



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO**

**Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales**

**“Biosorción de oro y plata de un lixiviado sintético,  
empleando el hongo *Aspergillus niger* 16404”**

**Tesis**

**Que para obtener el grado de**

**MAESTRO EN METALURGIA Y CIENCIAS DE LOS MATERIALES**

**PRESENTA:**

**Sue Ellen Ríos Vázquez**

**Bajo la Asesoría de:**

**Dr. Ramiro Escudero García**

**Co-asesor**

**Dr. Raúl Cortés Martínez**

Agosto 2014

## **DEDICATORIA**

A las personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron para brindarme su cariño, apoyo, comprensión y sobre todo su amor, ahora me toca regresar un poquito de todo lo que me han brindado. Con todo mi afecto esta tesis se las dedico a ustedes:

A mi padre Héctor Isaías,

A mi madre María Victoria,

A mis hermanos Héctor y Selene,

A mis abuelas Amparo y María del Tránsito y

A la familia Ríos y familia Vázquez.

Gracias por ser mi soporte y la razón de mi progreso.

*Así es, nosotros no tenemos destino. Solo aquellos devorados por la ignorancia y el miedo y que dan pasos en falso, pueden caer en el pantano al que llamamos destino.*

*(Noriaki Kubo)*

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias por la oportunidad que se me brindó para continuar creciendo como profesionalista y ser humano:

Al instituto de investigaciones metalúrgicas que me permitió el ingreso en su programa de excelencia bajo la coordinación, dirección y secretaria académica del Dr. Alberto Ruiz Marín, el Dr. Carlos Alberto León Patiño y el Dr. Víctor Hugo López Morelos respectivamente, gracias el apoyo recibido que permitió culminar la maestría.

A Conacyt por el apoyo económico brindado durante el desarrollo del posgrado.

A mi asesor el Dr. Ramiro Escudero García y co-asesor el Dr. Raúl Cortés Martínez se agradece su tiempo, paciencia y la enseñanza durante el desarrollo del presente proyecto.

A los sinodales el Dr. Juan Zarate Medina, el Dr. Ignacio Mejía Granados, el Dr. Ricardo Morales Estrella y el Dr. Gerardo Barrera Cardiel agradezco sus consejos, observaciones y tiempo dedicado al mejoramiento del presente trabajo.

Al Dr. Rafael García Hernández y al Dr. Jorge Alejandro Verduzco Martínez por su enseñanza durante el curso de la maestría.

A la maestra María Remedios Cisneros Magaña, por su amistad, cariño, apoyo y enseñanza en el transcurso de dos años.

A mis amigos, Hugo, Edith, Mario, Abigail, Hiram, Roció, Delil, Eunice, María Cristian, Alfredo, Carmen, Lupita, Claudia, Rafael, Reynaldo, Eloy, Enrique e incontables personas que no son posible plasmar en papel la importancia de su amistad y lo que representan en mi vida.

Gracias a aquellos que sin palabra alguna supieron expresar su cariño y amor.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
ÍNDICE DE TABLAS .....	X
RESUMEN .....	XII
ABSTRACT.....	XIII
Capítulo I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.2. HIPÓTESIS.....	2
1.3. OBJETIVOS.....	3
1.3.1. Objetivo general. ....	3
1.3.2. Objetivos particulares. ....	3
Capítulo II. MARCO DE REFERENCIA .....	4
2.1. Propiedades del oro (Au).....	4
2.2. Propiedades de la plata (Ag). ....	5
2.3. Extracción y recuperación de oro y plata. ....	7
2.4. Biominería.....	10
2.4.1. Interacción de microorganismos y metales. ....	10
2.4.2. Biosorción.....	12
2.5. Cinética de biosorción.....	25
2.5.1. Modelos que describen la cinética de sorción. ....	25
2.6. Equilibrio del proceso de sorción.....	27
2.7. Cepa fúngica de <i>Aspergillus niger</i> . ....	30
Capítulo III. MATERIAL Y METODOS.....	34
3.1. Obtención de cepa fúngica de referencia. ....	35
3.2. Mantenimiento de la cepa <i>Aspergillus niger</i> 16404.....	35
3.2.1. Resiembra, crecimiento y preservación.....	35

3.2.2. Monitoreo morfológico.....	36
3.3. Producción de biomasa fúngica.....	38
3.4. Efecto del tiempo de contacto en la biosorción de Au y Ag, pruebas de cinética. ....	39
3.5. Curvas de crecimiento fúngico.....	40
3.6. Isotherma de adsorción.....	42
3.7. Análisis de la biomasa/medio filtrado.....	45
Capítulo IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	46
2.1. Monitoreo y preservación de la cepa <i>Aspergillus niger</i> 16404.....	46
2.2. Producción de biomasa fúngica.....	48
2.3. Cinética de crecimiento fúngico.....	50
2.4. Cinética de biosorción de oro y plata, sistema biomasa viva.....	51
2.5. Cinética de biosorción de oro y plata, sistemas biomasa muerta.....	57
2.6. Cinética de biosorción de oro y plata, sistema biomasa muerta en forma de pellets. ....	64
2.7. Modelos de cinética de biosorción.....	75
2.7.1. Modelos cinéticos para biosorción de oro y plata, sistema biomasa viva.....	75
2.7.2. Modelo cinético para biosorción de oro y plata, sistema biomasa pulverizada. ....	79
2.7.3. Modelos cinéticos para biosorción de oro y plata, sistema biomasa en forma de pellets. .....	82
4.8. Isothermas de adsorción.....	86
Capítulo V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	104
2.1. Conclusiones.....	104
2.2. Recomendaciones.....	106
BIBLIOGRAFÍA .....	107
ANEXOS.	
Anexo 1. Preparación y composición de los medios de cultivo.....	114
Anexo 2. Condiciones finales de los experimentos de isothermas.....	115

Anexo 3. Cinética de remoción de oro y plata implementado biomasa viva de <i>A. niger</i> . .....	117
Anexo 4. Funciones obtenidas de los modelos propuestos en los sistemas de cinéticas de adsorción de oro y plata utilizando biomasa viva. ....	118
Anexo 5. Funciones obtenidas de los modelos propuestos en los sistemas de cinéticas de adsorción de oro y plata utilizando biomasa pulverizada. ....	119
Anexo 6. Funciones obtenidas de los modelos propuestos en los sistemas de cinéticas de adsorción de oro y plata utilizando biomasa muerta en forma de pellets .....	120
Anexo 7. Funciones obtenidas de los modelos propuestos en los sistemas de isothermas de adsorción de oro y plata. ....	121
Anexo 8. Clasificación de las isothermas y representación de los diversos subgrupos de isothermas de adsorción [31].....	122
Anexo 9. Potencial Zeta. ....	122
Anexo 10. Documento de certificación de la cepa ATCC <i>Aspergillus niger</i> 16404. ....	123

## ÍNDICE DE FIGURAS

2.1.- Aspecto físico del oro.....	4
2.2. Aspecto físico de la plata.....	6
2.3. Contaminación e intoxicación por plomo.....	8
2.4. Levaduras, hongos y bacterias, microorganismos utilizados en la disciplina de la biominería.....	10
2.5. Mecanismos de interacción entre metales pesados y microorganismos.....	11
2.6. Representación del sistema de bioacumulación.....	13
2.7. Representación de un sistema de biosorción.....	15
2.8. Cambios morfológicos debido al tratamiento alcalino, antes (a) y después (b) de aplicarlo, cambios de la biomasa por la presencia de Pb, los puntos brillantes constituidos principalmente por Fe.....	16
2.9. Espectro de IR de la biomasa A, antes y después del proceso de sorción de Pb.....	17
2.10. Sección transversal de una perla que en su interior contiene biomasa fúngica.....	18
2.11. Cinética de absorción de oro, por las perlas de alginato y perlas de PVA blancos.....	19
2.12. Cinética de sorción de oro por hongos libremente suspendidos, hongos inmovilizados en alginato y PVA.....	20
2.13. Formación de nanopartículas de plata (A) y oro (B) por la cepa bacteriana OC4.....	22
2.14. Representación gráfica de isothermas de Freundlich y Langmuir.....	28
2.15. Características morfológicas macroscópicas (a) y característica microscópicas (b) de <i>Aspergillus niger</i> .....	30
2.16. Esquema de la pared fúngica.....	31
3.1. Diagrama general del proceso de Biosorción de Au y Ag.....	34
3.2. Cepa de Referencia <i>Aspergillus niger</i> 16404.....	35
3.3. Preparación de microcultivo de <i>Aspergillus niger</i> 16404.....	37

3.4. Características descriptivas de la morfología microscópica <i>Aspergillus niger</i> 16404.....	37
3.5. Proceso de inoculación del caldo Sabouraud, para la producción de biomasa de <i>Aspergillus niger</i> 16404.....	38
3.6. Biomasa húmeda (derecha), biomasa seca (centro) y biomasa seca pulverizada con mortero de porcelana (izquierda).....	38
3.7. Biomasa en forma de pellets (A), equipo MILIPORE (B), biomasa filtrada (C).....	39
3.8. Representación gráfica del crecimiento microbiano.....	40
3.9. Soluciones implementadas para determinación de las isothermas de adsorción con pellets (derecha) y biomasa pulverizada (izquierda).....	42
4.1. Monitoreo morfológico a nivel macroscópico, izquierda cepa ATCC, centro anverso de la resiembra y derecho reverso de la resiembra en agar Papa dextrosa.....	46
4.2. Estructura especializada del hongo <i>Aspergillus niger</i> 16404, en periodo de 210 días, característica morfológica obtenida por el método de microcultivo.....	46
4.3. Crecimiento de biomasa en caldo Sabouraud (izquierda) y caldo papa dextrosa (derecha).....	48
4.4. Curva de crecimiento Fúngico en medio Sabouraud.....	50
4.5. Efecto del Au y Ag en el crecimiento fúngico.....	50
4.6. Cinética de remoción de Au por la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> viva con una concentración de 1ppm inicial.....	51
4.7. Cinética de remoción de Au por la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> viva con una concentración de 3ppm inicial.....	52
4.8. Micrografías A) y B) biomasa fúngica de la cepa de <i>Aspergillus niger</i> . C) y D) biomasa fúngica posterior al contacto con Au.....	53
4.9. Análisis químico por EDS de la micrografía B) de la figura 4.8.....	53
4.10. Espectro de infrarrojo de la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> y biomasa fúngica con contacto de Au en solución.....	54

4.11. Cinética de remoción de Ag por la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> viva con una concentración de 1ppm inicial.....	55
4.12. Cinética de remoción de Ag por la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> viva con una concentración de 3ppm inicial.....	56
4.13. Cinética de remoción de Au por la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> muerta pulverizada con una concentración de 1ppm inicial.....	57
4.14. Cinética de remoción de Au por la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> muerta pulverizada con una concentración de 3ppm inicial.....	58
4.15. Micrografías A) biomasa fúngica de la cepa de <i>Aspergillus niger</i> , B) C) y D) biomasa fúngica pulverizada posterior al contacto con Au, F) partículas de oro en un sistema de una concentración de 3 ppm.....	59
4.16. Análisis químico por EDS correspondiente a la micrografía A), de la figura 4.15.....	60
4.17. Análisis químico por EDS correspondiente a la micrografía F), de la figura 4.15.....	60
4.18. Análisis químico por EDS correspondiente a la micrografía G), de la figura 4.15.....	60
4.19. Cinética de remoción de Ag por la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> muerta pulverizada con una concentración de 1 ppm inicial.....	61
4.20. Cinética de remoción de Ag por la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> muerta pulverizada con una concentración de 3 ppm inicial.....	61
4.21. Agregado de biomas en sistema de Au (izquierda) solución filtrada de plata (centro) agregado de biomasa sistema de Ag (derecha).....	62
4.22. Micrografías A) biomasa fúngica de la cepa de <i>Aspergillus niger</i> , B) C) y D) biomasa fúngica pulverizada posterior al contacto con Ag en sistema a una concentración de 3 ppm.....	63
4.23. Análisis químico por EDS micrografía D), de la figura 4.22.....	63
4.24. Cinética de remoción de Au por biomasa de la <i>Aspergillus niger</i> muerta en forma de pellets con una concentración de 1 ppm inicial.....	65
4.25. Cinética de remoción de Au por biomasa de la <i>Aspergillus niger</i> muerta en forma de pellets con una concentración de 3 ppm inicial.....	66

4.26. Pellets naturales (izquierda), pellets en contacto con solución de oro 3 ppm (centro y derecha).....	66
4.27. Micrografías A), B) y C) biomasa fúngica en forma de pellets posterior al contacto con Au D) partícula de oro en un sistema a una concentración de 1 ppm.....	67
4.28. Análisis químico por EDS de la micrografía D), de la figura 4.27.....	68
4.29. Micrografías A) biomasa fúngica de la cepa de <i>Aspergillus niger</i> , B) C), D) y F) biomasa fúngica en forma de pellets posterior al contacto con Au G) partículas de oro en un sistema a una concentración de 3 ppm.....	69
4.30. Análisis químico por EDS de la micrografía A), de la figura 4.29.....	70
4.31. Análisis químico por EDS de la micrografía F), de la figura 4.29.....	70
4.32. Análisis químico por EDS de la micrografía G), de la figura 4.29.....	70
4.33. Cinética de remoción de Ag por biomasa de la <i>Aspergillus niger</i> muerta en forma de pellets con una concentración de 1 ppm inicial.....	71
4.34. Cinética de remoción de Ag por biomasa de la <i>Aspergillus niger</i> muerta en forma de pellets con una concentración de 3 ppm inicial.....	72
4.35. Micrografías A) biomasa fúngica de la cepa de <i>Aspergillus niger</i> , B) C), D) y F) biomasa fúngica en forma de pellets posterior al contacto con Ag, G) partículas de plata en un sistema a una concentración de 3 ppm.....	73
4.36. Análisis químico por EDS de la micrografía A), de la figura 4.35.....	74
4.37. Análisis químico por EDS de la micrografía G), de la figura 4.35.....	74
4.38. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 1 ppm con biomasa viva.....	76
4.39. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 3 ppm con biomasa viva.....	76
4.40. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Ag a una concentración de 1 ppm con biomasa viva.....	77
4.41. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Ag a una concentración de 3 ppm con biomasa viva.....	77
4.42. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 1 ppm con biomasa pulverizada.....	79

4.43. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 3 ppm con biomasa pulverizada.....	80
4.44. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Ag a una concentración de 1 ppm con biomasa pulverizada.....	80
4.45. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Ag a una concentración de 3 ppm con biomasa pulverizada.....	81
4.46. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 1 ppm con biomasa en forma de pellets.....	83
4.47. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 3 ppm con biomasa en forma de pellets.....	83
4.48. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Ag a una concentración de 1 ppm con biomasa en forma de pellets.....	84
4.49. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Ag a una concentración de 3 ppm con biomasa en forma de pellets.....	84
4.50. Capacidad de biosorción del oro ( $q_e$ ) con la biomasa fúngica pulverizada como una función de la concentración al equilibrio en la solución ( $C_e$ ).....	87
4.51. Capacidad de biosorción de plata ( $q_e$ ) con la biomasa fúngica pulverizada como una función de la concentración al equilibrio en la solución ( $C_e$ ).....	87
4.52. Isoterma de adsorción de oro para el sistema de biomasa pulverizada.....	88
4.53. Isoterma de adsorción de plata para el sistema de biomasa pulverizada.....	89
4.54. Alícuotas de las soluciones de oro posterior al contacto con la biomasa pulverizada de <i>Aspergillus niger</i> .....	90
4.55. Precipitados presentes en alícuotas de soluciones de plata con previo contacto con la biomasa pulverizada de <i>Aspergillus niger</i> .....	90
4.56. Micrografías de la biomasa fúngica de la cepa de <i>Aspergillus niger</i> , posterior al contacto con solución de oro.....	91

4.57. Análisis químico por EDS micrografía D) de la figura 4.56.....	92
4.58. Micrografías del precipitado presente en la solución de plata previo contacto con biomasa fúngica.....	92
4.59. Análisis químico por EDS micrografía D) de la figura 4.58.....	93
4.60. Capacidad de biosorción del oro ( $q_e$ ) con la biomasa fúngica en forma de pellets como una función de la concentración al equilibrio en la solución ( $C_e$ ).....	94
4.61. Capacidad de biosorción de la plata ( $q_e$ ) con la biomasa fúngica en forma de pellets como una función de la concentración al equilibrio en la solución ( $C_e$ ).....	94
4.62. Isoterma de adsorción de oro para el sistema de biomasa pellets.....	95
4.63. Isoterma de adsorción de plata para el sistema de biomasa pellets.....	96
4.64. Alícuotas de las soluciones de oro posterior contacto con la biomasa en forma de pellets de <i>Aspergillus niger</i> .....	96
4.65. Pellets con pigmentación rojiza posterior al contacto en la solución de oro.....	97
4.66. Micrografías de la biomasa fúngica en forma de pellets de la cepa de <i>Aspergillus niger</i> , posterior al contacto con solución de oro.....	98
4.67. Análisis químico por EDS micrografía G) figura de la 4.67.....	99
4.68. Micrografías de la biomasa fúngica en forma de pellets de la cepa de <i>Aspergillus niger</i> , posterior al contacto con solución de plata.....	100
4.69. Análisis químico por EDS micrografía A), de la figura 4.68.....	101
4.70. Análisis químico por EDS micrografía B), de la figura 4.68.....	101
4.71. Análisis químico por EDS micrografía D), de la figura 4.68.....	101

## ÍNDICE DE TABLAS

II.1. Propiedades físico-químicas del oro.....	4
II.2. Principales minerales del oro.....	5
II.3. Propiedades de la plata.....	6
II.4. Signos y síntomas de una exposición continua a plomo.....	9
II.5. Ejemplos de microorganismo biosorbentes de metales pesados y contaminantes.....	21
II.6. Adsorción de metales por los microorganismos.....	22
II.7. Ejemplos de biosorbentes de metales preciosos.....	23
II.8. Algunas características de biosorción / bioacumulación.....	24
III.1. Características descriptivas de la morfología macroscópicas de un hongo filamentoso.....	36
III.2. Escala de McFarland.....	41
III.3. Condiciones experimentales para determinar la isoterma de adsorción con biomasa pulverizada en contacto con oro.....	43
III.4. Condiciones experimentales para determinar la isoterma de adsorción con biomasa pulverizada en contacto con plata.....	43
III.5. Condiciones experimentales para determinar la isoterma de adsorción con biomasa en pellets en contacto con oro.....	44
III.6. Condiciones experimentales para determinar la isoterma de adsorción con biomasa en pellets en contacto con plata.....	44
IV.1. Monitoreo macroscópico en 5 periodos de la cepa <i>Aspergillus niger</i> 16404.....	47
IV.2. Monitoreo microscópico en 5 periodos de la cepa <i>Aspergillus niger</i> 16404.....	47
IV.3. Relación de aumento de producción de biomasa fúngica.....	49
IV.4. Datos experimentales de la cinética en un sistema con biomasa viva.....	56
IV.5. Datos experimentales de la cinética sistema con biomasa pulverizada.....	64

IV.6 Datos experimentales del sistema biomasa en pellets.....	75
IV.7. Parámetros de los modelos empíricos de cinética de sorción de oro y plata en contacto con biomasa viva de <i>Aspergillus niger</i> .....	78
IV.8. Parámetros de los modelos empíricos de cinética de sorción de oro y plata en contacto con biomasa pulverizada de <i>Aspergillus niger</i> .....	82
IV.9. Parámetros de los modelos empíricos de cinética de sorción de oro y plata en contacto con biomasa muerta en forma de pellets de <i>Aspergillus niger</i> .....	85
IV.10. Parámetros obtenidos de los modelos isotérmicos aplicados al proceso de biosorción para oro y plata con biomasa de <i>Aspergillus niger</i> pulverizada.....	103
IV.11. Parámetros obtenidos de los modelos isotérmicos aplicados al proceso de biosorción para oro y plata con biomasa de <i>Aspergillus niger</i> en forma de pellets.....	103

## RESUMEN

El oro y la plata son metales preciosos de gran interés en el comercio ya que poseen una amplia variedad de aplicaciones, por lo cual su demanda ha ido en aumento considerablemente en la última década. Los métodos convencionales de obtención como extracción con disolventes, precipitación química y el intercambio iónico presentan alto costo operacional, el uso de grandes volúmenes de productos químicos, generación de desechos, entre otros. Estas desventajas han resultado en el desarrollo de la biominería, disciplina que implica la utilización de microorganismos para la obtención de metales por diversos procesos metabólicos. Siendo el mecanismo de biosorción uno de los aplicados a procesos de recuperación de metales tanto tóxicos como valiosos.

