

Factores de mayor influencia en la adsorción de metales pesados por biomasa seca de *Kluyveromyces Marxianus* CCEBI 2011

The most influential factors on the adsorption of heavy metals by dry biomass the Kluyveromyces Marxianus CCEBI 2011

^ILic. Magda Fernández-Villalón magda@santiago.geocuba.cu,
^{II}MSc. Orlindes Calzado-Lamela, ^{III}MSc. Dannis Adrian Cascaret-Carmenaty,
^{IV}Dra. C. Rosa María Pérez-Silva

^IEmpresa GEOCUBA Oriente Sur, Santiago de Cuba; ^{II}Facultad de Ingeniería Química y Agronomía (FIQA), Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba; ^{III}Facultad de Ciencias Naturales y Exactas (FCNE), Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba; ^{IV}Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI), Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

Resumen

En este trabajo se determinaron los factores de mayor influencia sobre la capacidad de adsorción que tiene la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 sobre la eficiencia de remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) presentes en las aguas de la Laguna Azul del Cobre de Santiago de Cuba. Para los experimentos de adsorción se utilizaron 0,25 g.L⁻¹ de biomasa, 3 niveles de pH (4,4; 5,0 y 6,2), así como 3 niveles de concentraciones de los metales cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) y cinco tiempos de contacto (15, 30, 45, 60 y 90 min). Las concentraciones de los metales fueron determinadas por Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica mediante Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES) en el Laboratorio “Elio Trincado” de la Empresa Geominera Oriente. De los 3 niveles de pH estudiados, el de mejor comportamiento fue de 6,2. Los ensayos a las concentraciones estudiadas mostraron diferencias significativas en los porcentajes de remoción, evidenciándose un mejor comportamiento a concentraciones inferiores, obteniéndose para cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) porcentajes de remoción de 74,0 %; 98,8 % y 55 % en concentraciones de 25, 2 y 10 mg.L⁻¹, respectivamente. La biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 fue capaz de remover en un 51,8, 22,7 y 13,6 % el cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) respectivamente, presentes en aguas de la Laguna Azul del Cobre, valores de remoción inferiores a los logrados con soluciones sintéticas. Los resultados evidencian la influencia del pH en el proceso de adsorción.

Palabras clave: bioadsorción, *kluyveromyces marxianus*, metales pesados, laguna azul del cobre.

Abstract

In this work, the most influential factors on the adsorption capacity of the dry biomass of *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 were determined on the removal efficiency of copper (II), zinc (II), and manganese (II) present in the waters of Laguna Azul del Cobre in Santiago de Cuba. Adsorption experiments used 0,25 g.L⁻¹ of biomass, 3 pH levels (4,4, 5,0 and 6,2), as well as 3 levels of copper (II), zinc metal concentrations (II) and manganese (II) and five

contact times (15, 30, 45, 60 and 90 min). The concentrations of the metals were determined by ICP in the "Elio Trincado" Laboratory of the Geominera Oriente Company. Of the 3 pH levels studied, the one with the best performance was of 6, 2. The tests at the studied concentrations showed significant differences in the percentages of removal, showed a better behavior at lower concentrations, obtaining for copper (II), zinc (II), and manganese (II) removal rates of 74,0 %; 98,8 % and 55 % in concentrations of 25, 2 and 10 mg.L⁻¹, respectively. The dry biomass of *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 was able to remove by 52, 23 and 14 % copper (II), zinc (II) and manganese (II) respectively, present in waters of the Laguna Azul del Cobre, removal values lower than those achieved with synthetic solutions. The results show the influence of pH in the adsorption process.

Keywords: bioadsorption, *Kluyveromyces marxianus*, heavy metals, laguna azul del cobre.

Introducción

Uno de los problemas más señalados por la sociedad a nivel mundial y que ocupa un lugar prominente en los programas sociales y políticos, es la degradación progresiva de los recursos naturales causada por la gran diversidad de contaminantes tóxicos orgánicos e inorgánicos tanto en la atmósfera, agua, suelo y subsuelo, procedentes de diversas actividades naturales y antropogénicas, generando un irremediable deterioro en el ambiente /1/.

