diferencia de los valores R² presentados por Freudlinch y Dubinin-Radushkevich. La capacidad máxima de adsorción (q_{máx}) fue mayor en cobre (II) (0,138), seguida del zinc (II) (0,072) y menor en manganeso (II) (0,064).
3. La cinética de adsorción para los tres metales, se ajusta mejor al modelo de pseudo-segundo orden, lo que indica que es un proceso mediado por la adsorción química, coincidiendo con los resultados obtenidos de las isotermas de absorción.
4. La biomasa seca obtenida a partir *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 es capaz de remover cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) de las aguas provenientes de la Laguna Azul del Cobre, alcanzando porcentajes de remoción de 51,8, 22,7 y 13,6 para el cobre (II); zinc (II) y manganeso (II), respectivamente.

VI. RECOMENDACIONES

- Estudiar la capacidad de adsorción de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 para remover otros metales pesados presentes en las aguas de la Laguna Azul del Cobre.
- Ensayar la capacidad de adsorción de la cepa *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 para remover cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en disoluciones con mezclas de iones.

VII. BIBLIOGRAFÍAS CONSULTADAS

- Abdel Ghani, Nour T. and Ghadir A. El-Chaghaby (2014). Biosorption for metal ions removal from aqueous solutions: a review of recent studies, International Journal of Latest Research in Science and Technology Vol. 3(1): 24-42.
- Agudelo Valencia, Rafael Nikolay y col.(2012). Evaluación de la remoción de cromo proveniente de las aguas residuales de las curtiembres por el proceso de adsorción a partir del zuro de maíz como material adsorbente.
- Ahmaruzzaman M. (2011). Industrial wastes as low-cost potential adsorbents for the treatment of wastewater laden with heavy metals. Adv. Colloid Interface Sci. Vol. 166: 36-59.
- Allaboun, H. and F.A. Abu Al-Rub (2008). Dynamics, Mechanistics and Equilibrium Studies for the Biosorption of Nickel on Palm Tree Leaves. Jordan Journal of Civil Engineering, Vol. 2(2): 124-138.
- Álvarez Barrantes, Erick Wilfredo (2007). Determinación de Isotermas de Adsorción de hierro, cobre y zinc en Quitosano. Tesis de Ingeniero Químico. Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), Managua, Nicaragua.
- APHA (1998). "Standard Methods for the examination of water and wastewater". 20th Edición. Ed. APHA. Washington D.C. USA. pp 1193.
- Palacios, E , Villalobos, L 2007 Biosorción de metales pesados en solución acuosa mediante la biomasa de *Saccharomyces cereviceae*. Tesis de Licenciatura en Ciencias Farmacéuticas Universidad de las Américas Puebla, México.
- Balanta Grande, Danny, Carlos David, Zuluaga Fabio. (2010). Extracción, identificación y caracterización de quitosano del micelio de *Aspergillus niger* y sus aplicaciones como material bioadsorbente en el tratamiento de aguas. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 11(5), Rev. Iberoam. Polim., 11(5), 297-316 (2010).
- Benavente, M.; Matus, I.y Paniagua L. (2011). Estudio de la cinética de adsorción de Cu y Hg a partir de soluciones binarias usando quitosano. Revista científica Nexo, Vol. 24, No. 1, pp. 20-32 / Junio 2011.

- Boparai HK, Joseph M, O.Carroll DM. (2011) Kinetics and thermodynamics of cadmium ion removal by adsorption onto nano zerovalent iron particles. J Hazard Mater. Vol. 186: 458-465.
- Bulgariu D, Bulgariu L. (2012) Equilibrium and kinetics studies of heavy metal ions biosorption on green algae waste biomass. Bioresour. Technol. Vol. 103: 489-493.
- Bustamante Alcántara, Elena. (2011). Adsorción de metales pesados en residuos de café modificados químicamente. Para obtener el Grado de MAESTRÍA EN CIENCIAS con Orientación en Procesos Sustentables.
- Calzado Lamela, Orlindes. (2016). Bioadsorción de cromo (VI) en aguas residuales industriales. Tesis en opción al Título Académico de Máster en Biotecnología. Mención: Biotecnología Ambiental.
- Cano Hernández, Maribel; Martínez Hernández, Rosa Elvira; Castorena García, Hugo; Santiago Santiago, Victor (2015). Bioadsorción de Ni, Cu, Zn y Pb por medio de *Agaricus bisporus*. pp 1-10.
- Cañete Pérez, Carlos C.; Jornada Krebs, Antonio Silvio y col. (2006). Evaluacion y Diagnóstico sobre la degradacion ambiental de la mina “El Cobre” en Santiago de Cuba. Ministério de Minas e Energia – Brasil y Ministerio de Industria Básica – Cuba.
- Cañizares-Villanueva, R. O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Rev. Lat. Microbiol. 42:131-141.
- Cascaret Carmenaty, Dannys Adrian (2010). Evaluación del Residual de la Planta Galvánica de la Empresa Conformadora “30 de Noviembre” de Santiago de Cuba. Tratamiento de la Contaminación de Cromo (VI) por Bioadsorción. Tesis presentada en Opción al Título Académico de Master en Biotecnología. Mención Biotecnología Ambiental.
- Castro J.M. and Moore J.N. (2000) “Pit lakes: their characteristics and the potential for their remediation”. Environmental Geology 39 (11), pp. 1254- 1260.
- Cazañas X. *et al.*, (1998) “El depósito volcanogénico de Cu-Zn-Pb-Au. El Cobre, Cuba Oriental: estructura y mineralogía”. Acta Geológica Hispánica, vol. 33, pp. 277- 333.