En el presente trabajo se usó del hongo *Aspergillus niger* 16404, como biosorbente de Au y Ag en solución por medio de la producción de biomasa pulverizada y en forma de pellets. Se realizaron cinéticas de biosorción partiendo de concentraciones de oro y plata a 1 ppm y 3 ppm, obteniendo rendimientos por encima del 95% de recuperación con biomasa pulverizada, el proceso con biomasa muerta en forma de pellets fue menos eficiente para la recuperación con un rendimiento por debajo de 96%, ambos sistemas se ajustaron al modelo de cinética de Elovich.

El proceso de biosorción de oro y plata con ambas biomasas se acoplo al modelo de isoterma de Langmuir-Freundlich que describe la superficie del biosorbente como heterogénea. Se obtuvieron valores de máxima recuperación de oro y plata con biomasa fúngica pulverizada de 77.72 mg de oro por cada gramo de biomasa y 64.14 mg de plata por cada gramo de biomasa. La máxima recuperación de oro y plata con biomas fúngica en forma de pellets fue de 125.58 mg de oro por cada gramo de biomasa y 34.42 mg de plata por cada gramo de biomasa. La recuperación de oro y plata fue en forma de partículas adheridas a la superficie de la estructura fúngica, de tamaños variables menores a 100 nm.

**Palabras clave:** biosorción, biominería, *Aspergillus niger*, modelo de cinética de Elovich, modelo de isoterma Langmuir-Freundlich

## ABSTRACT

Gold and silver are precious metals of great interest in the trade as they have a wide variety of applications, for which their demand has increased considerably in the last decade. Conventional methods of obtaining these metals such as solvent extraction, chemical precipitation and ion exchange result in high operating costs, the use of large volumes of chemicals, waste generation, among others. These disadvantages have resulted in the development of the biomining, discipline that involves the use of microorganisms for the production of metals by various metabolic processes. Being the biosorption one of the most applied procedures for recovering both toxic and valuable metals.

In this research the fungus *Aspergillus niger* 16404 was used, as biosorbent of Au and Ag in solution through the production of biomass either pulverized or forming pellets. Biosorption kinetics with a concentration of gold and silver to 1 ppm and 3 ppm were experimentally tested, obtaining recoveries above 95% in the case of pulverized biomass; the process involving dead biomass as pellets was less efficient achieving recoveries below 96%, the two system adjusted to the Elovich kinetics model.

The process of biosorption of gold and silver with both biomasses was coupled with the model of Langmuir-Freundlich isotherm, which describes the biosorbent surface as heterogeneous. Maximum recovery values of gold and silver were obtained with fungal spray biomass of 77.72 mg of gold per gram of biomass and 64.14 mg of silver per gram of biomass. The maximum recovery of gold and silver as biomass fungal pellets was 125.58 mg of gold per gram of biomass and 34.42 mg of silver per gram of biomass. The recovery of gold and silver was in the form of particles adhered to the surface of the fungal structure, these precipitates were smaller than 100 nm.

**Keywords:** biosorption, biomining, *Aspergillus niger*, Elovich kinetics model, Langmuir-Freundlich isotherm model.

## Capítulo I

### INTRODUCCIÓN

El oro y la plata son de gran interés en el comercio de los metales preciosos, con base en cifras del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), el 50% del total del valor de la producción minero-metalúrgica de México en el año 2011 fue proporcionado por el grupo de metales preciosos que alcanzó los 8 mil 938 millones de dólares, con un incremento 73% respecto al 2010, participando el oro con 25% y la plata con 27% [24], cerca de tres cuartas partes de la producción mundial del oro se consumen en joyería, 10-15% se destinan en aplicaciones industriales, especialmente electrónica, el restante en aplicaciones médicas, acuñación y reservas federales [4], la plata tiene un gran uso en joyería y piezas diversas [6].

Estas aplicaciones han incrementado actualmente la demanda de estos metales preciosos, teniendo la necesidad de desarrollar investigación sobre técnicas de recuperación eficientes. Los métodos convencionales para recuperación de metales preciosos, tales como extracción con disolventes, precipitación química y el intercambio iónico, tienen desventajas significativas desde el punto de vista ambiental. Estas desventajas, junto con la necesidad de métodos económicos y eficaces, han resultado en técnicas alternativas de separación [14].

La biominería es una disciplina que aplica la utilización de microorganismos para facilitar la extracción y recuperación de metales, proporcionando procesos alternativos a los métodos convencionales. Dichos métodos de recuperación consisten en interacciones que existen entre metales y microorganismos, originando procesos de biosorción, biomineralización, biotransformación y quimiosorción [8-9].

Una de las interacciones que presenta mayor eficiencia es la biosorción, proceso en cual se utiliza una amplia gama de microorganismos, como hongos, levaduras, y bacterias, para la producción de biomasa con la capacidad de concentrar metales presentes en soluciones acuosas. Éste ofrece una serie de ventajas en comparación con los métodos convencionales, destacando bajo costo operacional, minimización del volumen de productos químicos y disminución de productos de desechos [14].

En el presente trabajo se evaluó la capacidad de biosorción de oro y plata en solución, de una cepa fúngica de referencia *Aspergillus niger* 16404. Las interacciones llevadas a cabo entre la cepa de referencia y los metales preciosos partieron de una concentración de 1 y 3 ppm, para los

estudios de cinética de sorción, ajustando los datos experimentales obtenidos a modelos de cinética que permiten la descripción subjetiva del proceso de interacción del biosorbente y el sorbato.

Dichos experimentos permitieron obtener los tiempos de equilibrio para cada sistema de interacción con el metal valor, que posteriormente fueron ajustados a procesos de isothermas de adsorción que proporcionaron los valores de máxima recuperación de oro y plata por la cepa atcc del hongo *Aspergillus niger*.

## **1.1. JUSTIFICACIÓN.**

En la actualidad, los metales preciosos (oro y plata) tienen una amplia gama de aplicaciones, lo que ha desencadenado en una sobredemanda de los mismos. Los métodos convencionales de extracción y recuperación presentan serias desventajas ante esta situación, destacando la producción de cantidades sobresalientes de desechos tóxicos que constituyen fuentes de riesgo en salud pública y para los ecosistemas, derivando en la necesidad de desarrollar técnicas eficientes que permitan la recuperación de metales valiosos, y que puedan ser más amigables con el medio ambiente. Una alternativa potencial es la aplicación de la biominería, disciplina perteneciente a la biotecnología la cual implementa microorganismos tales como levaduras, hongos y bacterias para facilitar la liberación y recuperación de metales. Por esta razón se propone el proceso de biosorción por medios de la cepa fúngica *Aspergillus niger* 16404, para la recuperación de Au y Ag en solución.

## **1.2. HIPÓTESIS.**

La biomasa de hongos filamentosos es utilizada como material biosorbente para la recuperación de metales en solución, promovido por la diversidad de grupos funcionales asociados a la pared celular que realizan las uniones físicas y químicas con los iones metálicos.

Por lo que al someter lixiviados sintéticos de oro y plata a la cepa fúngica *Aspergillus niger* 16404, las interacciones específicas ocurren entre los componentes celulares y los metales iónicos de interés, lo que se traducirá en su recuperación.

### **1.3. OBJETIVOS.**

#### **1.3.1. Objetivo general.**

Evaluar la biosorción de los metales oro y plata en solución, empleando la cepa fúngica de *Aspergillus niger 16404*.

#### **1.3.2. Objetivos particulares.**

1. Lograr la preservación de la cepa fúngica *Aspergillus niger 16404*.
2. Producir eficientemente la biomasa activa e inactiva de *Aspergillus niger 16404*.
3. Evaluar la cinética de biosorción con biomasa viva y muerta.
4. Obtener parámetros de equilibrio (isotermas de adsorción) del proceso de biosorción de oro y plata utilizando *Aspergillus niger 16404*.
5. Determinar la eficiencia del proceso.

## Capítulo II

### MARCO DE REFERENCIA

#### 2.1. Propiedades del oro (Au).

El oro es el metal precioso por excelencia (fig. II.1) que ha embargado el interés del hombre a través de los tiempos [3]. Es un elemento químico con símbolo Au, número atómico 79 y peso atómico de 196.97 uma, que presenta diversas propiedades físicas y químicas que se resumen en la tabla II.1. El oro se clasifica como metal pesado y noble; en el comercio es el más común de los metales preciosos.



Figura 2.1.  
del oro.

Aspecto físico

Tabla II.1 Propiedades físico-químicas del oro [5].

Propiedades físicas	Valores	Propiedades químicas	Valores
Brillo	Metálico amarillo	No es soluble en:	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> , HCL, FeCL <sub>3</sub>
Maleabilidad	Maleable y dúctil	Soluble en:	Agua regia, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> con cloruros y MnO <sub>2</sub>
Punto de fusión °C	1073	Oxidación	No se oxida a temperatura ordinaria
Punto de ebullición °C	2600	Forma aleación con:	La mayor parte de los metales
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	19.42	No forma aleación con:	El azufre

La fuente del símbolo químico, Au, es su nombre en latín aurum (amanecer radiante). Cerca de tres cuartas partes de la producción mundial del oro se consumen en joyería. Sus aplicaciones

industriales, especialmente en electrónica, consumen 10-15%. El remanente está dividido entre los empleos médicos y dentales, acuñación y reservas para el gobierno y particulares. El  $^{198}\text{Au}$  radiactivo se utiliza en radiaciones medicinales, en diagnóstico y en algunas aplicaciones industriales como trazador en el estudio del movimiento de sedimentos sobre el fondo oceánico y en los alrededores de los puertos [4].

Las estadísticas del reporte anual “Minerals Commodity Summaries 2012” emitido por el Servicio Geológico de los Estados Unidos y datos del INEGI, indican que la producción mundial de oro llegó a 2 mil 704 toneladas, siendo el mayor productor China con 355 toneladas, México escaló una posición al ubicarse en el décimo lugar con una extracción de 88.6 toneladas de oro y una producción de este metal refinado de 84.1 toneladas con un valor de 4 mil 261 millones de dólares [24].

El más importante de los minerales de oro es el oro nativo; por su poca reactividad este elemento se presenta en un número reducido de especies, a partir del electrum (Au, Ag) constituidos en su mayoría por telururos los cuales en algunos casos son de Au y Ag, [5] entre otros que se describen en la tabla II.2.

**Tabla II.2** Principales minerales del oro [5].

<b>Mineral</b>	<b>Formula</b>	<b>Contenido de Au %</b>
Oro nativo	Au	>75
Electrum	(Au-Ag)	45-75
Calaverita	$\text{AuTe}_2$	39.2-42.8
Silvanita	$\text{AuAgTe}_4$	24.2-29.9
Petzita	$\text{Ag}_3\text{AuTe}_2$	19-25.2
Hessita	$\text{Ag}_2\text{Te}$	<4.7
Kostuvita	$\text{CuAuTe}_4$	25.2
Aurostivita	$\text{AuSb}_2$	43.5-50.9

## **2.2. Propiedades de la plata (Ag).**

Elemento químico cuyo símbolo es Ag, de número atómico 47 y masa atómica 107.87 uma. Es un metal lustroso de color blanco-grisáceo (fig.2.2). Es uno de los metales pesados y nobles;

desde el punto de vista comercial, es un metal precioso. Hay 25 isótopos de la plata. Cuyas propiedades se describen en la tabla II.3.

Figura 2.2.  
de la plata.



Aspecto físico

Tabla II.3.

Propiedades

Propiedades físicas	Valores	Propiedades químicas	Valores
Brillo	Blanco-grisáceo Metálico	No es soluble en:	HCL, NaOH y H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Maleabilidad	Maleable y dúctil	Soluble en:	HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado
Punto de fusión °C	962	Oxidación	No se oxida cuando se calienta, puede ser oxidada química o electrolíticamente para formar óxido o peróxido de plata
Punto de ebullición °C	2162	Forma aleación con:	Se alea fácilmente con casi todos los metales
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	10.5	No forma aleación con:	Dificultad con el níquel, no se alea con hierro y cobalto

físico-químicas de la plata [6,7].

En la mayor parte de sus aplicaciones, la plata se alea con uno o más metales. Posee las más altas conductividades térmica y eléctrica de todos los metales, se utiliza en puntos de contactos eléctricos y electrónicos. Tiene un gran uso en joyería y piezas diversas. Entre las aleaciones en que es un componente están las amalgamas dentales y metales para cojinetes y pistones de motores

[6]. La plata es un elemento bastante escaso. Algunas veces se encuentra en la naturaleza como elemento libre (plata nativa) o mezclada con otros metales. Sin embargo, la mayor parte de las veces se encuentra en minerales que contienen compuestos de plata.

Los principales minerales de plata son la argentita, la cerargirita y varios minerales en los cuales el sulfuro de plata está combinado con los sulfuros de otros metales. Aproximadamente tres cuartas partes de la plata producida son un subproducto de la extracción de otros minerales, sobre todo de cobre y de plomo [6].

El reporte anual de “Minerals Commodity Summaries 2012” emitido por el Servicio Geológico de los Estados Unidos y datos del INEGI, indican que la producción global de plata creció 4% en el año 2011, con 24 mil 78 toneladas, colocando a México como el mayor productor mundial con 4 mil 778 toneladas que equivalen a 19.8%, seguido de Perú y China con 4 mil toneladas cada uno [24].

### **2.3. Extracción y recuperación de oro y plata.**

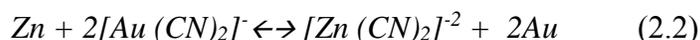
La lixiviación cianurada es la técnica de extracción de oro (y plata) de un mineral, siendo el método más implementado [25], este proceso disuelve el metal valor usando una solución alcalina de cianuro de sodio (NaCN), dicha reacción se describe mediante la ecuación de Elsner (2.1):



La solución resultante que contiene oro se denomina “solución preñada” [25], en la cual se encuentra la formación de un ion complejo  $[Au(CN)_2]$  acompañado por un catión de  $Na^+$  [26], para la recuperación del Au y Ag, el procedimiento de mayor uso es:

- **Precipitación con polvo de zinc (Proceso Merrill-Crowe):** ésta se basa en la sustitución del zinc por el oro disuelto en las soluciones de cianuro, formando un precipitado que posteriormente será tratado por métodos pirometalúrgicos a fin de obtener el doré.

La ecuación (2.2) describe la reacción del proceso por precipitación con polvo de zinc:



Los requisitos fundamentales para una eficiente cementación del oro a partir de soluciones cianuradas con la adición de zinc en polvo son las siguientes:

- a) Estar clasificada con menos de 5 ppm de sólidos.
- b) Estar desoxigenada hasta 1 ppm de oxígeno.
- c) Tener concentración de cianuro libre adecuada.
- d) Tener un pH en el rango de 9 a 11 (con una adecuada adición de cal).
- e) Contener una adecuada cantidad de sales de plomo [27].

El método de lixiviación cianurada y recuperación de oro produce cantidades enormes de desechos, muchos de los cuales son tóxicos y constituyen fuentes de riesgos para las sociedades y los ecosistemas. A estos riesgos se suman aquellos que se derivan de la erosión que producen con las actividades mineras, y que van desde la exposición al aire, el agua y el medio ambiente de sustancias tóxicas hasta la pérdida de suelos [28]. La industria moderna del oro utiliza el cianuro casi exclusivamente como agente lixivador.

Se han utilizado otros agentes complejantes como la tiourea, los cloruros y otros haluros para extraer oro del mineral, pero generalmente no son rentables y presentan problemas particulares para el ambiente y la salud [25]. En el caso de la recuperación otros métodos utilizados son absorción con carbón activado, intercambio iónico, electrodeposición, los cuales no son tan eficientes como la precipitación con zinc [27], dicho proceso implementa el uso del plomo para promover el rendimiento de la cementación, el cual es causante de intoxicación al ser humano, considerada como exposición ocupacional derivada de la actividad metalúrgica, cuyo efecto se extiende en los animales y provoca contaminación al medio ambiente [44], ejemplificado en la fig. 2.3, los individuos expuestos a este elemento presenta una sintomatología descrita en la tabla II.4.



**Figura 2.3.** Contaminación e intoxicación por plomo.

**Tabla II.4.** Signos y síntomas de una exposición continua a plomo [43].

Nivel de Exposición	Signos y síntomas
Exposición muy baja	Disminución de memoria, aprendizaje, conciencia de inteligencia, habilidad verbal, atención, pronunciación y audición. Signos de hiperactividad.
Exposición leve	Parestesias, mialgias, fatiga leve, irritabilidad, letargia, molestias abdominales.
Exposición moderada	Artralgias. Fatiga general, dificultad de concentración, cansancio muscular, tremor, cefaleas, dolor abdominal difuso, vómitos, pérdida de peso, estreñimiento
Exposición alta	Parestesias, parálisis, encefalopatía (puede causar convulsiones, alteración de la conciencia, coma y muerte), línea azul oscura en las encías, cólicos intermitentes y severos.

