



Universidad de Valladolid



**ESCUELA DE INGENIERÍAS
INDUSTRIALES**

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

ESCUELA DE INGENIERIAS INDUSTRIALES

Grado en Ingeniería Química

Eliminación de Boro y Arsénico

de Aguas Contaminadas

Mediante el Empleo de Biomasa Microalgal

Autor:

Motrel Lázaro, Irene Nagore

Tutor:

**Bolado Rodríguez, Silvia
Saavedra Concha, Ricardo
Departamento de Ingeniería
Química y Tecnología del Medio
Ambiente**

Valladolid, julio de 2017.

Agradecimientos

En primer lugar, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutora, Silvia Bolado, por darme la oportunidad de realizar este trabajo en el departamento de ingeniería química y tecnología del medio ambiente, además del apoyo y la confianza depositada en mí durante estos meses.

A Ricardo Saavedra, por transmitirme sus conocimientos acerca del tema trabajado y ayudarme ante todas las dudas en cualquier momento, por mostrar interés en que mi trabajo saliera bien.

A todos los compañeros del laboratorio por facilitarme el trabajo y crear un ambiente de compañerismo del que tanto he aprendido.

A mi padre, por haber confiado siempre en mí, animarme a hacer ingeniería química y enseñarme que realmente uno debe hacer lo que le apasiona, para de esta forma, disfrutar cada hora de trabajo.

A mi madre, por ser la persona que ha aguantado todas mis frustraciones, mis quejas y mis miedos pero sobre todo por ser la persona que me ha estado impulsando hacia delante en todo momento.

A todos mis amigos por sacarme una sonrisa incluso los días que salía agotada del laboratorio únicamente con ganas de irme a casa. Siempre habéis estado ahí para recordarme todo lo que he logrado.

A Diego, simplemente gracias por estar ahí, quererme y llenarme de energía.

A todos los que habéis creído en mí, y por qué no, a los que no también.

Índice de Contenidos

1. Resumen	7
2. Introducción	9
2.1. Presentación del Problema.....	9
2.2. Contaminantes	10
2.2.1. Boro.....	10
2.2.2. Arsénico	11
2.3. Remediación de la Contaminación de Agua.....	11
2.4. Microalgas.....	13
2.5. Mecanismos de Eliminación de Contaminantes Presentes en Microalgas.....	14
2.5.1. Bioacumulación.....	15
2.5.2. Bioadsorción.....	16
2.5.3. Comparación entre los procesos de Bioadsorción y Bioacumulación	17
2.6. Equilibrio de Adsorción.....	18
2.7. Cinética de Adsorción.....	19
2.8. Factores que Afectan en la Bioadsorción	21
2.9. Sistemas Multiminerale	23
3. Objetivos y Alcance	25
4. Materiales y Métodos	27
4.1. Biomasa Microalgal	27
4.2. Condiciones de Cultivo.....	27
4.3. Soluciones de Minerale.....	28
4.4. Estudio de Eliminación de Boro y Arsénico de Aguas Contaminadas	28
5. Resultados Experimentales	31
5.1. Estudio de la Influencia del pH en Bioadsorción de Boro y Arsénico	31
5.2. Cinéticas y Capacidad de Bioadsorción.....	33
5.3. Cantidad Neta de Boro y Arsénico Eliminado.....	40
5.4. Análisis de Centros Activos: FTIR.....	43

5.5. Bioadsorción de Arsénico en Presencia de Boro	46
6. Conclusiones	51
7. Bibliografía	53

Índice de Ilustraciones

Tabla 1. Ventajas y Desventajas de los Principales Tratamientos Físico-químicos para el Tratamiento de Aguas Contaminadas por Minerales Tóxicos.....	12
Tabla 2. Ventajas y Desventajas de los Procesos Biológicos de Captación de Minerales Tóxicos.....	17
Tabla 3. Comparación de la Adsorción con Biomasa Muerta frente a Viva.....	23
Tabla 4. Composición del Medio de Cultivo de Bristol	28
Tabla 5. Modelo Cinético de Pseudo-Primer Orden para el Boro	39
Tabla 6. Modelo Cinético de Pseudo-Segundo Orden para el Boro	39
Tabla 7. Modelo Cinético de Pseudo-Primer Orden para el Arsénico.....	40
Tabla 8. Modelo Cinético de Pseudo-Segundo Orden para el Arsénico	40
Tabla 9. Valores Reales de la Eliminación de Boro	42
Tabla 10. Valores Reales de la Eliminación de Arsénico	42
Tabla 11. Valores Reales de la Eliminación de Arsénico en Presencia de Boro	48
Figura 1. Mecanismos de Bioacumulación de Minerales Tóxicos por Microalgas en el Interior de la Célula	15
Figura 2. Mecanismos de Bioadsorción de Minerales Tóxicos por Microalgas..	17
Figura 3. Porcentaje de Adsorción de Boro y Arsénico por Biomasa Viva y Muerta en Función del pH.....	32
Figura 4. pH Final en Función del pH Fijado Inicialmente, tras la Adsorción de Boro y Arsénico por Biomasa Viva y Muerta.....	33
Figura 5. Cinética de Bioadsorción de Boro por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L	34
Figura 6. Cinética de Bioadsorción de Arsénico por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L	35
Figura 7. Capacidad de Bioadsorción de Boro por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L	36
Figura 8. Capacidad de Bioadsorción de Arsénico por Biomasa Viva y Muerta a	

5 g/L y 1 g/L	36
Figura 9. Ajuste de la Capacidad de Adsorción de Boro por el Modelo de Pseudo-Primer Orden.....	37
Figura 10. Ajuste de la Capacidad de Adsorción de Boro por el Modelo de Pseudo-Segundo Orden.....	38
Figura 11. Ajuste de la Capacidad de Adsorción de Arsénico por el Modelo de Pseudo-Primer Orden.....	39
Figura 12. Ajuste de la Capacidad de Adsorción de Arsénico por el Modelo de Pseudo-Segundo Orden.....	40
Figura 13. Porcentaje de Eliminación de Boro y Arsénico por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L	41
Figura 14. Regiones en las que Aparecen Bandas de Adsorción para diferentes Grupos Funcionales y su Intensidad Relativa: f, fuerte; m, media y d, débil	43
Figura 15. FTIR Biomasa Viva Original frente a Muerta Original	44
Figura 16. FTIR Biomasa Viva Original, Viva con Boro 3 horas, Muerta Original y Muerta con Boro 3 horas	45
Figura 17. FTIR Biomasa Viva Original, Viva con Arsénico 3 horas, Muerta Original y Muerta con Arsénico 3 horas	46
Figura 18. Cinética de Bioadsorción de Arsénico por Biomasa Viva a 5 g/L y 1 g/L, con y sin Boro	47
Figura 19. Cinética de Bioadsorción de Arsénico por Biomasa Muerta a 5 g/L y 1 g/L con y sin Boro	47
Figura 20. Porcentaje de Eliminación de Arsénico en Presencia de Boro por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L	48

1. Resumen

El presente trabajo investiga la posibilidad de eliminar minerales tóxicos presentes en aguas, concretamente arsénico y boro, empleando microalgas. Para ello, se ha seleccionado la microalga *Chlamydomonas reinhardtii* y se la ha puesto en contacto con estos elementos, de forma individual, con el objetivo de analizar la capacidad que presenta la biomasa para removerlos de una solución acuosa. Con el fin de analizar los principales factores que afectan al proceso de bioadsorción se estudió la capacidad de biorremediación empleando tres puntos de la escala de pH (5,5, 7 y 9,5); modificando el estado de la biomasa (viva y muerta), y la concentración de esta (1 g/L y 5 g/L). Además, se estudió la cinética y capacidad de bioadsorción en 6 tiempos diferentes hasta las 3 horas de contacto. Posteriormente, se investigó la capacidad de bioadsorción presente en una solución con presencia de ambos minerales en su composición, para determinar la interferencia de la presencia de boro en la remoción de arsénico y sus posibles mecanismos de eliminación. Finalmente, se realizó un estudio de caracterización FTIR para analizar los centros activos que intervinieron en el proceso. Se concluye que el pH que presenta las condiciones más óptimas de remoción es 7, y el tiempo necesario para alcanzar una concentración de mineral eliminado rentable es de 30 minutos. Además, se ha determinado que a 5 g/L se produce una pérdida de la capacidad de adsorción de la biomasa en comparación con 1 g/L. En el caso de los estudios de boro, la remoción de este elemento se asocia en un alto porcentaje al proceso de precipitación en presencia de microalgas y se observa una asociación con el comienzo del proceso de bioacumulación por parte de las microalgas vivas a las 3 horas de contacto con la solución que presenta arsénico. El análisis FTIR confirma la unión del arsénico con la biomasa a través de los grupos carboxílicos y la precipitación del boro al modificar los grupos hidroxilo respecto a la biomasa original.

Palabras clave: bioadsorción, biomasa microalgal, centros activos, boro y arsénico.

Abstract

This work studies the feasibility of remove toxic minerals present in water, specifically arsenic and boron, using microalgae. For this purpose, the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* has been selected and it has been put in contact with these elements, individually, to analyze the ability of biomass to remove them from aqueous solution. In order to analyze the main factors that affect the bioadsorption process, the bioremediation capacity was studied using three points of pH scale (5,5, 7 and 9,5); modifying the state of biomass (alive and dead) and its concentration (5 g/L and 1 g/L). In addition, kinetics and biosorption capacity were studied in 6 different times until 3 hours of contact. Subsequently, the biosorption capacity present in a solution with presence of both minerals in its composition was investigated to determine the interference of the presence of boron in the removal of arsenic and its possible elimination mechanisms. Finally, a FTIR characterization study was performed to analyze the active centers that intervened in the process. It is concluded that the pH that presents the most optimal conditions of removal is 7, and the time required to achieve a cost-effective elimination of mineral concentration is 30 minutes. In addition, it has been determined that at 5 g /L there is a loss of the adsorption capacity of the biomass in comparison with 1 g /L. In the case of boron studies, the removal of this element is associated in a high percentage to the precipitation process in the presence of microalgae and an association is observed with the beginning of the process of bioaccumulation by the live microalgae at 3 hours of contact with the solution presenting arsenic. The FTIR analysis confirms the union of the arsenic with the biomass through the carboxylic groups and the boron precipitation when modifying the hydroxyl groups with respect to the original biomass.

Key words: bioadsorption, microalgal biomass, active centers, boron and arsenic.

2. Introducción

2.1. Presentación del Problema

La contaminación de aguas superficiales ha sido una problemática que se ha presentado desde el inicio de los tiempos. Este problema ha ido en aumento durante los últimos años producto de la acción humana. El rápido crecimiento desarrollado por la industria desde la revolución industrial ha tenido efectos devastadores sobre el medio ambiente cambiando sus características físicas, químicas y biológicas [1]. Los sistemas acuáticos, se están viendo afectados por la infinidad de minerales tóxicos que son vertidos por las industrias.

Antofagasta es una de las regiones que se ha visto afectadas por este proceso. Ubicada en pleno desierto de Atacama en el norte de Chile; muestra importantes limitaciones del uso de sus aguas debido a la calidad físicoquímica que estas presentan. El incremento de la industria metal-mecánica y especialmente el sector productivo de la minería, ha provocado la contaminación de las aguas de Antofagasta con minerales y metales pesados a niveles que son catalogados como peligrosos por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

El río Loa es el principal curso de agua que recorre la región de Antofagasta y con sus 440 kms de longitud se cataloga como el río más largo de Chile. El uso de sus aguas es vital para la actividad agrícola y pecuaria de la que viven las localidades aldeañas al río. Actualmente, estas aguas se están viendo contaminadas, imposibilitando la subsistencia. Los contaminantes principales son el boro (III), y el arsénico (V), con 60 y 12 ppm respectivamente.

En Castilla y León, el arsénico, de elevada toxicidad, se encuentra presente en el subsuelo formando parte de compuestos de aguas subterráneas, como sulfuros metálicos. Además, es un mineral ampliamente utilizado en medicina, cosmética, pinturas y componentes electrónicos, entre otros. Todas estas aplicaciones han contribuido en gran medida a la dispersión de este contaminante en la naturaleza, pero probablemente la principal haya sido la utilización extensiva de varias formas inorgánicas de As como pesticidas en la agricultura [2].

El presente trabajo surge de una colaboración entre la Universidad de Valladolid y la de Antofagasta, que vienen colaborando de forma activa desde hace casi 20 años. La eliminación de boro y arsénico de aguas contaminadas es tema de interés para ambas regiones y se trabaja de forma conjunta.

2.2. Contaminantes

El arsénico presenta varios mecanismos de toxicidad relacionados con la capacidad de interferir en las actividades metabólicas de los organismos vivos, así como el boro, aunque este último en menor medida [3]:

- Bloqueo de grupos funcionales que forman parte de las moléculas biológicas tales como enzimas y sistemas de transporte de nutrientes esenciales [4].
- Desplazamiento y/o sustitución de iones esenciales presentes en biomoléculas y unidades celulares funcionales, generando inactivación de enzimas o daños en la membrana celular o en algún orgánulo específico [5].
- Inducción de generación de especies de oxígeno reactivas en el espacio intracelular, pudiendo ocasionar daños en proteínas, lípidos y ácidos nucleicos por su alto poder oxidante [6].

2.2.1. Boro

El boro (número atómico 5) es un metaloide de aspecto negro en su estado elemental pero se encuentra en la naturaleza asociado a otros elementos en forma de sales, cuyo estado en forma natural es sólido (no magnético) y sus estados de oxidación +1, +2 y +3. Constituye uno de los micronutrientes esenciales en el ciclo de vida de las plantas, resultando necesario en cantidades trazas en la producción de energía y el metabolismo de los seres humanos. Sin embargo, se asocia el exceso de este elemento con importantes problemas a la salud, tales como efectos crónicos incluyendo vómito, dolor de cabeza, hipotermia, daño al riñón, náuseas, pérdida de peso y disminución de la actividad sexual [7]. La ecuación 1 muestra el equilibrio del boro, presente en forma de ácido bórico, en solución acuosa.



Ecuación 1. Equilibrio de Boro (III) en Disolución Acuosa

El boro es empleado en diversos sistemas productivos, estando presente en la producción de vidrio y cerámica, como también en la fabricación de detergentes. Además, algunas de sus sales, como el tetraborato de sodio, se utilizan en los sistemas de aislación, formando parte de la composición de las fibras de vidrio. Los filamentos de boro se utilizan como materiales ligeros pero

de alta resistencia en estructuras aeroespaciales. Además, como bromuros metálicos para aumentar la dureza de determinadas sustancias [7].

2.2.2. Arsénico

El arsénico (número atómico 33) es un metaloide de aspecto gris, cuyo estado en forma natural es sólido y presenta tres estados de oxidación; +3, -3 y +5. Es uno de los elementos más tóxicos que pueden ser encontrados. Dicha toxicidad se asocia a la capacidad que presenta de afectar funciones metabólicas activas. Su biodisponibilidad se presenta a través de la comida, agua y aire, pudiendo causar cáncer de riñón, de la vesícula, de la próstata, de hígado y testicular [8]. El arsénico (V) es el principal estado de oxidación presente en las aguas superficiales, y su ecuación de equilibrio en disolución acuosa se presenta en la ecuación 2.



Ecuación 2. Equilibrio de Arsénico (V) en Disolución Acuosa

El arsénico es empleado principalmente para el fortalecimiento de las aleaciones de cobre y plomo para su uso en baterías de coches. Es utilizado además como conservante de maderas, en la fabricación de pesticidas, herbicidas e insecticidas y como dopante de tipo n en dispositivos semiconductores electrónicos [9].