Entre los contaminantes inorgánicos más nocivos para los seres vivos están los metales pesados derivados principalmente de actividades mineras que dan lugar a la pérdida irreversible de los recursos naturales por no ser biodegradables /1/. El aumento de la contaminación de las aguas residuales urbanas e industriales por iones de metales pesados, tales como Cu, Cd, Cr, Mn, Zn, Hg, Pb, etcétera, es un problema medioambiental de importancia creciente, porque aun en muy baja concentración son altamente tóxicos /2/.

Los métodos convencionales para el tratamiento de estas aguas residuales con metales pesados resultan costosos e ineficientes, especialmente cuando la concentración es muy baja /3/. Por esto, la búsqueda y desarrollo de nuevas tecnologías, en base a la materia prima nacional, es una tarea pendiente para los investigadores de países en vías de desarrollo.

Varios estudios han demostrado que la biomasa de residuos lignocelulósicos de diferentes especies microbianas, son capaces de concentrar en sus estructuras, iones metálicos que se encuentran en ambientes acuáticos a bajas concentraciones /2/, mediante el proceso de bioadsorción, tecnología

emergente, que puede ser usada en los procesos “limpios” de remediación ambiental, para recuperación de metales y descontaminación de aguas residuales contaminadas con iones de metales pesados. El uso de biomasa no vivas evita problemas de contaminación y no son costosos ya que el biomaterial puede ser regenerado /4/.

En la provincia Santiago de Cuba por más de cuatro siglos, la actividad minera en la modalidad de minería a cielo abierto en el poblado del Cobre, ha provocado afectación considerable al medio ambiente de la localidad, por la contaminación de las suelos y aguas con metales pesados y otros compuestos tóxicos, siendo necesario la búsqueda de tratamiento para minimizar los impactos según la política medioambiental del país. Es por esto que el presente trabajo tiene como objetivo determinar los factores de mayor influencia sobre la capacidad de adsorción de la biomasa de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 en la eficiencia de remoción de cobre (II), manganeso (II) y zinc (II) de las aguas de la Laguna Azul del Cobre de Santiago de Cuba.

Materiales y métodos

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

Cultivo microbiano

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

Recuperación y secado de la biomasa: Los cultivos se centrifugaron a 4500 rpm durante 10 min en centrífuga de laboratorio Neofuge 15, 2009-China. El precipitado se lavó tres veces con agua destilada para eliminar iones u otros residuos propios del medio, el cual una vez limpio se depositó en cápsula de porcelana para conocer la masa húmeda con ayuda de la balanza técnica IP 30,

1983 RDA. Posteriormente se procedió al secado en estufa AISET-YLD-6000-China a 105 °C durante un tiempo aproximado de 12 h, hasta peso constante, transcurrido el mismo se determinó el peso seco según la literatura /5/. La biomasa seca se pulverizó, se pesó y conservó en frascos secos herméticamente cerrados.

Preparación de las soluciones de cobre, zinc y manganeso: Se pesaron las masas correspondientes para obtener soluciones madres de concentración 1,0 g.L⁻¹ para cada una de las sales a partir de CuSO₄·5H₂O (grado reactivo MERC), ZnSO₄·H₂O (grado reactivo MERCK), MnSO₄·4H₂O (grado reactivo MERCK), para realizar las disoluciones necesarias para los ensayos propuestos en este trabajo. A todas las disoluciones mediante el pH-metro PACITONIC-Alemania con electrodo de vidrio combinado se les ajustó el pH utilizando NaOH 0,01N o HCL 0,01N, según fuera necesario, acorde a los experimentos a realizar. Los pH de trabajo oscilaron entre 4,4 y 6,2 unidades. Todas las disoluciones se prepararon con agua destilada.

Cuantificación de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II): Las concentraciones de los metales se determinaron por Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica mediante Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES) en un espectrómetro AMETEK, ALEMANIA. Para ello, transcurrido el tiempo de contacto, las muestras se centrifugaron a 4500 rpm en centrifuga (Neofuge 5 Heal Force, CHINA) durante 10 min; la solución sobrenadante se filtró por medio de jeringuillas con filtros Milipore acoplado (White GSWP, 0,22 ± 0,2 µm) de 20 mm de diámetro, establecido en la literatura /6/, para eliminar los sólidos que pueden interferir en el análisis, los filtrados obtenidos se conservaron a 4 °C hasta su posterior lectura.