- Chang J., Law R., and Chang C. (1997). Biosorption of Lead, Copper and Cadmium by Biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21. Elsevier Science, Vol 31, No 7, pp. 1651-1658.
- Chang, J.S. and Hong, J. (1994). Biosorption of mercury by inactivated cells of *Pseudomonas aeruginosa* PU21 (Rip64) CSU: Characterization and comparison studies. *Biotechnol Bioeng*, 44: p. 999-1006.
- Chicaiza, Erika y col. (2016). Proyecto de Investigación. Bioadsorción de metales pesados mediante biomasa de *Saccharomyces uvarum* extraída de aguas residuales de una cervecería local. Universidad Central del Ecuador Facultad de Ciencias Químicas Laboratorio de Microbiología de Alimentos.
- Contreras E. M.; Ferro Orozco A. M.; Urriza, M.; Bertola N. C.; Zaritzky N. E. (2004). Cinética de remoción de cromo (VI) con carbón activado.
- Dada, A.O.; A.P. Olalekan; A.M.Olatunya and O. Dada (2012). Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin-Radushkevich Isotherms Studies of Equilibrium Sorption of Zn²⁺ Unto Phosphoric Acid Modified Rice Husk. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, Vol. (1): 38-45.
- Díaz Puig, A., Chaviano Beitra, A., Guilarte-Gainza, A., Pérez Silva, R.M. Bioadsorción de iones de níquel (II) disueltos en licor residual por biomasa de *Phyllanthus orbicularis*. *Tecnología Química*, 2017, vol. XXXVII, no. 1, p. 58-76.
- Esmaili A. A. Aghababai Beni (2014). A novel fixed-bed reactor design incorporating an electrospun PVA/chitosan nanofiber membrane. *Journal of Hazard Materials*, Vol. 280: 788-796.
- Esmaili A. y Aghababai Beni A. (2015). Biosorption of nickel and cobalt from plant effluent by *Sargassum glaucescens* nanoparticles at new membrane reactor. *Int. J. Environ. Sci. Technol*, Vol. 12: 2055-2064.
- Eggs, Nancy; Salvarezza, Susana; Azario, Ricardo; Fernández, Nicolás; García, María del C.(2012). Adsorción de cromo hexavalente en la cáscara de arroz modificada químicamente.
- Fabars, I. (2011) "Evaluación de la calidad de las aguas del río Gascón de la provincia Santiago de Cuba". Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente.

- Farhan AM, Al-Dujaili AH, Awwad AM. (2013) Equilibrium and kinetic studies of cadmium (II) and lead (II) ions biosorption onto *Ficus carica* leaves. Int J Ind Chem. Vol. 4: 24-34.
- Flores Garnica J.G.; Morales Barrera L.; Pineda Camacho G.; Cristiani Urbina E. (2013). Biosorption of Ni (II) from aqueous solutions by *Litchi chinensis* seeds. Bioresour Technol. Vol. 136C: 635-643.
- Fonseca, G. G. y col. (2008). The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential Appl Microbiol Biotechnol. 79:339–354.
- Ghaedi M, Hajati S; Karimi F., Barazesh B., Ghezelbash G. (2013) Equilibrium kinetic and isotherm of some metal ion biosorption. J. Ind Eng Chem. Vol 19: 987-992.
- Guerrero Fajardo, Carlos Alberto (1985). Remoción de Metales de Aguas Residuales Industriales. REVISTA COLOMBIANA DE QUÍMICA VOL, 14 Nos. 1-2.
- Guibal E., Roulph C. and Le Cloirec P. (1991) Uranium Biosorption by a Filamentous Fungus *Mucor miehei* pH Effect on Mechanisms and Performances of Uptake. Pergoman Press, Vol 26, No 5, pp. 1139-1145.
- Guibal, E. (2004). Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review. Separation and Purification Technology, Vol. 38, No. 1, pp. 43-74.
- Gupta SS., Bhattacharyya KG. (2011). Kinetics of adsorption of metal ions on inorganic materials: A review. Adv Colloid Interface Sci. Vol. 162: 39-58.
- Gutiérrez Cerón, Miguel Angel; González González, Leandro Rodrigo; Sánchez Mora, Enrique; Mellado Peralta, Doris (2002). Biosorción de Pb²⁺ por biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*.
- Hadi B. et al (2003) Kinetics and Equilibrium of Cadmium Biosorption by Yeast Cell *S. cerevisiae*. International Journal of Chemical Reactor Engineering, Vol 1, No 47.
- Holan, Z R.; B Volesky (1994). Biosorption of Lead and Nickel by Biomass of Marine Algae. Biotechnology and Bioengineering, Vol. 43: 1001-1009.
- Hossain M; Ngo HH; Guo WS; Setiadi T. (2012) Adsorption and desorption of copper(II) ions onto garden grass. Bioresour. Technol. Vol 121:386-395.