La Agencia para la Seguridad y Salud ocupacional (OSHA) indica que trabajadores con niveles de plomo en sangre mayores 40  $\mu\text{g/dL}$ , deben ser notificados por escrito y provisto de una revisión médica. Se considera no contaminada a la tierra o polvo con concentraciones de plomo <50 ppm, La Agencia de Protección Ambiental (EPA) recomienda ausencia completa del plomo en el agua potable y 15  $\mu\text{g/dL}$  como nivel que requiere tratamiento. La Agencia de Drogas y Alimentos (FDA) recomienda acción si se encuentra el plomo a un nivel 0.5  $\mu\text{g/dL}$  en alimentos destinados para infantes y niños, [44].

Debido a la concientización de seguridad laboral, cuidado y preservación de flora y fauna del medio ambiente, propicio el surgimiento del desarrollo de nuevas técnicas de extracción y recuperación de metales preciosos (Au y Ag) dando pie al auge de la biominería.

## **2.4. Biominería.**

Disciplina que estudia y aplica la utilización de microorganismos visualizados en la fig. 2.4, para facilitar la extracción y recuperación de metales [8].



**Figura 2.4.** Levaduras, hongos y bacterias, microorganismos utilizados en la disciplina de la biominería [8].

### **2.4.1. Interacción de microorganismos y metales.**

Todas las interacciones entre los microorganismos y los metales u otros elementos como carbono, nitrógeno, azufre y fósforo son componentes fundamentales de los ciclos biogeoquímicos. Dichas interacciones son estudiadas en profundidad en el contexto de la biotecnología ambiental, con el objeto de implementar métodos de remoción o eliminación de metales en efluentes industriales, recuperación, detoxificación o bioremediación de aguas contaminadas con metales pesados [9]. Entre las tecnologías tradicionales para la remoción de metales pesados están la precipitación, coagulación, filtración e intercambio iónico, más costosas en términos energéticos y de consumo de productos químicos en comparación con los tratamientos biológicos. Estas tecnologías no funcionan por debajo de una concentración del metal de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  [45].

Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y microorganismos tolerantes a metales, lo que permite su implementación en los procesos descritos anteriormente. La resistencia o tolerancia experimentada por microorganismos es posible gracias a la acción de diferentes mecanismos. Estos fenómenos son: biosorción, bioacumulación; biomineralización, biotransformación y quimiosorción mediada por microorganismos, dichos mecanismos son ejemplificados en la fig.2.5 [9].

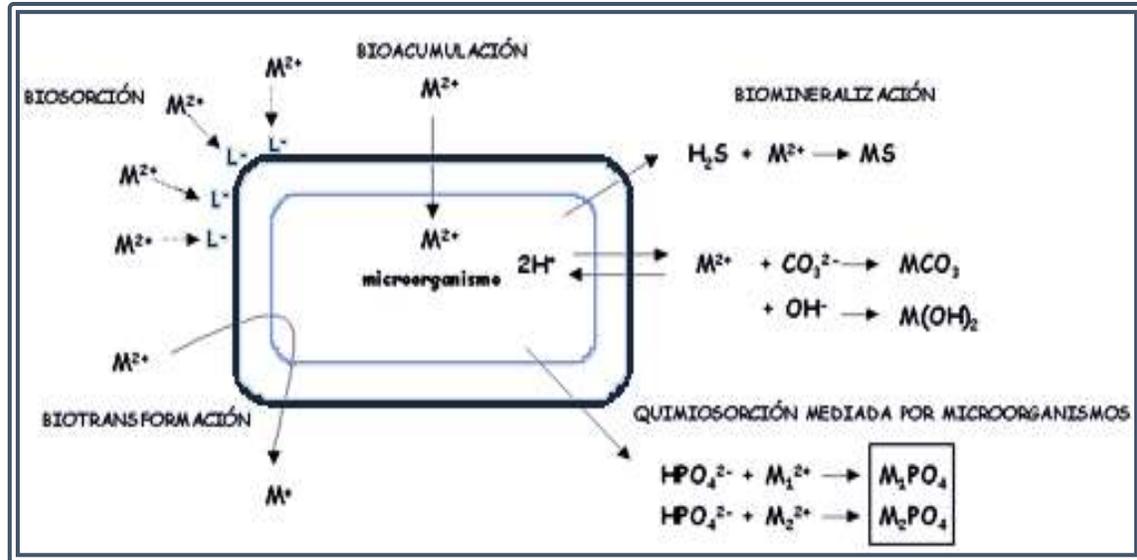


Figura 2.5. Mecanismos de interacción entre metales pesados y microorganismos [9].

Actualmente la demanda de metales preciosos es mayor debido a la amplia versatilidad en sus diversas aplicaciones, teniendo la necesidad de desarrollar investigación sobre técnicas de recuperación eficientes. Los métodos convencionales para recuperación de metales preciosos, tales como extracción con disolventes, precipitación química y el intercambio iónico, tienen desventajas significativas, que incluyen la eliminación de metales incompleta, los altos costos, requerimientos de reactivos, energía y de productos de desecho que requieren tratamiento. Estas desventajas, junto con la necesidad de métodos económicos, eficaces y amigables con el medio ambiente, han resultado en técnicas alternativas de separación.

La biosorción es un proceso en el que se utilizan levaduras, hongos, algas, bacterias, entre otros [17], para la producción de biomasa capaz de concentrar metales presentes en soluciones acuosas [14]. Este mecanismo tiene ya utilidad como proceso alternativo a métodos tradicionales para la detoxificación y recuperación de metales tóxicos presentes en aguas residuales industriales.

### **2.4.2. Biosorción.**

Como término genérico de “Sorción”, se utiliza tanto para absorción y adsorción, que de acuerdo con la dependencia del metabolismo celular, los mecanismos de sorción se pueden dividir en:

- Metabolismo dependiente.
- Metabolismo no dependiente.

Así mismo, se puede utilizar la ubicación del metal eliminado para clasificar el proceso de sorción, que pueden ser considerado como:

- Acumulación extracelular / precipitación.
- Acumulación en la superficie celular.
- Acumulación intracelular (bioacumulación) [10].

La estructura compleja de los microorganismos implica que existen diversas formas por las que pueden realizar la absorción y adsorción, dichos mecanismos pueden funcionar de forma independiente o simultáneamente. Estos pueden ser:

- a) **Transporte a través de membrana celular.** Los sistemas de transporte celular pueden ser confundidos por la presencia de iones de metales pesados de la misma carga y radio iónico asociado con los iones esenciales para el microorganismo. Este tipo de mecanismo no está asociado con la actividad metabólica.
- b) con ayuda de fuerzas de Van der Waals, mediante interacciones electrostáticas entre los iones metálicos en solución y la pared celular microbiana.
- c) **Intercambio iónico.** Las paredes celulares de los microorganismos contienen polisacáridos y el intercambio se da entre los iones de metal bivalente con los iones de los polisacáridos.

- d) **Complejación.** La eliminación de metales de la solución también puede tener lugar mediante la formación de complejos en la superficie celular después de la interacción entre el metal y los grupos activos.
- e) **Precipitación.** Puede ser dependiente del metabolismo celular o independiente de ella. En el primer caso, la eliminación de metal de la solución es a menudo asociada con el sistema de defensa activa de los microorganismos. En el segundo caso, puede ser una consecuencia de la interacción química entre el metal y la superficie de la célula [13].

Los mecanismos antes mencionados pueden ser englobados en dos procesos fundamentales de sorción:

1. **Absorción** (bioacumulación).

Que consiste en la incorporación de una sustancia de un estado a otro estado diferente (líquido, siendo absorbido por un sólido), en una matriz (fig. 2.6).

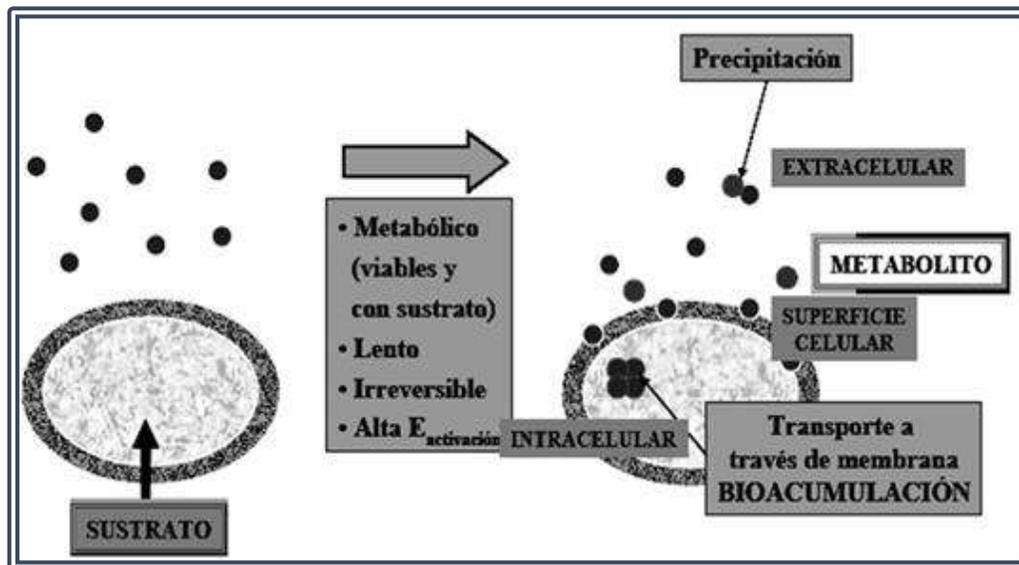


Figura 2.6. Representación del sistema de bioacumulación [12].

Este involucra un sistema de transporte de membrana que internaliza al metal pesado presente en el entorno celular con gasto de energía [10]. Este transporte de membrana es dependiente del metabolismo de la célula. Esto significa que este tipo de biosorción sólo podrá

realizarse con células vivas. A menudo se asocia con un sistema de defensa activo del microorganismo, que reacciona en la presencia de metales tóxicos [13].

Esta interacción fue observada en la investigación de Pighi y colaboradores [20] que realizaron un estudio a una colección de 32 cultivos seleccionados por su tolerancia a los metales, a los cuales se examinó su capacidad de acumular plata, cadmio, cobre, níquel y plomo los cuales se encontraban en soluciones, obteniendo que la plata se acumulaba de forma selectiva, propusieron que el cobre y níquel son agentes complejantes, la plata modificara los polímeros de la pared celular y, por lo tanto, se exponen o enmascaran sitios de unión, lo que permite su acumulación, entre los microorganismos estudiados se encuentra el *Aspergillus sp* con una acumulación de 244  $\mu\text{mol/g}$  de plata, diversas especies del genero *Penicillium* que tiene un rango de 147-247  $\mu\text{mol/g}$  de plata y *Botrytis cinérea* que fue el hongo con mayor acumulación de 458  $\mu\text{mol/g}$  de plata.

Pümpel y Schinner [21] realizaron un estudio con microorganismos aislados del suelo de una mina de plata, las cepas son tolerantes a dicho metal, se sometieron a un ensayo para determinar su capacidad de acumular dicho mineral, se encontraron los *hyphomycetes*, el cual tuvo un proceso de acumulación mayor de 20 mg/g en peso seco, el proceso se completó en 30 minutos y con un intervalo de temperatura de 4-80°C, proceso casi independiente de la temperatura y un pH óptimo ligeramente preferente a neutro.

Gomes, y colaboradores [15] aislaron una cepa de *Aspergillus niger* en un planta de extracción de oro, se adapta y desarrollo en un líquido de lixiviación que contenía metales y altas concentraciones de cianuro (1:181.62 mg CN), entre los metales que se encontraban eran el oro, plata, cobre y hierro, se enriqueció el líquido, para promover el crecimiento del microorganismo. La máxima eliminación de metales por *Aspergillus niger* son de 62,42% de oro, 100% de la plata, 58.74% de cobre, 80.34% de hierro y 73.68% de zinc en la solución.

El uso de biomasa viva en la remoción de metales constituye una buena alternativa ya que se auto renueva debido al crecimiento. Además, el transporte activo dentro de la célula puede conducir a mayores niveles de captación del metal y es posible que se excreten productos metabólicos que contribuyan a la remoción. Por otro lado, se pueden mejorar las cepas mediante el aislamiento de mutantes o la manipulación genética y emplear dos o más organismos de una manera sinérgica [45].

## 2. Adsorción (biosorción).

Es la adherencia física o la unión de iones y moléculas en la superficie de otra molécula. En este caso, el material acumulado en la interfaz es el adsorbato y la superficie sólida es el adsorbente (fig. 2.7) [10].

Este mecanismo se caracteriza por no depender del metabolismo [13], y por retener el metal mediante una interacción fisicoquímica con ligandos pertenecientes a la superficie celular. Esta interacción se produce con grupos funcionales expuestos en el exterior celular [9].

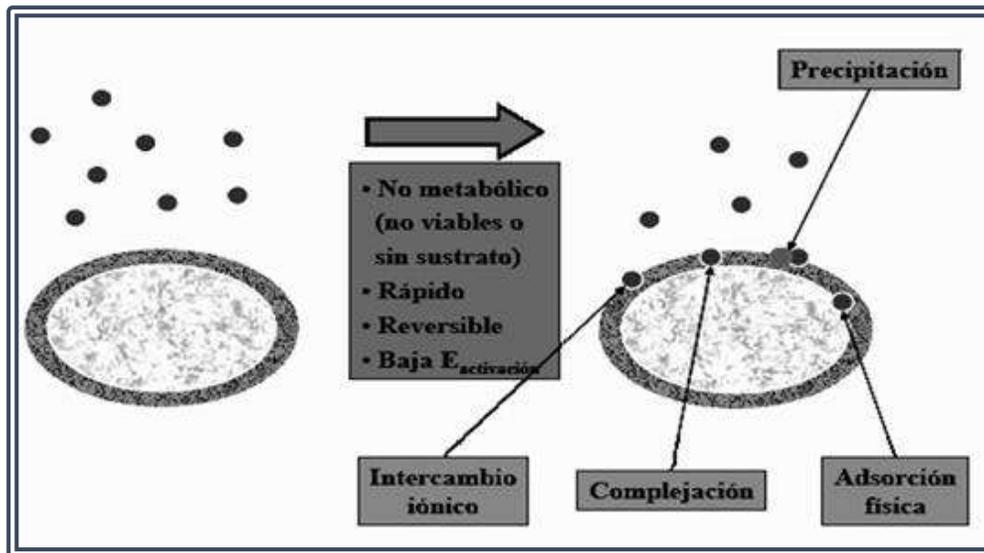
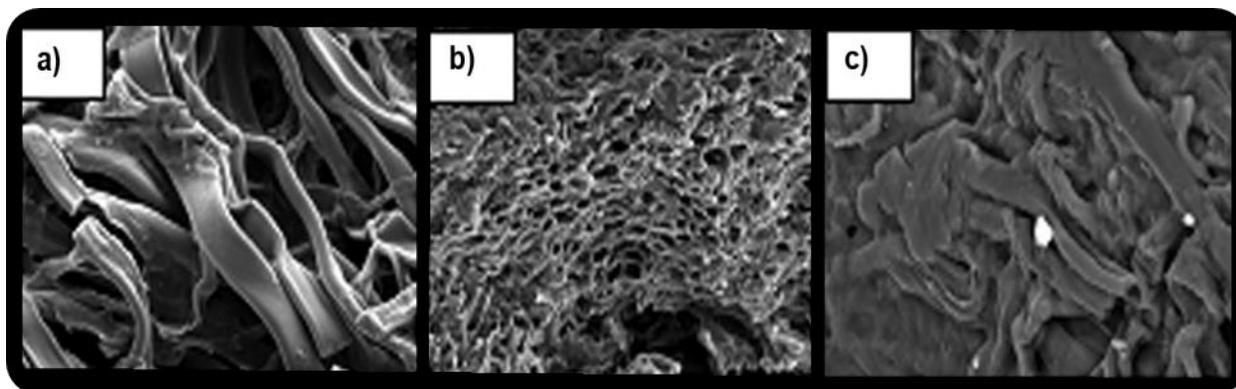


Figura 2.7. Representación de un sistema de biosorción [12].

Enamorado y colaboradores [37] estudiaron la actividad de la biomasa inactiva de *Aspergillus niger* O-5 de separación/pre concentración de Pb (II) a partir de disoluciones diluidas del metal, obtuvieron crecimiento de biomasa a pH de 5 y 7 las cuales se sometieron a dos tratamientos, la denominada biomasa A (pH 5) y biomasa B (pH 7) entro en contacto con una solución de HCL a pH de 5 por un periodo de una hora posterior filtrado y secado en estufa de 60-70°C, la denominada biomasa C que es una porción de la biomasa A que se sometió a solución alcalina de NaOH 0.5 mol/L por 15 minutos posterior filtrado y secado, aunado a un comparativo con carbón activado.

La capacidad máxima a pH 5 fue de 4.7 a 6.2 mg/g en dependencia del pH del medio. La capacidad de adsorción de los cuatro materiales que estudiaron los colocaron en función de la concentración del metal en el equilibrio que se recuperó biomasa y biomasa-Carbón activado.

Demostaron que el 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 del metal pesado, modificando su estructura, lo cual se muestra en la fig. 2.8.



**Figura 2.8.** Cambios morfológicos debido al tratamiento alcalino, antes (a) y después (b) de aplicarlo, cambios de la biomasa por la presencia de Pb, los puntos brillantes constituidos principalmente por Fe (c) [37].

Realizaron caracterización del biomaterial por medio del Estudio de microscopía electrónica de barrido (SEM), análisis de rayos X dispersivo en energía (EDAX) y espectroscopia de infrarrojo, por medio de las primera técnica observaron cambios en la superficie de la biomasa en presencia del Pb, figura 2.8, que se caracterizaba por la fusionan de los filamentos entre sí perdiendo identidad, lo cual lo atribuyen a 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 en la figura 2.8, están constituidas principalmente por Fe, el cual se adhiere a la pared celular de la biomasa procedente del medio de cultivo empleado. El espectro IR 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 ( $3418-3425\text{ cm}^{-1}$ ), carboxilo ( $1740-1746\text{ cm}^{-1}$ ), amida primaria ( $1650-1654\text{ cm}^{-1}$ ), amida secundaria ( $1550\text{ cm}^{-1}$ ), amida terciaria ( $1383\text{ cm}^{-1}$ ), carbonilo ( $1033\text{ cm}^{-1}$ ).

<sup>1</sup>) y fosfato ( $921\text{ cm}^{-1}$ ). 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.

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 los desplazamientos de algunas bandas que 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) fig. 2.9 [37].