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

Protocolos experimentales

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

Selección del pH óptimo para la bioadsorción del cobre (II), zinc (II) y manganeso (II): Para los experimentos de adsorción con la cepa estudiada se seleccionó 0,25 g.L⁻¹ de biomasa, valor inferior que el reportado por la literatura /7/, para experimentar el comportamiento de la biomasa a estos niveles. La concentración seleccionada para el cobre (II) fue de 45,0 mg.L⁻¹, para el zinc (II) 4,0 mg.L⁻¹ y para el manganeso (II) 22,0 mg.L⁻¹, escogidos de acuerdo a los niveles de concentración en que se encuentra en las aguas de la Laguna Azul del Cobre (valores similares a la media), bajo agitación en zaranda a 150 rpm durante 90 min. El estudio se realizó a tres niveles de pH (4,4; 5,2 y 6,2). Una vez alcanzado el tiempo de contacto establecido de la solución con el bioadsorbente, se procede a la determinación de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica mediante Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES).

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

Evaluación de la influencia de concentración inicial del metal, para la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en las muestras analizadas: La evaluación de la influencia de la concentración de los metales en el proceso de adsorción por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, se realiza teniendo en cuenta los parámetros óptimos alcanzados en los experimentos anteriores y en las mismas condiciones de experimentación. Los niveles de concentración estudiados fueron 25,0; 45,0 y 60,0 mg.L⁻¹ para el cobre (II), 2,0; 4,0 y 15,0 mg.L⁻¹ para el zinc (II) y 10,0; 22,0 y 40,0 mg.L⁻¹ para el manganeso (II), seleccionados de acuerdo a los niveles de concentración en que se encuentran en las aguas de la Laguna

Azul del Cobre, valores que están similares, por debajo y por encima de la media. La concentración de los metales se determinó por ICP-AES.

Remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por el bioadsorbente estudiado en la matriz real: En este estudio la matriz real fueron las aguas de la Laguna Azul del Cobre en Santiago de Cuba, los niveles de concentración de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) evaluados fueron de 43,36; 3,80 y 26,70 mg·L⁻¹ respectivamente y el pH de 4,4. El tiempo de contacto, la dosis del adsorbente y condiciones de agitación fueron las mismas establecidas que en los experimentos en condiciones de las soluciones sintéticas. La concentración de los metales se determinó por Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica mediante Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES).

Resultados y discusión

Cultivos microbianos y obtención de biomasa seca

El uso de biomasa muerta para adsorción de metales tiene ventajas sobre las células vivas debido a que no es necesaria la adición de nutrientes. La biomasa muerta es inmune a la toxicidad o a condiciones de operaciones adversas, la recuperación de los metales es más fácil por medio de tratamientos que permiten la regeneración de la biomasa y la propia biomasa puede obtenerse de manera más económica, como un producto industrial de desecho /8/.

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

La cepa de microorganismo se escogió de acuerdo a los antecedentes que presenta esta especie sobre la remoción de metales pesados /7/ y otros criterios tenidos en cuenta para la selección de la misma se refieren a que, es una cepa aislada de residuales líquidos de la industria cafetalera, utilizada en la producción de etanol y enzimas pectinasas. Se destaca por ser una cepa floculante,

termotolerante, con elevada velocidad de crecimiento y una amplia diversidad metabólica, lo que le permite crecer en sustratos muy variados /9,10/.

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

Kluyveromyces marxianus CCEBI 2011 manifestó gran turbidez en el medio de cultivo demostrando el crecimiento celular. La masa del cultivo a través del peso seco fue $\pm 3,12$ g de biomasa por litro de medio de cultivo utilizado, se realizaron tres réplicas obteniéndose aproximadamente 9,3 g de biomasa. Los resultados concuerdan con lo planteado por diferentes autores, que se caracteriza por un rápido crecimiento y producción de biomasa aún a condiciones que no sean las idóneas para su crecimiento /9,10/. La cantidad de biomasa obtenida sugiere que las condiciones en que fue llevado el experimento fueron las adecuadas.

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

Factores de mayor influencia sobre la capacidad de bioadsorción de la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 en la eficiencia de remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en soluciones acuosas

Selección del pH óptimo para la adsorción del cobre (II), zinc (II) y manganeso (II)

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

La figura 1 muestra la variación del % de remoción para el cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en función del pH, el cual tiene un efecto notable en este proceso, es una de las variables más importantes, ya que la especiación del metal en la solución puede cambiar dependiendo de este valor /11/.