2.3. Remediación de la Contaminación de Agua

En la actualidad, existen numerosas técnicas que permiten tratar la contaminación producto de los efluentes industriales, con el fin de reducir el impacto ambiental [10]. Los métodos más empleados se fundamentan en el uso de las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes (Tabla 1); sin embargo, estos mecanismos presentan inconvenientes al producir grandes cantidades de lodos y resultando ineficientes a la hora de reducir las concentraciones de estos minerales dentro del rango de 0-100 mg/L [11].

Tabla 1. Ventajas y Desventajas de los Principales Tratamientos Físico-químicos para el Tratamiento de Aguas Contaminadas por Minerales Tóxicos

Método	Ventaja	Desventaja
NATURALEZA FÍSICA		
Adsorción	Alta capacidad. Cinética rápida. Posible selectividad.	El rendimiento depende del adsorbente.
Intercambio iónico	Posibilidad de recuperación del mineral. Alta regeneración.	Coste elevado. Sensibilidad a la presencia de partículas.
Ósmosis inversa	Generación de efluentes puros.	Requiere elevada presión.
Filtración por membrana	Requiere poco espacio. Baja generación de residuos sólidos.	Elevado coste. Ensuciamiento de la membrana.
NATURALEZA QUÍMICA		
Precipitación química	Sin selectividad de minerales.	Separación ineficiente a elevadas concentraciones.
Floculación	Capacidad de inactivación bacteriana.	Consumo del solvente. Generación de lodos.
Tratamiento electroquímico	Tolerancia a sólidos suspendidos. Selectividad de mineral moderada.	Caro para elevadas concentraciones de tratamiento.
Evaporación	Generación de efluente puro.	Elevados lodos. Energía intensa.

[12]

Estas desventajas previamente planteadas, llevan a la búsqueda de nuevas alternativas más eficientes, de bajo coste y amigables con el medio ambiente. Durante los últimos años se ha estudiado la posibilidad de emplear material biológico (biomasa) como una alternativa al tratamiento de las aguas contaminadas ya que el uso de esta materia prima no genera contaminantes secundarios y son de bajo coste debido a su gran abundancia y fácil obtención [11]. Además, es posible su utilización optando tanto por métodos basados en la actividad biológica de los microorganismos que componen la biomasa o mediante métodos en los que no es necesario que los microorganismos permanezcan con vida [13]. La bioadsorción y la bioacumulación son los principales procesos biológicos con mayores expectativas de futuro al ser capaces de eliminar minerales tóxicos de aguas contaminadas en bajas concentraciones (0-100 mg/L) mediante el empleo de bioadsorbentes.

Los bioadsorbentes son organismos biológicos que presentan cierta afinidad hacia los iones de algunos minerales por la composición química de las células de las que están constituidos. Algunos tipos de bioadsorbentes presentan prioridad por ciertos minerales tóxicos, mientras que otros actúan sin ninguna especificidad. Los bioadsorbentes más empleados por su alta capacidad para adsorber son las microalgas [14]. Las ventajas que presentan estos bioadsorbentes frente a otros como bacterias y hongos, van a estar determinadas por la estructura y composición química de la pared celular de los materiales, ya que los grupos químicos presentes en la superficie externa de la pared son utilizados como sitios activos en la adsorción [15].

2.4. Microalgas

Las microalgas son organismos microscópicos, eucariotas, capaces de obtener la energía necesaria para llevar a cabo sus actividades biológicas mediante la fotosíntesis, actuando de manera similar al metabolismo presente en los organismos del mundo vegetal [16]. Se desarrollan en medios acuáticos, son unicelulares y de tamaño variable [17]. Son especies naturales e inoñas, y presentan un importante contenido de compuestos inorgánicos en sus procesos metabólicos. Por estas razones, pueden ser fácilmente aceptadas por el público como material para remediar la contaminación acuática [13].

Las microalgas pueden ser clasificadas en varios grupos, dependiendo del criterio establecido. La forma de clasificación más empleada se basa en función del tipo de pigmento y la estructura de la pared celular [18]. A nivel general, los principales grupos de microalgas se clasifican en:

- Microalgas verdes, las cuales presentan mayor relación con los organismos vegetales al poseer el mismo pigmento (clorofila), el mismo

producto químico en sus paredes (celulosa) y el mismo producto de almacenamiento (almidón).

- Diatomeas, poseen una pared celular formada por compuestos silicados que está finamente estructurada con un patrón específico de especies de puntos y líneas.
- Microalgas rojas, son especies marinas, de gran tamaño y estructura compleja, empleadas fundamentalmente en la industria alimentaria y en la producción de estabilizantes.

La mayoría de las especies de microalgas han sido estudiadas como bioadsorbentes. Es importante destacar las microalgas verdes, con las que se han obtenido muy buenas capacidades de adsorción de minerales tóxicos. Los metales divalentes han sido los más estudiados; Hg, Cd, Pb, Ni, Cu, Zn han sido probados con *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella miniata*, *Chlorella vulgaris* y *Cladonia rangiformis* entre otros [19]. Estudios previos destacan la capacidad de bioadsorción de *Chlamydomonas reinhardtii* de Cd, Cu, Hg y Pb, llegando a 79,7, 7,54 [20], 106,6 y 380,7 mg/g [21] respectivamente.

Las microalgas deben su capacidad de adsorción a su pared celular, es la primera barrera para la captación de iones de minerales; consta principalmente de polisacáridos, proteínas y lípidos, que ofrecen varios grupos funcionales (p.ej., carboxilo, -COOH, hidroxilo, -OH, fosfato, -PO₃, amino, -NH₂, y sulfhídrico, -SH). Todos estos grupos, otorgan una carga neta global negativa a la superficie celular y por tanto, una gran afinidad por los iones del boro y del arsénico a través de diferentes interacciones [13].

2.5. Mecanismos de Eliminación de Contaminantes Presentes en Microalgas

El empleo de materiales biológicos, y particularmente de especies microalgales, ha abierto nuevas puertas en el tratamiento de aguas, ya que permite evitar los problemas ambientales que generan los métodos físico-químicos, así como importantes ahorros tanto económicos como técnicos [22]. Los métodos biológicos son una opción muy atractiva para la eliminación de minerales tóxicos de aguas así como para su posterior recuperación. Estos organismos presentan diversos mecanismos que conducen a la eliminación de contaminantes en cuerpos de aguas, siendo los más importantes los presentados a continuación:

2.5.1. Bioacumulación

La bioacumulación es un mecanismo celular que implica un gasto de energía para poder transportar elementos tóxicos hacia el interior de la estructura celular [23]. La energía consumida es obtenida a través del sistema H⁺-ATPasa. En el proceso de bioacumulación, el mineral tóxico ingresa al citoplasma mediante el transporte activo que presentan las proteínas ancladas en la pared celular, las cuales permiten el traspaso del mineral cruzando la membrana plasmática de la célula. En el interior, el mineral es captado por proteínas ricas en grupos sulfhídricos llamadas metalotioneínas, las cuales forman moléculas que posteriormente son compartimentalizadas en la estructura interior de la vacuola. Se ha reportado este mismo mecanismo en especies fúngicas, levaduras y bacterias [24], como en el de la presencia de uranio por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, al igual que en estudios asociados a la especie de levadura *Saccharomyces cerevisiae* [25].

En la figura 1 se observa el mecanismo que presenta la microalga para llevar a cabo la bioacumulación. El ingreso se realiza mediante los siguientes pasos: 1. Proceso inactivo de difusión; 2. Captación activa por proteínas capaces de transportar iones; 3. Flujo activo de iones libres tanto hacia el interior como hacia el exterior de la célula en casos determinados; 4. Unión de los iones libres con diversos compuestos orgánicos y/o inorgánicos en el citoplasma y 5. Trasporte a la vacuola y almacenamiento como iones libres o como complejos.

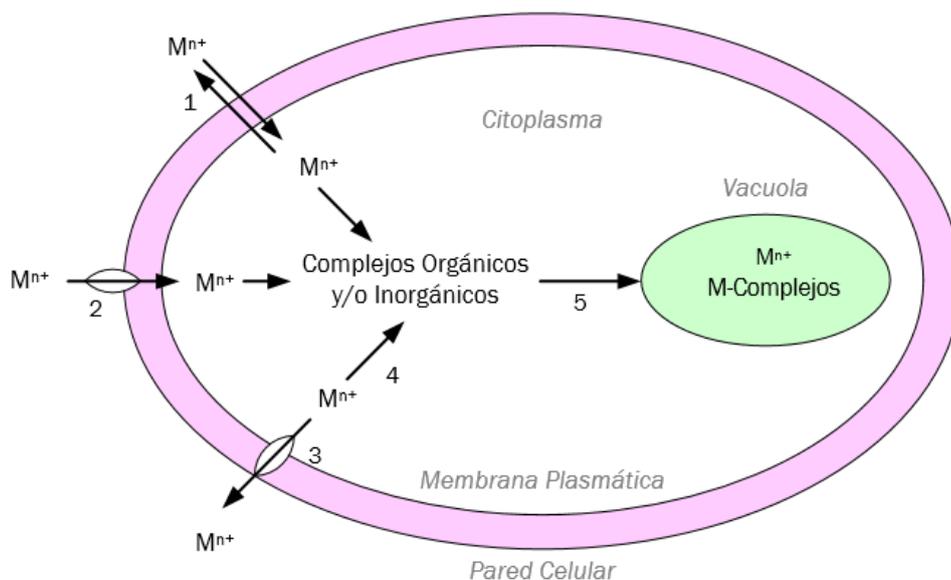


Figura 1. Mecanismo de Bioacumulación de Minerales Tóxicos por Microalgas en el Interior de la Célula [24]

2.5.2. Bioadsorción

El fenómeno de bioadsorción implica una interacción físicoquímica del elemento contaminante con los ligandos presentes en la pared celular [15]. La interacción se lleva a cabo con los grupos funcionales como carboxilo, amino, hidroxilo, sulfhídrico y fosfato [4]. Posee una cinética rápida y se puede considerar independiente de la temperatura. El mecanismo de la bioadsorción se puede estudiar mediante modelos de isotermas de Langmuir y Freundlich [25]. Este mecanismo se ha catalogado como un potente método de biorremediación comparable con las resinas de intercambio iónico que alcanzan buenos rendimientos en la eliminación de iones de diferentes minerales [26]. Esto se ha reportado en estudios con la microalga *Padina sp.*, capaz de bioadsorber Cu^{2+} a pH 5 alcanzando 0,08 mmol/g de biomasa, con una concentración de microalgas pretratadas de 2 g/L [27].

Los mecanismos a través de los cuales se lleva a cabo la bioadsorción (figura 2), son variados y difieren en función del mineral tóxico que se desee remover de la fuente de agua contaminada y del tipo de bioadsorbente, los cuales suelen aparecer de manera solapada en un mismo proceso a la vez. Los más comunes son [23]:

- **INTERCAMBIO IÓNICO**, es el principal mecanismo de bioadsorción de minerales tóxicos [15]. Además, muestra que las algas están protonadas o contienen iones ligeros que se liberan al unirse a los cationes de los minerales tóxicos.
- **MICROPRECIPITACIÓN**, ocurre cuando la solubilidad del mineral en la solución alcanza su límite. Puede ocurrir por cambio en las condiciones, tales como el pH. También puede producirse por una interacción entre el mineral y la superficie celular a través de la formación de un complejo, seguida de su hidrolización y la precipitación del mineral en forma de una especie hidrolizada en la pared celular [28].
- **COMPLEJACIÓN**, producto de la formación de complejos en la pared celular, tras la interacción entre el mineral y los centros activos de las algas [29].

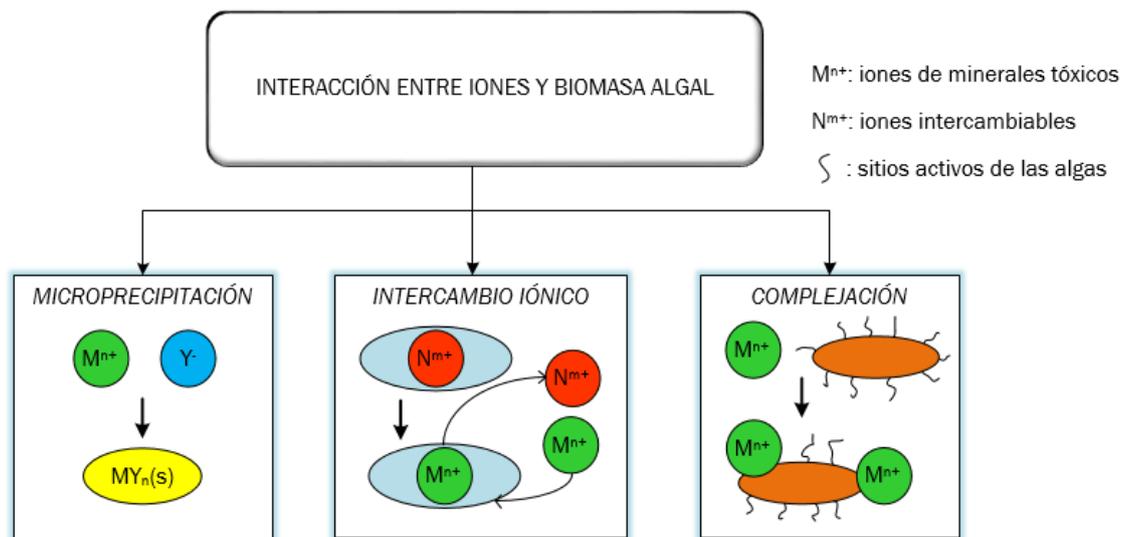


Figura 2. Mecanismos de Bioadsorción de Minerales Tóxicos por Microalgas [28]

2.5.3. Comparación entre los procesos de Bioadsorción y Bioacumulación

A partir de la tabla 2, se puede concluir que el proceso de bioadsorción es el más adecuado para la eliminación de minerales tóxicos, ya que permite tratar elevados volúmenes de solución acuosa contaminada en un tiempo corto y efectivo. Además, la bioadsorción es un proceso reversible, por lo que la biomasa puede ser reutilizada en varias ocasiones como bioadsorbente y reducir de esta forma el coste del proceso.

Tabla 2. Ventajas y Desventajas de los Procesos Biológicos de Captación de Minerales Tóxicos

BIOADSORCIÓN	BIOACUMULACIÓN
Minerales unidos a la superficie de la pared celular	Metales unidos a la superficie de la pared celular y acumulados en el interior de la célula
Proceso reversible	Proceso parcialmente reversible
Rápido	Lento
No se ve afectado por el efecto tóxico de los contaminantes	Se ve afectado por el efecto tóxico de los contaminantes

Alcanza concentraciones intermedias de equilibrio de los contaminantes

Alcanza muy bajas concentraciones de equilibrio de los contaminantes

Posibilidad de recuperación y reúso de los contaminantes mediante un proceso de desorción

Los minerales solo pueden recuperarse matando las células de la biomasa

La biomasa puede regenerarse y emplearse en varios ciclos de adsorción

La biomasa no puede recuperarse

[30]

2.6. Equilibrio de Adsorción

En todo proceso de adsorción existe una fase sólida (adsorbente) que se encuentra en una fase líquida (sorbente) en la cual está presente la especie disuelta que se desea adsorber (sorbato) [31]. La afinidad del sorbente y la especie de sorbato hace que este último sea atraído hacia el sólido y sea capaz de unirse a él por diferentes mecanismos hasta que se establezca un equilibrio entre ambos [23]. El material adsorbente es caracterizado en función de su capacidad para retener el sorbato. Para conocer esta capacidad, es necesario determinar el metal captado por el biosorbente así como la cantidad de sorbato por la unidad de fase sólida, expresado en la ecuación 3 [32].

$$q = \frac{V(C_0 - C)}{W}$$

Ecuación 3. Equilibrio de Adsorción

Siendo:

q: capacidad de adsorción de la biomasa en el equilibrio (mg mineral/g de biomasa).

C: concentración de mineral en el equilibrio (mg mineral/L).