- Ibrahim WM. (2011) Biosorption of heavy metal ions from aqueous solution by red macroalgae. *J Hazard Mater.* Vol. 192: 1827-1835.
- Itodo, A.U. and H.U. Itodo (2010). Sorption Energies Estimation Using Dubinin-Radushkevich and Temkin Adsorption Isotherms. *Life Science Journal*, Vol. 7 (4): 31-39.
- Jaramillo, César (2014). Remoción de zinc y cobre con *Zea mays*, modificado con NaOH e. pp 1-6
- Jianlong W.; Xinmin Z.; Decai D & Ding Z. (2001). Bioadsorption of lead (II) from aqueous solution by fungal biomass of *Aspergillus niger*. *Journal of Biotechnology.* 87:273-277.
- Jong, T., Parry, D. L. (2004). Adsorption of Pb²⁺, Cd, Zn, Ni, Fe y As on bacterially produce metal sulfides Edit. Elsevier, January.pp 2-3.
- Joo J-H, Hassan SH A. Oh S-E. (2010) Comparative study of biosorption of Zn²⁺ by *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus*. *Int. Biodeterior. Biodegradation.* Vol. 64:734-741.
- Kelly Vargas K; Cerro-Lopez M.; Reyna-Tellez S.; Bandala E.R.; Sanchez-Salas JL. (2012). Biosorption of heavy metals in polluted water, using different waste fruit cortex. *Phys Chem Earth, Parts A/B/C.* Vol 37-39: 26-29.
- Kushwaha S, Sudhakar PP. (2013) Sorption of uranium from aqueous solutions using palm-shell-based adsorbents: a kinetic and equilibrium study. *J EnvironRadioact.* Vol. 126C: 115-124.
- Lloyd JR & Lovley DR. (2001). Microbial detoxification of metals and radionuclides, *Current Opinion in Biotechnology.* 12: 248-253.
- Macek, Tomas and Martina Mackova (2011). Potential of Biosorption Technology. En *Microbial Biosorption of Metals*, Capítulo 2. P. Kotrba et al. (eds.), Springer Science+Business Media B.V. DOI 10.1007/978-94-007-0443-5_2.
- Madigan M. T. et al. 2002. *Microbila Ecology en Brock, Biology of Microorganisms.* Ninth Edition. Prentice Hall. USA.

- Maldonado, Amanda y col. Biosorción de plomo de aguas contaminadas utilizando *Pennisetum clandestinum Hochst* (KIKUYO) Rev. LatinAm. Metal. Mat. 2012; S4: 52-57.
- Matus, I.; Paniagua L. y M. Benavente. (2011). Estudio de la cinética de adsorción de Cu y Hg a partir de soluciones binarias usando quitosano. Revista científica Nexo, Vol. 24, No. 1, pp. 20-32 / Junio 2011.
- Méndez Hernández Abelardo A. (2014). Construcción de un biorreactor artesanal tipo tanque agitado, validación experimental y evaluación del desempeño en el cultivo de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.
- Metales: propiedades químicas y toxicidad (2000). Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo.
- Mittal A, Mittal J, Malviya A, Kaur D, Gupta VK. (2010) Adsorption of hazardous dye crystal violet from wastewater by waste materials. J Colloid Interface Sci. Vol. 343: 463-473.
- Muñoz Carpio, Juan Carlos. (2007). Biosorción de plomo (II) por cáscara de naranja "citrus cinensis" pretratada. TESIS para optar el Título Profesional de Químico.
- Navascues, E. (2010). El papel de las manoproteínas: Elaboración de vinos de calidad. Enología.
- Norma Cubana 1021: 2014 Higiene comunal. Fuentes de abastecimiento de agua. Calidad y protección sanitaria.
- Nunell, G.V.; Fernández, M.E.; Bonelli, P.R. 1 y Cukierman, A.L. (2013). Desarrollo de un adsorbente específico en base a biomasa forestal para el tratamiento terciario de aguas contaminadas con iones nitrato.
- Onyanha, D.; Mavura, W.; Ngila, J.C.; Ongoma, P. ; Chacha, J. (2008). Studies of chromium removal from tannery wastewaters by algae biosorbents, *Spirogyra condensata* and *Rhizoclonium hieroglyphicum*. Journal of Hazardous Materials, 158, 605-614.
- Pagnanelli, F. (et al.) (2003). *Metal speciation and pH effect on Pb, Cu, Zn and Cd biosorption onto Sphaerotilus natans: Langmuir-type empirical model*. Water Research. No.37, p. 627-633.

- Pahlavanzadeh H.; Keshtkar R.; Safdari J., Abadi Z. (2010). Biosorption of nickel (II) from aqueous solution by brown algae: equilibrium, dynamic and thermodynamic studies. *J Hazard Mater.* Vol. 175: 304-310.
- Palacios, E , Villalobos, L 2007 Biosorción de metales pesados en solución acuosa mediante la biomasa de *Saccharomyces cereviceae*. Tesis de Licenciatura en Ciencias Farmacéuticas Universidad de las Américas Puebla, México.
- Pérez Macías, Rocío. (2017). Aplicación del ramnolípido ORA9 en la remoción de cobre de aguas contaminadas procedentes del "Lago Azul". Trabajo de Diploma en opción al título de Licenciada en Química.
- Pérez Silva, R. M., Ábalos Rodríguez, A., Gómez Montes de Oca, J. M. & Cantero Moreno, D. (2009). Biosorption of chromium, copper, manganese and zinc by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 isolated from a site contaminated with petroleum. *Bioresource Technology*, 2009, vol. 100, p.1533–1538.
- Pineda, Rosario. (2004). Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de *Glomus intrarradices* en la adsorción y translocación de zinc y cobre en girasol *Helianthus annuus* L. crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias, Área Biotecnología.
- Plaza Cazón, Josefina. (2012). "Remoción de metales pesados empleando algas marinas". Trabajo de Tesis Doctoral.
- Posada Otálora, Luz Mery. (2011). Estudio de las principales técnicas de remediación de efluentes líquidos contaminados por drenajes ácidos de Minas de Oro en Colombia.
- Procedimientos Tecnológicos de la Planta Química: PO 1602 Lixiviación y PO 1603 Precipitación. UEB Servicios Mineros. Empresa GEOMINERA Oriente.
- Quiñones, Édgar, Tejada, Candelaria 2, Ruiz, Víctor. Remediación de aguas contaminadas con cromo utilizando diferentes biomateriales residuales. *Revista Ciencias e Ingeniería al Día*, 2014, 9(1), Enero-Junio de 2014, 25-42 ISSN: 1900-768X eISSN:2357-5409 www.revistaciad.org, pp.1-5.

