

## CARACTERIZACIÓN DE LA BIOMASA INACTIVA DE *Aspergillus niger* O-5 COMO SORBENTE DE Pb (II)

Yusleydi Enamorado Horrutiner y Margarita Villanueva Tagle

Facultad de Química, Universidad de la Habana, Zapata y G, El Vedado, CP 10400, La Habana, Cuba

Ianey Hernández Díaz y Orquídea Coto Pérez

Facultad de Biología, Universidad de la Habana., Calle 25 y J, El Vedado, CP 10400, La Habana, Cuba

Mario S. Pomares Alfonso\*

Instituto de Ciencias y Tecnología de Materiales, Universidad de la Habana, Zapata y G, El Vedado, CP 10400, La Habana, Cuba

Recebido em 9/8/10; aceite em 10/2/11; publicado na web em 15/4/11

CHARACTERIZATION OF INACTIVE BIOMASS OF *Aspergillus niger* O-5 AS A SORBENT FOR Pb (II). The inactive biomass of fungus *Aspergillus niger* O-5 obtained in Cuba was characterized as sorbent of Pb<sup>2+</sup> by several structural analysis and others techniques. In addition, the biomass was studied for the separation / preconcentration of Pb<sup>2+</sup> from aqueous solution. The maximum biosorption capacity was obtained for the contact time of 30 min and pH 5. The kinetic of sorption process occurred according to the model of Ho. The Freundlich or Langmuir models suitably described the experimental adsorption isotherms. The biomass can be used as sorbent for Pb<sup>2+</sup> with a maximum capacity of 4.7 - 6.2 mg g<sup>-1</sup>. The pretreatment with NaOH solution improved its sorption capacity.

Keywords: biosorption; *Aspergillus niger*; lead.

### INTRODUCCIÓN

Para el tratamiento de sistemas acuosos contaminados por metales pesados, existen diversos métodos químicos, tales como la electrodeposición, floculación, flotación, precipitación y tecnologías de membrana, entre otros. Estos procesos suelen ser costosos e inefectivos, especialmente cuando se aplican en sistemas acuosos con concentraciones de metales por debajo de 100 mg L<sup>-1</sup>.<sup>1</sup> En la actualidad se destaca el empleo de métodos basados en los procesos de bioremediación que incluyen la biosorción.<sup>2</sup> Entre los biosorbentes más novedosos empleados, se encuentran los derivados de la biomasa microbiana y otros productos naturales, como por ejemplo, hongos, algas, bacterias, levaduras, hojas, raíces y corteza de diferentes especies de plantas.<sup>3</sup> Estos materiales tienen la capacidad de concentrar metales a partir de disoluciones acuosas diluidas y de acumularlos dentro de la estructura microbiana. Los hongos, incluyendo las levaduras, han recibido especial atención porque la biomasa fúngica se origina como un subproducto de diferentes fermentaciones industriales.<sup>2</sup>

El proceso de biosorción de los metales pesados resulta complejo porque depende de diversos factores como son: la especie química del ión metálico en disolución, propiedades específicas de la superficie del microorganismo, la composición del medio de cultivo, la fisiología de la célula, la forma en que se trabaje la biomasa (viva o muerta, inmovilizada o libre), y de factores químico-físicos del medio como el pH, temperatura, concentración del metal y la presencia de otros iones metálicos, entre otros.<sup>4</sup> Por lo tanto se requiere un estudio y optimización de las condiciones del proceso de biosorción.

El uso de diferentes géneros del hongo *Aspergillus niger* en la sorción de metales pesados ha sido estudiado por diferentes autores.<sup>5</sup> Se conocen los trabajos iniciales de Kapoor y Viraraghavan<sup>5</sup> sobre la sorción de cadmio, cobre, níquel y plomo en la biomasa, viva y muerta, de *Aspergillus niger*. Por otra parte Akar y colaboradores<sup>12</sup> realizaron experimentos de sorción para el Pb (II) y Cu (II) con la

biomasa tratada de *Aspergillus flavus*.

Los estudios de optimización de condiciones para la biosorción de Pb (II) en la biomasa inactiva del hongo *Aspergillus niger* y la caracterización de este tipo de material se encuentran en la literatura de forma muy dispersa e incompleta. En particular, la caracterización se reduce generalmente a la aplicación de la espectroscopia infrarroja (IR).<sup>6</sup> El objetivo del presente trabajo fue caracterizar como sorbente la nueva cepa del hongo *Aspergillus niger* O-5 obtenida en Cuba,<sup>7</sup> mediante varias técnicas analíticas tales como espectroscopia IR, microscopía electrónica de barrido, análisis térmico diferencial y el método de muestras pesadas de Marhol<sup>13</sup> para determinar la constante de disociación. También se estudiaron y optimizaron las condiciones del proceso de sorción de Pb (II) en disoluciones simuladas en el laboratorio.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Obtención y pretratamiento de la biomasa