C₀: concentración de mineral inicial en la solución (mg mineral/L).

V: volumen de la solución de contacto (L).

W: cantidad de bioadsorbente (g de biomasa).

Las temperaturas habituales a las cuales se lleva a cabo el proceso de bioadsorción presentan un amplio rango, con temperaturas que van desde los 10°C hasta los 70°C [33]. El estudio de estos procesos se ha llevado a cabo mediante el uso de isotermas, pueden definirse como la relación de equilibrio entre la concentración de adsorbato en la fase sólida (q) y la concentración de partículas en la fase fluida (C). Se han desarrollado varios modelos que son capaces de describir el equilibrio de adsorción, generalmente trabajando con modelos ideales. Los principales modelos que estudian estos fenómenos son los modelos de Langmuir y Freundlich, los cuales mediante expresiones matemáticas (ecuación 4 y ecuación 5) lograron representar una relación de isotermas de adsorción (q) vs (C) [34].

$$q = q_{max} \frac{bC}{1 + bC}$$

Ecuación 4. Isoterma de Langmuir

$$q = k C^{(1/n)}$$

Ecuación 5. Isoterma de Freundlich

Siendo:

q_{max} : capacidad de adsorción máxima de la biomasa (mg mineral/g de biomasa).

b : coeficiente de afinidad entre sorbato y adsorbente.

k : constante de Freundlich, relacionada con la capacidad de adsorción de la biomasa.

$1/n$: indica la intensidad de adsorción.

2.7. Cinética de Adsorción

La cinética de adsorción representa la velocidad de ajuste del equilibrio entre la concentración del metal enlazado en la superficie de la biomasa y la concentración del metal presente en la fase líquida del medio [35]. Se han propuesto varios modelos cinéticos para poder ajustar los datos experimentales de bioadsorción de minerales tóxicos presentes en disolución. Estos modelos permiten conocer los mecanismos por los que se lleva a cabo el proceso así como las etapas controlantes, tales como el transporte de masa o los procesos de reacción [36]. Los principales modelos cinéticos son:

a) MODELO DE PSEUDO PRIMER ORDEN,

En el cual se considera que la velocidad de ocupación de los sitios de unión de la superficie celular por los iones metálicos es proporcional al número de sitios desocupados presentes en el bioadsorbente [37]. Este modelo es representado en la ecuación 6, facilitando su representación gráfica tal y como indica la ecuación 7.

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q)$$

Ecuación 6. Ecuación Cinética Pseudo Primer Orden

Integrado entre los límites $t=0$ a $t=t$ y $q=0$ a $q=q_e$ [29]:

$$\log(q_e - q) = \log q_e - \frac{k_1}{2,303} t$$

Ecuación 7. Ecuación Cinética Pseudo Primer Orden Linealizada

Siendo:

k_1 : constante cinética de primer orden.

q : cantidad de mineral adsorbido en el bioadsorbente al tiempo t (mg/g).

q_e : cantidad de mineral adsorbido en el bioadsorbente en el equilibrio (mg/g).

b) MODELO DE PSEUDO SEGUNDO ORDEN,

Es aplicable cuando la velocidad de ocupación de los sitios de adsorción es proporcional al número cuadrado de los sitios no ocupados en la superficie del bioadsorbente [27]. Este modelo es representado en la ecuación 8; además, puede ser linealizada para facilitar su representación, tal y como aparece en la ecuación 9.

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2$$

Ecuación 8. Ecuación Cinética Pseudo Segundo Orden

Integrado entre los límites $t=0$ a $t=t$ y $q=0$ a $q=q_e$:

$$\frac{1}{q_e - q} = \frac{1}{q_e} + k_2 \cdot t$$

Ecuación 9. Ecuación Cinética Pseudo Segundo Orden Linealizada

Siendo:

k_2 : constante cinética de segundo orden.

La constante cinética de segundo orden (k_2) presenta cambios frente a factores tales como el pH, concentración inicial de ion, concentración de la biomasa y temperatura, con lo cual presenta una mayor adaptación, haciendo que su representación sea asociada de mejor forma al proceso real de experimentación [38]. El modelo de pseudo-segundo orden indica que existen fuerzas de valencia por medio del intercambio o uniones covalentes entre el adsorbente y el adsorbato, además de mecanismos de complejación, coordinación, y/o quelación [35].

2.8. Factores que Afectan en la Bioadsorción

El proceso de adsorción presenta numerosas variables que afectan. Los parámetros más importantes son: pH, el tiempo de adsorción, la concentración de biomasa, el estado en que se encuentra (viva o muerta) y la especie de microalgas empleada, entre otros [12].

pH

El pH de adsorción marca las propiedades ácido-base de los grupos funcionales presentes en la pared celular de las microalgas y sobretodo, la especiación de los minerales [39]. A pH bajo, los grupos funcionales de las células se asocian con iones H^+ y las fuerzas repulsivas dificultarán las posibles uniones a los iones de los minerales cargados positivamente [40]. A medida que el pH aumenta, los sitios activos se van desprotonando, con el consiguiente aumento de las cargas negativas y una mayor afinidad por los cationes presentes en los minerales. Existen varios grupos funcionales para unir cationes a distintos rangos de pH: a pH 2-5, los grupos carboxilo dominan, pero a pH 5-9 se unen por grupos fosfato, mientras que a pH 9-12, carboxilo, fosfato e hidroxilo (o amina) también serán adecuados. Estudios confirman esta tendencia del pH, en el caso de adsorción de Cd^{2+} la adsorción por *Desmodesmus pleiomorphus* aumenta al pasar de pH 4.0 a 5.0 [41], y en el Zn^{2+} al pasar de pH 3 a 6, aumentando la capacidad de adsorción de 10,2 a 30 mg/g [42]. A niveles de pH más altos tiende a ocurrir la precipitación de la mayoría de los minerales, lo que explica la disminución que normalmente se observa en la eliminación del metal [12].

Tiempo de adsorción

El tiempo de adsorción es un parámetro determinante para definir una optimización del proceso de adsorción a nivel industrial. En el proceso de adsorción de Pb^{2+} por *Spirulina maxima* concentrada a 1 g/L y pH 5,5 el equilibrio de bioadsorción se alcanzó a los 60 minutos, alcanzando el 100% de su capacidad [39]. Entre las 3 horas y un día los minerales tóxicos atraviesan la pared celular saturada [43].

Concentración de la biomasa

La concentración de biomasa en solución, por mayor que sea, no aumenta los rendimientos de adsorción; al contrario, concentraciones bajas de biomasa en solución presentan mayor capacidad de bioadsorción por unidad de biomasa. Esto, es debido a que al presentar una menor densidad celular, las interacciones electrostáticas entre las células serían menores, por lo que la cantidad de sitios activos para la captación de iones sería mayor [44]. Altas concentraciones de biomasa disminuyen el rendimiento, producto de un efecto de protección entre las células con el fin de proteger los sitios de unión para que no sean ocupados por iones. Esto se ha reportado en estudios desarrollados con *Spirulina maxima* para adsorber Pb^{2+} a pH 6, aumentando la biomasa desde 0,1 hasta 20 g/L, produciéndose una disminución del nivel de metal eliminado por unidad de biomasa desde 121 a 21 mg/g [45].

Especie de la microalga

Las microalgas presentan diferentes composiciones químicas en la superficie de la pared celular; por tanto, la cantidad de sitios de unión para captar iones va a ser diferente en función de la especie [46]. Muchas especies han desarrollado una capacidad denominada tolerancia, la cual consiste en la adaptación a sobrevivir en presencia de minerales tóxicos en su medioambiente. El parámetro para determinar esta capacidad es E_{50} , determina la concentración efectiva media, valor en el cual un compuesto tóxico es capaz de provocar la muerte del 50% de la población total [47]. Estudios muestran los efectos del Cd^{2+} en el crecimiento de *S. obliquus* y *D. pleiomorphus* en las mismas condiciones, y sus correspondientes valores de E_{50} fueron 0,058 y 1,92 mg/L de Cd [48].

Estado de la Biomasa

Tanto biomasa viva como muerta ha sido empleada como bioadsorbente, presentando ventajas y desventajas en ambos casos (tabla 3). En un estudio realizado para la adsorción de Zn^{2+} por *Scenedesmus obliquus* y *D. pleimorphus* tras inactivar mediante calor las células de biomasa, el porcentaje

de adsorción casi se duplicó con respecto a los casos de biomasa viva, pasando de 42% a 77,5 % [49].

Tabla 3. Comparación de la Adsorción con Biomasa Muerta frente a Viva

BIOMASA MUERTA	BIOMASA VIVA
VENTAJAS	
<ul style="list-style-type: none"> - Independiente del crecimiento, no sujeto a limitaciones de toxicidad. - Sin limitaciones biológicas. - Son más rápidos y eficientes en la eliminación de minerales. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aunque las células pueden saturarse, el sistema se regenera gracias al crecimiento. - La actividad metabólica genera cambios en el estado de valencia. - Las células pueden ser modificadas genéticamente.
DESVENTAJAS	
<ul style="list-style-type: none"> - Rápida saturación de los centros activos, es necesario eliminar el metal antes de utilizar de nuevo la biomasa. - Mayor sensibilidad al pH. 	<ul style="list-style-type: none"> - Se necesitan nutrientes de forma continua para el crecimiento. - La desorción es limitada, por uniones intracelulares. - Sensibilidad a la toxicidad.

[50]

2.9. Sistemas Multiminerales

La composición de todas las aguas contaminadas es muy compleja, siendo conformadas por una mezcla de varios minerales, por lo que para el estudio del proceso de la bioadsorción en sistemas biminerales y multiminerales los estudios del efecto de varios minerales representan de forma más efectiva los problemas ambientales relacionados con los presentes en la realidad, que los estudios asociados a un único mineral [27]. La adsorción de minerales tóxicos por la biomasa algal puede verse afectada en la presencia de otros minerales/coiones en solución, llegando a la inhibición producto de interacciones competitivas entre ellos y los sitios de unión de adsorción en la pared celular. Esto se puede observar en estudios de adsorción binaria de Zn^{2+} y Cu^{2+} , a pH 4, llevado a cabo con la microalga *Oscillatoria angustissima*; en donde se determinó que sin la presencia de Cu^{2+} en el medio, la bioadsorción de Zn^{2+} resultante fue 0,31 mmol/g, pero en presencia de 1 mM de Cu^{2+} la

bioadsorción de Zn^{2+} disminuyó a 0,14 mmol/g [51]. En general, los iones de los minerales pesados se unen más fuertemente que los de los iones más ligeros, esto es debido a que presentan mayor electronegatividad lo que le reporta una mayor afinidad hacia el sitio de unión presente en la biomasa [12].

3. Objetivos y Alcance

El objetivo principal de esta investigación es determinar la capacidad de adsorción de la especie microalgal *Chlamydomonas reinhardtii* para eliminar boro y arsénico de aguas contaminadas y, analizar diferentes aspectos de forma experimental para conocer la viabilidad del proceso. Para ello, se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- Determinar las condiciones óptimas del proceso de bioadsorción para Boro y Arsénico en función de:
 - pH
 - Concentración de biomasa
 - Tipo de Biomasa. Viva o Muerta
 - Tiempo de contacto

- Representar y caracterizar los modelos cinéticos de adsorción de la biomasa para estudios de B y As.

- Analizar los grupos funcionales que actúan como sitios de unión en la adsorción de B, As mediante estudios de caracterización con infrarrojos.

- Determinar la capacidad de interacción entre B y As en el proceso de bioadsorción.

4. Materiales y Métodos

4.1. Biomasa Microalgal

Para el desarrollo de todos los estudios realizados a lo largo de esta investigación se seleccionó a la especie de microalga verde, *Chlamydomonas reinhardtii*, (Culture Collection of Algae de la University of Göttingen, Germany (SAG)), como organismo bioadsorbente. La selección se basa en su facilidad de obtención y abundancia, además de su homogeneidad [52].

Las microalgas son empleadas tanto vivas como muertas. Las microalgas muertas fueron obtenidas a partir de las vivas al ser centrifugadas a 4500 rpm durante 5 minutos y mantenidas a 103°C en estufa 24 horas, posteriormente fueron molidas (100 µm de diámetro).

4.2. Condiciones de Cultivo

Para favorecer el crecimiento celular y la obtención de biomasa, previo al desarrollo de actividades experimentales, las microalgas se mantuvieron bajo las siguientes condiciones:

- Fotoperiodo: 12:12, Luz: Oscuridad
- Luminosidad: 400 uE*m⁻²*s⁻¹
- Agitación: Magnética
- Temperatura: Ambiente
- Medio de cultivo: Bristol (Tabla 4)

El medio de Bristol se caracteriza por estar compuesto por sales básicas, siendo muy adecuado para cultivos a largo plazo. La fuente de carbono de los cultivos corresponde a la adición de CO₂ gaseoso en el espacio de cabeza a través de una bomba peristáltica, con un flujo de ingreso de 60 rpm.

Tabla 4. Composición del Medio de Cultivo de Bristol

COMPUESTO (Nutriente)	VOLUMEN (mL/L)	CONCENTRACIÓN (g/L)
Agua destilada	940	-
NaNO ₃	10	25
CaCl ₂ ·2H ₂ O	10	2,5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	10	7,5
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	10	9,83
KH ₂ PO ₄	10	17,5
NaCl	10	2,5

[53]

A fin de eliminar posibles interferencias iónicas, es necesario que previo a la actividad experimental, todo el material utilizado para los procesos de biosorción sea lavado con una solución de HNO₃ (0,1 M), dejando actuar el ácido durante la noche previa. Posteriormente, se procede a enjuagar 3 veces con agua MiliQ (agua ultra pura, con grado de laboratorio que ha sido filtrada y purificada por ósmosis inversa), con el fin de eliminar el ácido remanente.

4.3. Soluciones de Minerales

Los experimentos han sido realizados con dos disoluciones madre; una de boro (3000 ppm) obtenida a partir de H₃BO₃ (Merck) [54] y otra de arsénico (600 ppm) obtenida a partir de Na₃AsO₄ (Sigma-Aldrich) [55]. Para ajuste del pH de la solución, se ha empleado una solución ácida de HCl (0,1 M) [56] y NaOH (0,1 M) como solución básica [59]. Para acidificación de las muestras previo a los análisis de cuantificación se ha usado una solución de HNO₃ (0,1 M) [33].

4.4. Estudio de Eliminación de Boro y Arsénico de Aguas Contaminadas

Los experimentos fueron realizados en matraces Erlenmeyer de 250 mL con un volumen de solución de 100 mL, a los cuales se les fue añadiendo el mineral o los minerales correspondientes en función del estudio. Cada sistema

fue mantenido en agitación magnética constante, en ausencia de luz y a temperatura ambiente.

Para la determinación del contenido de cada elemento B y As en el medio acuoso, se obtuvieron muestras de un volumen de 5 mL en cada tiempo de contacto de estudio. Cada muestra fue filtrada (Papel Whattam, porosidad 0,45 μm diámetro) y acidificada con una solución de HNO_3 (30 μL , 0,1 M) y posteriormente almacenada a 4° C hasta su cuantificación. Se determinó el pH a cada muestra previa filtración, mediante el uso de phmetro (Crison). La determinación de la concentración final de boro y arsénico en muestras obtenidas se realizó mediante la técnica de Espectroscopía de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (*ICP-MS, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*).

Determinación del pH óptimo: Se realizaron estudios de bioadsorción a 3 valores de pH fijados inicialmente (5,5, 7,0 y 9,5). Estos estudios fueron realizados con biomasa viva y con biomasa muerta a 1g/L. Las concentraciones de los elementos a estudiar fueron 60 ppm en el caso del boro y 12 ppm para estudios con arsénico. El pH al que evoluciona el medio y la capacidad de adsorción de la biomasa a cada pH fueron determinados al finalizar cada experimento, a las 3 horas de iniciado el estudio.