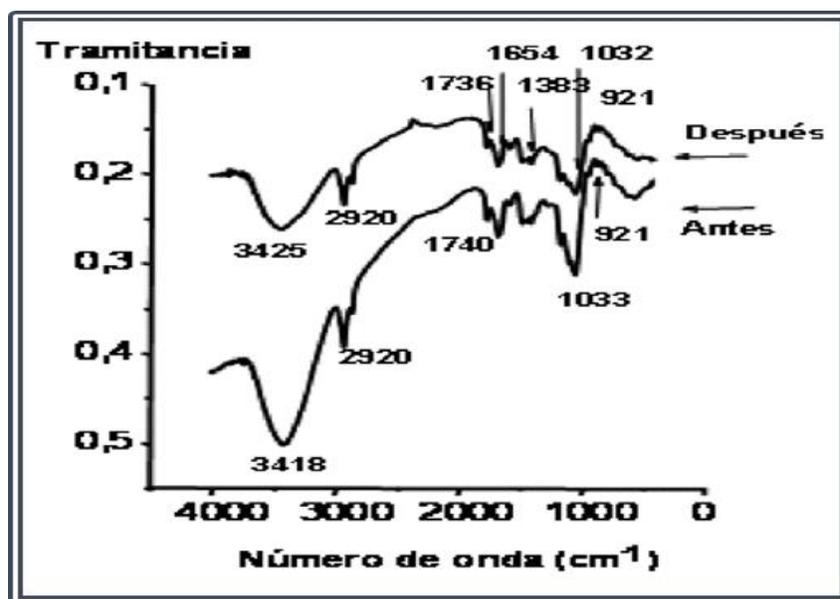


Figura 2.9. Espectro de IR de la biomasa A, antes y después del proceso de sorción de Pb (II) [37].

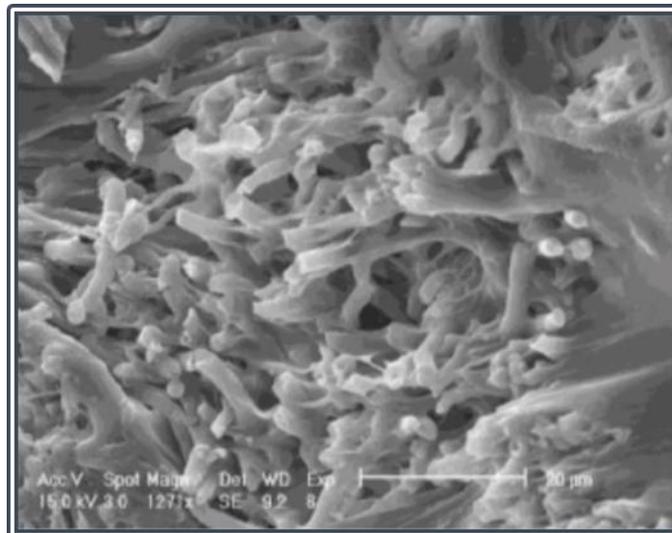
Cárdenas y colaboradores [38] analizaron la capacidad de remoción de Cr (VI) utilizando una cepa de *Paecilomyces sp.* Este microorganismo fue incubado en un medio mínimo de glucosa y otras fuentes de carbono comerciales y de bajo costo, como el azúcar moscabada, piloncillo y glicerol, al cual ellos agregaron una concentración de  $50\text{ mg/L}$  de Cr (VI), el cual fue removido en su totalidad después de transcurrir 7 días en una incubación de  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pH 4 y un inóculo de 38 mg de peso seco. Reportan que el hongo también reduce eficientemente la concentración de Cr (VI) a partir de tierra contaminada, indican que este microorganismo tiene capacidad de reducir Cr(VI) a Cr (III) y sugieren la potencial aplicación de este hongo para la biorremediación de sitios contaminados con Cr (VI).

Los procesos de biosorción ofrecen una serie de ventajas en comparación con los métodos convencionales, estos incluyen:

- Bajo costo operacional.
- Minimización del volumen de productos químicos.
- Disminución o nula producción de desechos.

Ejemplo de ello es Khoo y colaboradores [42], que realizaron la captación de oro, por medio de biomasa fúngica del hongo *Fomitopsis carnea*, hongo recolectado en bosques de la India el cual secaron, pulverizaron y tamizaron a un tamaño de entre 45-212  $\mu\text{m}$ , y complementaron y reforzaron el proceso implementado la inmovilización en dos matrices diferentes que fue el alcohol polivinílico (PVA) y alginato de calcio, la relación que utilizaron fue de 5 gramos de biomasa/ $\text{dm}^3$ , se pusieron en contacto en una solución con 50 mg/dm, aunado a biomasa sin inmovilizar, los experimentos se llevaron a cabo en un reactor con agitación de 500 rpm.

El análisis en microscopia electrónica de barrido (SEM) reveló que la superficie de la perla de PVA blanco era ondulada con numerosos pliegues y poros, la fig. 2.10 muestra una perla cargada del hongo, mostrando una distribución densa de la biomasa filamentosa fuertemente empaquetada dentro de la matriz de PVA.



**Figura 2.10.** Sección transversal de una perla que en su interior contiene biomasa fúngica [42].

La cinética de captación de oro por parte de las perlas blanco de alginato y PVA (fig. 2.11) registraron una captación de 1.2 mg de oro por perlas de alginato y 0.91 mg de oro por cuentas de APV, en el estudio la absorción de equilibrio de los granos de PVA y alginato blancos fue de 5.9% de eliminación de la concentración de oro inicial, sobresaliendo que por sí solo el soporte contribuye a la remoción del metal valor.

La cinética de la biomasa suspendida libremente, la inmovilizada en alginato y la biomasa inmovilizada en PVA, indican que la absorción de oro es un fenómeno lento (fig. 2.12). La biomasa suspendida libre tomo un tiempo alrededor de 20 h para lograr la eliminación del 80% de la concentración inicial del metal, mientras que la biomasa inmovilizada-PVA tardo 33.5 h. En comparación, la biomasa inmovilizada en alginato mostró la mayor resistencia a la transferencia de masa, lo que requiere 265 h para conseguir el mismo porcentaje de remoción.

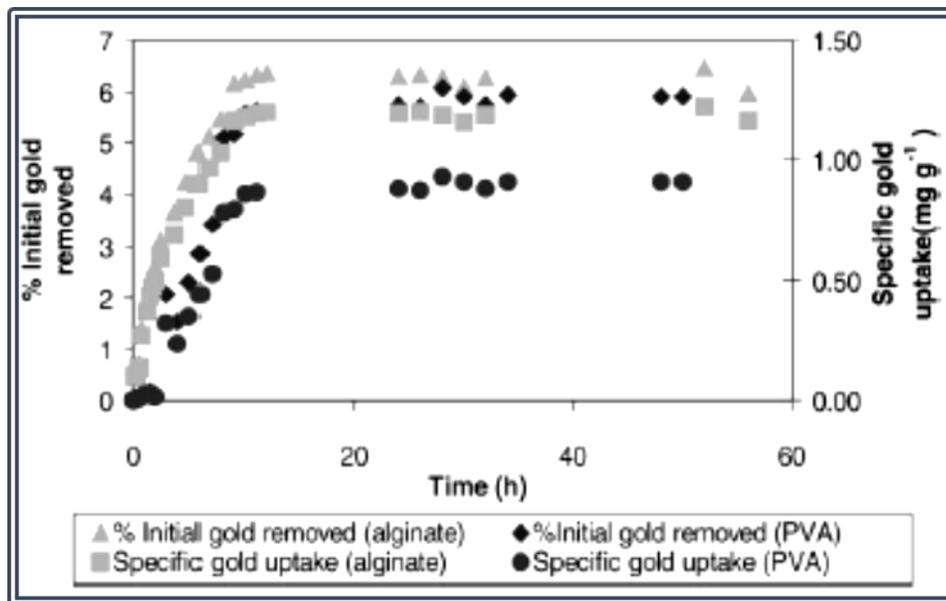


Figura 2.11. Cinética de absorción de oro, por las perlas de alginato y perlas de PVA blancos [42].

Los tiempos necesarios para alcanzar el equilibrio de los tres sistemas son 76 (99.97% de eliminación), 120 (eliminación de 98.2%) y 372 h (de eliminación de 99.8%) de la biomasa suspendida libremente, biomasa inmovilizada en PVA y biomasa inmovilizada en alginato, respectivamente [42]. Es por ello que se considera una de las tecnologías más prometedoras que se pueden utilizar para la recuperación de metales preciosos, y que ha sido estudiada por una serie

de investigadores en cuanto a su proceso de eliminación de sustancias tóxicas o metales contaminantes [14], los cuales se enlistan en la tabla II.5.

Los tiempos necesarios para alcanzar el equilibrio de los tres sistemas son 76 (99.97% de eliminación), 120 (eliminación de 98.2%) y 372 h (de eliminación de 99.8%) de la biomasa suspendida libremente, biomasa inmovilizada en PVA y biomasa inmovilizada en alginato, respectivamente [42]. Es por ello que se considera una de las tecnologías más prometedoras que se pueden utilizar para la recuperación de metales preciosos, y que ha sido estudiada por una serie de investigadores en cuanto a su proceso de eliminación de sustancias tóxicas o metales contaminantes [14], los cuales se enlistan en la tabla II.5.

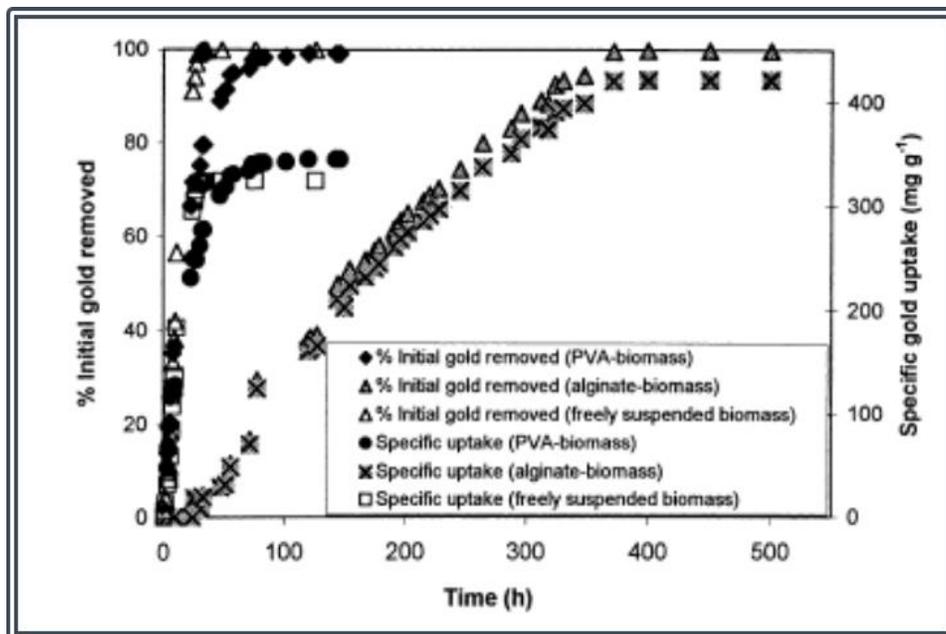


Figura 2.12. Cinética de sorción de oro por hongos libremente suspendidos, hongos inmovilizados en alginato y PVA [42].

**Tabla II.5.** Ejemplos de microorganismo biosorbentes de metales pesados y contaminantes [29-31].

Microorganismo	Metal	Capacidad de biosorción	Referencias
<i>Aspergillus niger</i>	Cu 35 mg/l	7.22 mg/g	Rao et al. (1993).
	Ni <sup>2+</sup>	96%	Amini et al. (2009).
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cd 200 mg/l, 45 Min	71 mg/g	Volesky et al. (1993).
	Cu <sup>2+</sup>	93%	Peng et al. (2010).
	Ni <sup>2+</sup>	89%	Machado et al. (2010).
	Cr (VI)	78 mg/g	Wang et al. (2010).
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Cu <sup>2+</sup>	79.37 mg/g	Aksu y Balibek (2007).
<i>Aspergillus terreus</i>	U (VI)	60 mg/g	Sun et al. (2010).
<i>A. niger</i> O-5	Pb(II)	4.7 a6.2 mg.g <sup>-1</sup>	Horrutiner et al. (2011).

Martínez Bautista Isaías y colaboradores [19], demostraron las capacidades metabólicas de 30 cepas bacterianas y 7 cepas fúngicas, que presentaron resistencia a la plata y adsorción de la misma. Entre las más notorias se encuentra la cepa OC4 célula bacteriana que mostro mayor resistencia y creció en AgNO<sub>3</sub> a una concentración de 5mM, y a la par identificaron las cepas de hongos *Penicillium sp* y *Mucor sp*, que crecieron a una concentración de 0.1mM de AgNO<sub>3</sub>.

La adsorción de plata que presento la cepa OC4 fue mayor que la obtenida con los hongos *Mucor sp* y *Penicillium sp*, siendo este último el que presenta mayor afinidad a dicho metal a partir de una concentración de 100 mg de Ag/L, lo cual indica que no existe una relación directa de afinidad por el metal que presenta el microorganismo y que amerite ser el mejor adsorbente, tabla II.6. La adsorción de oro por los hongos *Mucor sp* y *Penicillium sp*, fue mayor en comparación con la cepa bacteriana OC4, siendo que dicha cepa presentó la mayor afinidad al metal a partir de una concentración baja de 10 mg Au/L, reafirmando lo dicho, no hay relación de afinidad del microorganismo por el metal con el ser el mejor absorbente, tabla II.6. La cepa bacteriana OC4 presento la capacidad de formación de nanopartículas de plata y oro de formas esféricas y triangulares respectivamente mostradas en la fig. 2.13, con tamaños de 10 a 100 nm y un tamaño promedio de 50 nm, atribuyéndole dicha capacidad a la producción de polisacáridos extracelulares [19].

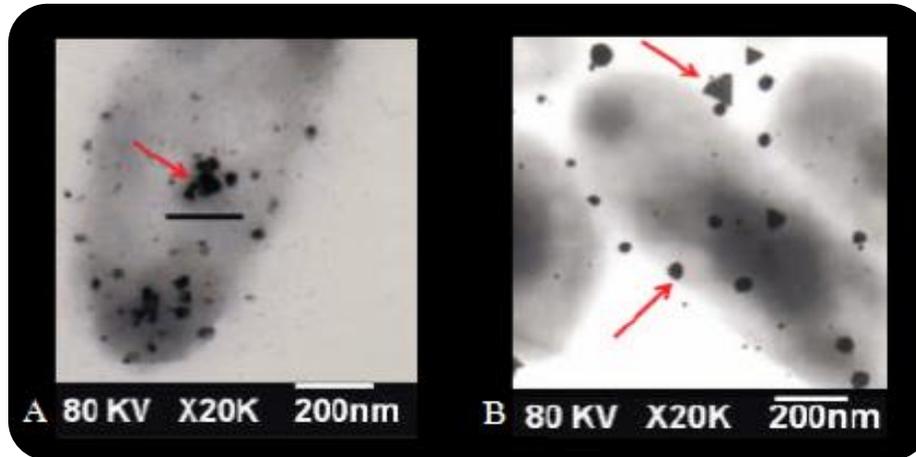


Figura 2.13. Formación de nanopartículas de plata (A) y oro (B) por la cepa bacteriana OC4 [19].

Tabla II.6. Adsorción de metales por los microorganismos [19].

Plata	Penicillium spp	Mucor sp	Cepa OC4
$r^2$	0.96	0.98	0.95
$q_{max}$	3.3 mg Ag/g	6 mg Ag/g	68 mg Ag/g
Afinidad	0.06	0.01	0.01
Oro	Penicillium spp	Mucor sp	Cepa OC4
$r^2$	0.98	0.94	0.9
$q_{max}$	91 mg Au/g	81 mg Au/g	26 mg Au/g
Afinidad	0.01	0.01	0.45

Paralelamente Nilanjana Das [36], realiza lo propio y presenta una variedad de biosorbentes que van desde hongos, algas, levaduras y bacterias junto con algunos polímeros, los cuales presentan actividad de unión con metales preciosos como el Au (III), la Ag, el Pt (IV) y el Pd (II), representa a la biosorción como una innovación biotecnológica, así como una excelente herramienta para la recuperación de metales preciosos desde soluciones acuosas.

Mack y colaboradores [14], recopilaron información de investigaciones de biosorción de metales preciosos que se presentan en la siguiente Tabla II.7.

**Tabla II.7.** Ejemplos de biosorbentes de metales preciosos [14-36].

Adsorbente	Metal	Máxima captación de metal (mmol/g)	Año de investigación
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (hongo)	Au (III)	0.4	Pethkar et al. 2001
<i>Fomitopsis carnea</i> (hongo inmovilizada en alcohol de polivinilo )	Au(III)	0.48	Khoo and Ting (2001)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levadura inmovilizada)	Pt(IV)	0.026	Xie et al. (2003).
<i>Streptomyces erythraeus</i> (bacteria)	Au (III)	0.03	Savvaidis (1998).
Carbón de cáscara de arroz	Au (III)	0.76	Chand et al. (2009).
Alfalfa	Au (III)	0.18	Gamez et al. (2007).
<i>Neurospora crassa</i> (hongo)	Ag	0.6	AKthar et al. (1995).
<i>Bistiourea</i> derivado de resinas	Ag	8.25	Atia (2005).
Derivados del quitosano	Pt(IV)	3.2	Chassary et al. (2005)
Musgo acuático	Pd(II)	37.2 mg/g	Sari et al. (2009)

La distinción entre la bioacumulación y biosorción es importante, ya que para el diseño de un proceso de acumulación, precipitación o concentración de un mineral, hay diferencias entre los mecanismos, poseen ciertas características (Tabla II.8) que otorgan ventajas o desventajas para la obtención del mineral [10].

Tabla II.8. Algunas características de biosorción / bioacumulación [10].