- Sala E. et al (2002). Biosorption of chromium (III) by *Sargasum sp.* Biomass. Electronic Journal of Biotechnology, Vol 5, No 2.
- Sao, Kaja; Madhurima Pandey; Piyush Kant Pandey and F. Khan (2014). Biosorption of Ni(II) Ions from Electroplating Industrial Effluent using *Tinosporacardifolia* Biomass. Civil and Environmental Research, Vol.6, No.10: 91-100.
- Serrat, M., Bermúdez, C. and Villa, T. (2002). Production, Purification, and Characterization of a Polygalacturonase from a New Strain of *Kluyveromyces marxianus* Isolated from Coffee Wet-Processing Wastewater. Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol. 97.
- Serrat M., et al. (2011). Influence of nutritional and environmental factors on ethanol and endopolygalacturonase co-production by *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011. International Microbiology. 14: 41–49.
- Tejada Tovar, Candelaria; Villabona Ortiz, Ángel y Luz Garcés Jaraba (2014). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico.
- TUR NARANJO, E., ORBERÁ RATÓN, TM, ROMAGOSA ÁLVAREZ, Y., PÉREZ SILVA, RM. Bioadsorción de plomo (II) por biomasa microbiana seca: Efecto del pH. *Rev. Cub. Quim*, 2013, vol. XXV, p. 75-81.
- Urdaneta Laffita, Imilci (2016). Influencia del pH sobre el contenido y composición de la pared celular de la levadura *Kluyveromyces marxianus*. Tesis Presentada en Opción al Título Académico de Máster en Biotecnología. Mención Industrial.
- Valls M & Lorenzo V. 2002. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. *FEMS Microbiol. Rev.* 26(4):327-338.
- Van der Walt. 1971. *Bothalia*. 10(3): 418.
- Veglio, F. and Beolchini, F. 1997. Removal of metals by biosorption: a review. *Hydrometallurgy* 44:301-316.
- Vieira R. and Volesky B. (2003). Biosorption: a solution to pollution? *Internat Microbiol*, Vol 3, pp. 17-24.

- Vieira, R.S, Guibal, E., Silva, E.A., & Beppu, M.M. (2007). Adsorption and desorption of binary mixtures of copper and mercury ions on natural and crosslinked chitosan membranes. *Adsorption*, Vol. 13, No. 5-6, pp. 603-611. doi: 10.1007/s10450-007-9050-4.
- Vilasó Cadre, Javier Ernesto. (2012). Aguas de “El Lago Azul”. ¿Aguas medicinales o aguas para baño?. Trabajo Práctico Final de 2do año de Licenciatura en Química. pp 1-12.
- Villaescusa, I. 2004. Removal of copper and nickel ions from aqueous solutions using grape stalk waste. *Water Research*. N°38, p. 992-1002.
- Villanueva H. Claudia y Tapia H. Nelson. (2005). Bioadsorción de Cu (II) por biomásas que contienen pectina. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* Vol. 8 N.º 1, 2005.
- Volesky B. (1990) *Biosorption of Heavy Metal*. CRC Press, Boca Raton.
- Volesky, B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hidrometallurgy*, No.59, p. 203-216.
- Volesky B. y H. May-Phillips; (1995); Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*; *Appl. Microbiol. Biotechnol*; 42; 797-806.
- Xu, J. et al. 2011. Characterization of metal removal of immobilized *Bacillus* strain CR7 biomass from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials* 187, 450–458.
- Zavvar Mousavi, H. and S. R. Seyedi (2011). Nettle ash as a low cost adsorbent for the removal of nickel and cadmium from wastewater. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 8 (1): 195-202.

ANEXOS



Figura 1. Ejemplos de metales pesados.