Cinética de bioadsorción: Se realizaron estudios de cinética de bioadsorción con el objetivo de determinar el tiempo necesario para eliminar suficiente mineral como para que el proceso sea considerado rentable en cada uno de los elementos estudiados, y determinar el inicio del proceso de bioacumulación. Se estudió la variable de la concentración de la biomasa realizando una comparación a dos concentraciones distintas (5 g/L y 1 g/L) y se realizaron los estudios tanto para biomasa viva como para biomasa muerta, al pH óptimo determinado en estudios previos. Los tiempos de contacto fueron 0, 5, 10, 15, 30 y 180 min.

Estudios de caracterización: El estudio de los centros activos de la biomasa se realizó mediante prueba de caracterización, espectroscopía de infrarrojos FTIR (*Fourier transform infrared spectroscopy*), que permite determinar los sitios de unión del mineral con los centros activos de la biomasa en los procesos de bioadsorción [58]. Los estudios se llevaron a cabo utilizando tanto biomasa muerta como viva original, fueron comparados con biomasa cargada con boro y arsénico respectivamente. El tiempo de contacto analizado fue 3 horas. Una vez obtenida la muestra de bioadsorción, el análisis se realizó mediante formación de pastillas con 100 mg de bromuro potásico y 2 mg de la muestra de biomasa. El espectrofotómetro permite de esta forma, obtener espectros de absorbancia en función de las longitudes de onda correspondientes entre el rango de 500 a 4000 cm^{-1} .

Estudios de interacción en sistema bimineral. El objetivo de este estudio es determinar las posibles interacciones presentes en el proceso de bioadsorción en una solución que presente ambos elementos de estudio. Para ello, se preparó una solución bimineral, compuesta por B y As, realizándose la misma metodología planteada para la cinética de los sistemas monominerales. Los experimentos fueron realizados a un único pH determinado en la experimentación previa. La concentración de cada mineral utilizada en el estudio fue de 60 ppm para el boro y 12 ppm para el arsénico. Los estudios fueron realizados tanto con biomasa viva como biomasa muerta, y a las dos concentraciones de biomasa previamente planteadas (5 g/L y 1 g/L). Los tiempos de contacto fueron: 0 (instante inicial), 5, 10, 15, 30 y 180 min.

5. Resultados Experimentales

5.1. Estudio de la Influencia del pH en Bioadsorción de Boro y Arsénico

EL estudio de la influencia del pH para el proceso de bioadsorción permite determinar el valor óptimo, en ensayos durante 3 horas con concentración de biomasa de 1 g/L y con concentraciones iniciales de boro 60 ppm y de arsénico 12 ppm. Los mejores resultados, en cuanto a capacidad de remoción, serán aplicados en el resto del experimento. La figura 3 muestra, en el caso del boro, una fuerte influencia del pH, la especie presente es el ácido bórico, un ácido muy débil con una constante de disociación pka de 9,15. A un valor de pH superior al pka, el ácido bórico comienza el proceso de precipitación, dificultando la bioadsorción, por otro lado, se puede observar una clara reducción en la capacidad de los centros activos a pH 5,5. Se considera como un valor de pH óptimo el 7,0, el cual será utilizado en los estudios experimentales posteriores, al cual se ha alcanzado un porcentaje de eliminación de boro de 34% empleando biomasa viva y 30,8% empleando biomasa muerta. En cuanto al arsénico, la bibliografía indica que la máxima adsorción de As(V) se da a pH próximo a 7 [59], debido a que en torno 8 comienza a precipitar; sin embargo, el porcentaje de arsénico adsorbido no presenta grandes diferencias entre trabajar a pH 7 ó 9,5, pasando de 27,3% de arsénico adsorbido a 27% en el caso de biomasa viva y de 31,9% a 28,6% en el de biomasa muerta, ya que las especies presentes en el medio pueden modificar el pH de precipitación. Para pH 5,5 sí que se manifiesta una disminución considerable de la capacidad de adsorción producto de la dificultad de desprotonar todos los centros activos presentes en la superficie. Si se realiza una comparación entre los resultados de biomasa viva y muerta, los resultados de la biomasa viva presentan menores diferencias entre el empleo de un pH u otro, esto se puede asociar a la capacidad que posee la biomasa de ir regenerando sus centros activos.

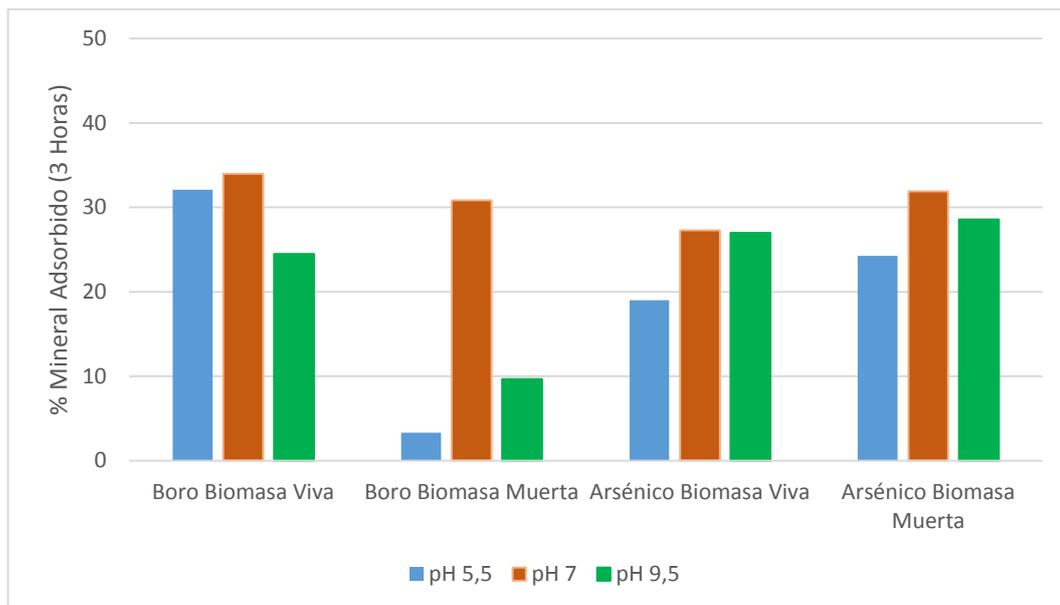


Figura 3. Porcentaje de Adsorción de Boro y Arsénico por Biomasa Viva y Muerta en Función del pH

El valor del pH del medio de experimentación tras 3 horas de bioadsorción, aparece representado en la figura 4, para el boro y para el arsénico, en contacto con biomasa viva y muerta a 1 g/L. Para los estudios iniciados al valor del pH ácido (5,5), los resultados presentan un aumento alcanzando un valor de pH de 6,44 y 6,45 en el boro y el arsénico respectivamente, con biomasa viva. En los casos de biomasa muerta, la diferencia es menor, pasando de pH inicial 5,5 a 5,69 en el boro y 6,03 en el arsénico. Se puede indicar que la biomasa produce un cambio en el valor del pH con la solución que presenta el mineral, el cual se produce de manera instantánea y que la biomasa se comportó como un aceptor de electrones. A pH inicial 7 el cambio es insignificante ya que está más próximo al pH de precipitación, pero a 9,5, la biomasa tendió a acidificar el medio en el caso del boro hasta 8,51 en contacto con biomasa viva. En el caso de biomasa muerta esta tendencia a acidificar aumentó, alcanzando un pH de 7,89, al comportarse como donadora de protones. En el estudio del arsénico la biomasa muerta acidifica el medio pasando de pH inicial 9,5 a 8,54; sin embargo, en presencia de biomasa muerta el pH aumenta hasta 10,63 lo que se puede asociar a la ausencia de carbono en el medio, nutriente esencial para que las microalgas se mantengan vivas [60].

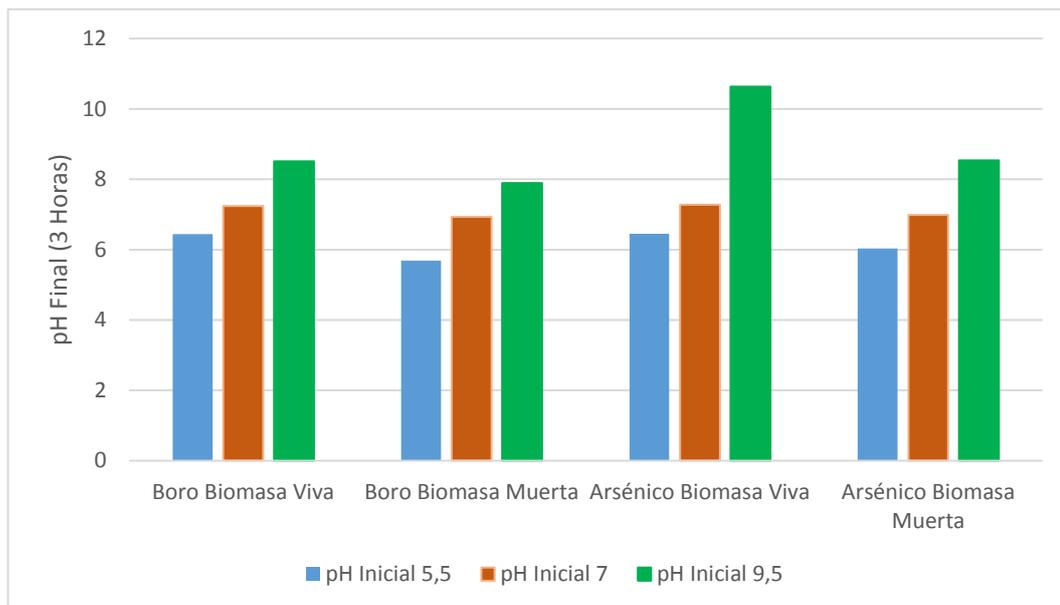


Figura 4. pH Final en Función del pH Fijado Inicialmente, tras la Adsorción de Boro y Arsénico por Biomasa Viva y Muerta

5.2. Cinéticas y Capacidad de Bioadsorción

El estudio de la cinética permite analizar el tiempo necesario para llegar a una concentración aproximadamente constante de eliminación de boro y arsénico, o próxima a la obtenida finalmente a las 3 horas [61].

En las figuras 5 y 6 aparecen representadas las cinéticas para boro a 60 ppm y para arsénico a 12 ppm para biomasa viva y muerta y a concentraciones de 5 g/L y 1 g/L y a pH 7. Analizando los estudios cinéticos de adsorción de boro y arsénico por separado, se puede comprobar como la cinética del boro es mucho más rápida que la del arsénico, llegando a los 30 minutos de iniciado el contacto con las microalgas a un porcentaje de adsorción de boro con respecto a la cantidad final (3 horas) del 74% en presencia de biomasa viva a 5 g/L, 80,9% con biomasa viva a 1 g/L, 83,7% con biomasa muerta a 5 g/L y 91,9% con biomasa muerta a 5g/L. Los estudios de arsénico a los 30 minutos muestran una adsorción con respecto al arsénico adsorbido a las 3 horas, del 64,9% en el caso de biomasa viva a 5 g/L, 57,64% en el de biomasa viva a 1 g/L, 85,24% en el de biomasa muerta a 5 g/L y 80,2% en el de biomasa muerta a 1 g/L. Esta diferencia entre los minerales se debe a la mayor concentración de boro añadida en comparación con la de arsénico, haciendo que los centros activos se saturen a mayor velocidad. En el caso del estudio con biomasa viva se ha observado un aumento de mineral eliminado a las 3 horas, que podría atribuirse a un inicio del proceso de bioacumulación, la intervención del

metabolismo puede hacer que el mineral atraviese la pared celular de las microalgas hacia el interior de las células. Por último, si se comparan las cinéticas en función de la concentración de biomasa, en el arsénico existe una clara diferencia entre 1 g/L y 5 g/L, eliminando más arsénico en el último caso por la presencia de más centros activos capaces de interactuar con los cationes; sin embargo, la eliminación a 5 g/L no es 5 veces mayor que a 1 g/L, esto se produce por un efecto de protección entre las células que impide que los sitios de unión sean ocupados por iones. En el caso del boro, son muy similares las cantidades eliminadas, pudiendo deberse a precipitación de boro en el proceso.

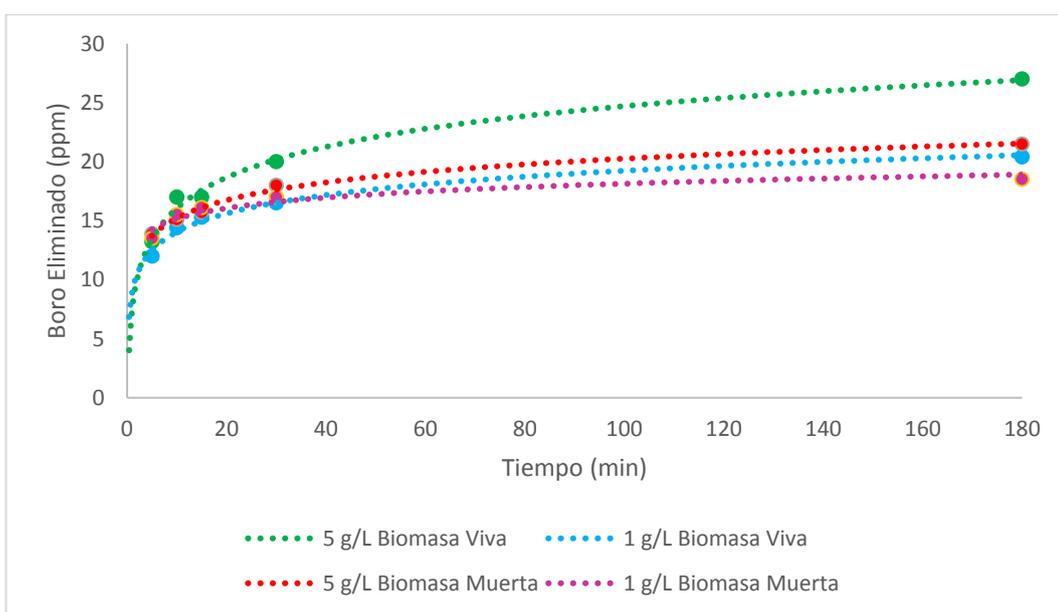


Figura 5. Cinética de Bioadsorción de Boro por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L

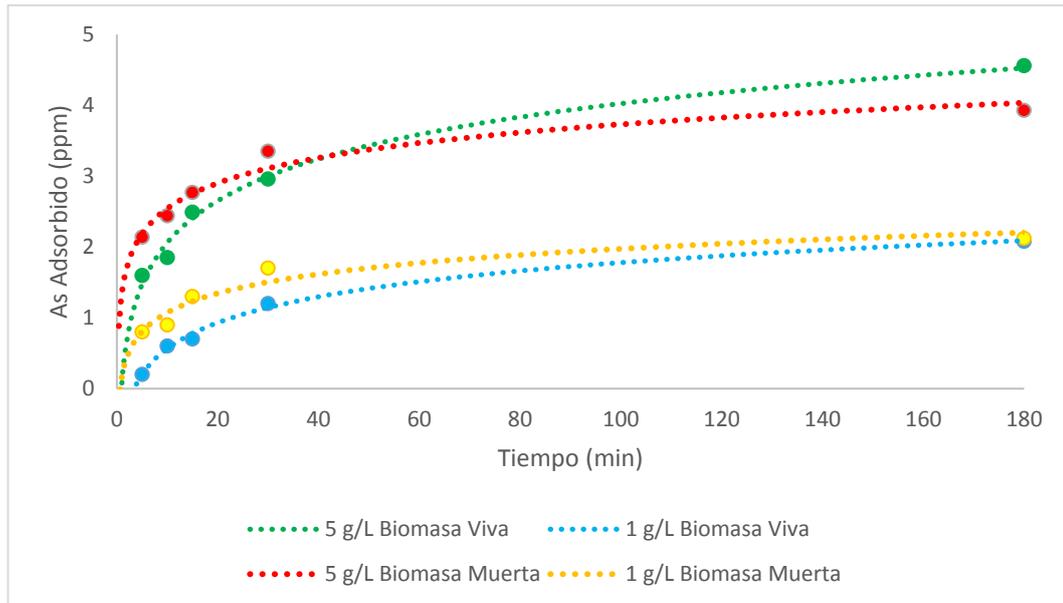


Figura 6. Cinética de Bioadsorción de Arsénico por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L

Considerando la capacidad de bioadsorción de la biomasa, las figuras 7 y 8 muestran la capacidad de biomasa viva y muerta de adsorber boro a 60 ppm y arsénico a 12 ppm. Se puede apreciar como la capacidad de adsorción de microalgas vivas es mayor a los 30 minutos, pero a las 3 horas aumenta la capacidad de las microalgas muertas, ya que para estas últimas, en este intervalo de tiempo se inicia el proceso de bioacumulación. En relación a la variable de concentración de la biomasa, se puede indicar que las capacidades de adsorción en el caso del boro distan considerablemente de una concentración a otra, siendo unas cuatro veces mayor para 1 g/L que para 5 g/L, lo cual implica un proceso que apoya a la adsorción durante la eliminación, la precipitación. En el caso del arsénico, la capacidad a 1 g/L de bioadsorbente es mayor que la de 5 g/L, pero no excesivamente, en torno a dos veces mayor para la biomasa viva y 3 veces mayor para la biomasa muerta, debiéndose a que elevadas concentraciones de biomasa en el medio generan interacciones electrostáticas entre las células formando aglomerados que reducen los centros activos disponibles para el mineral [62].