Características	Biosorción	Bioacumulación
<b>Costo</b>	Costos por lo general bajos. La mayoría de los biosorbentes empleados son industriales, agrícolas y otro tipo de residuos de biomasa. El costo incluye principalmente el transporte y el procesamiento.	Por lo general, alto. El proceso consiste en células vivas y requiere mantenimiento.
<b>pH</b>	El pH de la solución fuertemente influye en la capacidad de absorción de biomasa. Sin embargo, el proceso puede ser operado bajo una amplia gama de condiciones de pH.	Además de la absorción, las células vivas se ven fuertemente afectadas bajo condiciones extremas de pH.
<b>Temperatura</b>	Puesto que la biomasa está inactiva, la temperatura no influye el proceso.	La temperatura afecta severamente el proceso.
<b>Almacenamiento</b>	Fácil de almacenar y usar.	Energía metabólica externa es necesaria para el mantenimiento del cultivo.
<b>Selectividad</b>	Pobres. Sin embargo, la selectividad puede mejorarse mediante modificación/tratamiento de la biomasa.	Mejor selectividad que biosorción.
<b>Versatilidad</b>	Razonablemente bien. Los sitios de unión pueden acomodar una variedad de iones.	No es muy flexible. Propenso a verse afectada por condiciones de un metal o sal en particular.
<b>Grado de captación</b>	Muy alta. Algunos tipos de biomasas han reportado para acumular una cantidad de agente tóxico casi tan alto como su peso seco.	Dado que las células vivas son sensibles a sustancias tóxicas, la captación es por lo general baja.
<b>Tasa de absorción</b>	Por lo general rápida. La mayoría de los mecanismos de biosorción son rápidos.	Por lo general más lento que biosorción. Acumulación intracelular es más tiempo.
<b>Afinidad Toxicológica</b>	Alta en condiciones favorables.	Depende de la toxicidad de los contaminantes.
<b>Regeneración y reutilización</b>	Alta posibilidad de regeneración del biosorbente, con su posible reutilización durante un número de ciclos.	Como la mayoría de las sustancias tóxicas son acumuladas intracelularmente, las posibilidades son muy limitadas.
<b>Recuperación del tóxico</b>	Con la selección adecuada del eluyente, la recuperación del tóxico es posible. En muchos casos, las soluciones ácidas o alcalinas resultan ser eficientes medios para recuperar sustancias tóxicas.	Incluso si es posible, la biomasa no puede ser utilizada para el ciclo siguiente.

## 2.5. Cinética de biosorción.

En el proceso de biosorción, las moléculas de adsorbato se difunden sobre las partículas del adsorbente, para ocupar los sitios activos de este en un tiempo de contacto. La rapidez de fijación del soluto en el biosorbente es estudiada por la cinética de adsorción, la cual expresa el cambio de concentración del soluto y permite determinar el tiempo en el que el proceso alcanza el equilibrio [47], la cinética de sorción describe la velocidad de atrapamiento del adsorbato, lo cual controla el tiempo de residencia de éste en la interface sólido-disolución [48].

### 2.5.1. Modelos que describen la cinética de sorción.

Existen diversos modelos matemáticos en la actualidad que permiten la descripción del proceso de cinética, entre ellos se encuentran:

#### 1. Modelo cinético pseudo primer orden [46].

Este modelo propuesto por Lagergren asume la biosorción como una reacción de primer orden en cada uno de sus reactantes a partir de la expresión matemática 2.3, que corresponde a la cinética de primer orden:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_L(q_e - q_t) \quad (2.3)$$

Al resolver la ecuación diferencial 2.3 tomado en cuenta los límites de integración desde  $t=0$  hasta  $t=t$  se obtiene la ecuación 2.4:

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_L t}) \quad (2.4)$$

#### Donde:

$q_e$ = Cantidad de soluto adsorbido en el equilibrio por unidad de masa adsorbente ( $\text{mg.g}^{-1}$ ).

$q_t$ = Cantidad de soluto adsorbido en el equilibrio por unidad de masa de adsorbente al tiempo  $t$  ( $\text{mg.g}^{-1}$ ).

$k_L$ = Constante de velocidad de pseudo primer orden ( $\text{min}^{-1}$ ) [47].

El modelo se basa en la suposición de que a cada ion metálico se le asigna un sitio de adsorción del material adsorbente [48].

**2. Modelo cinético pseudo segundo orden [46].**

Este modelo fue desarrollado por Ho y McKay, el cual fue dado a conocer en 1999. En él se supone que el adsorbato se adsorbe en dos sitios activos de la biomasa [48]. En este caso, la ecuación de velocidad de la cinética de adsorción se expresa como:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (2.5)$$

Integrando la ecuación 2.5 con respecto a condiciones límites  $q=0$  a  $t=0$  y  $q=q_e$  a  $t=t$  se obtiene la ecuación 2.6:

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (2.6)$$

**Donde:**

$q_e$  = Concentración del ion adsorbido en el equilibrio (mg.g).

$q_t$  = Concentración del ion adsorbido a un tiempo dado  $t$  (mg.g).

$K_2$  = Constante de velocidad de adsorción de segundo orden (g/mg.h).

El modelo de pseudo-segundo orden se ha utilizado para describir la cinética de remoción de metales pesados en un adsorbente en particular, describe que la capacidad de adsorción es proporcional al número de sitios activos ocupados en el adsorbente, es decir se basa en la capacidad de adsorción al equilibrio cuyo mecanismo de remoción es la quimisorción como paso dominante en el sistema [49].

**3. Modelo cinético de Elovich [49].**

Este modelo es de aplicación general en procesos de quimisorción, supone que los sitios activos del biosorbente son heterogéneos y por ello exhiben diferentes energías de activación, basándose en un mecanismo de reacción de segundo orden para un proceso de reacción heterogénea. Este modelo ha mostrado resultados satisfactorios en la identificación del mecanismo

controlante en procesos de sorción de un soluto en fase líquida a partir de un sólido adsorbente [49]. La expresión matemática 2.7 es la que rige el comportamiento de este modelo:

$$\frac{dq_t}{dt} = \alpha \exp^{-\beta q_t} \quad (2.7)$$

**Donde:**

$\alpha$ = Velocidad inicial de sorción (mg/g.h).

$\beta$ = Constante de desorción (g/mg).

$t$ = Tiempo.

$q_t$ = Concentración del ion adsorbido (mg/g).

Integrando la ecuación 2.7 y manteniendo constantes las condiciones de contorno  $t=0, q_t=0$  y a  $t=t, q_t=q_t$  se obtiene la ecuación 2.8:

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln t \quad (2.8)$$

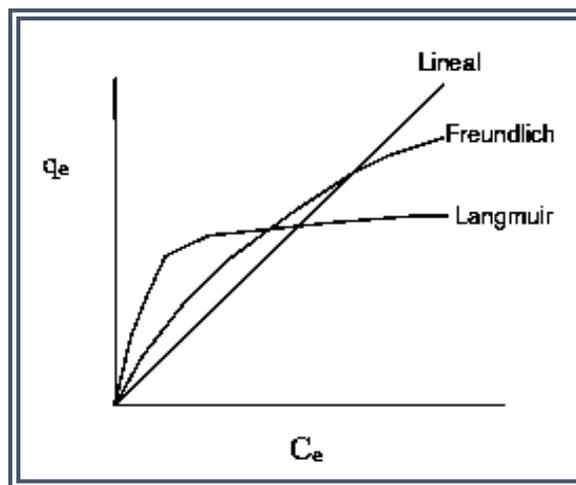
## **2.6. Equilibrio del proceso de sorción.**

El proceso de sorción es el resultado de la remoción de un adsorbato o soluto de una solución y su concentración en la superficie de un adsorbente o sólido, por lo que la cantidad de soluto remanente en solución se encuentra en equilibrio dinámico con la cantidad que se encuentra en dicha superficie. En este punto de equilibrio, existe una distribución definida entre las fases sólidas y líquidas. El coeficiente de distribución es una medida de la posición del equilibrio en el proceso de adsorción, la forma más usual de representar esta distribución es expresando la cantidad de soluto adsorbido por unidad de peso de adsorbente,  $q_e$ , como función de la concentración del soluto remanente en la solución en equilibrio,  $C_e$ , a temperatura constante, esto se conoce como isoterma de adsorción [32].

La modelación de equilibrio de adsorción o la capacidad de adsorción consiste en representar el estado de equilibrio que determina las concentraciones de adsorbato en solución y sobre el material adsorbente. Los modelos permiten conocer la cantidad máxima susceptible de ser fijada

sobre el adsorbente para una concentración de disolución dada, representa una relación de valores de  $q_e$  y  $C_e$  [50].

Pueden presentarse diferentes tipos de isothermas de adsorción, los más comunes se obtienen para sistemas en los cuales la adsorción conduce a la deposición de una capa simple de moléculas de soluto en la superficie del sólido. Ocasionalmente se forman capas multimoleculares en la superficie del sólido. Las isothermas de adsorción pueden ser lineales o no lineales, una isoterma lineal significa que la cantidad adsorbida de una especie es directamente proporcional a su concentración en la solución. Se han desarrollado modelos matemáticos que se ajustan a distintas isothermas experimentales, cuando la isoterma no es lineal, hay otras aproximaciones para describir la distribución. Las más utilizadas son las de Freundlich y Langmuir [10] fig. 2.14.



**Figura 2.14.** Representación gráfica de isothermas de Freundlich y Langmuir [32].

### 1. *Modelo de Isoterma de Langmuir.*

Es un modelo teórico, el cual describe los datos experimentales producidos en el equilibrio en las superficies homogéneas, se utiliza para estimar la capacidad máxima de adsorción en la que se considera:

- a) La superficie del adsorbente que presenta sitios homogéneos.
- b) Solamente una molécula puede ser adsorbida en un sitio y la adsorción sucede en una monocapa.
- c) No existen interacciones entre las moléculas adsorbidas [48].

La fórmula que describe el modelo de Langmuir [48] es la siguiente:

$$q_e = \frac{Q_0 b C_e}{1 + b C_e} \quad (2.9)$$

**Donde:**

$C_e$  = Concentración del soluto en equilibrio (mg/l).

$q_e$  = Concentración de soluto adsorbido por unidad en peso de adsorbente (mg/g).

$Q_0$  = Concentración de soluto adsorbido por unidad en peso de adsorbente requerido para la capacidad de monocapa en la superficie (mg/g).

$b$  = Es la constante de Langmuir,  $k$  a cual se refiere a la energía de adsorción (L/mg).

## 2. Modelo de Isoterma de Freundlich.

Es un modelo empírico, que representa el proceso de adsorción no ideal de formación de multicapas en superficies heterogéneas, considerando que los de adsorción son ocupados primero por enlaces fuertes y que la fuerza del enlace decrece al incrementar la ocupación de sitios de adsorción, el modelo se expresa mediante la ecuación 2.10 [48]:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (2.10)$$

**Donde:**

$q_e$  = Concentración de soluto adsorbido por peso de adsorbente.

$C_e$  = Concentración de soluto en el equilibrio.

$K_F, 1/n$  = Constantes características del sistema.

## 3. Modelo de Isoterma de Langmuir-Freundlich.

La isoterma de Langmuir-Freundlich es una combinación empírica de dichas ecuaciones, es utilizado principalmente para describir superficies heterogéneas. A bajas concentraciones de sorbato se reduce a la isoterma de Freundlich, mientras que a altas concentraciones de sorbato

predice una capacidad de biosorción en monocapa característica de la isoterma de Langmuir [50]. Dicho isoterma se expresa mediante la ecuación 2.11:

$$q_e = \frac{K_{LF} C_e^{n_{LF}}}{1 + (a_{LF} C_e)^{n_{LF}}} \quad (2.11)$$

**Donde:**

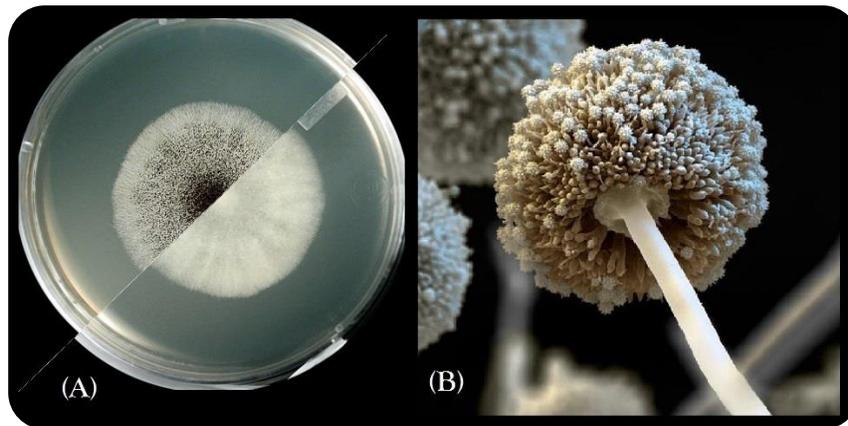
$q_e$  = Concentración de soluto adsorbido por unidad en peso de adsorbente (mg/g).

$C_e$  = Concentración de soluto en la solución en el equilibrio.

$K_{LF}, a_{LF}, n_{LF}$  = Constantes empíricas.

## 2.7. Cepa fúngica de *Aspergillus niger*.

La cepa fúngica seleccionada para el desarrollo del presente trabajo, es un material biológico de referencia perteneciente a una colección internacional certificada denominada American Type Culture Collection (ATCC) de Rockville, EUA, que lo avala como un cultivo puro por medio de pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares. EL cultivo de *Aspergillus niger* 16404 es un hongo perteneciente al género *Aspergillus* representado en la fig. 2.15, son ascomicetes.



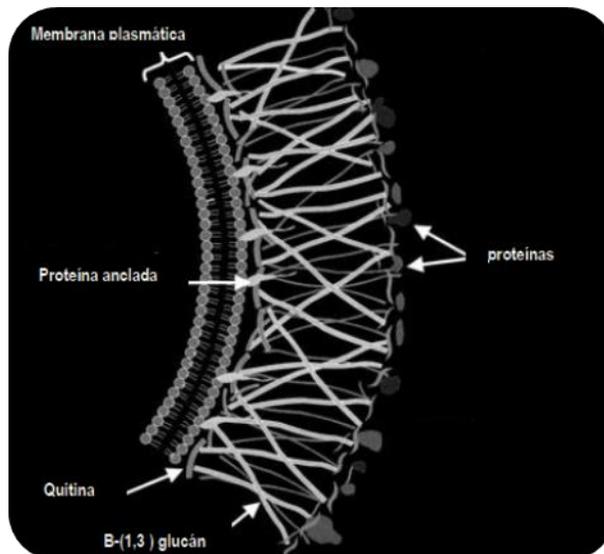
**Figura 2.15.** Características morfológicas macroscópicas (a) y característica microscópicas (b) de *Aspergillus niger*

Las colonias de *A. niger* en Agar Papa Dextrosa (APD) presentan características macroscópicas de micelio bien desarrollado, ligeramente algodonoso y hialino, septado,

abundantemente ramificado, hifas multinucleadas, conidios de color negro predominante. Con respecto a las características microscópicas cuenta con conidióforos característicos del género con presencia de vesícula y fialides de los cuales salen los conidios de color negro. Cabezas conidiales biseriadas y radiales; estipes de paredes gruesas, lisos, hialinos, vesícula caso esférica, mótulas ocupando toda la superficie de la vesícula [22].

La pared celular del hongo uno de los aspectos de mayor interés en el microorganismo ya que constituye el lugar de interacción con el medio externo, es una estructura con gran plasticidad, que da la forma a la célula, controla la permeabilidad celular y protege a la célula de los cambios osmóticos, localizándose en ella las adhesinas y un gran número de receptores que tras su activación, desencadenarán una compleja cascada de señales en el interior de la célula [35].

Ocupa aproximadamente 40 % del volumen de la célula y es una capa gruesa que rodea al protoplasto [34]. La pared fúngica está compuesta básicamente de polisacáridos y proteínas. Entre los polisacáridos destacan la quitina, el glucano y el manano o el galactomanano. Las proteínas generalmente están asociadas a polisacáridos formando glicoproteínas. Todos estos componentes están asociados entre sí dando lugar a una estructura rígida [35] y organizada en capas [34] que se esquematiza en la fig. 2.16. La composición de la pared celular fúngica es dinámica y refleja el crecimiento, morfología y alteraciones originadas por cambios ambientales [35].



**Figura 2.16.** Esquema de la pared fúngica.

- **Glicoproteínas.** Las proteínas representan el 20-30% del peso seco de la pared del hongo. La mayoría de las proteínas están asociadas a glúcidos por enlaces O o N, formando glicoproteínas. Las proteínas de la pared tienen diversas funciones, participando en el mantenimiento de la forma celular, interviniendo en los procesos de adhesión, protegiendo a la célula de sustancias extrañas, participando en la absorción de moléculas, transmitiendo señales al citoplasma y sintetizando y remodelando los componentes de la pared [34].
- **Quitina.** Representa el 10-20% del peso seco de la pared celular del hongo [35], la función de la quitina es dar una delineada y gruesa conformación a la célula, proporcionando rigidez [34].
- **Glucano.** Es el polisacárido estructural más importante de la pared y representa el 50-60% del peso seco de esta estructura. La mayoría de los polímeros de glucano están compuestos de unidades de glucosa con uniones  $\beta$ -1,3 (65-90%). El  $\beta$ -1,3-D-glucano es el componente estructural más importante de la pared, al que se unen covalentemente otros componentes de esta estructura de la pared proporcionando una gran resistencia mecánica esencial para mantener la integridad celular [35].

*Aspergillus niger* es una especie importante en los campos de la micología médica ya que puede causar problemas respiratorios en individuos con un sistema inmunológico deficiente [22]. Es un hongo filamentoso utilizado en la industria biotecnológica debido a sus aplicaciones agro-alimenticias para la producción de ácidos orgánicos como el ácido cítrico, que comercialmente se produce a partir de la fermentación de la melaza de azúcar de caña y la dextrosa, casi el 80-90% del azúcar se convierte en ácido. *Aspergillus niger* es utilizado mundialmente en el 99% de las producciones de ácido cítrico aproximadamente 5 millones de toneladas por año y para producir enzimas hidrolíticas que degradan biomasa de plantas a azúcares simples [33]. Ejemplo de ello son las glucanasas, implementadas en diversos procesos industriales como el bioblanqueo, panificación, industria cervecera, extracción y clarificación de jugos, elaboración de alimento animal, industria textil entre otros usos, la amilasa y producción de biosensores implementados en el análisis de glucosa sérica. *Aspergillus* presenta ventajas para implementarse en la industria:

- Tiene un alto nivel de producción,
- Presenta buenas propiedades para el cultivo, lo que posibilita la producción a gran escala,

- Sus productos son considerados como Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS) otorgado por la FDA, lo que permite su aplicación en la industria de alimentos tanto para el hombre y animales [46].

Para su reproducción o generación de biomasa, los medios de cultivo más empleados para este microorganismo es el agar glucosa y cloranfenicol (SGA), agar papa dextrosa (APD) y agar dextrosa Sabouraud (ADS) en condiciones óptimas de pH entre 4.5 y 5.5 con un ambiente de 25 a 30°C ±3°C [22].

El capítulo II del presente trabajo aporta información generalizada del proceso de biosorción, permitiendo evaluar y delimitar ciertos parámetros de la experimentación, determinado el uso de la biomasa fúngica como biosorbente de metales preciosos y pesados. Puntualizó las ventajas y desventajas al utilizar biomasa del hongo *Aspergillus niger* con actividad metabólica (viva) y sin actividad (muerta), lo que permitió el desarrollo de la metodología experimental la cual se describe en el capítulo siguiente.