La biomasa del hongo *Aspergillus niger* var *Thieghem* var *niger* Pitt y Klich cepa O-5 (*Aspergillus niger* O-5), fue obtenida por primera vez en el Laboratorio de Biotecnología de los Metales de la Facultad de Biología, Universidad de la Habana por Abín y colaboradores.<sup>7</sup> Esta cepa fue aislada como contaminante de un medio selectivo para el crecimiento de bacterias heterótrofas acidófilas (pH 2,5). El microorganismo fue conservado en tubos con Agar Sabouraud glucosa en plano inclinado a temperatura de 4 °C. La cepa fue cultivada en un medio que contenía azúcar industrial, extracto de levadura, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O y MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O. El pH inicial del medio de cultivo se fijó a dos valores diferentes: 5 y 7. Así se obtuvo la biomasa A a pH 5 y la biomasa B a pH 7. La biomasa microbiana se separó del medio de cultivo mediante filtración con papel Whatman 40 y se secó durante 24 h en estufa entre 60 y 80 °C.

Las biomasas A y B fueron sometidas al siguiente tratamiento previo a los estudios de sorción. Una porción de 4 g se puso en contacto

\*e-mail: mpomares@imre.oc.uh.cu

por 1 h en agitación continua con una disolución acuosa de HCl a pH 5. Posteriormente se filtró y secó en estufa durante 5 h a 60-70 °C.

Por otra parte se obtuvo la biomasa C de la siguiente manera: una porción de 4 g de la biomasa A se mantuvo en ebullición durante 15 min en una disolución de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup>. Luego de filtrada, la biomasa se lavó con agua bidestilada y se secó en estufa a 60 °C por 24 h.<sup>10</sup>

### Equipamiento y disoluciones

La superficie de la biomasa C fue estudiada antes y después del proceso de sorción de Pb (II) con ayuda de un microscopio electrónico de barrido, SEM por sus siglas en inglés, (TESCAN TS 5130SB, Japón) acoplado con un analizador dispersivo de energía de Rayos X, EDAX por sus siglas en inglés (INCA 350, Japón). Las muestras fueron recubiertas con Au-Pd, al vacío, para aumentar la conducción electrónica.

Se obtuvieron los espectros IR en el espectrómetro IR-FTIR (Rayleigh 4000-400 cm<sup>-1</sup>, China) de la biomasa A antes y después del proceso de sorción.

El análisis por calorimetría diferencial de barrido (CDB) y termogravimetría (TG) se realizó con 1 g de la biomasa A en un módulo de CDB y termogravimetría A 4000 (Mettler, Alemania) desde 30 hasta 250 °C a intervalos de 10 °C.

Las disoluciones de referencia, tanto para la calibración como para los ensayos de sorción, se prepararon por dilución de un patrón de plomo de 1000 mg L<sup>-1</sup> (Spectrosol BDH, Inglaterra) con HNO<sub>3</sub> 65% PA (Panreac, España) al 1% v/v. Todos los reactivos utilizados fueron de pureza analítica y el agua obtenida en bidestilador (Aquatron A4D, Alemania). La concentración total de plomo en las disoluciones fue determinada en un espectrómetro de absorción atómica con llama (EAA) Pye Unicam 9100 (Philips, Netherlands).

### Procedimiento general para el estudio de sorción por el método estático

Para la selección de las condiciones óptimas de sorción se utilizó el siguiente procedimiento. La biomasa seca fue puesta en contacto con una disolución de Pb (II) de 5 mg L<sup>-1</sup>. A continuación, se filtró y determinó la concentración del metal en la disolución remanente. La capacidad de sorción (q) se calculó por la Ecuación 1

$$q = \frac{V(C_i - C_f)}{m} \quad (1)$$

donde, V es el volumen de la disolución de Pb (II); C<sub>i</sub> es la concentración inicial de Pb (II); C<sub>f</sub> es la concentración de Pb (II) determinada en la disolución remanente y m es la masa de biosorbente. Los experimentos se hicieron por triplicado. Los parámetros estudiados fueron: masa del biosorbente, volumen y pH de la disolución de Pb (II) y tiempo de contacto entre la biomasa y la disolución. Por otra parte se realizaron estudios de interferencia y se obtuvieron las isothermas de adsorción de las biombras preparadas.