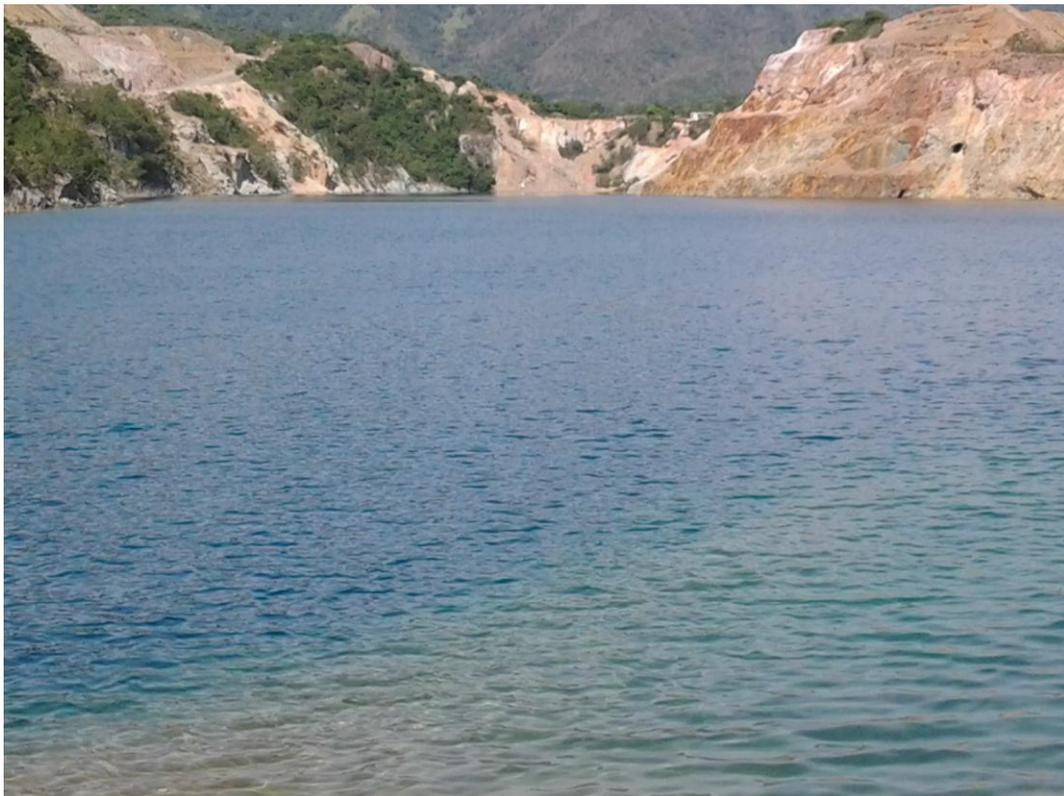


Figura 2. Laguna Azul del Cobre.

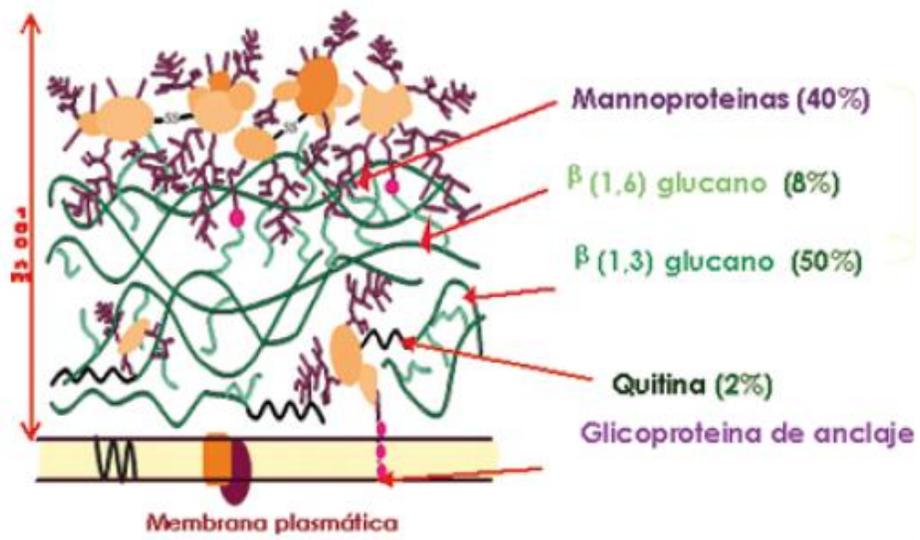


Figura 3. Estructura de la pared celular de levaduras.