### Capítulo III

## MATERIAL Y METODOS

En el presente capítulo se describe la metodología experimental mediante el diagrama de la fig. 3.1.

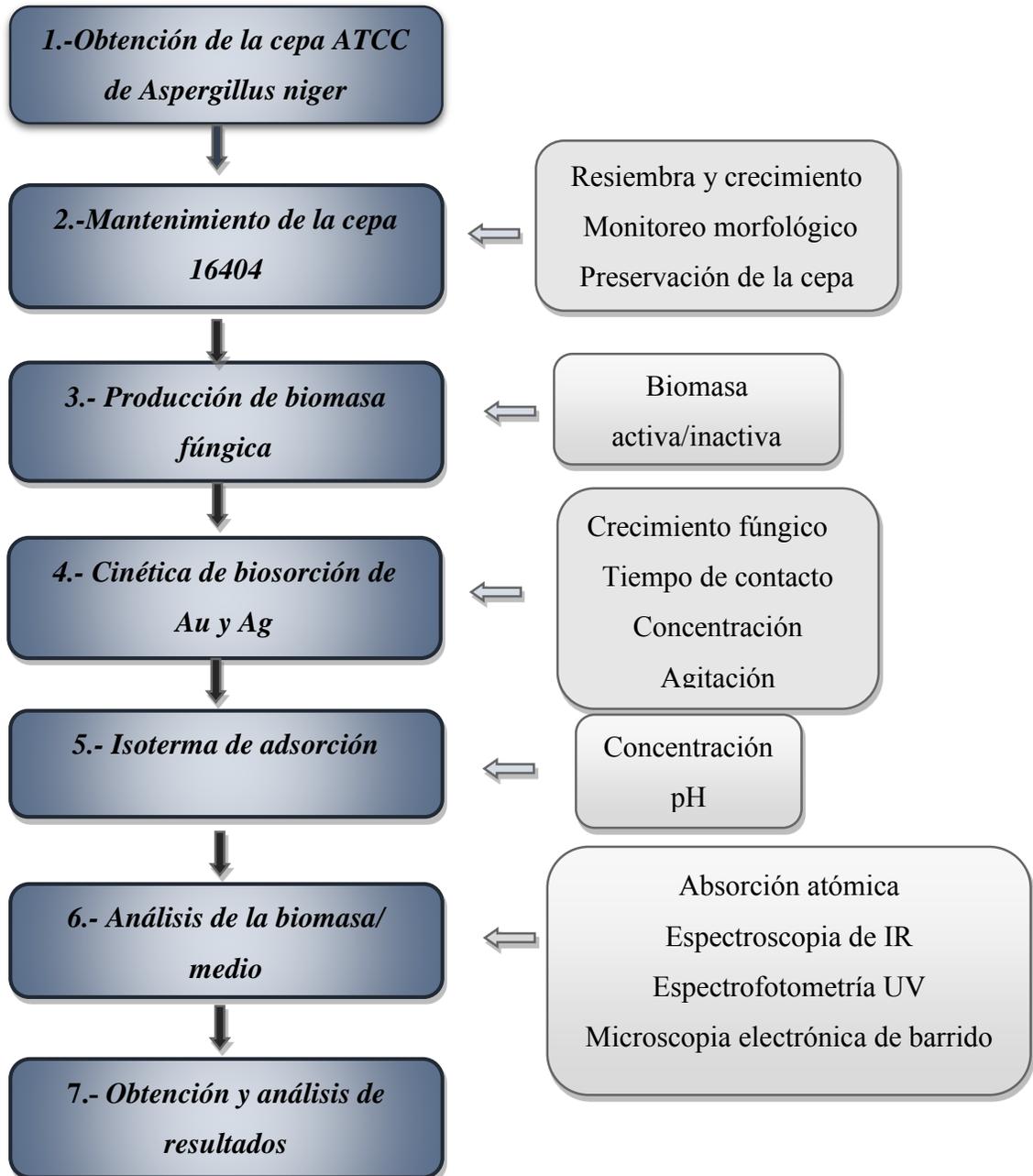


Figura 3.1. Diagrama general del proceso de biosorción de Au y Ag.

### 3.1. Obtención de cepa fúngica de referencia.

La cepa *Aspergillus niger* 16404 fig. 3.2, fue proporcionada por el CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL (CINVESTAV-Unidad Zacatenco) colegio nacional de cepas microbianas y cultivos celulares por medio y atención al Biol. Juan C. Estrada Mora (Anexo 10).

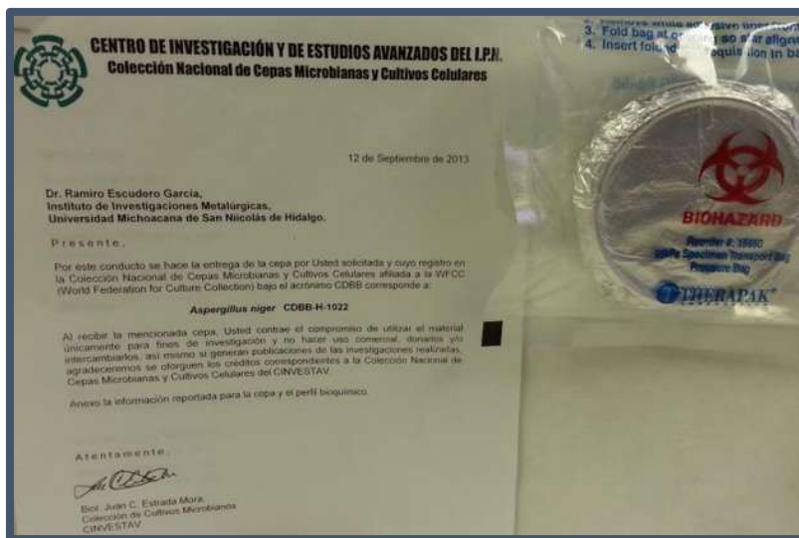


Figura3.2. Cepa de Referencia *Aspergillus niger* 16404.

### 3.2. Mantenimiento de la cepa *Aspergillus niger* 16404.

La cepa de referencia una vez obtenida fue necesaria su resiembra para aumentar su cantidad y poder preservarla, aunado a un simultaneo control morfológico, el cual permitió identificar si la cepa continuaba preservando las características morfológicas que la identifican, o si presentaba un cambio morfológico, denotando que esta ha mutado o se ha contaminado con microorganismos ambientales, esto se llevó acabo de la siguiente manera:

#### 3.2.1. Resiembra, crecimiento y preservación.

Partiendo de la placa de la cepa de referencia se procedió a realizar una resiembra en tubo y placa de ADS y APD, esto en condiciones asépticas, se colocó en la incubadora SHEL.LABV modelo 1525, 4 días a 26°C, al observar crecimiento se realizó el monitoreo morfológico para la verificación del microorganismo, la placa y tubo fue sellado con parafilm se envuelven en papel aluminio y fueron conservadas en refrigeración a 7°C.

### 3.2.2. Monitoreo morfológico.

Este monitoreo consistió en dos etapas, monitoreo de morfología macroscópica y monitoreo de morfología microscópica.

- a) **Monitoreo de morfología macroscópica.** Este se llevó acabo partiendo de la resiembra y crecimiento en placa de gelosa Sabouraud y gelosa Papa dextrosa, observando e identificando características propias de la colonia fúngica que se describen en la tabla III.1.

**Tabla III.1.** Características descriptivas de la morfología macroscópicas de un hongo filamentosos.

<i>Características macroscópicas</i>	<i>Hongo filamentosos</i>
Color	Colonia anverso y reverso pigmento.
Superficie	Elevación, plana, relieves (pliegues) y diámetro.
Micelio	Presencia o ausencia.
Aspecto	Aterciopelada, seca, húmeda, algodonosa Pulverulenta.

- b) **Monitoreo de morfología microscópica (técnica de Ridell).** También denominado microcultivo o cultivo en lámina. Esta técnica se realizó introduciendo en una placa o caja Petri una porción de algodón, una varilla de vidrio en forma de U y una lámina portaobjetos y una cubreobjetos, se esterilizo y se procedió a tomar de una placa de gelosa Papa dextrosa bajo condiciones de esterilidad una porción del medio, se cortó un cuadro de aproximadamente 1 cm por lado y se colocó sobre la lámina de portaobjetos. A partir de las placas de resiembra y previa identificación de morfología macroscópica, se procedió a inocular el centro de los cuatro lados del cuadro y se colocó la lámina cubreobjetos como se muestra en la fig.3.3. Se adiciono en el algodón agua destilada estéril, para proporcionar humedad en la cámara formada, se incubo a 26°C de 3-4 días, la colonia creció por debajo del cubre y porta objetos. Estos se procedieron a retirar en condiciones estériles o bajo mechero con pinzas y se posicionaron sobre un cubre y portaobjetos estériles que previamente se le agrego de 1-2 gotas del colorante azul de lactofenol.

Para la conservación del cultivo lámina se colocó inmediatamente al borde del cubreobjetos esmalte para uñas de un color claro para evitar interferencia con el colorante. Este se observó

con microscopio óptico a un objetivo de 100 X, identificando características de la morfología microscópica descritas en la fig. 3.4.

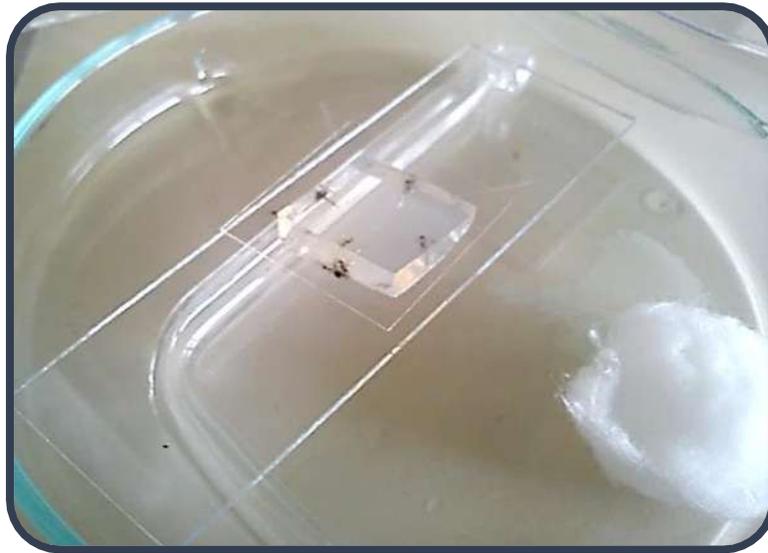


Figura 3.3. Preparación de microcultivo de *Aspergillus niger* 16404.

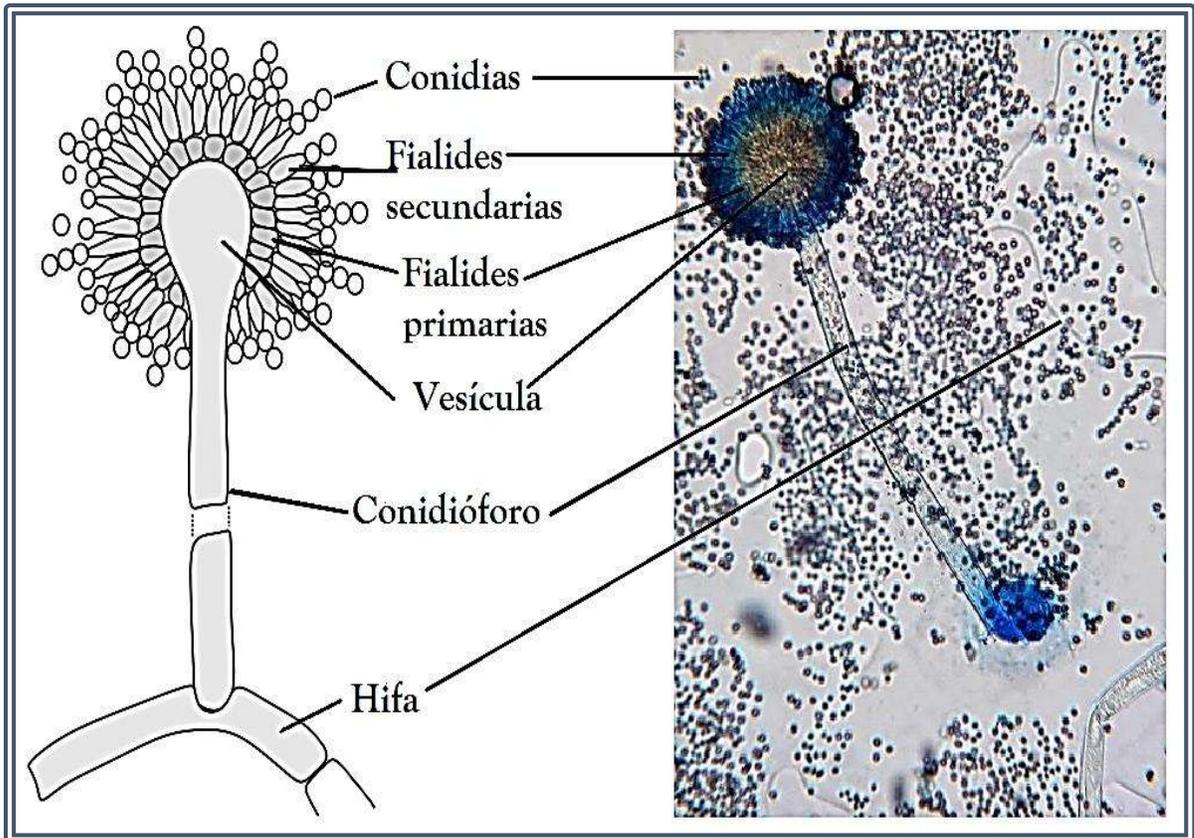


Figura 3.4. Características descriptivas de la morfología microscópica *Aspergillus niger* 16404.

### 3.3. Producción de biomasa fúngica.

La producción de biomasa de *Aspergillus niger* 16404 se llevó a cabo en caldo Sabouraud, su inóculo fue de 3-4 microcultivos de APD, el crecimiento fue en la incubadora INNOVA 4080 de 27-29°C con agitación de 130 rpm por 3 días, fig.3.5.



**Figura 3.5.** Proceso de inoculación del caldo Sabouraud, para la producción de biomasa de *Aspergillus niger* 16404.

La biomasa viva obtenida, se puso en contacto con la solución de oro y plata. Para la producción de biomasa muerta, se obtiene por medio de la esterilización en un autoclave de marca FELISA a una presión de 15 libras, temperatura 120°C por 15 minutos, se filtró utilizando yute y se lavó con agua destilada, para la biomasa seca esta se colocó en el horno FELISA de 60-70°C por un periodo menor a 12 horas, esta se trituró en un mortero de porcelana hasta obtener una apariencia homogénea como se muestra en la fig. 3.6.



**Figura 3.6.** Biomasa húmeda (derecha), biomasa seca (centro) y biomasa seca pulverizada con mortero de porcelana (izquierda).

### 3.4. Efecto del tiempo de contacto en la biosorción de Au y Ag, pruebas de cinética.

La cinética describe la velocidad de adsorción del adsorbato en el adsorbente y permite obtener el tiempo en que se alcanza el equilibrio. La determinación de la cinética de remoción de oro y plata se realizó por medio de una serie de experimentos en los cuales se interactuaron la biomasa viva y la biomasa muerta por separado con soluciones de concentración conocida de 1 y 3 ppm de dichos metales por un periodo de 50 horas, con la finalidad de establecer el tiempo en el cual el proceso alcanza el equilibrio.

- **Biomasa inactiva:** Partiendo de una solución patrón de 500 ml con una concentración conocida de los metales, se trabajó con biomasa muerta pulverizada, adicionado 1 gr de esta por experimento y biomasa muerta en forma de pellets utilizando 15 ml de estos por cada corrida, dicha solución se mantuvo en agitación a 130 rpm, se tomaran alícuotas, las cuales se filtraran utilizando en el equipo MILIPORE fig. 3.6 (B) conectado a un matraz kitasato y a una bomba de vacío, en el dispositivo se implementaron membranas de nitrocelulosa con un tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$ , permitiendo obtener la biomasa para su análisis fig. 3.7 (C).
- **Biomasa activa:** En un cultivo de 12 horas se añadió un volumen de solución patrón del metal valor, manteniendo temperatura y agitación, se tomaron alícuotas, la biomasa activa se llevó a esterilizar, filtrar, lavar con agua destilada estéril y se sometió a secado en el horno FELISA de 60-70°C por un periodo menor a 12hrs para su análisis.

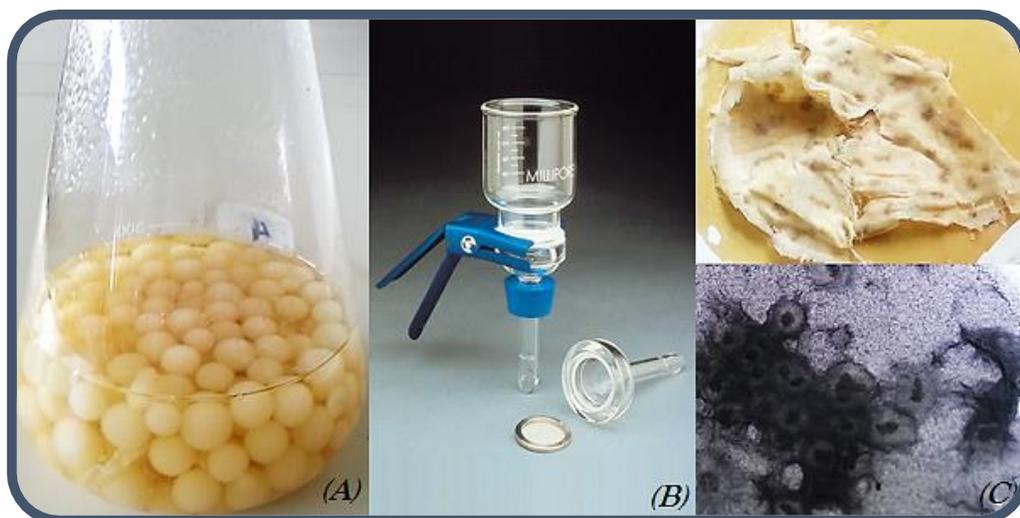


Figura 3.7. Biomasa en forma de pellets (A), equipo MILIPORE (B), biomasa filtrada (C).