### Ensayos estadísticos

En el estudio cinético y en las isothermas de adsorción se aplicó el ensayo bondad de ajuste con un 95% de confianza para evaluar la adecuación de los modelos teóricos a los datos experimentales en las isothermas de adsorción. La relación entre los iones Ca, Mg y K liberados y la concentración de Pb adsorbido se evaluó por la significación estadística del coeficiente de correlación. En el estudio

de interferencias se compararon los valores medios de tres réplicas mediante el ensayo de ANOVA para el 95% de confianza. Todos los ensayos se realizaron según procedimientos reportados.<sup>14</sup>

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto del pH

El pH del medio afecta la solubilidad de los iones metálicos y el estado de ionización de los grupos funcionales: carboxilato, fosfato y grupos amino que se encuentran en la pared celular fúngica.<sup>15</sup> Se estudió el efecto del pH sobre la capacidad de sorción del plomo, en el intervalo 3,0-7,0. Las disoluciones utilizadas para ajustar el pH fueron: NaOH a 0,1 mol L<sup>-1</sup> (Fluka, Alemania) y HNO<sub>3</sub> a 0,1 mol L<sup>-1</sup> (65% PA, Panreac, España).

Para pH ácidos, menores de 4, se favorece la protonación de los grupos funcionales de la pared celular del microorganismo, lo cual inhibe la sorción de plomo (Figura 1). Por el contrario, con el incremento del pH entre 4 y 6 aumenta la densidad de carga negativa de la superficie del material debido al efecto inverso de desprotonación de los sitios de interacción provocando el incremento de la biosorción del metal. El posterior incremento del pH a valores mayores de 6 produce un decrecimiento de la cantidad de metal adsorbido debido a la precipitación del hidróxido de Pb (II) poco soluble. Consecuentemente, el pH seleccionado fue 5. Kapoor y colaboradores<sup>8,9</sup> utilizaron este pH para la sorción de Cd, Cu, Pb y Ni en *Aspergillus niger*, mientras que Spanelova y colaboradores<sup>6</sup> reportaron pH 6 para la sorción de Cd y Pb.

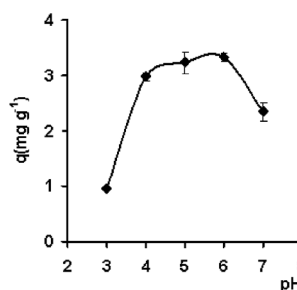


Figura 1. Influencia del pH del medio sobre la sorción de Pb (II) en la biomasa de *A. niger*

### Cinética de sorción

El estudio del tiempo requerido para alcanzar el equilibrio se realizó en el intervalo de 1 min hasta 72 h. Se aplicaron los modelos de Lagergren<sup>16</sup> y Ho<sup>17</sup> para describir la cinética de sorción.

La biosorción de plomo presenta dos etapas (Figura 2). En los 3 min iniciales se observó una cinética rápida que contribuye notablemente a alcanzar el equilibrio, la cual es típica de interacciones físico-químicas en la superficie de la biomasa que no implican un intercambio de energía,<sup>16,18</sup> por ejemplo, una posible atracción electrostática entre el adsorbente y el adsorbato.<sup>19</sup> A continuación el comportamiento cinético se mantiene prácticamente constante y la biosorción se torna más lenta, lo cual se explica por la reducción de los sitios activos disponibles<sup>19</sup> o por la lenta difusión intracelular del metal hacia la biomasa.<sup>20</sup> El tiempo de equilibrio seleccionado fue de 30 min que permitió remover la mayor cantidad del metal y alcanzar el equilibrio en el proceso de sorción.

La ecuación de pseudo primer orden desarrollada por Lagergren<sup>16</sup> y la ecuación de pseudo segundo orden, enunciada por Ho,<sup>17</sup> fueron aplicadas a los datos experimentales de capacidad de sorción y tiempo.

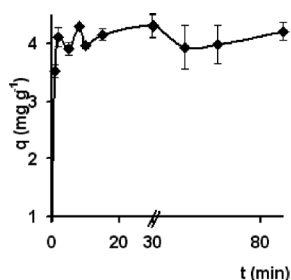


Figura 2. Influencia del tiempo de contacto en la biosorción de Pb (II) sobre la biomasa de *A. niger*

Como se observa en la Tabla 1, el modelo de pseudo segundo orden de Ho se ajusta a los datos experimentales para un 95% de confianza. Este modelo se describe por la Ecuación 2:

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2 \cdot q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (2)$$

donde t: es el tiempo de contacto, q: es la capacidad de adsorción experimental,  $k_2$ : es la constante de velocidad del proceso de segundo orden,  $q_e$ : es la capacidad de adsorción teórica.