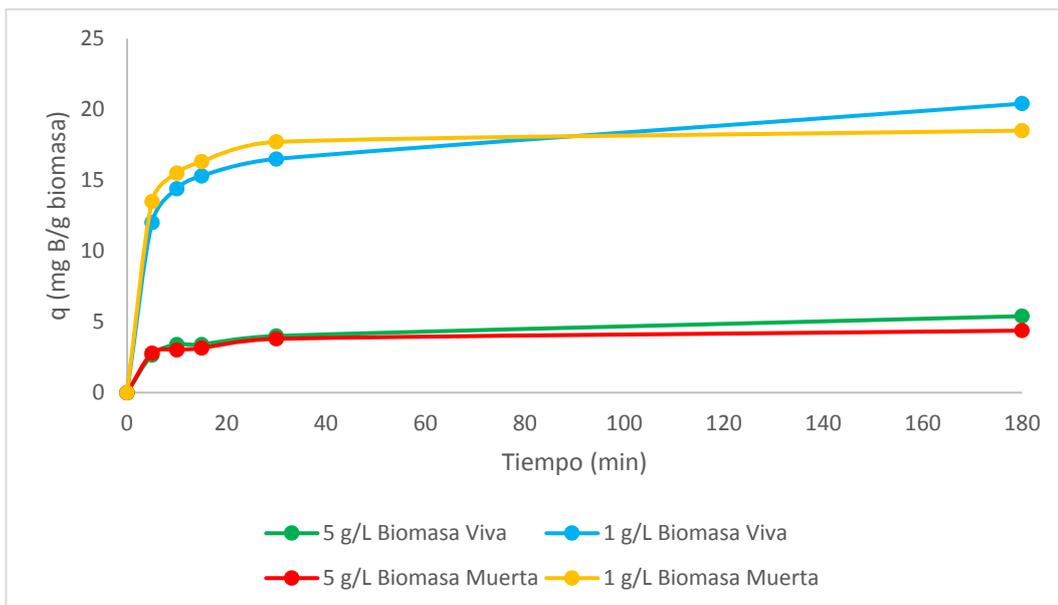


Figura 7. Capacidad de Bioadsorción de Boro por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L

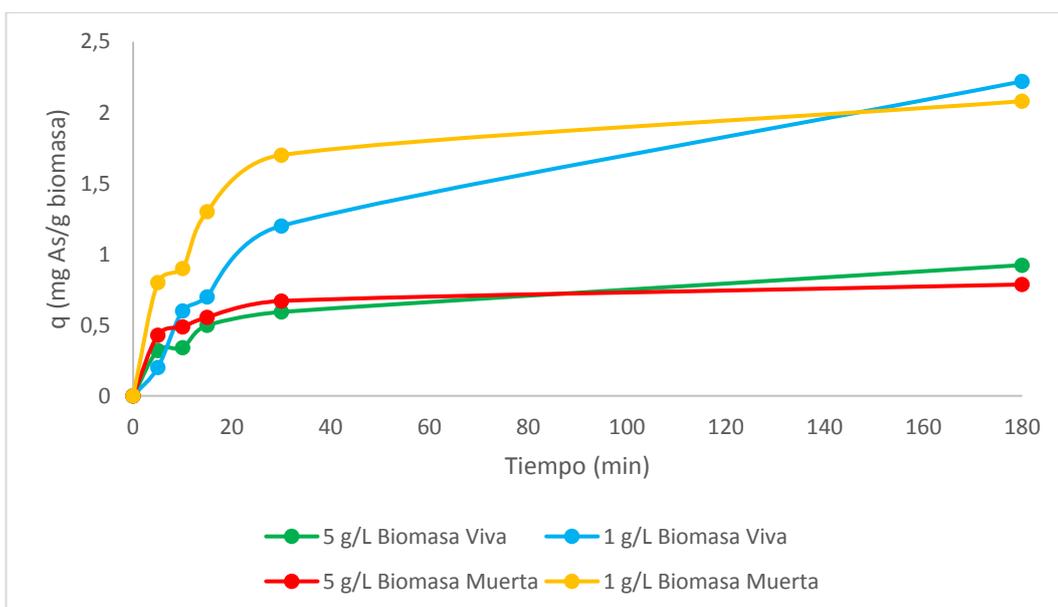


Figura 8. Capacidad de Bioadsorción de Arsénico por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L

Las cinéticas y la capacidad de bioadsorción permiten determinar la etapa controlante del proceso: reacción química o transferencia de materia. A partir de las cinéticas representadas anteriormente, se han probado dos modelos de reacción química para confirmar que se trata de la etapa controlante; el modelo

de pseudo-primer orden y el de pseudo-segundo orden integrando entre $t=0$, $q=0$ y $t=t$, $q=q_e$ tal y como aparece indicado en las ecuaciones 7 y 9, para determinar los coeficientes cinéticos y la bondad del ajuste. Las tablas 5, 6, 7 y 8 muestran que el mejor modelo al que se ajustan los datos experimentales representados en las figuras 9, 10, 11 y 12, es el de pseudo-segundo orden, evidenciándose en el sumatorio de los cuadrados de los errores $\sum(q-q_{cal})^2$, expresión ampliamente utilizada para optimizar los parámetros cinéticos cuando se emplean técnicas de regresión lineal, así como no lineales. Coincidiendo con la bibliografía, la bioadsorción está controlada por reacción química y no por difusión, lo cual contribuye a la agitación mecánica [37]. Además, la velocidad de ocupación de los sitios de adsorción es proporcional al número cuadrado de los sitios no ocupados en la superficie del bioadsorbente. Por otro lado, los coeficientes cinéticos son mayores para biomasa muerta que para biomasa viva, confirmando una cinética más rápida de estas últimas, pero la biomasa muerta presenta menores capacidades de bioadsorción a las 3 horas ya que la biomasa viva en ese instante ya ha comenzado el proceso de bioacumulación y capta una mayor cantidad de boro y de arsénico.

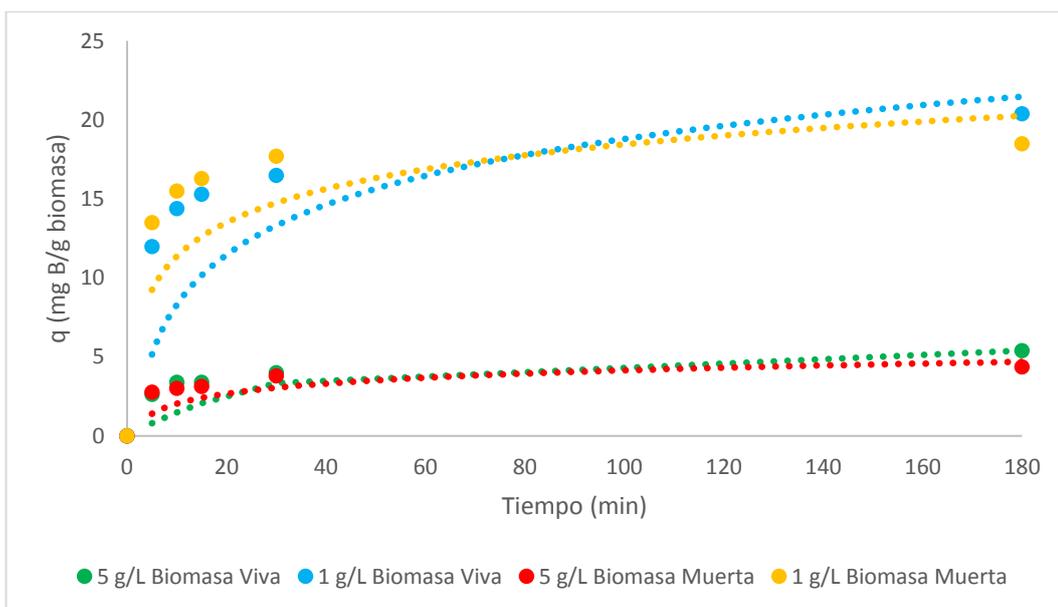


Figura 9. Ajuste de la Capacidad de Adsorción de Boro por el Modelo de Pseudo-Primer Orden

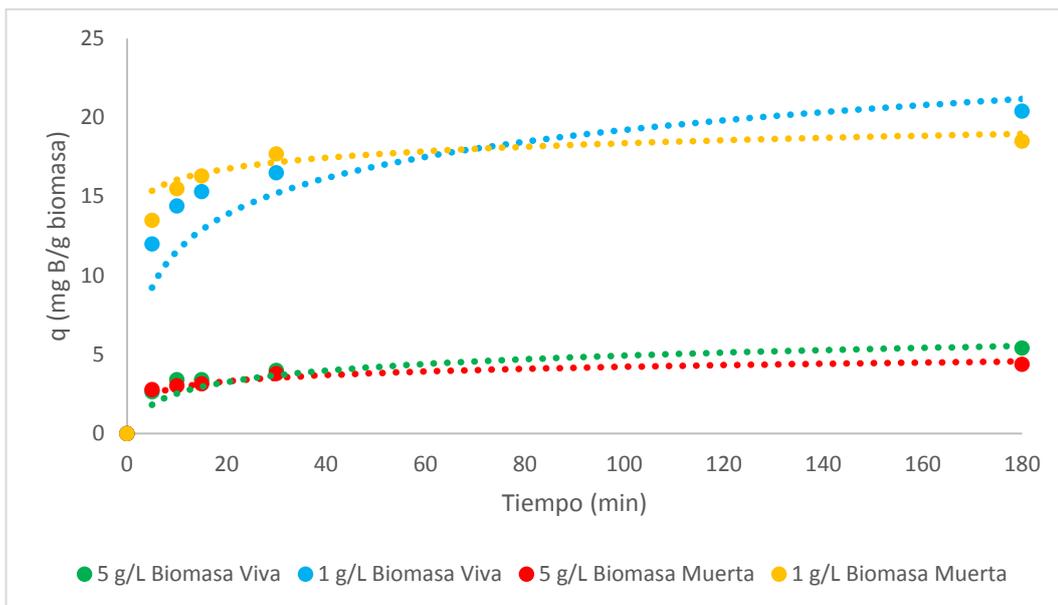


Figura 10. Ajuste de la Capacidad de Adsorción de Boro por el Modelo de Pseudo-Segundo Orden

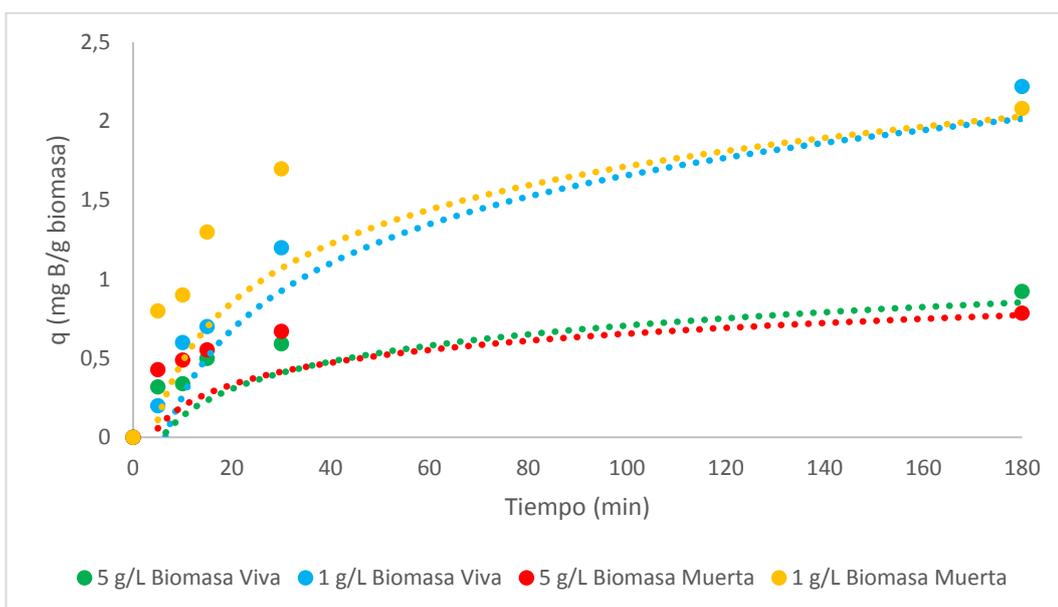


Figura 11. Ajuste de la Capacidad de Adsorción de Arsénico por el Modelo de Pseudo-Primer Orden

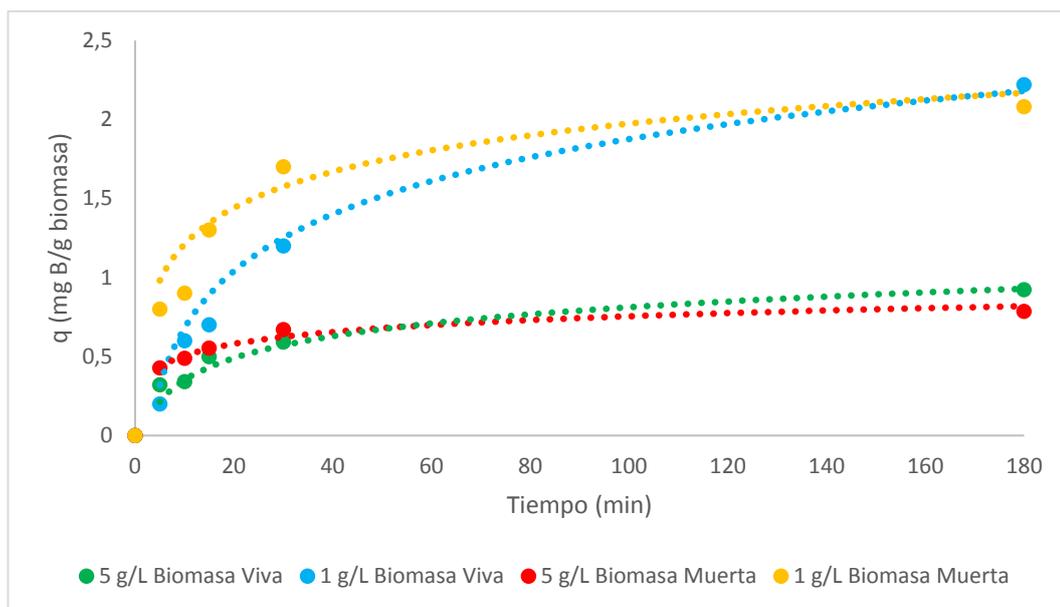


Figura 12. Ajuste de la Capacidad de Adsorción de Arsénico por el Modelo de Pseudo-Segundo Orden