Se observa un aumento del porcentaje de remoción con relación al incremento del pH (4,4 -5,0- 6,2). A pH bajos los protones (H^+) se encuentran en una concentración elevada, donde existe una competencia con los iones metálicos por ocupar los sitios de unión en el biosorbente, esta competencia generalmente conlleva a una reducción de la inmovilización de los metales presentes en disolución.

Para el ión cobre (II) la mayor remoción fue de 46,2 %, para el zinc (II) de 65,0 % y para el manganeso (II) de 42,3 %, a pH de 6,2 unidades. Los resultados coinciden con lo reportado en la literatura /12/, que obtuvo la máxima capacidad de adsorción usando como bioadsorbente quitosano para la adsorción del ión cobre y zinc a pH 6 unidades. Cuando el pH es muy ácido, la protonación de la pared celular inhibe fuertemente la adsorción de metales /13/, los iones hidronios (H_3O^+) aumentan y la superficie de la célula tiende a estar más cargada positivamente, reduciendo la atracción entre la biomasa y los iones metálicos, existiendo competencia entre los iones hidronios y el metal. En contraste, a pH más altos se facilita la inmovilización de los metales, ya que la superficie de la pared celular se encuentra cargada negativamente /14/.

Los investigadores /15/, lograron la remoción de cobre (II) por *Pseudomonas aureginosa* a un pH óptimo de 6,5 unidades, mientras que para zinc (II) y manganeso (II) fue de 7,0. Del mismo modo otros autores /7/, reportaron que pH 6,2 fue el más adecuado para realizar el proceso de bioadsorción de Pb (II) por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, de igual modo en la literatura /16/ reportaron el mayor valor de adsorción de níquel por *Phyllanthus orbicularis* a pH 6,5; notándose un incremento de la capacidad de adsorción con el incremento del pH de la solución.

Es conocido que a bajos valores de pH la mayoría de estos grupos no se encuentran disociados, pierden la capacidad de unirse a los iones metálicos presentes en la solución /17/; sin embargo pueden participar en reacciones de formación de complejos. Al incrementarse el pH, las cargas negativas en la

biomasa aumentan y el estado iónico de algunos ligandos como los carboxilos, favorecen el establecimiento de enlaces con los iones metálicos /16/.

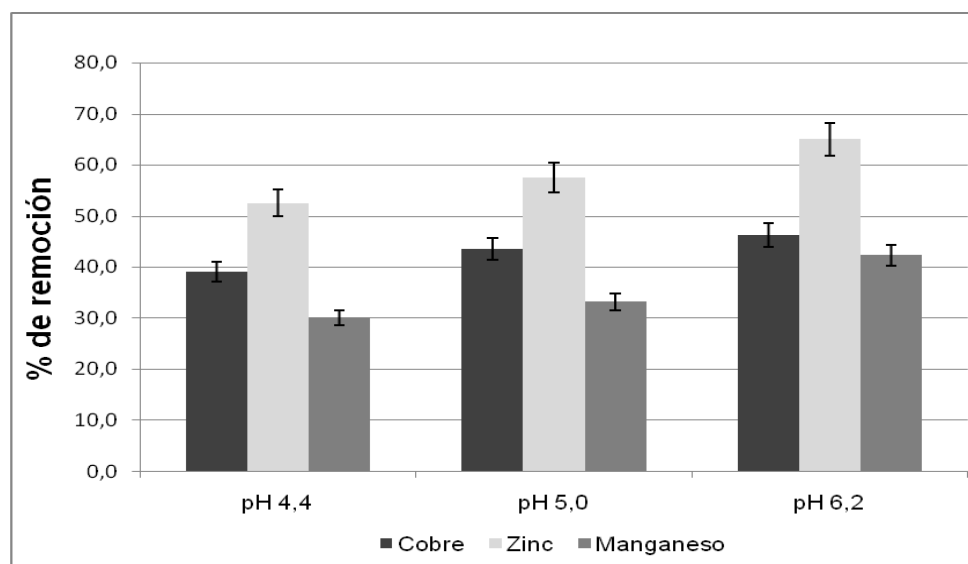


Fig. 1 Influencia del pH en la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011*.

*Condiciones experimentales: $C_0(\text{Cu})=45 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $C_0(\text{Zn})=4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $C_0(\text{Mn})=22 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $2,91 \text{ s}^{-1}$; $C(\text{biomasa})= 0,25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y tiempo de contacto de 60 min.