Tabla 1. Parámetros de los modelos cinéticos

Modelo	q (mg g <sup>-1</sup> )	$k_2$ (g mg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	p
Lagergren	4,42	0,030	0,5534	0,00245
Ho	4,20	1,046	0,9976	0,6472

Este modelo asume que la velocidad de ocupación de los sitios de adsorción es proporcional al cuadrado del número de sitios no ocupados y se fundamenta en un mecanismo de intercambio iónico en el cual los iones en disolución desplazan a iones de elementos alcalinos y alcalino-térreos, enlazados en los sitios activos del sólido.<sup>17,19</sup> Por tanto, el resultado obtenido sugiere que uno de los mecanismos responsables del proceso de sorción del ion Pb<sup>2+</sup>, bajo las condiciones de los experimentos desarrollados en este trabajo, puede ser el intercambio iónico. Para corroborar esta afirmación se determinaron las concentraciones de H<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> y K<sup>+</sup> en la solución remanente después del proceso de sorción.

Se observó una correlación lineal significativa entre la concentración de los iones de Ca<sup>2+</sup> (R<sup>2</sup> = 0,95) y K<sup>+</sup> (R<sup>2</sup> = 0,86) liberados hacia la disolución y la concentración de Pb (II) retenido en el material. Además, la cantidad de Ca liberado por cantidad de Pb adsorbido es mayor (pendiente de la recta = 4,6) que la del K (pendiente de la recta = 0,62). Esto pudiera explicarse por la igualdad de cargas entre los iones Ca<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup>.<sup>21</sup> Durante el proceso de sorción de Pb (II) también se libera Mg<sup>2+</sup>, aunque no se observó correlación lineal (R<sup>2</sup> = 0,62). Por otra parte, también aumentó la concentración de H<sup>+</sup> en la disolución remanente con la disminución de la concentración del Pb. Si bien el intercambio observado no es estequiométrico, la liberación de calcio, magnesio, potasio e ión hidrógeno al medio durante el proceso de biosorción de Pb<sup>2+</sup>, confirmó el resultado obtenido al ajustar el Modelo de Ho. Es decir, el intercambio iónico juega un papel predominante en dicho proceso. Estos resultados sugieren que al menos uno de los mecanismos de enlace del metal y la biomasa es similar al enlace de metales pesados con resinas de intercambio débilmente ácidas, las que son comúnmente usadas en el tratamiento de aguas residuales<sup>15</sup> y se explica porque a pH 5 el Pb

(II) puede encontrarse formando especies con carga 1+ como el Pb (OH)<sup>+</sup> o con carga 2+ como el ión Pb<sup>2+</sup>.

### Estudio de la relación masa del sorbente/volumen de disolución del metal

La dependencia de la capacidad de sorción de Pb<sup>2+</sup> con la masa del material se estudió en el intervalo de 10 a 150 mg, con tiempo de 30 min y pH 5 optimizados previamente. El volumen de 10 mL y la concentración de 5 mg L<sup>-1</sup> del ion metálico en la disolución se mantuvieron constantes.

La capacidad de sorción disminuyó bruscamente con el aumento de la masa (Figura 3). Esto pudiera ser explicado por la formación de agregados cuando aumenta la masa para un volumen fijo de disolución, debido a la interacción de los grupos funcionales de las membranas celulares. En consecuencia, disminuye el área superficial activa para la sorción.<sup>4,18</sup> Resultados similares fueron obtenidos para la sorción de Pb (II) y Cu (II)<sup>6</sup> y la sorción de Cd (II).<sup>10</sup>

Por otra parte, la influencia del volumen de muestra es importante tanto con el objetivo final de remediación, como también para el empleo de este material con fines analíticos en la concentración de Pb (II) antes de su determinación cuantitativa. La dependencia de la capacidad de sorción de Pb<sup>2+</sup> con el volumen de muestra se estudió en el intervalo de 10 a 150 mL, manteniendo el resto de las condiciones fijas en los valores previamente optimizados.

En la Tabla 2 se muestran los resultados promedios de capacidad de sorción y porcentaje de sorción (S<sub>0</sub>). Este último calculado por la Ecuación 3

$$S_0 = \frac{C_i - C_f}{C_i} * 100 \quad (3)$$

donde C<sub>i</sub> y C<sub>f</sub> son las concentraciones de Pb (II) antes y después del proceso de sorción.

Tabla 2. Influencia del volumen de disolución en el proceso de sorción

Volumen (mL)	q ± S (mg g <sup>-1</sup> )	S <sub>0</sub> ± S (%)
10	4,4 ± 0,2	89 ± 4
30	3,7 ± 0,1	71 ± 3
40	3,2 ± 0,1	72 ± 3
50	3,3 ± 0,4	72 ± 4
100	2,5 ± 0,5	51 ± 4
150	2,9 ± 0,0	49 ± 2

S: desviación estándar absoluta

La mayor capacidad y porcentaje de sorción se obtuvieron para 10 mL de volumen de disolución. Cuando aumentó el volumen por encima de 10 mL ambos parámetros disminuyeron en dos etapas (Tabla 2). Una primera etapa hasta 50 mL y una segunda etapa para un volumen mayor a 50 mL. En general, con el aumento del volumen de disolución es posible que la difusión de los iones Pb<sup>2+</sup> hacia la superficie de la biomasa, cargada negativamente, requiera de un tiempo de contacto mayor. Nótese que este experimento se realizó para un tiempo de 30 min, previamente optimizado para un volumen de 10 mL. La explicación de las dos etapas señaladas en la disminución de q y S<sub>0</sub> en dependencia del volumen, requiere de alguna experimentación extra, fuera del contexto de este trabajo.