Tabla 5. Modelo Cinético de Pseudo-Primer Orden para el Boro

	Biomasa Viva 5 g/L	Biomasa Viva 1 g/L	Biomasa Muerta 5 g/L	Biomasa Muerta 1 g/L
q_e (mg/g)	5,40	20,40	4,38	18,50
k_1 (min ⁻¹)	0,032	0,048	0,058	0,095
r^2	0,872	0,737	0,852	0,892
$\Sigma(q-q_{cal})^2$	9,325	128,105	4,393	65,315

Tabla 6. Modelo Cinético de Pseudo-Segundo Orden para el Boro

	Biomasa Viva 5 g/L	Biomasa Viva 1 g/L	Biomasa Muerta 5 g/L	Biomasa Muerta 1 g/L
q_e (mg/g)	5,40	20,40	4,38	18,50
k_2 (g/mg·min)	0,016	0,007	0,047	0,040
r^2	0,914	0,912	0,962	0,967
$\Sigma(q-q_{cal})^2$	1,889	25,644	0,349	2,177

Tabla 7. Modelo Cinético de Pseudo-Primer Orden para el Arsénico

	Biomasa Viva 5 g/L	Biomasa Viva 1 g/L	Biomasa Muerta 5 g/L	Biomasa Muerta 1 g/L
q_e (mg/g)	0,923	2,220	0,786	2,080
k_1 (min ⁻¹)	0,014	0,012	0,025	0,023
r^2	0,895	0,889	0,920	0,907
$\sum(q-q_{cal})^2$	0,299	0,593	0,370	1,459

Tabla 8. Modelo Cinético de Pseudo-Segundo Orden para el Arsénico

	Biomasa Viva 5 g/L	Biomasa Viva 1 g/L	Biomasa Muerta 5 g/L	Biomasa Muerta 1 g/L
q_e (mg/g)	0,923	2,220	0,786	2,080
k_2 (g/mg·min)	0,066	0,022	0,239	0,064
r^2	0,959	0,980	0,984	0,968
$\sum(q-q_{cal})^2$	0,016	0,062	0,004	0,121

5.3. Cantidad Neta de Boro y Arsénico Eliminado

Analizando la cantidad neta de mineral eliminado en porcentaje (figura 13), la biomasa concentrada a 5 g/L adsorbe una mayor cantidad neta en todos los casos, siendo notable esta diferencia en el caso del arsénico tanto para vivas como para muertas. Para el boro existe un salto en las concentraciones de vivas producto de un posible inicio de bioacumulación que pueden llevar a cabo 5 g/L de biomasa frente a 1 g/L, pero en muertas el porcentaje de eliminación es similar ya que la adsorción se produce en una pequeña cantidad. Estos resultados parecen indicar que la remoción de boro podría ser debida a una precipitación más que a adsorción, ya que no se ven afectados por la concentración de biomasa en el caso de microalgas muertas.

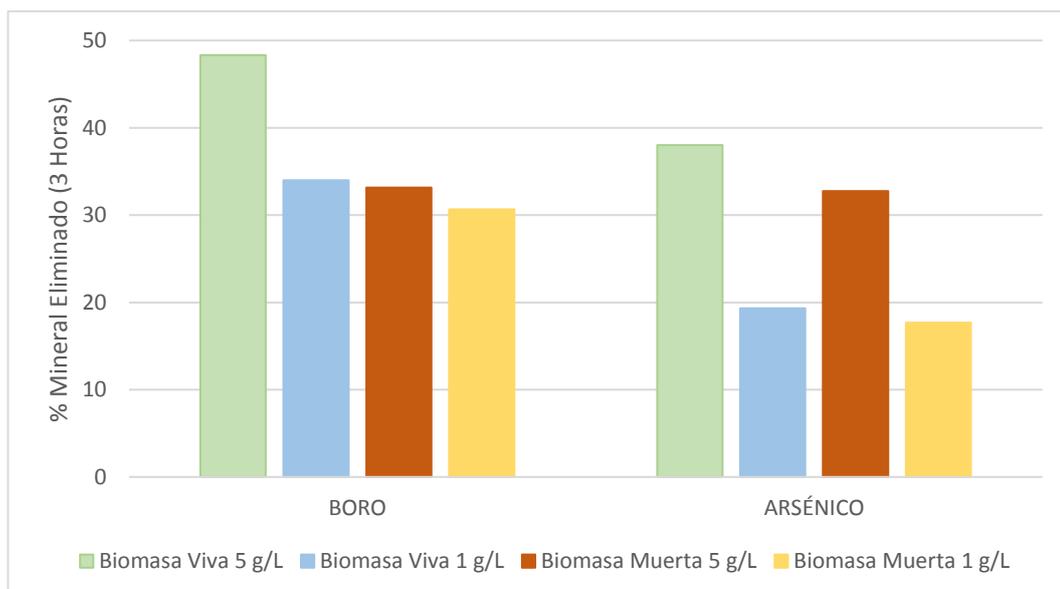


Figura 13. Porcentaje de Eliminación de Boro y Arsénico por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L

Para una primera aproximación del porcentaje eliminado en cada caso por adsorción y por precipitación, se ha realizado un cálculo preliminar, considerando la capacidad de adsorción independiente de la concentración de la biomasa; por tanto, la capacidad de adsorción de la biomasa y la masa precipitada es la misma para 1 g/L de biomasa y para 5 g/L. Además, son conocidas tanto las masas de mineral eliminadas en cada instante, como la concentración de biomasa en el medio. Planteando la ecuación 10 para cada concentración de biomasa (1 g/L y 5 g/L), llegamos a un sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas (q_t y m_p).

$$m_e = q_t \cdot [B] + m_p$$

Ecuación 10. Masa Eliminada

Siendo:

m_e : masa de boro eliminada en cada instante de tiempo (mg).

$[B]$: concentración de biomasa en el medio (g/L).

m_p : masa de boro precipitada en cada instante de tiempo (mg).

q_t : capacidad de adsorción en cada instante de tiempo (mg/g).

Las tablas 9 y 10 muestran las cantidades adsorbidas y precipitadas de boro y arsénico por microalgas vivas y muertas. El boro a las 3 horas de contacto con la biomasa presenta un porcentaje de precipitación muy elevado, especialmente en biomasa muerta el 95,9% del boro eliminado precipita con 1

g/L y 82,55% en presencia de 5 g/L. La biomasa viva actúa adsorbiendo una mayor cantidad, precipitando el 91% a 1 g/L y el 69,4% de boro a 5 g/L. En cuanto al arsénico, la precipitación es prácticamente nula trabajando con biomasa viva y con biomasa muerta alcanza un 37,27% de precipitación de arsénico a las 3 horas de contacto con 1 g/L de biomasa y un 10,87% con 5 g/L.

Tabla 9. Valores Reales de la Eliminación de Boro

Biomasa (estado)	Tiempo (min)	q real (mg B/g biomasa)	Masa Adsorbida por Biomasa 1 g/L (mg B)	Masa Adsorbida por Biomasa 5 g/L (mg B)	Masa Precipita (mg B)
VIVA	0	0,00	0,00	0,00	0,00
VIVA	5	0,30	0,30	1,50	11,70
VIVA	10	0,65	0,65	3,25	13,75
VIVA	15	0,43	0,43	2,13	14,88
VIVA	30	0,88	0,88	4,38	15,63
VIVA	180	1,65	1,65	8,25	18,75
MUERTA	0	0,00	0,00	0,00	0,00
MUERTA	5	0,10	0,10	0,50	13,40
MUERTA	10	0,11	0,11	0,55	14,55
MUERTA	15	0,12	0,12	0,60	15,10
MUERTA	30	0,25	0,25	1,25	16,75
MUERTA	180	0,75	0,75	3,75	17,75

Tabla 10. Valores Reales de la Eliminación de Arsénico

Biomasa (estado)	Tiempo (min)	q real (mg B/g biomasa)	Masa Adsorbida por Biomasa 1 g/L (mg B)	Masa Adsorbida por Biomasa 5 g/L (mg B)	Masa Precipita (mg B)
VIVA	0	0,00	0,00	0,00	0,00
VIVA	5	0,35	0,35	1,75	-0,15
VIVA	10	0,37	0,37	1,85	0,00
VIVA	15	0,50	0,50	2,49	0,00
VIVA	30	0,60	0,60	3,00	-0,03
VIVA	180	0,88	0,88	4,40	0,16

MUERTA	0	0,00	0,00	0,00	0,00
MUERTA	5	0,44	0,44	2,18	-0,03
MUERTA	10	0,49	0,49	2,43	0,01
MUERTA	15	0,50	0,50	2,49	0,28
MUERTA	30	0,60	0,60	3,01	0,30
MUERTA	180	0,67	0,67	3,36	0,41

5.4. Análisis de Centros Activos: FTIR

El análisis mediante FTIR permite identificar los grupos funcionales de la biomasa debido a su capacidad de absorber energía electromagnética en la región infrarroja del espectro. La radiación infrarroja genera la vibración de átomos como diminutos resortes alrededor de los enlaces covalentes que los conectan, pudiendo hacerlo a diferentes frecuencias que caracterizan al grupo funcional al que corresponden [63]. Esta intensidad de la absorción depende de la repetición de un grupo y de la polaridad del enlace; a mayor polaridad mayor intensidad de absorción [64]. En la figura 14 se puede identificar la longitud de onda característica de cada grupo funcional y la intensidad con la que son reflejados en cada una.

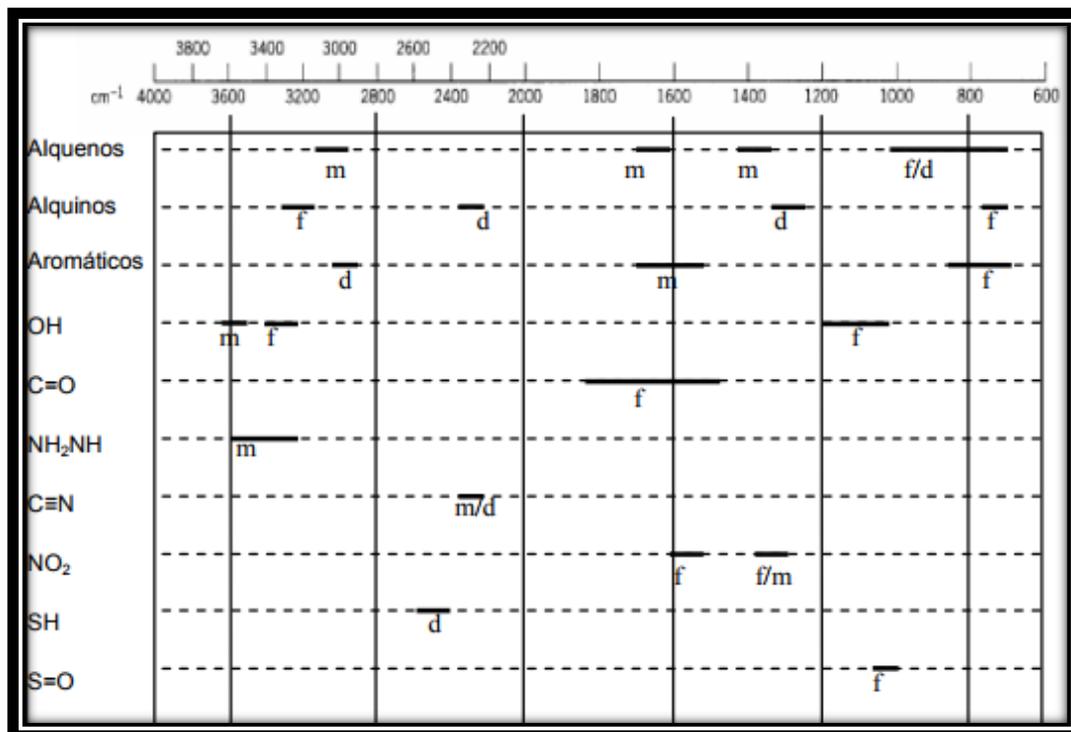


Figura 14. Regiones en las que Aparecen Bandas de Absorción para diferentes Grupos Funcionales y su Intensidad Relativa: f, fuerte; m, media y d, débil [65]

Mediante esta técnica, se analizó en primer lugar la biomasa original, tanto viva como muerta, como se muestra en la figura 15, pudiendo destacar las siguientes bandas de tensión:

- **3300 cm^{-1}** : correspondiente al grupo hidroxilo (-OH).
- **2900 cm^{-1}** : banda de tensión del enlace -C-H de los grupos alcano.
- **1750 – 1500 cm^{-1}** : representativa de los grupos carboxílicos (-COOH) o derivados, como carboxilatos (-COONa, -COOCa) o metoxilatos (-COOCH₃), representando además los grupos amino (-NH₂).
- **1500 – 1200 cm^{-1}** : corresponde a los grupos nítrico (-NO₂) y en menor medida a alquenos y alquinos.
- **1100 – 1000 cm^{-1}** : banda de tensión del enlace -C=H de los grupos alqueno.

Las bandas de los grupos carboxílicos y nítricos son las más diferenciadas entre biomasa viva y muerta, manifestándose en gran forma en la gráfica de la biomasa muerta, indicando una mayor presencia de grupos funcionales que pueden actuar como centros activos en las uniones del boro y el arsénico a la biomasa. Esto puede deberse a una oxidación de los grupos carboxílicos presentes en la superficie producto del pretratamiento térmico efectuado.

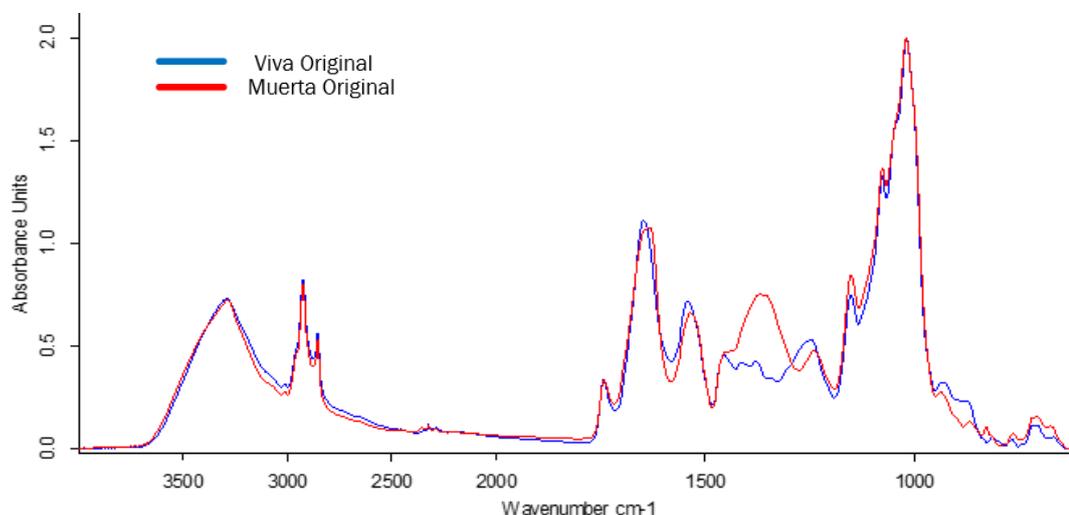


Figura 15. FTIR Biomasa Viva Original frente a Muerta Original

Caracterizada la biomasa original, se aplicó este análisis a la biomasa tras pasar 3 horas a pH 7 en contacto, por un lado, con el boro a 60 ppm y por otro, con el arsénico a 12 ppm. El objetivo es conocer qué grupos funcionales intervienen en la unión. Como se puede ver en la figura 16, aparecen las bandas de tensión que sufren más modificaciones en el caso

del boro. Los picos que aparecen a 3300 cm^{-1} corresponden a los grupos -OH superficiales y aparecen ligeramente desplazados hacia longitudes de ondas menores con respecto a la biomasa original; sin embargo, estos picos indican y están relacionados con la precipitación, no con la adsorción. En cuanto al arsénico, en la figura 17 aparecen principalmente los grupos carboxílicos, entre 1750 y 1500 cm^{-1} , desplazados hacia longitudes de onda menores, debido al intercambio de la biomasa, de protones por minerales, generando un enlace más débil que el inicial entre el grupo funcional y el hidrógeno [66]. En el caso de la biomasa muerta se generan picos de mayor intensidad a 1350 cm^{-1} al crear nuevos enlaces con los grupos -NO_2 de la pared celular, evidenciando una capacidad de adsorción mayor. Por tanto, existe adsorción gracias a los grupos carboxílicos y nítricos en el experimento del arsénico y precipitación debido a los grupos alcohol en el análisis del boro. En cuanto a los cambios en los grupos alcano y alqueno, al ser uniones mayoritarias en las moléculas orgánicas no son relacionadas con bioadsorción, sino a los múltiples estados vibratorios de estos grupos.