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

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

La tabla 1 muestra la cantidad adsorbida de cada uno de los metales por la biomasa en el tiempo y los porcentajes de remoción que representan. Se observa en todos los casos aumento de la adsorción con el transcurso del tiempo hasta los 60 min, tiempo a partir del cual no se aprecia aumento considerable del proceso.

Los resultados infieren que la bioadsorción del cobre, manganeso y zinc es dependiente del tiempo, lo cual sugiere que la retención del ión, puede ser por la interacción con grupos funcionales localizados en la superficie de la biomasa utilizada. A partir de los 60min de contacto del bioadsorbente con las soluciones estudiadas, se adsorbe el 46,2 % del cobre (II), el 65,0 % del zinc (II) y el 42,3 % del manganeso (II) existente en el medio, alcanzando rápidamente el equilibrio.

De acuerdo a los resultados, el metal mejor adsorbido fue el zinc (II), seguido por el cobre (II) y luego el manganeso (II), aunque se debe destacar que el zinc (II) fue el de menor concentración de partida ($4,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y cobre (II) el mayor concentración ($45,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Tabla 1
Influencia del tiempo de contacto del biosorbente con las disoluciones de los diferentes metales*

Tiempo (min)	Cobre (II)		Zinc (II)		Manganeso (II)	
	Cantidad de metal absorbido ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	R (%)	Cantidad de metal absorbido ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	R (%)	Cantidad de metal absorbido ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	R (%)
15	8,60	19,1	1,30	32,5	1,80	14,09
30	13,10	29,1	2,10	52,5	3,70	30,00
45	18,50	41,1	2,40	60,0	5,00	40,45
60	20,80	46,2	2,60	65,0	5,50	42,30
90	20,80	46,2	2,60	65,0	5,50	42,30

* Condiciones experimentales: cobre (II) ($25,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), zinc (II) ($2,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y manganeso (II) ($10,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), en los porcentajes de remoción (R) de estos metales.

Los resultados obtenidos en esta investigación, sobre el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio, concuerdan con lo informado por la mayoría de los autores de los trabajos revisados, donde se ensaya la adsorción de cromo, plomo, cobre, zinc y otros metales pesados utilizando otros biosorbentes /7/, igual reportaron un tiempo óptimo de 60 min para la remoción de plomo por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011. Los mejores porcentajes de remoción de cobre (II) para una cepa de *Bacillus sp.* fueron obtenidos entre los 60 y 90 min de exposición, en un estudio realizado para caracterizar la remoción de metales por esta cepa inmovilizada, según lo referido en la literatura /18/.

Evaluación de la influencia de concentración inicial del metal en el proceso de remoción

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

La figura 2 muestra el comportamiento del porcentaje de remoción para las diferentes concentraciones estudiadas. Para los tres casos los mayores valores de remoción del ión metálico, se obtienen a la menor concentración ensayada, parámetro que ejerce influencia en la capacidad de adsorción, existiendo diferencias estadísticamente significativas. Resultados que concuerdan con lo planteado por la literatura /7/, en que todas las concentraciones ensayadas de plomo, la mejor eficiencia de remoción fue lograda a la menor concentración del metal (2,0 mg·L⁻¹) y otros investigadores /19/ obtuvieron que a medida que aumenta la concentración inicial de cobre (II) el porcentaje de adsorción disminuye.