Considerando los resultados del experimento de variación de masa del sorbente (Figura 3) y volumen de la disolución del metal (Tabla 2), se concluye que la mejor relación masa/volumen es de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , la cual es ligeramente superior a las reportadas de  $0,70$  y  $0,75 \text{ g L}^{-1}$  por Barros<sup>10</sup> y Goyal,<sup>4</sup> respectivamente.

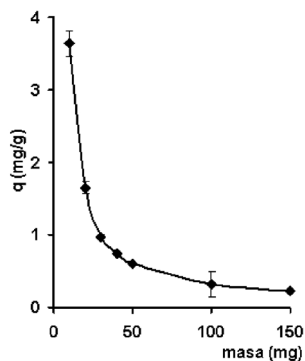


Figura 3. Influencia de la masa del sorbente sobre la capacidad de sorción

### Estudio de las isotermas de adsorción

Las isotermas representan el equilibrio de distribución de los iones metálicos entre la fase sólida (biomasa) y la fase líquida (disolución del metal), al incrementar la concentración del catión. Se obtuvieron las isotermas de adsorción de las tres biomazas preparadas (A, B y C) y fueron comparadas con la isoterma de Carbón Activado (C. activado), obtenida también bajo las mismas condiciones (Figura 4). En este experimento se varió la concentración del ión metálico entre  $1$  y  $10 \text{ mg L}^{-1}$  y se empleó el procedimiento general a  $\text{pH } 5$  y tiempo de contacto de  $30 \text{ min}$ . La capacidad de adsorción de los cuatro materiales estudiados en función de la concentración del metal en el equilibrio, aumentó según el material en el siguiente orden: biomasa  $C >$  biomasa  $B \sim$  Carbón activado  $>$  biomasa  $A$ .

Los resultados experimentales fueron ajustados a los modelos de Freundlich<sup>2</sup> y Langmuir<sup>16</sup> (Tabla 3). Como se puede apreciar el

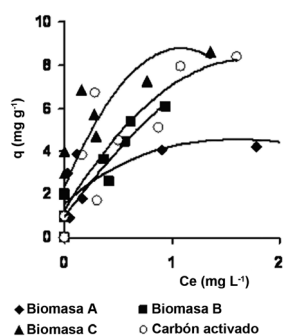


Figura 4. Isotermas experimentales de adsorción

Tabla 3. Parámetros de las isotermas según modelos de Freundlich y Langmuir

Biomasa	Modelo de Freundlich				Modelo de Langmuir			
	$K_F$	$n$	$R^2$	$p$	$K_L$	$Q_0$	$R^2$	$p$
A	2,01	2,09	0,98	0,085	0,63	2,66	0,555	0,003
B	8,35	0,91	0,99	0,100	*	3,57	0,97	0,000
C	7,96	2,01	0,62	0,062	1,87	11,85	0,73	0,059
C activado	6,21	2,57	0,91	0,097	5,31	8,15	0,96	0,133

\*La no adecuación del modelo impidió la obtención del coeficiente

modelo empírico de Freundlich ajustó adecuadamente para todas las isotermas, ya que el coeficiente de correlación resultó significativo ( $p > 0,05$ ) en todos los casos. Este resultado era esperado, porque el modelo se basa en la adsorción sobre una superficie heterogénea,<sup>22</sup> la cual es característica de la membrana celular de los microorganismos.<sup>2</sup> En cambio, el modelo de Langmuir, que se fundamenta en la adsorción sobre una superficie con sitios activos idénticos y energéticamente uniformes,<sup>22</sup> solo resultó adecuado para la biomasa C. Esto indica que el pretratamiento alcalino aplicado en este caso, contribuyó a la homogenización de la superficie de la pared celular del microorganismo. Además, se observó (Figura 4) que la biomasa C no alcanzó la saturación en el intervalo de concentraciones estudiado.