### 3.5. Curvas de crecimiento fúngico.

El monitoreo del crecimiento fúngico es de importancia, proporciona información del comportamiento del microorganismo con respecto a sus diferentes etapas de desarrollo, tiempo y población generada, se representa gráficamente por medio de una curva representada en la fig. 3.8 que se divide en cuatro etapas:

- **Fase de lactancia o retraso:** el número de células cambia muy poco debido a que estas no se reproducen de inmediato en un medio nuevo. Este periodo de escasa división celular puede durar una hora o varios días, sin embargo, durante este tiempo las células no están inactivas, la población microbiana atraviesa un periodo de intensa actividad metabólica.
- **Fase exponencial:** las células comienzan a dividirse y entran en un periodo de crecimiento, la reproducción alcanza una actividad máxima, siendo la fase que presentan mayor actividad metabólica.
- **Fase estacionaria:** existe un agotamiento de nutrientes, acumulación de productos de desecho y cambios perjudiciales en el pH, lo que permite en conjunto un cese de crecimiento celular.
- **Fase de muerte:** en este periodo los nutrientes o alimento es escaso y su actividad metabólica es nula por lo cual se impide la duplicación celular [53].

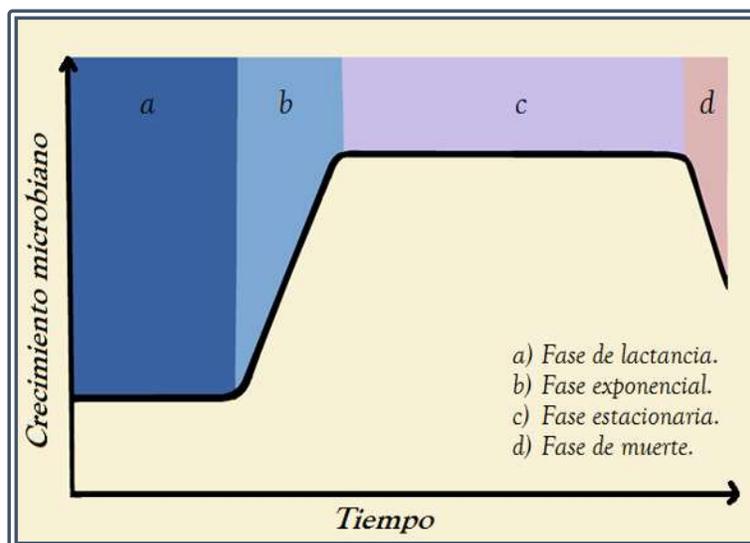


Figura 3.8. Representación gráfica del crecimiento microbiano.

Para identificar la fase en la cual se encuentra el microorganismo durante los procesos de biosorción de Au y Ag con biomasa activa, se realizó una curva de crecimiento fúngico. Partiendo de 15 ml de suspensión del microorganismo en forma de pellets, la cual se ajustó a la escala turbidimétrica de McFarland correspondiente al tubo número 7 (tabla III.2), con una concentración aproximada del hongo de  $2100 \cdot 10^6$  células/ml, esta técnica se basa en la creación de estándares o patrones de turbidez a partir de la precipitación del cloruro de bario al 1% en presencia de ácido sulfúrico al 1%, dicha turbidez representa una cuantificación de número de células microbianas por mililitro.

Se desarrolló dicha curva inoculando con la suspensión de concentración conocida del microorganismo 700 ml de caldo Sabouraud, se incubó a 27-29°C con agitación de 100 rpm, en un periodo de 4 días, muestreando durante ese periodo. A la par se realizaron dos curvas de crecimiento, partiendo de medios de cultivo Sabouraud preparado con una solución de oro y una solución de plata de una concentración de 3 ppm, se esterilizaron a una presión de 15 libras, temperatura 120°C por 15 minutos, se inocularon con las suspensiones de concentración conocida del microorganismo y se sometieron a las mismas condiciones anteriormente mencionadas.

**Tabla III.2.** Escala de McFarland [52].

<i>Tubo</i>	<i>Volumen (ml) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1%</i>	<i>Volumen (ml) de BaCl<sub>2</sub> a 1%</i>	<i>Numero de células /ml</i>
0	10	0	0
1	9.9	0.1	$300 \cdot 10^6$ /ml
2	9.8	0.2	$600 \cdot 10^6$ /ml
3	9.7	0.3	$900 \cdot 10^6$ /ml
4	9.6	0.4	$1200 \cdot 10^6$ /ml
5	9.5	0.5	$1500 \cdot 10^6$ /ml
6	9.4	0.6	$1800 \cdot 10^6$ /ml
7	9.3	0.7	$2100 \cdot 10^6$ /ml
8	9.2	0.8	$2400 \cdot 10^6$ /ml
9	9.1	0.9	$2700 \cdot 10^6$ /ml
10	9.0	1.0	$3000 \cdot 10^6$ /ml

### **3.6. Isoterma de adsorción.**

Para obtener las isotermas de adsorción del hongo *Aspergillus niger 16404* en contacto con Au y Ag, se prepararon soluciones de 100 ml a diferentes concentraciones de metal valor, información presente en la tablas III.3, III.4, III.5 y III.6, se monitoreo el pH antes y después del contacto con la biomasa, por medio del equipo CONDUCTRINIC PC40. Se adiciono a la solución una cantidad de pellets de entre 10 y 15 emulando cada matraz evitando un desajuste en la cantidad de biosorbente, para biomasa pulverizada se estableció la cantidad de 0.2 gramos para cada solución, fig. 3.9.

Las condiciones de tiempo de contacto entre el biosorbente y la solución del metal valor para la experimentación de isotermas, se determinaron por los estudios preliminares de cinética, para la biomasa en forma de pellets el tiempo de contacto fue de 15 a 20 horas, para la biomasa pulverizada de 10 a 12 horas, sometidas a un movimiento continuo de 130 rpm. Transcurrido el tiempo de contacto las soluciones fueron filtradas por medio del equipo MILIPORE, y a partir del matraz numero 5 las soluciones fueron diluidas 1:100 con agua destilada para su análisis.



**Figura 3.9.** Soluciones implementadas para determinación de las isotermas de adsorción con pellets (derecha) y biomasa pulverizada (izquierda).

**Tabla III.3.** Condiciones experimentales para determinar la isoterma de adsorción con biomasa pulverizada en contacto con oro.

<i>Matraz</i>	<i>Volumen de la solución</i>	<i>Concentración de Au en solución</i>	<i>pH de la solución</i>	<i>Cantidad de biomasa pulverizada (g)</i>
<i>1</i>	100 ml	0	6.40	0.2
<i>2</i>	100 ml	1 ppm	2.77	0.2
<i>3</i>	100 ml	5 ppm	2.17	0.2
<i>4</i>	100 ml	10 ppm	1.97	0.2
<i>5</i>	100 ml	20 ppm	1.78	0.2
<i>6</i>	100 ml	35 ppm	1.61	0.2
<i>7</i>	100 ml	40 ppm	1.57	0.2
<i>8</i>	100 ml	60 ppm	1.48	0.2
<i>9</i>	100 ml	85 ppm	1.41	0.2
<i>10</i>	100 ml	100 ppm	1.30	0.2

**Tabla III.4.** Condiciones experimentales para determinar la isoterma de adsorción con biomasa pulverizada en contacto con plata.

<i>Matraz</i>	<i>Volumen de la solución</i>	<i>Concentración de Ag en solución</i>	<i>pH de la solución</i>	<i>Cantidad de biomasa pulverizada (g)</i>
<i>1</i>	100 ml	0	6.40	0.2
<i>2</i>	100 ml	1 ppm	5.07	0.2
<i>3</i>	100 ml	5 ppm	4.99	0.2
<i>4</i>	100 ml	10 ppm	5.08	0.2
<i>5</i>	100 ml	20 ppm	4.97	0.2
<i>6</i>	100 ml	35 ppm	4.95	0.2
<i>7</i>	100 ml	40 ppm	4.90	0.2
<i>8</i>	100 ml	60 ppm	4.72	0.2
<i>9</i>	100 ml	85 ppm	3.33	0.2
<i>10</i>	100 ml	100 ppm	5.29	0.2

**Tabla III.5.** Condiciones experimentales para determinar la isoterma de adsorción con biomasa en pellets en contacto con oro.

Matraz	Volumen de la solución	Concentración de Au en solución	pH de la solución	Cantidad de biomasa pellets
1	100 ml	0	6.40	10-15
2	100 ml	1 ppm	2.75	10-15
3	100 ml	5 ppm	2.25	10-15
4	100 ml	10 ppm	2.00	10-15
5	100 ml	20 ppm	1.80	10-15
6	100 ml	35 ppm	1.56	10-15
7	100 ml	40 ppm	1.38	10-15
8	100 ml	60 ppm	1.27	10-15
9	100 ml	85 ppm	1.24	10-15
10	100 ml	100 ppm	1.19	10-15

**Tabla III.6.** Condiciones experimentales para determinar la isoterma de adsorción con biomasa en pellets en contacto con plata.

Matraz	Volumen de la solución	Concentración de Ag en solución	pH de la solución	Cantidad de biomasa pellets
1	100 ml	0	6.40	10-15
2	100 ml	1 ppm	5.19	10-15
3	100 ml	5 ppm	4.96	10-15
4	100 ml	10 ppm	5.04	10-15
5	100 ml	20 ppm	5.00	10-15
6	100 ml	35 ppm	5.18	10-15
7	100 ml	40 ppm	5.00	10-15
8	100 ml	60 ppm	4.94	10-15
9	100 ml	85 ppm	4.91	10-15
10	100 ml	100 ppm	4.87	10-15

### **3.7. Análisis de la biomasa/medio filtrado.**

La biomasa y medio resultante de los experimentos del efecto del tiempo de contacto o cinética de adsorción e isothermas de adsorción se sometieron a análisis de:

- a) Las biomasa filtrada y lavada de los procesos de biosorción se analizó por la técnica de Espectroscopia de IR (BRUKER TENSOR27), permitiendo comparar la presencia o ausencia de grupos funcionales en la biomasa antes y después del contacto con la solución de metal valor, indicando una posible interacción entre los grupos del biosorbente y la solución a tratar.
- b) Igualmente dichas biomazas fueron analizadas por equipo de Microscopia Electrónica de Barrido (JEOL JSM-7600F FEG-SEM), técnica de apoyo para identificar cambios morfológicos del biosorbente antes y después del contacto por medio de una micrografía, y mediante un microanálisis se detectó la presencia del metal valor removido por el microorganismo, análisis que también se realizó a las soluciones filtradas de dichos experimentos.
- c) A la par se realizó un análisis por microscopia electrónica de transmisión (Phillips TECNAI F20, 200 KeV) de la biomasa muerta y solución filtrada de estos experimentos para la corroboración de presencia de nanopartículas de oro y plata formadas.
- d) Para la determinación de las curvas de crecimiento, las soluciones fueron sometidas a sonicación en un baño ultrasónico BRANSON 5510 por periodo de 30-40 minutos, lo que permitió homogenizar la muestra, fraccionando los pellets, para su posterior medición en un espectrofotómetro equipo 52100 UV<sup>+</sup> Spectrophotometer UNICO<sup>®</sup> en la longitud de onda de 570 nm.
- e) Medición de concentraciones del metal valor en las soluciones que previamente estuvieron en contacto con la biomasa fúngica, por medio del método instrumental de absorción atómica (PERKIN ELMER 3100) en una longitud de onda de 338.3 para plata y 242.8 para la medición de oro.

## Capítulo IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se describen los resultados obtenidos conforme al diseño experimental propuesto en el presente proyecto.

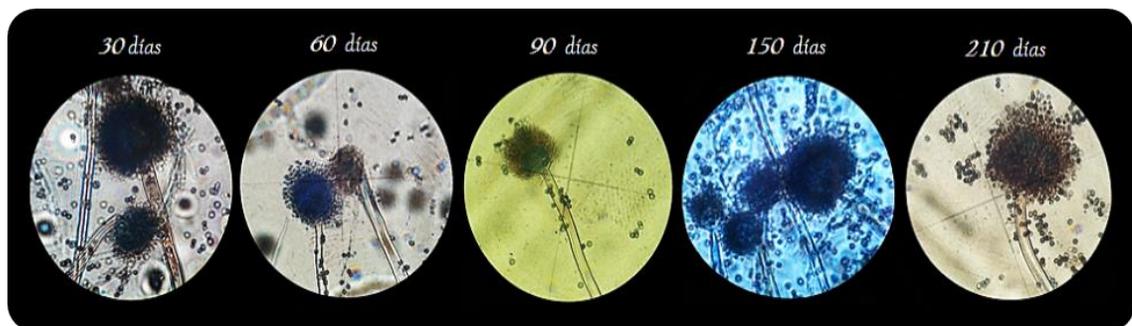
#### 2.1. Monitoreo y preservación de la cepa *Aspergillus niger* 16404.

- a) **Morfología macroscópica:** El monitoreo que se presenta en la tabla IV.1, no indica cambios en las características macroscópicas en un periodo de 210 días, por lo que se tiene una corroboración morfológica de la preservación de la cepa que se ejemplifica en la fig. 4.1.



**Figura 4.1.** Monitoreo morfológico a nivel macroscópico, izquierda cepa ATCC, centro anverso de la resiembra y derecho reverso de la resiembra en agar Papa dextrosa.

- b) **Morfología microscópica:** Las características microscópicas de la cepa de referencia se encuentran enlistadas en la tabla IV.2, denotando continuidad de dichas particularidades en un periodo de 210 días, una resiembra cada 30 días, datos obtenidos a partir del microcultivo realizado se observan en la fig. 4.2.



**Figura 4.2.** Estructura especializada del hongo *Aspergillus niger* 16404, en periodo de 210 días, característica morfológica obtenida por el método de microcultivo.

Tabla IV.1. Monitoreo macroscópico en 5 periodos de la cepa *Aspergillus niger* 16404.

Características macroscópicas del hongo	Cepa <i>Aspergillus niger</i> 16404	Monitoreo 30 días	Monitoreo 60 días	Monitoreo 90 días	Monitoreo 150 días	Monitoreo 210 días
Color	Anverso: blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
	Reverso: blanco con tonalidades negras	Blanco con tonalidades negras				
Superficie	Elevación: plana	Plana	Plana	Plana	Plana	Plana
	Diámetro: variable	Variable	Variable	Variable	Variable	Variable
	Relieve: sin pliegues	Sin pliegues				
Micelio	Presencia de micelio bien desarrollado	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
Aspecto	Algodonosa seca	Algodonosa seca	Algodonosa seca	Algodonosa seca	Algodonosa seca	Algodonosa seca

Tabla IV.2. Monitoreo microscópico en 5 periodos de la cepa *Aspergillus niger* 16404.

Características microscópicas del hongo	Cepa <i>Aspergillus niger</i> 16404	Monitoreo 30 días	Monitoreo 60 días	Monitoreo 90 días	Monitoreo 150 días	Monitoreo 210 días
Tipo de Hifa	Hialino/septada	Hialino/septada	Hialino/septada	Hialino/septada	Hialino/septada	Hialino/septada
Conidios	Microconidio redondos	Microconidios redondos	Microconidios redondos	Microconidios redondos	Microconidios redondos	Microconidios redondos
Esporas	Ausencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
Estructura especializada	Cabeza aspergillar Conidióforo largo					

## 2.2. Producción de biomasa fúngica.

La producción de biomasa se inició con una cepa salvaje o ambiental de *A. niger*, esta era inoculada directamente en el medio para su crecimiento, obteniendo poca cantidad de biomasa seca, generada tanto en caldo Sabouraud y caldo Papa dextrosa, por lo cual, se optó implementar microcultivos aumentando la descarga del microorganismo en el medio, lo cual denoto en el incremento de generación de biomasa seca, como se muestra en la tabla IV.3, proceso que se traslapo para generar biomasa de la cepa *Aspergillus niger* 16404, fig. 4.3.



**Figura 4.3.** Crecimiento de biomasa en caldo Sabouraud (izquierda) y caldo Papa Dextrosa (derecha).

La relación de crecimiento a partir de un inoculo y un microcultivo se diferencia notoriamente en la cantidad de biomasa obtenida, la primera corrida que se realizó con *Aspergillus niger* ambiental o cepa salvaje, la cantidad total de biomasa seca que se cultivó en seis matraces Erlenmeyer fue de 0.27 gramos, una cantidad depreciable comparada con la requerida para iniciar el proceso de Biosorción que desarrolla Mata y colaboradores, en este se partía de 1 gramo de masa seca del alga *Fucus vesiculosus* que era suspendida en 75 ml de solución con una concentración de Au(III) de 100 mg/l [39].

Por su parte Kwak y colaboradores realizaron una recuperación de oro por un método combinado de biosorción e incineración, para la biosorción, la biomasa de *C. glutamicum* se sometió a un proceso de modificación del cual partían de 2.5 g de biomasa en bruto y para el proceso de biosorción partían de 5 g/l de la biomasa modificada, representa una cantidad mayor de biomasa que la obtenida de la producción del presente trabajo [54].

Ping Xin Sheng y colaboradores [49], trabajaron en amplio rango de cantidad de biomasa del alga marina de color marrón *Sargassum*, 5, 10, 20 y 30 gramos por litro, implementadas para examinar las características de poli (alcohol vinílico) (PVA) criogel como una matriz de

inmovilización para la captación de cobre y se comparó con la biomasa suspendida libremente, partiendo de una concentración 0.5mmM aumentado durante el experimento a 1 mM y 2 mM. La biomasa fúngica implementada en los experimentos no fue modificada para ayudar a la captación del metal valor, debido a su costo, y el enfoque biotecnológico de implementar biomasa fúngica procedente de la industria, ni se implementaron cantidades mayores a 1 gramo, debido a que para la obtención de la biomasa pulverizada se requería procesarla por medio de mortero de porcelana siendo un trabajo extenuante y con gran pérdida de material. La utilización de los microcultivos denoto una mejora en la producción de biomasa húmeda y seca, se demuestra también la diferencia que existe entre la utilización de caldo Sabouraud y caldo Papa Dextrosa, siendo el primero más eficiente para la generación de biomasa, esto debido a que la relación de nutrientes presentes en 1 litro de caldo, es mayor en Sabouraud que en Papa Dextrosa y por lo tanto, es el que se implementó por el resto del presente trabajo para generación de crecimiento fúngico.