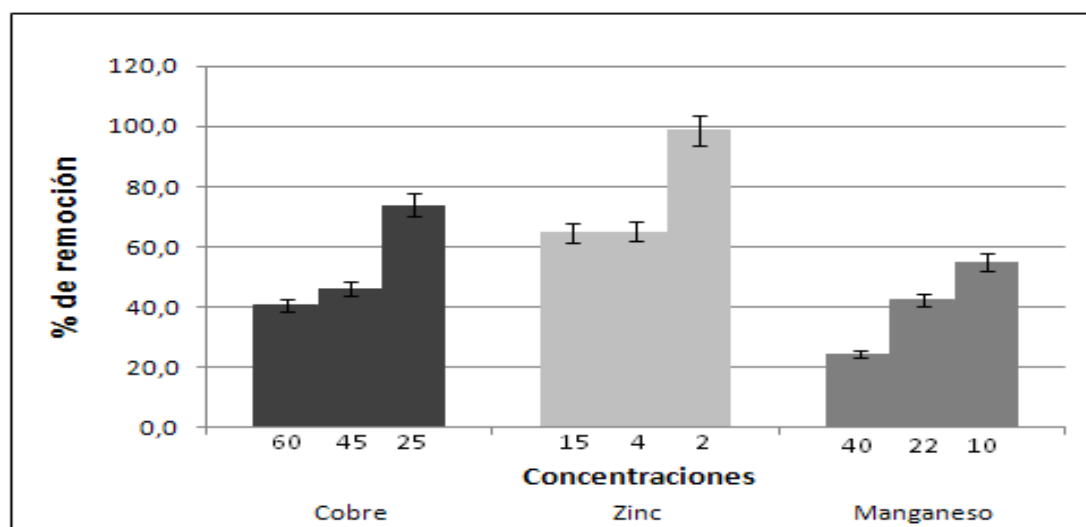


Fig. 2 Influencia de la concentración inicial de los metales cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en la remoción por biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011.

*Condiciones experimentales: 2,91 s⁻¹; C (biomasa)= 0,25 g·L⁻¹ y tiempo de contacto de 60 min.

Tabla 2
Parámetros obtenidos de la adsorción por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) a 3 niveles de concentración

Cobre (II)			Zinc (II)			Manganeso (II)		
C ₀ (mg·L ⁻¹)	C _e (mg·L ⁻¹)	R (%)	C ₀ (mg·L ⁻¹)	C _e (mg·L ⁻¹)	R (%)	C ₀ (mg·L ⁻¹)	C _e (mg·L ⁻¹)	R (%)
60,0	35,8	40,3	15,0	5,3	64,7	40,0	30,20	24,5
45,0	21,2	52,8	4,0	1,4	65,0	22,0	12,70	42,3
25,0	6,5	74,0	2,0	0,025	98,8	10,0	4,5	55,0

Para los tres casos (tabla 2) a valores bajos de concentración del metal (25,0; 2,0 y 10,0 mg·L⁻¹ de cobre, zinc y manganeso, respectivamente) la biomasa

estudiada mostró los mayores valores de porcentaje de remoción (superiores al 90%) para el zinc (II), para cobre (II) (superiores al 70 %) y superiores al 50 % para el manganeso (II); sin embargo, para altos valores de concentración (60,0 mg·L⁻¹ para el cobre y 40,0 mg·L⁻¹ para el manganeso) se obtienen valores de remoción inferiores al 50 %, no siendo así para el zinc, que para (15,0 mg·L⁻¹) se obtuvieron valores por encima del 60 %.

La remoción de cobre (II) y manganeso (II) fue estadísticamente significativa a los tres niveles de concentraciones ensayadas para un 95 % de confianza. En cambio para zinc (II) a concentraciones de 2 mg·L⁻¹ existe diferencias estadísticamente significativas con los niveles de concentración de 4 y 15 mg·L⁻¹ para un 95% de confianza, el valor-P (0,042) rechazando la hipótesis nula para alfa = 0,05. En todos los casos al determinar los valores óptimos de los factores de mayor influencia en la adsorción de los metales pesados por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 el manganeso resultó ser el menos adsorbido, con menor porcentaje de remoción.

En todos los casos al determinar los valores óptimos de los factores de mayor influencia en la adsorción de los metales pesados por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 el manganeso resultó ser el menos adsorbido, con menor porcentaje de remoción, coincidiendo con los resultados obtenidos por otros investigadores/15/. Esto podría estar condicionado a que los compuestos del manganeso (II) son más solubles que los de cobre (II) y zinc (II), siendo posible que parte del manganeso atraído por los grupos funcionales del ligando pueda ser desorbido a la disolución.

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

La evaluación de la remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por la biomasa obtenida a partir de la cepa *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 en muestras de las aguas de la Laguna Azul del Cobre, se obtuvo valores de porcentajes de 51,8 % para el cobre; 22,7 % para el zinc y 13,6 % para el manganeso. (tabla 3 y figura 3), valores de remoción inferior a los logrados con las soluciones sintéticas. Resultados que pueden estar condicionado a la composición metálica de las aguas de la Laguna Azul del Cobre, en la que se encuentran presentes además de iones de cobre, zinc y manganeso, iones de

otros metales como el Al, Na, K, y otros, que compiten con los iones de los metales en estudio por ocupar los sitios activos de la pared celular de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011, dando como resultado una capacidad más baja de adsorción. El de mayor porcentaje de remoción fue el cobre, seguido del zinc y este del manganeso. El grado de afinidad de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 con los iones metálicos, cuando se trabaja con estos tres metales presentes en la misma solución, sigue la secuencia: cobre (II) > zinc (II) > manganeso (II).