Por otra parte, la biomasa B presenta mayor capacidad de adsorción que la biomasa A. Como se indicó anteriormente, ambas biomazas fueron cultivadas a  $\text{pH}$  iniciales de  $7$  y  $5$ , respectivamente. Además, se determinó que el  $\text{pH}$  de la biomasa B, al final de su proceso de cultivo, fue  $5$  y el de la biomasa A fue menor ( $\text{pH } 2$ ). Aunque ambas biomazas son acondicionadas con posterioridad al  $\text{pH } 5$  óptimo determinado experimentalmente, este resultado indica que el proceso de acondicionamiento a  $\text{pH } 5$  fue más efectivo para la biomasa B, cuyo proceso de cultivo culmina con este mismo  $\text{pH}$ . Con esto se evidencia por primera vez la influencia del  $\text{pH}$  del medio de cultivo del hongo *Aspergillus niger* sobre la capacidad de sorción de iones  $\text{Pb}^{2+}$ .

Finalmente, el tratamiento alcalino condujo a la obtención de la denominada biomasa C con mayor capacidad de sorción entre las evaluadas. Se conoce<sup>8,11,12</sup> que este tratamiento puede incrementar la biosorción de metales pesados debido a que destruye enzimas autolíticas que causan putrefacción de la biomasa, remueve lípidos y proteínas que enmascaran sitios de enlace y puede liberar biopolímeros de la pared celular (quitina) para aumentar su afinidad hacia los iones de metales pesados.

### Estudio de interferencias

Se estudió el efecto del Fe y Mn a la concentración de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  cada uno, típica en aguas de río en Cuba,<sup>23</sup> sobre la biosorción de  $\text{Pb}^{2+}$ . Con este objetivo se prepararon 6 disoluciones. La concentración de Pb ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) fue menor que la de los interferentes en las 3 primeras; mientras que en las 3 restantes tanto el Pb, como los interferentes Fe y Mn, se encontraban a la misma concentración de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Los tres tipos de disoluciones para cada concentración del Pb corresponden a las siguientes combinaciones: Pb + Fe + Mn para el estudio del efecto combinado de Fe y Mn; y otras dos disoluciones con Pb + Fe y Pb + Mn, respectivamente, para el efecto individual de Fe y Mn por separado.

Cuando la concentración de  $\text{Pb}^{2+}$  fue  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  (Tabla 4) no cambió la capacidad de sorción en ausencia y presencia de Fe y Mn. En cambio, cuando aumentó a  $1 \text{ mg L}^{-1}$  y se igualó la concentración de Fe y Mn, si disminuyó la capacidad de adsorción del Pb (II), particularmente en presencia de Fe donde se obtuvo el menor valor ( $0,87 \pm 0,03 \text{ mg g}^{-1}$ ) de capacidad de sorción. Con el aumento

de la concentración de Pb (II) se incrementó la competencia por los sitios activos de intercambio en la superficie del biomaterial y entonces se favoreció el intercambio con el  $\text{Fe}^{3+}$  caracterizado por un radio iónico menor ( $r = 64$  pm) que el del  $\text{Pb}^{2+}$  ( $r = 84$  pm) y del  $\text{Mn}^{2+}$  ( $r = 80$  pm).

**Tabla 4.** Sorción\* de Pb (II) en ausencia y presencia de Fe (III) y Mn (II)

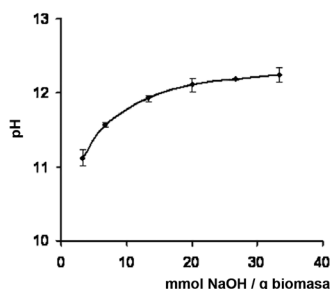
Concentración de Pb(mg/L)	Iones en solución			
	Pb	Pb+Mn	Pb+Fe	Pb+Fe+Mn
0,5	0,49 ± 0,02	0,48 ± 0,02	0,46 ± 0,02	0,45 ± 0,02
1,0	1,0 ± 0,01	0,96 ± 0,03	0,87 ± 0,03	0,91 ± 0,03

\*Capacidad de sorción media ± intervalo de confianza

## Caracterización de la biomasa

### Constante de disociación

La curva de valoración de la biomasa A (Figura 5), obtenida por el método de muestras pesadas de Marhol,<sup>13</sup> es característica de un cationito ácido débil con grupos funcionales OH. Este resultado concuerda con el alto contenido de grupos hidróxidos, que aportan numerosos polisacáridos (quitina y quitosana) presentes en este biomaterial ya reportados previamente.<sup>18</sup> La constante de disociación calculada, expresada como el pK, fue de 11,79. Esta constante, que no ha sido reportada con anterioridad para la biomasa inactiva del *Aspergillus niger*, confirma el comportamiento observado en el presente trabajo como un ácido débil en el estudio de pH y en el intercambio con iones alcalinos y alcalino térreos.