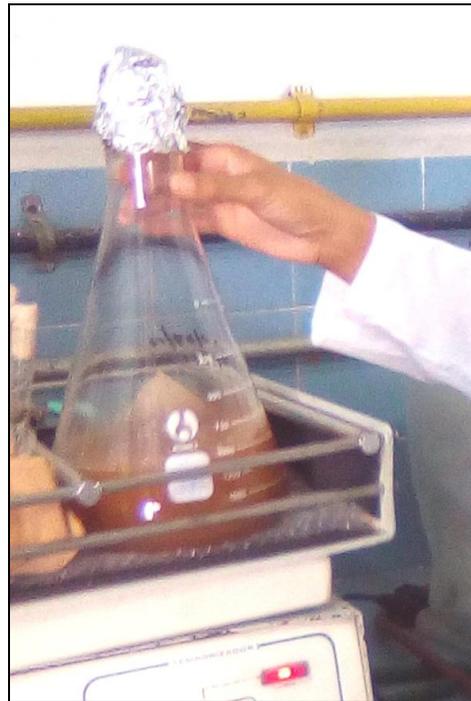
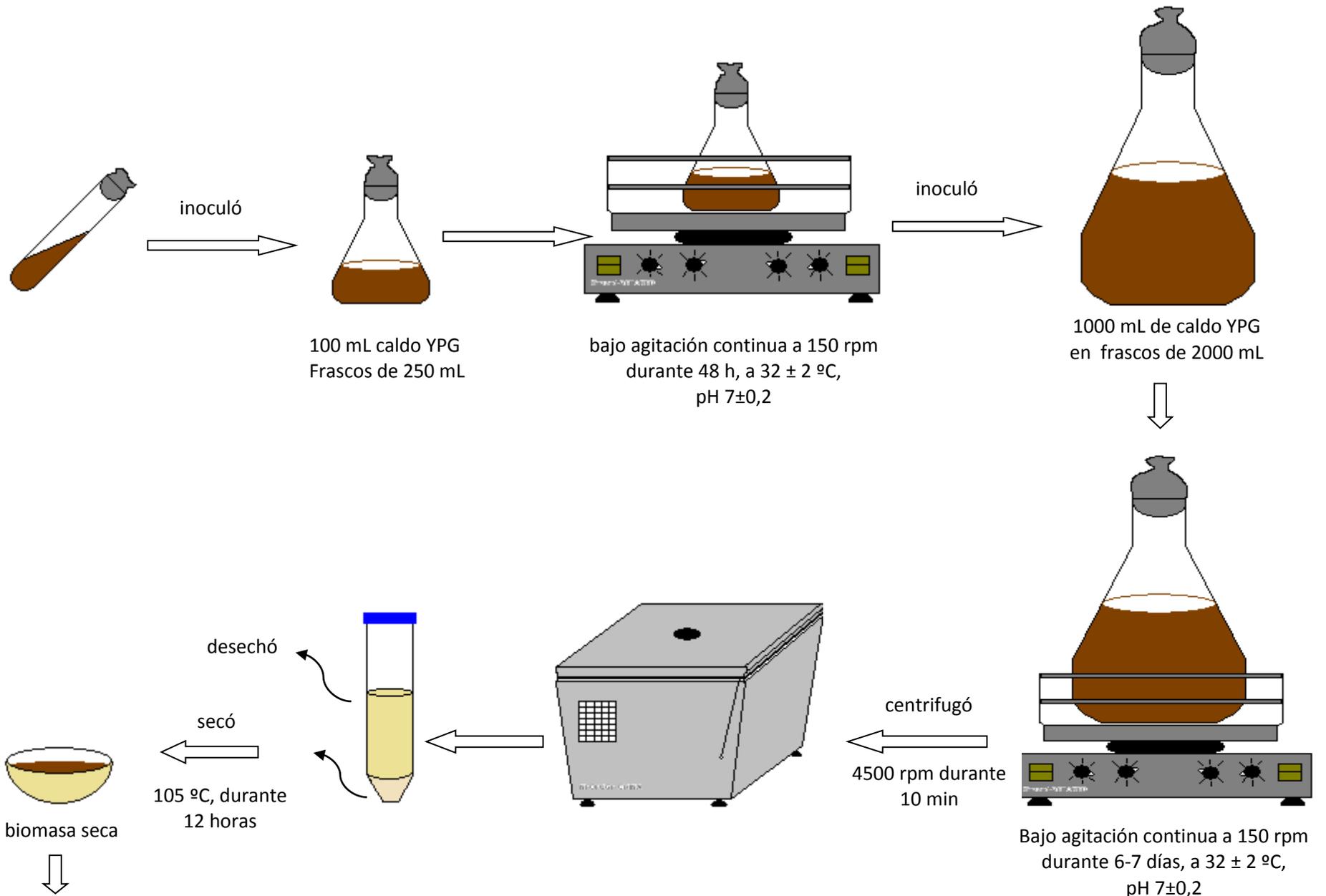
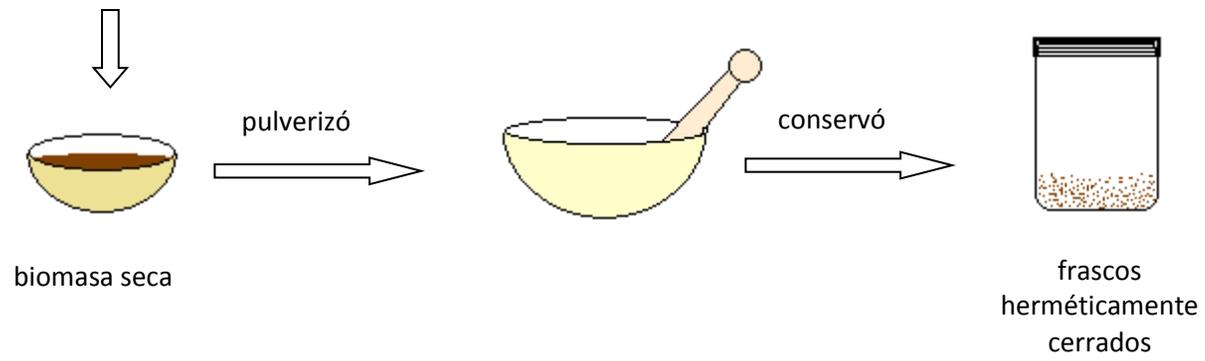


Figura 4. Cultivo microbiano obtenido.

Esquema experimental 1. Obtención de la biomasa seca como bioadsorbente.



Esquema experimental 1. Obtención de la biomasa seca como bioadsorbente. (Continuación)



Esquema experimental 2. Cuantificación de los metales.