Tabla 3
Parámetros obtenidos de la adsorción por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) en la matriz real

Cobre (II)			Zinc (II)			Manganeso (II)		
C ₀ (mg.L ⁻¹)	Ce (mg.L ⁻¹)	R (%)	C ₀ mg.L ⁻¹)	Ce (mg.L ⁻¹)	R (%)	C ₀ (mg.L ⁻¹)	Ce (mg.L ⁻¹)	R (%)
43,36	20,87	51,9	3,80	2,93	22,70	26,70	23,05	13,6

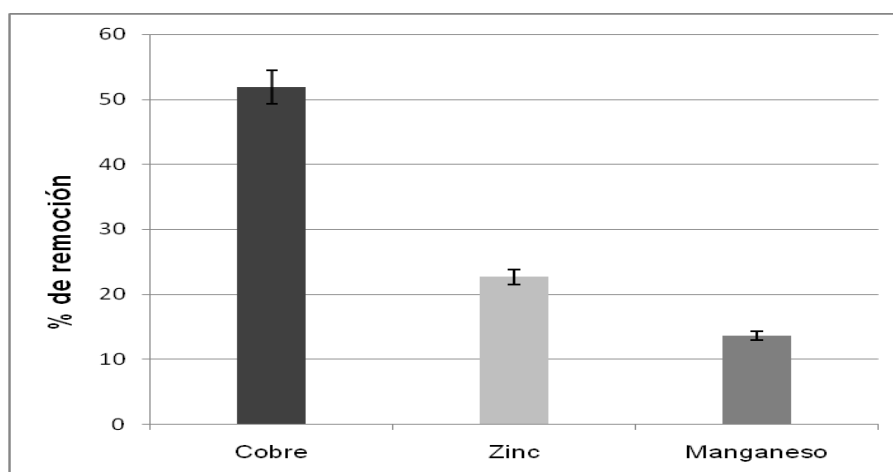


Fig. 3 Porcientos de remoción de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) por *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 en la matriz real.*

* Condiciones experimentales: C₀(Cu)²⁺= 43,36 mg·L⁻¹; C₀(Zn)²⁺= 3,80 mg·L⁻¹; C₀(Mn)²⁺= 26,70 mg·L⁻¹a (2,91 s⁻¹); C (biomasa)= 0,25 g·L⁻¹ y tiempo de contacto de 60 min.

Luego del tratamiento se observó que la cantidad de metales remanentes se comportó de la siguiente manera: el cobre se encuentra por encima de los límites máximos permisibles (2,0 mg/L) para las fuentes de abastecimiento superficiales /20/ y ligeramente por encima de los establecidos (< 20,0 mg/L), según procedimientos tecnológicos /21/; el zinc se encuentra por debajo de los límites

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

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

Conclusiones

- 1. La biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 es capaz de adsorber cobre (II), zinc (II) y manganeso (II). Los parámetros evaluados: pH, tiempo de contacto y concentraciones iniciales del ión metálico ejercen influencia significativas en la capacidad de adsorción, resultando los valores óptimos de pH para la adsorción de cobre (II), manganeso (II) y zinc (II) por la biomasa seca de *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 de 6,2 unidades; tiempo de contacto 1 hora y concentraciones iniciales de los metales de 25,0 mg·L⁻¹ para el cobre (II); 2,0 mg·L⁻¹ para el zinc (II) y 10,0 mg·L⁻¹ para el manganeso (II). Además este bioadsorbente es capaz de remover cobre (II), zinc (II) y manganeso (II) de las aguas provenientes de la Laguna Azul del Cobre, alcanzando porcentajes de remoción de 51,8, 22,7 y 13,6 para el cobre (II); zinc (II) y manganeso (II), respectivamente y el que mayor porcentaje de remoción fue el cobre.**

Bibliografía

1. PINEDA, ROSARIO. (2004). Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de *Glomus intrarradices* en la adsorción y translocación de zinc y cobre en girasol *Helianthus annuus* L. crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias, Área Biotecnología.