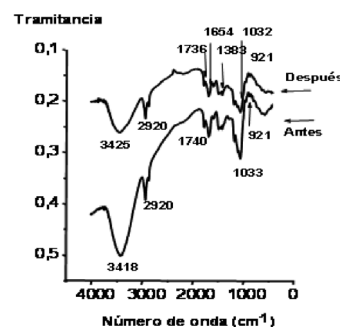
**Figura 5.** Curva de valoración de la biomasa inactiva del hongo *Aspergillus niger* O-5

### Estudio de microscopía electrónica de barrido (SEM) y análisis de Rayos X dispersivo en energía (EDAX)

El tratamiento alcalino modificó la superficie filamentosa de la biomasa, produciendo cambios en su morfología que pueden incidir en las propiedades como sorbente. Adicionalmente, también se observaron cambios en la superficie de la biomasa en presencia del Pb, es decir, después de efectuado el proceso de sorción del Pb desde la disolución de ensayo. En este caso, los filamentos se fusionan entre sí y pierden identidad. Tunali y colaboradores<sup>24</sup> observaron un comportamiento similar en la biomasa del hongo *Neurospora crassa* en la sorción de Cr (VI). Esto se pudiera explicar si suponemos que los grupos funcionales de la pared celular se comprometen en enlaces con el metal, propiciando la deformación física de la superficie de la biomasa. Mediante el análisis EDAX se verificó que las partículas brillantes observadas sobre la superficie de la biomasa están constituidas principalmente por Fe, el cual se adhiere a la pared celular de la biomasa procedente del medio de cultivo empleado.

### Espectros IR

El espectro IR (Figura 6) corroboró la presencia de varios grupos funcionales en la membrana celular del hongo, que se pudieran comportar como sitios de interacción con los cationes metálicos en disolución. Estos grupos son: hidróxido y amina ( $3418\text{-}3425$   $\text{cm}^{-1}$ ), carboxilo ( $1740\text{-}1746$   $\text{cm}^{-1}$ ), amida primaria ( $1650\text{-}1654$   $\text{cm}^{-1}$ ), amida secundaria ( $1550$   $\text{cm}^{-1}$ ), amida terciaria ( $1383$   $\text{cm}^{-1}$ ), carbonilo ( $1033$   $\text{cm}^{-1}$ ) y fosfato ( $921$   $\text{cm}^{-1}$ ). El espectro de la biomasa pura de nuestra cepa del hongo *Aspergillus* O-5 (Figura 6a) coincidió con el reportado por Kapoor y colaboradores.<sup>9</sup>



**Figura 6.** Espectros IR de la biomasa A, antes (abajo) y después (arriba) del proceso de sorción de Pb (II)

La banda de  $1550$   $\text{cm}^{-1}$ , relacionada con la vibración del grupo amida y la banda a  $1033$   $\text{cm}^{-1}$  de estrechamiento C-O del grupo carboxilato, indican la presencia de quitina.<sup>6</sup>

Al comparar los espectros en el intervalo de  $400\text{-}4000$   $\text{cm}^{-1}$  de la biomasa antes (espectro inferior) y después (espectro superior) del proceso de sorción en presencia de Pb (II) se aprecia que los desplazamientos de algunas bandas no sobrepasan los  $7$   $\text{cm}^{-1}$ , por lo que no se puede considerar como una evidencia de la formación de enlaces coordinados con el Pb (II). Este resultado no contradice el supuesto predominio del mecanismo de interacción por intercambio iónico observado en los ensayos previos.

### Análisis por calorimetría diferencial de barrido (CDB) y termogravimetría (TG)

En la literatura consultada no se reportan trabajos donde se apliquen las técnicas CDB y TG para la caracterización de la biomasa del hongo *Aspergillus niger* O-5.

En el análisis calorimétrico apareció una señal entre las temperaturas de  $140\text{-}150$   $^{\circ}\text{C}$  que representa un proceso endotérmico. Por otra parte, a medida que aumentó la temperatura en el intervalo de  $30$  hasta  $200$   $^{\circ}\text{C}$  se observó una paulatina pérdida de masa de  $10,48$  mg. Sin embargo, no hay pérdida de masa directamente asociada al intervalo específico de temperatura en que aparece la señal endotérmica. Entonces, la señal endotérmica pudiera corresponder con una transformación estructural en fase sólida de la biomasa con consumo de energía. Estos resultados sugieren profundizar en el estudio del efecto de la temperatura sobre la estructura de la biomasa y sus propiedades de sorción. En este trabajo, la temperatura siempre se mantuvo por debajo de  $140$   $^{\circ}\text{C}$  durante la obtención y estudio de la biomasa.