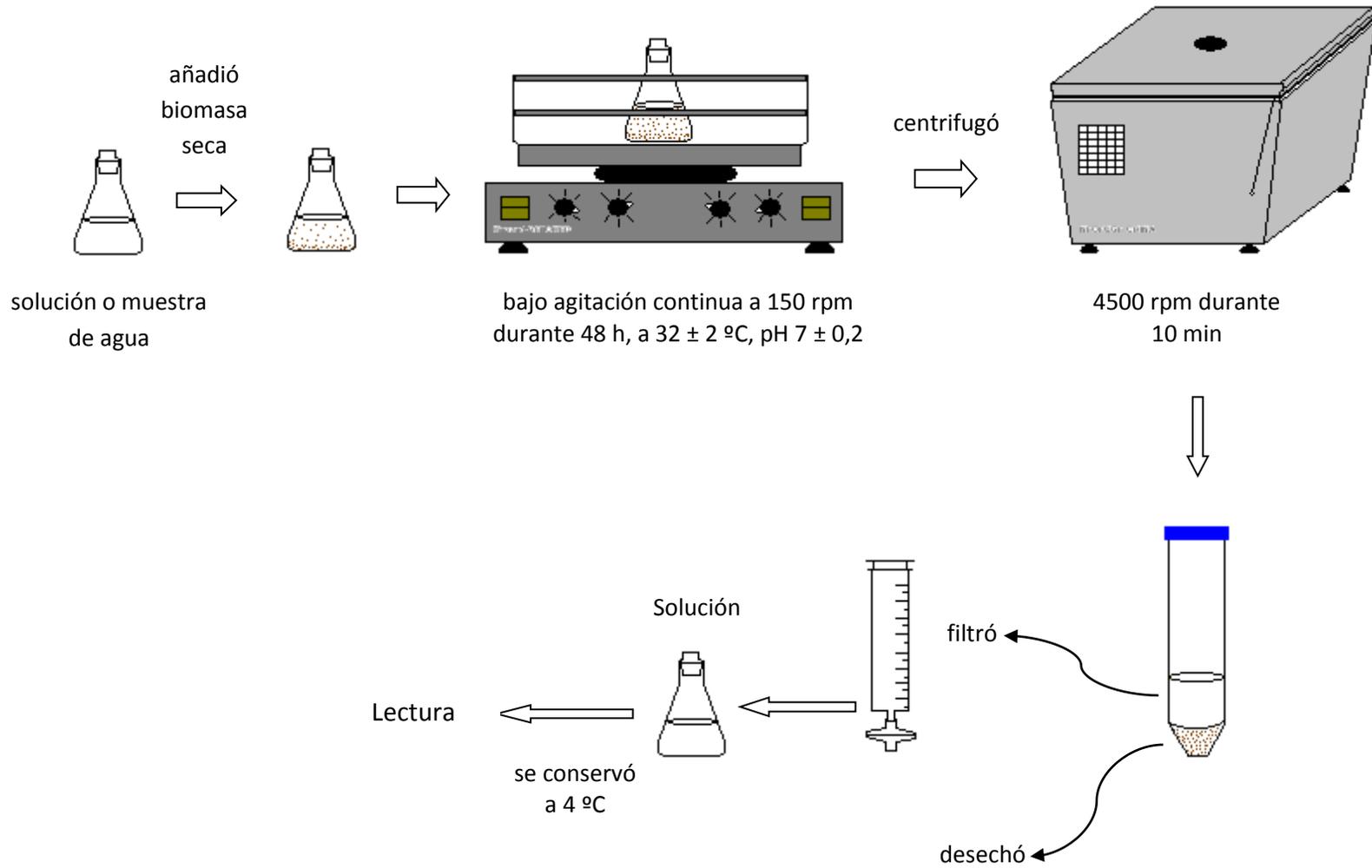


Tabla 1. Efectos potenciales a la salud por exposición a metales pesados.

Elementos	Límites regulatorios EPA (ppm)	Efectos potenciales a la salud
Mercurio	2,0	Enfermedades autoinmunes, depresión, fatiga, caída del pelo, pérdida de memoria, insomnio, psicosis, daños cerebrales, fallos en pulmones y riñones.
Cadmio	5,0	Carcinogénico, mutagénico, disruptor endocrino, daño pulmonar, fragilidad ósea, afecta la regulación del calcio.
Plomo	15	El exceso de exposición en los niños causa desarrollo dispar, reduce la inteligencia, pérdidas de memoria a corto plazo, problemas de coordinación, riesgo de enfermedades cardiovasculares.
Cromo	0,1	Sobre la piel causa dermatitis y sensibilización de la piel. Produce tos, bronquitis crónica, ulceraciones del tabique nasal y piel, dolores respiratorios y de cabeza, hemorragia nasal, dermatitis aguda.
Arsénico	0,01	Afecta procesos celulares esenciales como la fosforilación oxidativa y síntesis de ATP.
Níquel	0.2	La exposición a largo plazo puede causar pérdida de peso corporal, daño al corazón y al hígado y la irritación de piel. Algunos compuestos de níquel son carcinogénicos en seres humanos.
Selenio	50	Afecta la función endocrina, deficiencias en la actividad de las células NK, hepatotoxicidad y trastornos gastrointestinales. Se acumula en el tejido vivo.
Zinc	0,5	Puede afectar al sistema inmunológico y enzimático de los niños. Causa fatiga y disnea.
Cobre	1,3	Daños en el cerebro y los riñones, niveles elevados causan cirrosis hepática y anemia crónica, irrita el estómago e intestinos.
Cobalto	0,2	Causa vómitos y náuseas, problemas de visión, cardiopatías y daño de las tiroides.
Manganeso	0,4	Afecta mayormente el tracto respiratorio y el cerebro. Los síntomas por envenenamiento con Manganeso son alucinaciones, olvidos y daños en los nervios. Puede causar parkinson, embolia de los pulmones y bronquitis.

Tabla 2. Datos generales y características físico-químicas del cobre.