2. MALDONADO, A. y col. Biosorción de plomo de aguas contaminadas utilizando *Pennisetum clandestinum* Hochst (KIKUYO) Rev. LatinAm. Metal. Mat. 2012; vol 4, p. 52-57.
3. TEJADA TOVAR, C.; VILLABONA ORTIZ, Á. y LUZ GARCÉS J. Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. Tecnológicas ISSN Vol. 18, No. 34, p 1-5, Junio de 2015.
4. MUÑOZ CARPIO, JUAN CARLOS. (2007). Biosorción de plomo (II) por cáscara de naranja "citrus cinensis" pretratada. TESIS para optar el Título Profesional de Químico.
5. APHA (1998). "Standard Methods for the examination of water and wastewater". 20th Edición. Ed. APHA. Washington D.C. USA. pp 1193 y 1198.
6. JONG, T., PARRY, D. L. (2004). Adsorption of Pb²⁺, Cd, Zn, Ni, Fe y As on bacterially produce metal sulfides Edit. Elsevier, January. pp 2-3.
7. TUR NARANJO, E., ORBERÁ RATÓN, TM, ROMAGOSA ÁLVAREZ, Y., PÉREZ SILVA, RM. Bioadsorción de plomo (II) por biomasa microbiana seca: Efecto del pH. Rev. Cub. Quim, 2013, vol. XXV, p. 75-81.
8. CAÑIZARES-VILLANUEVA, R. O.. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Rev. Lat. Microbiol. (2000), 42:131-141.
9. SERRAT, M., BERMUDEZ, C. and VILLA, T. Production, Purification, and Characterization of a Polygalacturonase from a New Strain of *Kluyveromyces marxianus* Isolated from Coffee Wet-Processing Wastewater. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2002, vol. 97. p. 6-8.
10. FONSECA, G. G. y COL. (2008). The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential Appl Microbiol Biotechnol. 79:339–354.
11. VOLESKY, B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. Hydrometallurgy, No.59, p. 203-216.
12. ÁLVAREZ BARRANTES, E. WILFREDO. Determinación de Isotermas de Adsorción de Hierro, Cobre y Zinc en Quitosano. Tesis de Ingeniero Químico. Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), Managua, Nicaragua, 2007.
13. GUIBAL, E. Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents. A review. Separation and Purification Technology, 2004, vol. 38, no. 1, p. 43-74.
14. CHANG J., LAW R., AND CHANG C. Biosorption of Lead, Copper and Cadmium by Biomass of *Pseudomonas aeruginosa* Pu21. Elsevier Science, 1997, Vol 31, No 7, p. 1651-1658.
15. PÉREZ SILVA, R M, ÁBALOS RODRÍGUEZ, A, GÓMEZ MONTES DE OCA, JM & CANTERO MORENO, D. Biosorption of chromium, copper, manganese and zinc by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 isolated from a site contaminated with petroleum. Bioresource Technology, 2009, vol. 100, p.1533–1538.
16. DÍAZ PUIG, A., CHAVIANO BEITRA, A., GUILARTE-GAINZA, A., PÉREZ SILVA, RM. Bioadsorción de iones de níquel (II) disueltos en licor residual por biomasa de *Phyllanthus orbicularis*. Tecnología Química, 2017, vol. XXXVII, no. 1, p. 58-76.

17. ALLABOUN, H. AND F.A. ABU AL-RUB Dynamics, Mechanistics and Equilibrium Studies for the Biosorption of Nickel on Palm Tree Leaves. Jordan Journal of Civil Engineering, 2008, vol. 2, no. 2, p. 124-138.
18. XU, J. et al. 2011. Characterization of metal removal of immobilized Bacillus strain CR7 biomass from aqueous solutions. Journal of Hazardous Materials 187, 450–458.
19. MATUS, I.; PANIAGUA L. y M. BENAVENTE. Estudio de la cinética de adsorción de Cu y Hg a partir de soluciones binarias usando quitosano. Revista científica Nexo, 2011, vol. 24, no. 1, p. 20-32.
20. NORMA CUBANA 1021: *Higiene comunal. Fuentes de abastecimiento de agua. Calidad y protección sanitaria*. 2014. Cuba.