## CONCLUSIONES

La biomasa inactiva de *A. niger* O-5 puede ser utilizada como sorbente de Pb (II) en procesos de remoción, a partir de una disolución diluida del metal. La capacidad máxima obtenida a pH 5, fue de  $4,7$  a  $6,2$   $\text{mg g}^{-1}$  en dependencia del pH del medio de cultivo. El tratamiento alcalino con disolución de NaOH a  $5$   $\text{mol L}^{-1}$  mejoró la capacidad de

sorción, no llegando a saturarse la misma cuando la concentración inicial de Pb (II) fue de 10 mg L<sup>-1</sup>. El proceso de sorción de Pb puede ser interferido por la presencia de Fe y Mn. Las evidencias obtenidas en este trabajo mediante una mejor caracterización de la biomasa y del propio proceso de sorción, confirman la complejidad de este proceso en el cual pueden competir diversos mecanismos.

La caracterización más completa del biomaterial apoya el estudio fenomenológico y evidencia un posible mecanismo de intercambio iónico para el proceso de sorción de Pb<sup>2+</sup>

## MATERIAL SUPLEMENTARIO

Diponible gratuitamente en la pagina web <http://quiicanova.sbq.org.br>, en la forma de un archivo .PDF.

Se muestra gráficamente (Figura 1S) la variación de la concentración de iones Ca, Mg y K, liberados desde la biomasa, en función del contenido de Pb en la disolución remanente. Los cambios morfológicos debido al tratamiento alcalino se observan al comparar la superficie de la biomasa antes (Figura 2Sa) y después (Figura 2Sb) de aplicado el tratamiento. En la Figura 2Sc se muestran los cambios debidos a la presencia del Pb, después del proceso de sorción. Los puntos brillantes que aparecen en la superficie de la biomasa, después del proceso de sorción (Figura 2Sc), están constituidos principalmente por Fe, según demuestra el análisis EDAX (Figura 2Sd). Los resultados de los análisis calorimétricos y termogravimétricos se muestran en la Figura 3S.

## REFERENCIAS

1. Zhou, J. L.; Kiff, R. J.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1991**, 52, 317.
2. Cañizares, R. O. V.; *Revista Latinoamericana de Microbiología* **2000**, 42, 131.
3. Melchor, K.; *Tesis de Máster*; Instituto Superior de Tecnología y Ciencias Aplicadas, Cuba, 2004.
4. Goyal, N.; Jain, S. C.; Banerjee U. C.; *Adv. Environ. Res.* **2003**, 7, 311.
5. Kapoor, A.; Viraraghavan, T.; Cullimore, D. R.; *Bioresour. Technol.* **1999**, 70, 95.
6. Spanelova, M.; Machovic, V.; *Centra European Journal of Chemistry* **2003**, 3, 192.
7. Abím, L.; Coto, O.; Gómez, Y.; Rosecker, K.; *Rev. Biología* **2002**, 16, 68.
8. Kapoor, A.; Viraraghavan, T.; *Bioresour. Technol.* **1998**, 63, 109.
9. Kapoor, A.; Viraraghavan, T.; *Bioresour. Technol.* **1997**, 61, 221.
10. Barros, J. L. M.; Macedo, G. R.; Duarte, M. M. L.; Silva, E. P.; Lobato, A. K. C. L.; *Brazilian Journal of Chemical Engineering* **2003**, 3, 20.
11. Dursun, A. Y.; *Biochemical Engineering Journal* **2006**, 28, 187.
12. Akar, T.; Tunail, S.; *Bioresour. Technol.* **2006**, 97, 1780.
13. Marhol, M.; *Ion exchanger in Analytical Chemistry*, Academia: Prague, 1982.
14. Draper, N. R.; Smith, H.; *Applied regression analysis*, John Wiley: New York, 1981.
15. Arica, M. Y.; Ergene, A.; Bayramoglu, G.; Genc, O.; *Carbohydr. Polym.* **2003**, 52, 167.
16. Cruz, C. C. V.; da Costa, A. C. A.; Henriques, C. A.; Luna, A. S.; *Bioresour. Technol.* **2004**, 91, 249.
17. Ho, Y-S.; *J. Hazard. Mater.* **2006**, 136, 681.
18. Garza, M. T.; *Tesis de Doctor*, Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 2005.
19. Prabhu, D.; Viraraghavan, T.; Jin, Y-Ch.; *Colloids Surf., A* **2007**, 301, 214.
20. Kahraman, S.; Asma, D.; Erdemoglu, S.; Yesilada, O.; *Eng. Life Sci.* **2005**, 5, 72.
21. Braithwaite, A.; Smith, F. J.; *Chromatographic Methods*, 4<sup>th</sup> ed.; Chapman & Hall: New York, 1985.
22. Adamson, A. W.; *Physical Chemistry of Surfaces*, Interscience Publishers: New York, 1960.
23. Mora, I.; *Tesis de Máster*, Universidad de la Habana, Cuba, 2004.
24. Tunali, S.; *Miner. Eng.* **2005**, 18, 681.