Cobre	
Símbolo químico	Cu
Número atómico	29
Grupo	<u>11</u>
Periodo	<u>4</u>
Aspecto	metálico, rojizo
Bloque	<u>d</u>
Densidad	8960 kg/m ³
Masa atómica	63.536 u
Radio medio	135 [3]pm pm
Radio atómico	145 [3]pm (Radio de Bohr)
Radio covalente	138 [3]pm pm
Radio de van der Waals	140 [3]pm pm
Configuración electrónica	[Ar]3d ¹⁰ 4s ¹
Estados de oxidación	+1, +2
Óxido	levemente básico
Estructura cristalina	cúbica centrada en las caras
Estado	<u>sólido</u>
Punto de fusión	1357.77 K
Punto de ebullición	3200 K
Calor de fusión	13.1 kJ/mol
Electronegatividad	1,9
Calor específico	385 J/(K·kg)
Conductividad eléctrica	58,108 × 10 ⁶ S/m
Conductividad térmica	400 W/(K·m)

Tabla 3. Datos generales y características físico-químicas del zinc.

Zinc	
Símbolo químico	Zn
Número atómico	30
Grupo	<u>12</u>
Periodo	<u>4</u>
Aspecto	azul pálido grisáceo
Bloque	<u>d</u>
Densidad	7140 kg/m ³
Masa atómica	65.409 u
Radio medio	135 pm
Radio atómico	142
Radio covalente	131 pm
Radio de van der Waals	139 pm
Configuración electrónica	[Ar]3d ¹⁰ 4s ²
Electrones por capa	2, 8, 18, 2
Estados de oxidación	2
Óxido	anfótero
Estructura cristalina	hexagonal
Estado	<u>sólido</u>
Punto de fusión	692.68 K
Punto de ebullición	1180 K
Calor de fusión	7.322 kJ/mol
Presión de vapor	192,2 Pa a 692,73 K
Electronegatividad	1,6
Calor específico	390 J/(K·kg)
Conductividad eléctrica	16,6·10 ⁶ S/m
Conductividad térmica	116 W/(K·m)

Tabla 4. Datos generales y características físico-químicas del manganeso.

Manganeso	
Símbolo químico	Mn
Número atómico	25
Grupo	<u>7</u>
Periodo	<u>4</u>
Aspecto	plateado metálico
Bloque	<u>d</u>
Densidad	7470 kg/m ³
Masa atómica	54.938049 u
Radio medio	140 pm
Radio atómico	161
Radio covalente	139 pm
Configuración electrónica	[Ar]3d ⁵ 4s ²
Electrones por capa	2, 8, 13, 2
Estados de oxidación	2, 3, 4, 6, 7
Óxido	ácido fuerte
Estructura cristalina	cúbica centrada en el cuerpo
Estado	<u>sólido</u>
Punto de fusión	(diamante) 1517 K
Punto de ebullición	2235 K
Calor de fusión	12.05 kJ/mol
Electronegatividad	1,55
Calor específico	480 J/(K·kg)
Conductividad eléctrica	0,695 × 10 ⁶ S/m
Conductividad térmica	7,82 W/(K·m)
Descubridor	Johann Gahn en 1774

Tabla 5. Análisis de Varianza (ANOVA) para bioadsorción de cobre (II) evaluando el factor pH.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	48,6256	2	24,3128	0,07	0,9351
Intra grupos	3239,14	9	359,905		
Total (Corr.)	3287,77	11			

No existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza, puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05.

Tabla 6. Análisis de Varianza (ANOVA) para bioadsorción de zinc (II) evaluando el factor pH. ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	162,045	2	81,0225	0,11	0,894
Intra grupos	6429,23	9	714,358		
Total (Corr.)	6591,27	11			

No existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza, puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05.

Tabla 7. Análisis de Varianza (ANOVA) para bioadsorción de Manganeso (II) evaluando el factor pH. ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	167,212	2	83,606	0,36	0,7079
Intra grupos	2096,02	9	232,891		
Total (Corr.)	2263,23	11			

No existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza, puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05.

Tabla 8. Análisis de Varianza (ANOVA) para bioadsorción de cobre (II) evaluando el factor concentración inicial del metal. ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1939,73	2	969,864	0,000	0,0000
Intra grupos	0	6	0		
Total (Corr.)	1939,73	8			

Existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza, puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras se realizaron Pruebas de Múltiples Rangos arrojando los siguientes resultados: el intervalo no contiene el valor 0 en la comparación entre cada una de ellas, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las tres muestras, con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 9. Análisis de Varianza (ANOVA) para bioadsorción de zinc (II) evaluando el factor concentración inicial del metal. ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2300,85	2	1150,42	0,000	0,0000
Intra grupos	0	6	0		
Total (Corr.)	2300,85	8			

Existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza, puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes se realizaron Pruebas de Múltiples Rangos arrojando los siguientes resultados: el intervalo no contiene el valor 0, en la comparación entre las muestras de concentración 2,0 y 4,0; 2,0 y 15,0 mg-L respectivamente, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de estos pares de muestras, no siendo así en las muestras de concentración 4,0 y 15,0 mg-L, con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 10. Análisis de Varianza (ANOVA) para bioadsorción de manganeso (II) evaluando el factor concentración inicial del metal. ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3027,65	2	1513,83	30,36	0,0000
Intra grupos	1196,66	24	49,8607		
Total (Corr.)	4224,31	26			

Existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza, puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras se realizaron Pruebas de Múltiples Rangos arrojando los siguientes resultados: el intervalo no contiene el valor 0 en la comparación entre cada una de ellas, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las tres muestras, con un nivel de confianza del 95,0%.