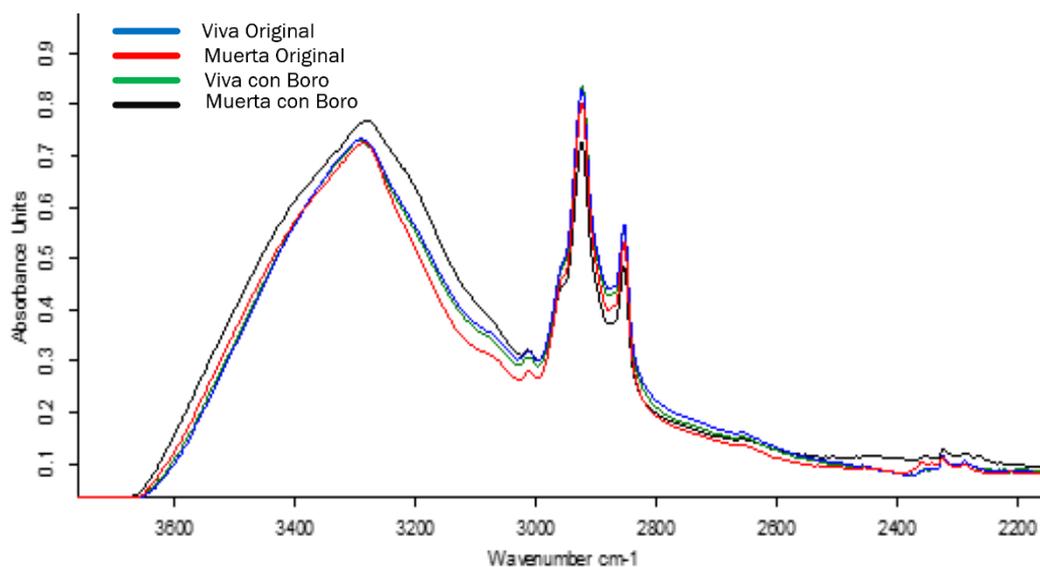


Figura 16. FTIR Biomasa Viva Original, Viva con Boro 3 horas, Muerta Original y Muerta con Boro 3 horas

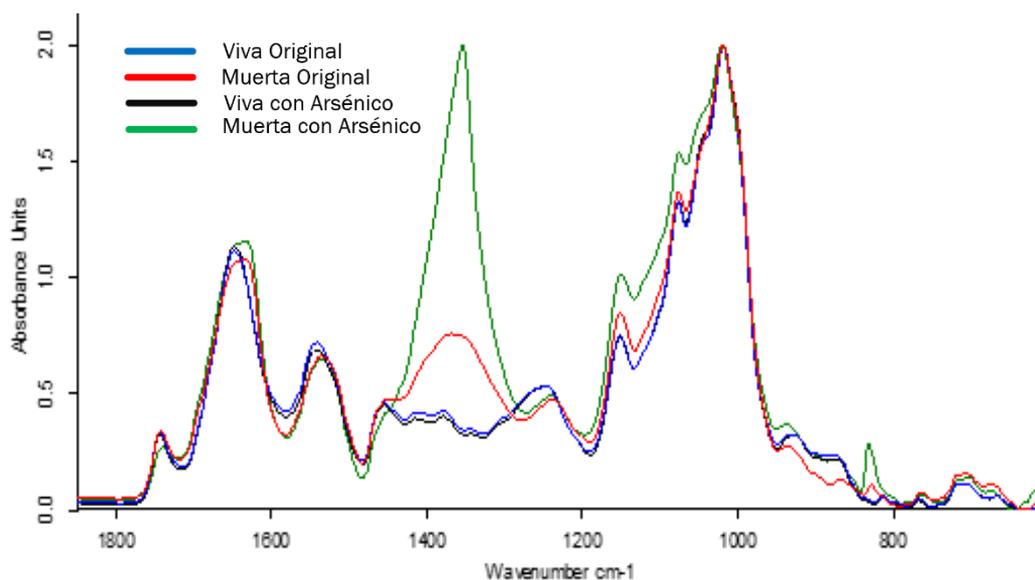


Figura 17. FTIR Biomasa Viva Original, Viva con Arsénico 3 horas, Muerta Original y Muerta con Arsénico 3 horas

5.5. Bioadsorción de Arsénico en Presencia de Boro

Se procedió a repetir los estudios cinéticos con una solución con boro y arsénico para analizar la influencia del boro en la bioadsorción de arsénico. En la figura 18 y en la figura 19 se observa que la tendencia de la cinética y el orden es similar a los experimentos de arsénico en ausencia de boro, alcanzando el equilibrio en tiempos similares; sin embargo, en todos los casos se alcanzan valores de eliminación mayores en presencia de boro. El contacto de biomasa con boro y arsénico no está generando una competencia entre sus cationes por los centros activos del bioadsorbente ya que presentan diferente naturaleza. La figura 20 muestra que aumenta la cantidad neta total de arsénico eliminado, a partir de esta figura se puede concluir que en el caso del arsénico, existe una parte adsorbida al igual que ocurre cuando está en solución monomineral. Sin embargo, por otro lado se produce un aumento de la capacidad de remoción desde la solución acuosa producto de un efecto de arrastre por parte del boro en su proceso de precipitación, favoreciendo la eliminación del arsénico en presencia de éste.

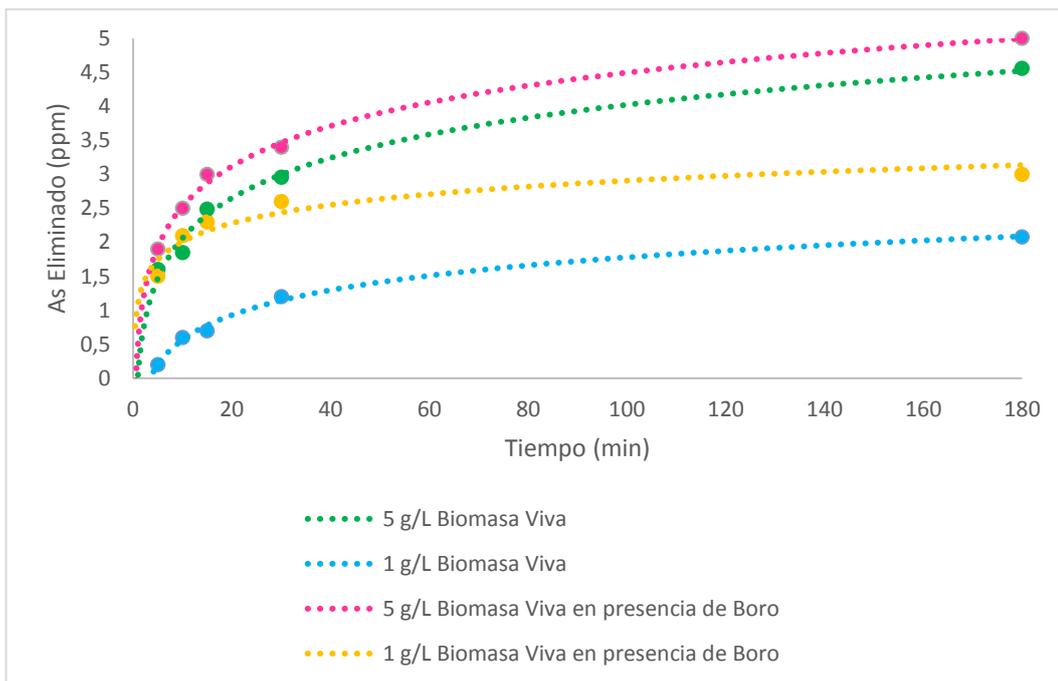


Figura 18. Cinética de Bioadsorción de Arsénico por Biomasa Viva a 5 g/L y 1 g/L, con y sin Boro

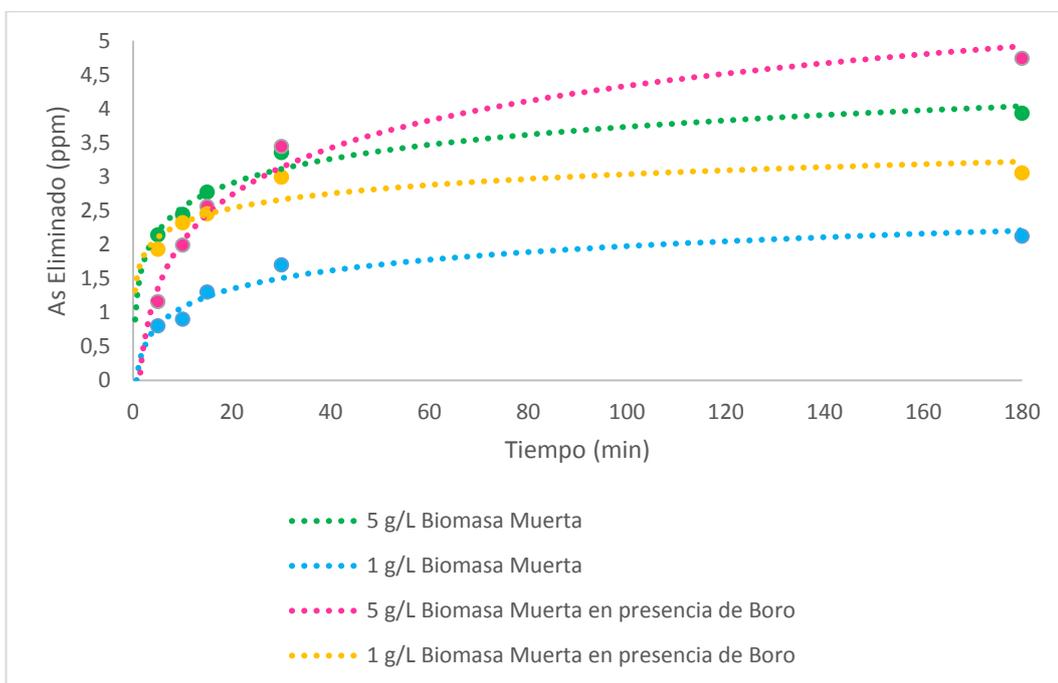


Figura 19. Cinética de Bioadsorción de Arsénico por Biomasa Muerta a 5 g/L y 1 g/L con y sin Boro

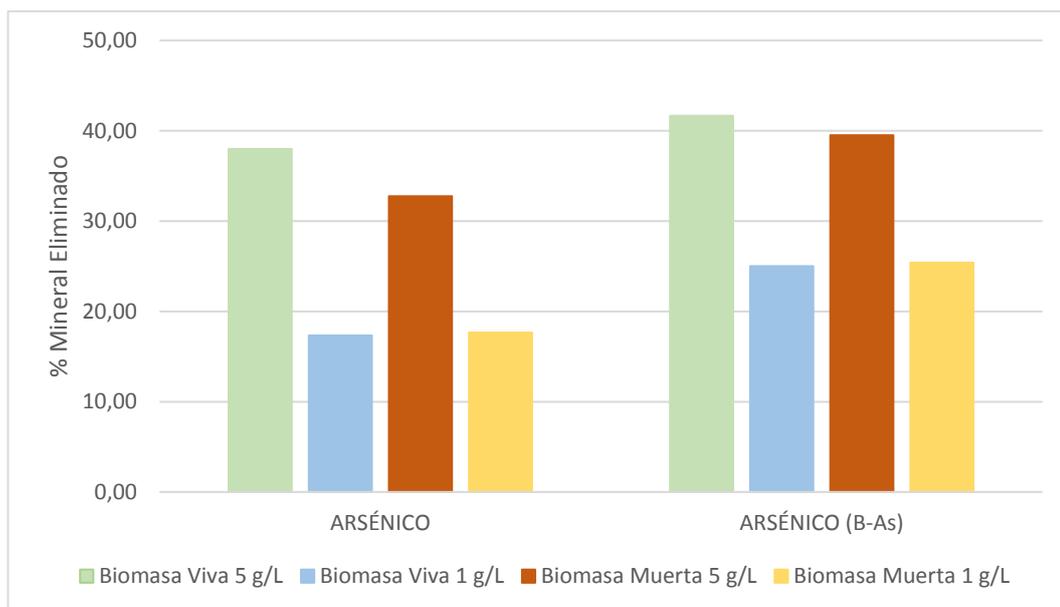


Figura 20. Porcentaje de Eliminación de Arsénico en Presencia de Boro por Biomasa Viva y Muerta a 5 g/L y 1 g/L

La cantidad de arsénico que precipita en presencia de boro se determinó de la misma manera que en el apartado previo (5.3 Cantidad Neta de Boro y Arsénico Eliminado). Teniendo en cuenta la cantidad de arsénico precipitado en ausencia de boro (tabla 9) y en presencia de boro (tabla 11), se confirma que existe un arrastre importante de arsénico por parte del boro en el proceso de precipitación, especialmente en el caso de microalgas vivas y a menor concentración (1 g/L), pasando de 37,27% de arsénico precipitado en ausencia de boro a 91,14% en presencia de boro.

Tabla 11. Valores Reales de la Eliminación de Arsénico en Presencia de Boro

Biomasa (estado)	Tiempo (min)	q real (mg B/g biomasa)	Masa Adsorbida por Biomasa 1 g/L (mg B)	Masa Adsorbida por Biomasa 5 g/L (mg B)	Masa Precipita (mg B)
VIVA	0	0,00	0,00	0,00	0,00
VIVA	5	0,16	0,16	0,80	1,34
VIVA	10	0,24	0,24	1,19	1,86
VIVA	15	0,26	0,26	1,30	2,04
VIVA	30	0,26	0,26	1,31	2,34
VIVA	180	0,33	0,33	1,67	2,67

MUERTA	0	0,00	0,00	0,00	0,00
MUERTA	5	0,12	0,12	0,60	0,56
MUERTA	10	0,17	0,17	0,86	1,13
MUERTA	15	0,21	0,21	1,04	1,52
MUERTA	30	0,23	0,23	1,15	2,29
MUERTA	180	0,31	0,31	1,55	3,19

6. Conclusiones

- En los estudios de determinación de pH óptimo, el pH demostró ser un factor altamente influyente en el proceso de bioadsorción, ya que es el principal factor que determina la presencia de protones tanto en la superficie como en el medio acuoso. Estos protones se catalogan como competidores con los iones del boro y del arsénico ejerciendo una influencia negativa en la unión de los elementos estudiados con los centros activos de la biomasa. A pH 5,5 la adsorción se ve dificultada por los protones presentes en la pared celular; sin embargo, a pH 7,0 los centros activos se desprotonan y captan una mayor proporción de cationes. Se concluyó que a pH 9,5 la capacidad de adsorción disminuye ya que el boro y el arsénico precipitan, dificultando que la eliminación de estos elementos se produzca como una asociación con la biomasa.
- En la biomasa viva, se ha podido apreciar que a las 3 horas se produce un incremento en la capacidad de remoción que puede asociarse al inicio del proceso de bioacumulación, en el cual los minerales ingresan al interior de la estructura celular.
- Las cinéticas obtenidas con los modelos teóricos, han alcanzado un correcto ajuste al modelo de pseudo-segundo orden, mostrando que la bioadsorción está controlada por reacción química y la velocidad de ocupación de los sitios de adsorción es proporcional al número cuadrado de los sitios no ocupados en la superficie del bioadsorbente.
- En cuanto al estudio de la concentración de biomasa como factor en el proceso de bioadsorción; se puede considerar que al comparar la capacidad de adsorción por unidad de biomasa, en el caso del boro la diferencia entre 5 g/L y 1 g/L fue muy elevada y el porcentaje total eliminado muy parecido para ambos casos, indicando que posiblemente, la eliminación se estaba realizando mayoritariamente por precipitación. En el caso del arsénico, la capacidad de 1 g/L es mayor que 5 g/L dentro de unos rangos asumibles, siendo tres veces mayor en el estudio de biomasa viva y dos veces mayor en el de biomasa muerta. Se puede confirmar la adsorción de arsénico por parte de las células de microalgas. Sin embargo, la reducción de la capacidad de adsorción a una mayor concentración, se asocia a una disminución de la disponibilidad de los sitios de unión, ya que las células forman aglomerados que reducen los centros activos disponibles para el mineral; además, la cantidad de arsénico adsorbida es bastante mayor a mayor concentración de biomasa utilizada, pasando de 17,33% de arsénico eliminado a 38% para la biomasa viva y de 17,67% a 32,75%

para la biomasa muerta, ya que aunque la biomasa a 5 g/L haya reducido su capacidad presenta más centros activos disponibles.

- En los estudios de caracterización mediante FTIR, el análisis de biomasa con arsénico señaló a los grupos carboxilo ($1750-1500\text{ cm}^{-1}$) como principales centros activos, con una mayor manifestación en la biomasa muerta, y uniones con grupos nítrico (1350 cm^{-1}) no apreciables en biomasa viva. Respecto al boro, los resultados del FTIR mostraron cambios respecto a la biomasa original entorno a los grupos hidroxilo (3300 cm^{-1}), confirmando que principalmente está precipitando.
- Finalmente, en los estudios de solución bimineral B-As, se puede asumir que, una vez descartada la bioadsorción de boro, si se analiza la cinética de arsénico en presencia de boro, la cantidad de arsénico eliminado aumenta respecto a los casos anteriores, pasando de 38% de arsénico eliminado sin boro a 41,67% en presencia de boro con 5 g/L de biomasa viva, de 17,33% a 25% con 1 g/L de biomasa viva, de 32,75% a 39,5 % con 5 g/L de biomasa muerta y de 17,67% a 25,42% con 1 g/L de biomasa muerta, producto de la capacidad que presenta el boro de arrastre de arsénico durante su proceso de precipitación.

7. Bibliografía

- [1] Lezcano, J. M., González, F., Ballester, A., Blázquez, M. L., y Muñoz, J. A. (2011). Sorption and desorption of Cd, Cu and Pb using biomass from an eutrophized habitat in monometallic and bimetallic systems. *Journal of Environmental Management*, 92(10), 2666–2674.
- [2] Álvarez V. J., y Marinero P. (2003). Estudios de la Zona No Saturada del Suelo. 4(5), *Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León*, 6, 331–338.
- [3] Kaplan, D. (2013). Absorption and desorption of heavy metals by microalgae. *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology*; 1, chap.4.
- [4] Sandoval G. M. (2006). Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 1(1), 77-99.
- [5] Duruibe, J. O., Ogwuegbu, M. O. C., & Egwurugwu, J. N. (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, 2(5), 112-118.
- [6] Sharma, S.S. & Dietz K.J. (2009) The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends Plant Sci.* 14, 43-50.
- [7] Meltin B., B., y Nevsi A., (2014). Boron removal from aqueous solution by batch adsorption using Box. *Desalination and Water Treatment*, 10, 108-194.
- [8] Mohan, D., & Pittman, C. U. (2007). Arsenic removal from water / wastewater using adsorbents — A critical review. *Industrial Toxicology Research*, 80(1), 1-14.
- [9] Nriagu, J.; Bhattacharya, P.; Mukherjee, A.; Bundschuh, J.; Zevenhoven, R.; Loeppert, R. 2007. Arsenic in soil and groundwater; an overview. *Elsevier*, 9, 3-25.
- [10] Regine, H., S., L., y B., Volesky (2000). Biosorption : a solution to pollution ?, *Internatl Microbiol*, 3, 17–24.
- [11] Cuizano, A. N., y Navarro, A. E. (2013). Biosorción de metales pesados por algas marinas : Posible solución a la contaminación a bajas concentraciones Química y Medio Ambiente. *An Quim*, 104(2), 120-125.
- [12] Monteiro, C. M., Castro, P. M. L., Malcata, F. X., Instituto, I., Carlos, A., Campos, O., y Pedro, P.--A. S. (2012). Metal Uptake by Microalgae : Underlying Mechanisms and Practical Applications. *American Institute of Chemical*

Engineers Biotechnol, 28(2), 299-311.

[13] Wang, J., & Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27(2), 195–226.

[14] Vijayaraghavan, K., Jegan, J., Palanivelu, K., y Velan, M. (2005). Biosorption of copper , cobalt and nickel by marine green alga *Ulva reticulata* in a packed column, *Chemosphere* 60, 419–426.

[15] Holant, Z. R. (1995). Biosorption of Heavy Metals, *Biotechnol Prog.*,11, 235–250.

[16] Baynes, S.M., Emerson, L. y Scott, A.P. 1979. Production of algae for use in the rearing of larvae fish. *MAFF Direct. Fish. Res.*, 53(3), 13–18.

[17] Gonz, M. S. Alka y Palsania J. (2005). Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. *International. Journal of Chemical and Physical Sciences*, 3, 67-81.

[18] Graham, L., Graham, J., & Wilcox, L. (2000). *Algae 2n ed. Pearso Beajamin Cummings*.Chap.2.

[19] Erlinch, H. K. (1997). Microbes and Metals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48(6), 687-692.

[20] Macfie, S. M., y Welbourn, P. M. (2000). The cell wall as a barrier to uptake of metal ions in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39(4), 413-419.

[21] Bayramoglu, G., Tuzun, I., Celik, G., Yilmaz, M., y Arica, M. Y. (2006). Biosorption of mercury (II), cadmium (II) and lead (II) ions from aqueous system by microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* immobilized in alginate beads. *International Journal of Mineral Processing*, 81(1), 35-43.

[22] Tejada-tovar, C., & Villabona-ortiz, Á. (2015). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico, *Tecno Lógicas* 18(34), 109–123.

[23] Gadd, G. M. (2008). Biosorption : critical review of scientific rationale , environmental importance and significance for pollution treatment. *Wiley Interscience*, 84, 13–28.

[24] Handbook of microalgal culture: applied phycology and Biotechnology, 2^o edition, Cap.32, Pág.604

[25] Vullo, D. D. L. (2003). Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente. *Química Viva*, 63(3), 93-104.

- [26] Vijayaraghavan, K., & Balasubramanian, R. (2015). Is biosorption suitable for decontamination of metal-bearing wastewaters? A critical review on the state-of-the-art of biosorption. *Journal of Environmental Management*, 160(1), 283–296.
- [27] Kaewsarn, P. (2002). Biosorption of Copper(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine algae *Padina* sp.. *Chemosphere*, 47, 1081-1085.
- [28] Monika, B., Alka, S., Srivastava, J. K., y Palsania, J. (2014). Biosorption of Heavy Metals from Wastewater by Using Microalgae. *Water Research* 3(6), 67–81.
- [29] Mehta, S. K., & Gaur, J. P. (2017). Use of Algae for Removing Heavy Metal Ions From Wastewater: Progress and Prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(3), 113-152.
- [30] Tejada-tovar, C., & Villabona-ortiz, Á. (2015). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. *Tecnológicas* 18(34), 109–123.
- [31] Volesky, B. (2000) Biosorption: Application Aspects – Process Simulation Tools, *McGill University*, 65(1), 1–10.
- [32] Eyra, C., Bernardelli, C., Viera, M., y Donati, E. (2013). Estudio cinético e isotérmico de la biosorción de zinc (II) y cadmio (II) para un sistema monometálico-bimetálico por undaria. *Rev. Per. Qím. Ing.* 16(2), 39-46.
- [33] Contra, L., & Fugas, D. Y. (2006). Fichas Internacionales de Seguridad Química Fichas Internacionales de Seguridad Química.
- [34] Kratochvil, D., Volesky, B. (1998). Advances in the biosorption of heavy metals. *Trends Biotechnology*, 16, 291-300.
- [35] Ho, Y. S., Ng, J. C. Y., Mackay, G. (2001). Removal of lead (II) from effluents by sorption on peat using second order kinetics. *Separation Science and Technology*, 36(2), 241-261.
- [36] Martínez, C., Torres, L. M., García, R. F., & Cruz, D. (2013). Evaluación de la cinética de adsorción de Zn²⁺ y Cd²⁺ a partir de soluciones unitarias y binarias por raíces de *Eichhornia crassipes* y *Typha latifolia*. *Chemosphere* 4(2), 1–14.
- [37] Cheung, C. W., Porter, J. F., Mckay, G. (2001). Sorption Kkinetic analysis for the removal of cadmium ions from effluents using bone char. *Water Research*, 35(3), 605-61.
- [38] Cruz, C. C., da Costa, A. C. A., Henriques, C. A., y Luna, A. S. (2004). Kinetic modeling and equilibrium studies during cadmium biosorption by dead

Sargassum sp. biomass. *Bioresource Technology*, 91(3), 249-257.

[39] Gong, R. (2005). Lead biosorption and desorption by intact and pretreated spirulina maxima biomass. *Chemosphere* 58, 125–130.

[40] Murphy, V., & Hughes, H. (2008). Comparative Study of Chromium Biosorption by Red, Green and Brown Seaweed Biomass. *Chemosphere*, 70, 1128-1134.

[41] Monteiro C.M., Castro P.M.L., Malcata F.X., (2010). Cadmium removal by two strains of *Desmodesmus pleiomorphus* cells. *Water Air Soil Pollution*, 208, 17-27.

[42] Monteiro C.M., Marques A.P.G., Castro P.M.L., Malcata F.X. (2009) Characterization of *Desmodesmus pleiomorphus* isolated from a heavy metal-contaminated site: biosorption of zinc. *Biodegradation*, 20, 629-641.

[43] Murphy, V., & Hughes, H. (2008). Comparative Study of Chromium Biosorption by Red, Green and Brown Seaweed Biomass. *Chemosphere* 70, 1128-1134.

[44] Romera, E., Gonzalez, F., Ballester, A., Blazquez, M. L., y Munoz, J. A. (2006). Biosorption with algae: a statistical review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 26(4), 223-235.

[45] Gong R, Ding Y, Liu H, Chen Q, Liu Z. (2009). Lead biosorption and desorption by intact and pretreated *Spirulina maxima* biomass *Chemosphere*. *Water Research*, 43, 4207-4213.

[46] Fomina, M., & Gadd, G. M. (2014). Biosorption: current perspectives on concept, definition and application. *Bioresource Technology*, 160, 3-14.

[47] Liu, G., Chai, X., Shao, Y., Hu, L., Xie, Q., y Wu, H. (2011). Toxicity of copper, lead, and cadmium on the motility of two marine microalgae *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis chui*. *Journal of Environmental Sciences*, 23(2), 330-335.

[48] Monteiro C.M., Fonseca S.C., Castro P.M.L., Malcata F.X. (2001) Toxicity of cadmium and zinc on two microalgae, *Scenedesmus obliquus* and *Desmodesmus pleiomorphus*, from Northern Portugal. *J Appl Phycol.*, 23, 97-103.

[49] Kaduková E. (2005). Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption. *Environ Int.*, 31, 227-232.

[50] Avanzados, E., No, I. P. N., y Zacatenco, S. P. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de microbiología* 42, 131–143.

[51] Mohapatra H., y Rani G. (2005). Concurrent sorption of Zn (II), Cu (II) and

Co (II) by *Oscillatoria angustissima* as a function of pH in binary and ternary metal solutions. *Bioresource Technology*, 96(12), 1387-1398.

[52] Management, E. (2015). Equilibrium and kinetic studies on biosorption of Hg (II), Cd (II) and Pb (II) ions onto microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*, *Journal of Environmental Management*, 77(1), 85-92.

[53] Moreno, M. L. O., Castillo, C. E. C., & Sánchez-villarraga, J. (2012). Evaluación del crecimiento de la microalga *Chlorella sorokiniana* en diferentes medios de cultivo en condiciones autotróficas y mixotróficas. *Orinoquia* 16(1), 11-20.

[54] Polvo, D. E. L. (2003). Fichas Internacionales de Seguridad Química.

[55] Cas, N. (2004). Fichas Internacionales de Seguridad Química.

[56] Hidrógeno, C. D. E. (2005). Fichas Internacionales de Seguridad Química Fichas Internacionales de Seguridad Química.

[57] Kasan, H.C. y Stegmann, P. (1987) Intracellular bioaccumulation of zinc by an *Enterobacter* species, *Microbios*, 51 (207), 89-96.

[58] Technology, I., y Conference, E. (2010). Application of marine biomass for the removal of industrial wastewaters. *Human Resource Management Academy Research Society*, 65(1), 376-385.

[59] Raven, K. P., Jain, A., & Loeppert, R. H. (1998). Arsenite and Arsenate Adsorption on Ferrihydrite : Kinetics, Equilibrium , and Adsorption Envelopes, *Journal of Environmental Sciences* 32(3), 344-349.

[60] Schiewer, S. (1996). Multi-metal ion exchange in biosorption, Ph.D. Thesis, Department of Chemical Engineering, *McGill University Montreal*, 121, 13-27.

[61] Rangsayatorn, N., Pokethiyook, P., Upatham, E.S., y Lanza, G.R. (2004) Cadmium biosorption by cells of *Spirulina platensis* TISTR 8217 immobilized in alginate and silica gel. *Environment International*, 30, 57-63.

[62] Teresa, M. A., González, G., Cantú, V. A., Del, I., Sáenz, C., & Montes, A. L. (2008). Estudio cinético e isothermas de adsorción de Ni(II) y Zn (II) utilizando biomasa de alga *Chlorella* sp. inmovilizada. *Ciencia UANL*, 11(2), 168-176.

[63] Podder, M. S., & Majumder, C. B. (2016). Predictive approach for simultaneous biosorption and bioaccumulation of arsenic by *Corynebacterium glutamicum*. *Journal of Water Process Engineering*, 11, 8-31.

[63] Tang, P., Cai, J., & Su, Q. (2017). Equilibrium and kinetic modelling of cadmium (II) biosorption by Dried Biomass *Aphanothece* sp . from aqueous phase. *Ion Science*, 65, 1-13.

[64] Ho, Y., S. y Wang C., C. (2008). Structure determination od organic compounds, *Journal of Hazardous Materials*, 156(1), 398-404.

[65] Silverstein, R. M.; Webster, F.X. (1998) Spectrometric Identification of Organic Compounds, 6° Ed., J., New York.

[66] Sheng, P. X., Ting, Y.P., Chen, J.P., y Hong, L. (2004). Sorption of lead, copper, cadmium, zinc, and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms. *Journal of Colloid and interface Science*, 275(2), 131-141.

.
. .
. .