**Tabla IV.3.** Relación de aumento de producción de biomasa fúngica.

Matraz	1 corrida A. niger ambiental (inoculo)		2 corrida A. niger ambiental un microcultivo		1 corrida A. niger 16404 y 2 microcultivos		2 corrida A. niger 16404 de 3-4 microcultivos	
	Cado Sabouraud	Caldo Papa Dextrosa	Cado Sabouraud	Caldo Papa Dextrosa	Cado Sabouraud	Caldo Papa Dextrosa	Cado Sabouraud	Cado Sabouraud
1	BH=total	BH=total	BH=5.77	BH=1.35	BH=12.2	BH= 5.1	BH=46.01	BH=47.42
	BS=total	BS=total	BS=0.27	BS=0.10	BS=1.01	BS=0.25	BS=2.32	BS=2.4
2	BH=total	BH=total	BH=6.7	BH=1.64	BH=30.33	BH= 4.7	BH=26.12	BH=23.03
	BS=total	BS=total	BS=0.28	BS=0.13	BS=2.2	BS=0.24	BS=1.56	BS=1.59
3	BH=total	BH=total	BH=6.35	BH=2.03	BH=17.5	BH=2.01	BH=35.03	BH=32.2
	BS=total	BS=total	BS=0.28	BS=0.20	BS=0.93	BS=0.15	BS=1.78	BS=1.79
Total de Biomasa Húmeda (BH) g.	1.54	0.73	18.82	5.02	60.03	11.81	209.84	
Total de Biomasa seca (BS) g	0.2	0.07	0.83	0.43	4.14	0.64	11.44	

### 2.3. Cinética de crecimiento fúngico.

El crecimiento celular del hongo mostro las cuatro etapas de desarrollo, permitiendo identificar el momento de cambio de cada una de las fases en un tiempo de 60 horas para los procesos de cinética de sorción de oro y plata implementando un sistema de biomasa viva, las cuales se ilustran en la fig. 4.4.

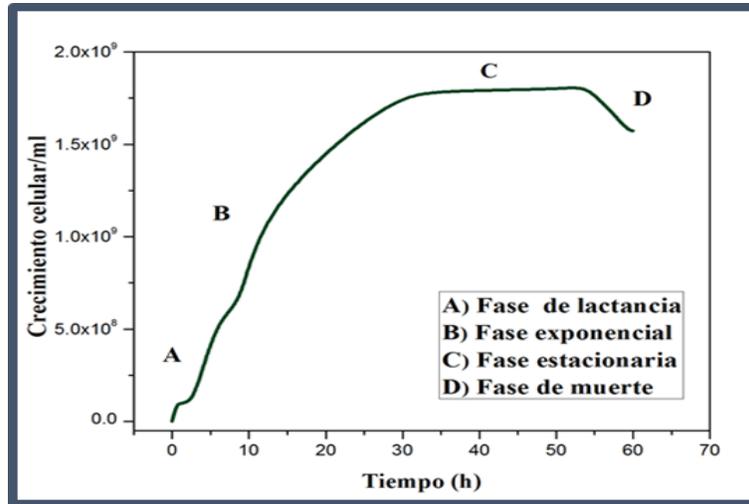


Figura 4.4. Curva de crecimiento Fúngico en medio Sabouraud.

De igual manera se calculó la cinética de crecimiento con la preparación del medio de cultivo en presencia de oro y plata a una concentración de 3 ppm, dicha curva de cinética se observa en la fig. 4.5, denotando un ligero aumento de crecimiento en presencia de plata.

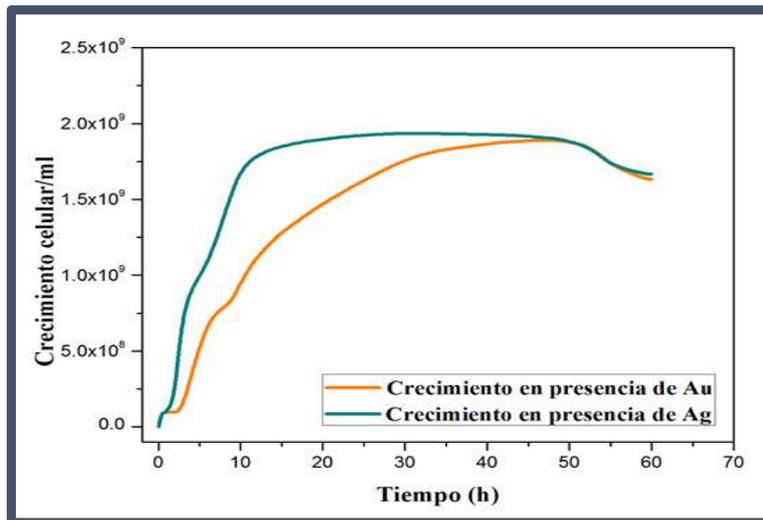
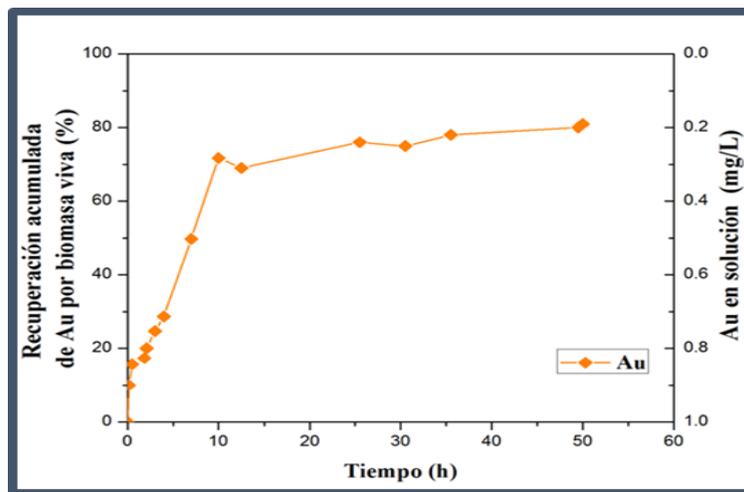


Figura 4.5. Efecto del Au y Ag en el crecimiento fúngico.

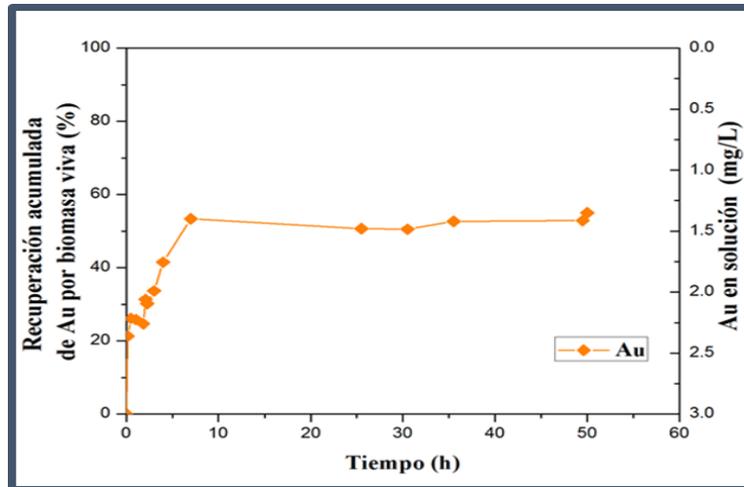
## 2.4. Cinética de biosorción de oro y plata, sistema biomasa viva.

La fig. 4.6 muestra los resultados obtenidos de los experimentos de cinética de absorción de oro a una concentración de 1ppm, con biomasa del hongo *Aspergillus niger* como sistema vivo. De acuerdo a la curva de remoción de oro, se observa un comportamiento de incremento rápido de retención del metal en las primeras 13 horas de contacto, seguido de una serie de fluctuaciones que concuerdan con el inicio de la fase estacionaria de la cinética de crecimiento del microorganismo. Posteriormente, existe un aumento de remoción de una manera lenta, alcanzando el equilibrio aproximadamente entre 33 y 40 horas del proceso de contacto, obteniendo un 71% de recuperación del metal siendo el microorganismo encontrado en la fase de muerte del proceso de crecimiento, denotando que la remoción continua pero ya no compete a un sistema de biomasa viva.



**Figura 4.6.** Cinética de remoción de Au por la biomasa de *Aspergillus niger* viva con una concentración de 1ppm inicial.

De igual manera la fig. 4.7 muestra el proceso de remoción de oro partiendo de una concentración inicial de 3 ppm, observado que a un tiempo menor a 10 horas el experimento presenta un aumento de la remoción de oro, concordando con la fase más activa del crecimiento del microorganismo, más sin embargo, en comparativo con una concentración menor, el porcentaje de recuperación es 71% superando y 50% obtenido en el presente sistema, denotando un cambio que se atribuye al aumento de concentración de oro en contacto con el sistema vivo. El cambio a fase estacionaria del microorganismo, no muestra fluctuaciones en la remoción, como lo presenta el sistema a 1 ppm, el comportamiento de la cinética es una remoción continua localizando el tiempo de equilibrio en el intervalo de 30 a 35 horas.



**Figura 4.7.** Cinética de remoción de Au por la biomasa de *Aspergillus niger* viva con una concentración de 3 ppm inicial.

La fig. 4.8 presenta la micrografía a una magnificación de 500x y 1500x, en el modo de electrones secundarios, la micrografía A) y B) representan la biomasa de *Aspergillus niger* sin contacto con el metal valor, mostrando una superficie granular semi uniforme que posterior al contacto con oro pierde la definición y existe una fusión de la biomasa denotando un cambio en la morfología, lo que se visualiza en la micrografía C) y D), atribuyéndolo a una respuesta de toxicidad que conduce a la formación de grandes gránulos en comparación a las condiciones de control, pudiendo presentar filamentos rotos y una mayor anchura de las hifas [60]. La fig. 4.9 muestra el análisis químico puntual por EDS de zona marcada de la micrografía B) que indica una composición a base de carbono, fósforo, nitrógeno, oxígeno y azufre, componentes base de una molécula biológica perteneciente a un organismo vivo, el cobre presente es composición del portamuestras.

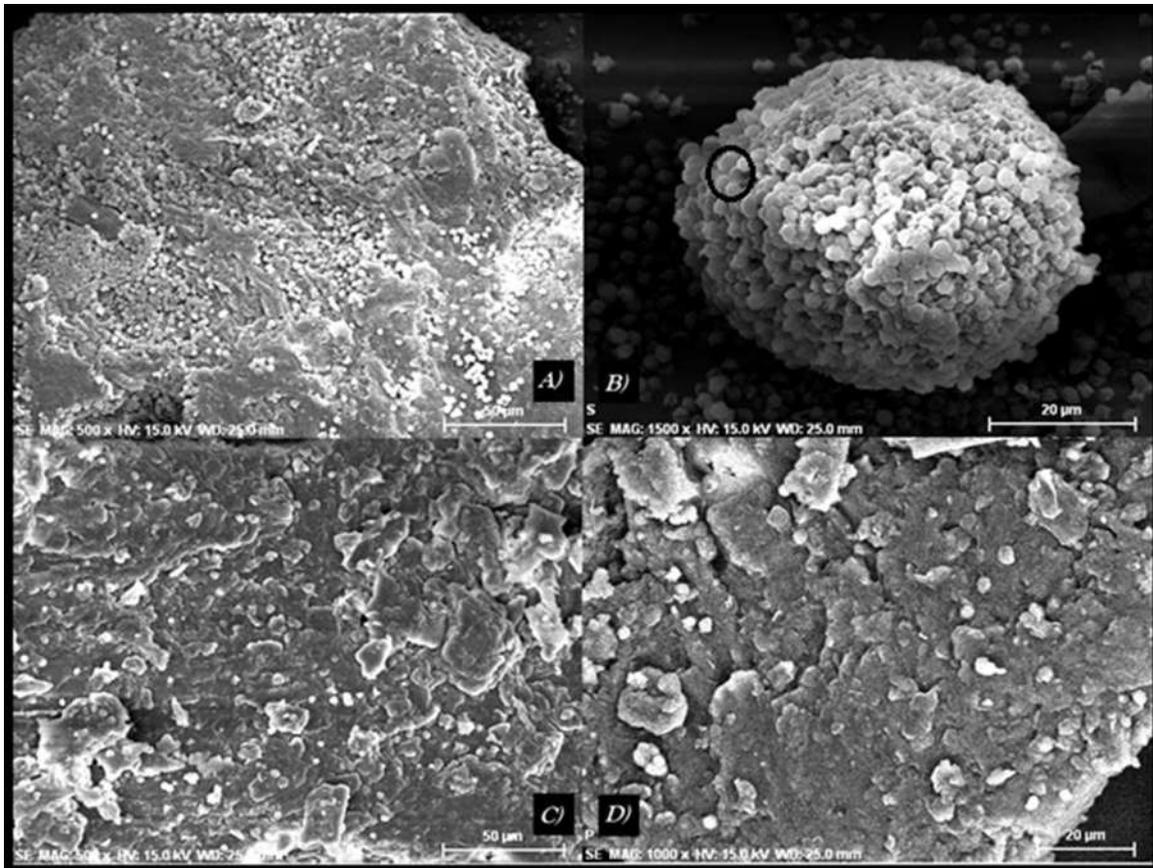


Figura 4.8. Micrografías A) y B) biomasa fúngica de la cepa de *Aspergillus niger*. C) y D) biomasa fúngica posterior al contacto con Au.

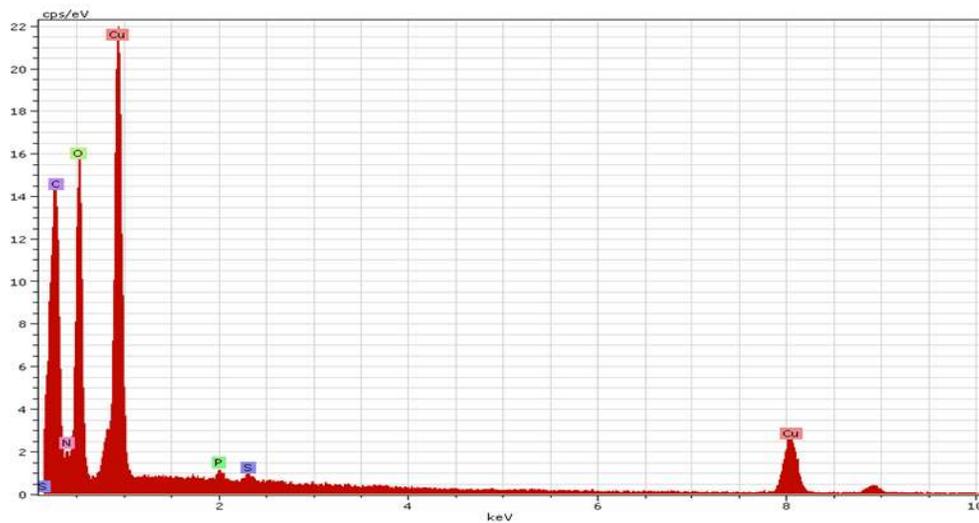


Figura 4.9. Análisis químico por EDS de la micrografía B), de la figura 4.8.

La fig. 4.10 muestra los espectros de biomasa fúngica sin y con contacto de oro, se presentan diversos grupos funcionales pertenecientes a la membrana celular del hongo, entre ellos se observa una banda ancha característica del grupo O-H en 3000-3700  $\text{cm}^{-1}$  la cual no presenta un cambio aparente, la zona de 2800 a 3050  $\text{cm}^{-1}$  se encuentran las bandas correspondientes a grupos de  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$ , dicha región es atribuida por lo general a la adsorción de cadenas de ácidos grasos de las membranas y fosfolípidos o la presencia de algunos aminoácidos y carbohidratos [56] atribuyéndolo a los nutrientes propiciados por el medio de cultivo del microorganismo. En la zona de entre 1800 y 1500  $\text{cm}^{-1}$ , se distinguen 3 bandas principales, 1745, 1650 y 1542  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a ésteres, amida I y amida II, respectivamente. La banda amida I (1700-1600  $\text{cm}^{-1}$ ) corresponde al estiramiento del grupo C=O indicando quitina [41] y atribuible al enlace peptídico. La desaparición de la banda de 1744 atribuible al grupo carboxilo delimita el rompimiento de la cadena de glicoproteínas presentes en la membrana celular posibilitando la adhesión del oro.

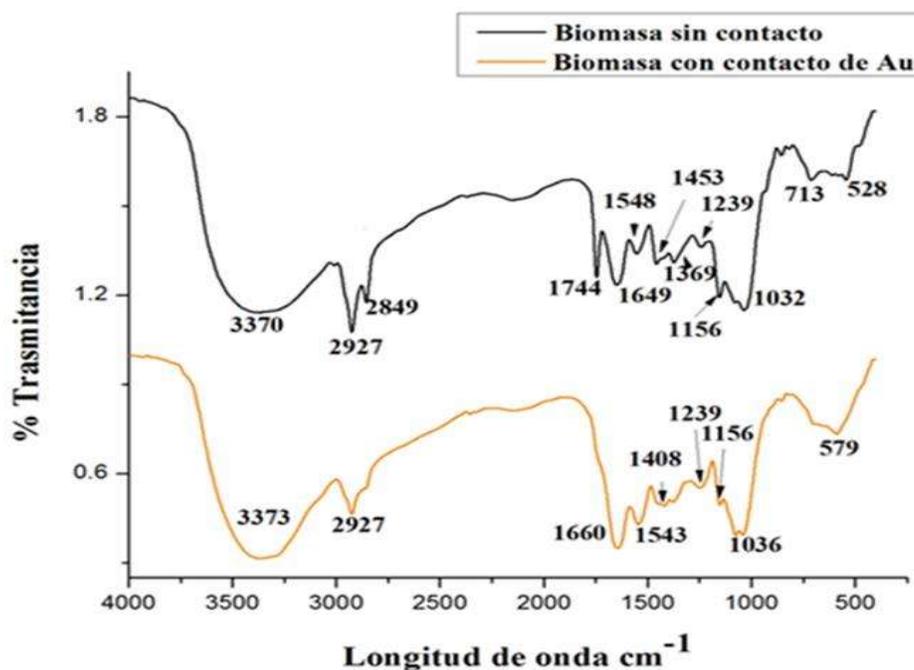


Figura 4.10. Espectro de infrarrojo de la biomasa de *Aspergillus niger* y biomasa fúngica con contacto de Au en solución.

La capacidad de biosorción de *Aspergillus niger* como un sistema vivo fue implementada de igual manera para la remoción de plata a concentraciones de 1 y 3 ppm, resultados de dichos experimentos se muestran en la fig. 4.11 y fig. 4.12, observándose un comportamiento inverso a lo obtenido en el proceso de remoción de oro. A concentraciones menores la conducta del sistema vivo denota una pasividad en la remoción del metal obteniendo que el tiempo en equilibrio es menor a 15 horas, el cual indica que el sistema no presenta cambios en el incremento de la remoción, situación inversa se presentó en el proceso de remoción de oro con respecto al tiempo a concentración de 1 ppm, siendo un sistema activo con elevado porcentaje de remoción. A concentraciones de 3 ppm de plata las primeras 13 horas del experimento se muestran un aumento de la remoción del metal, posteriormente el proceso ocurre de manera más lenta llegando al tiempo de equilibrio de 10 a 25 horas.

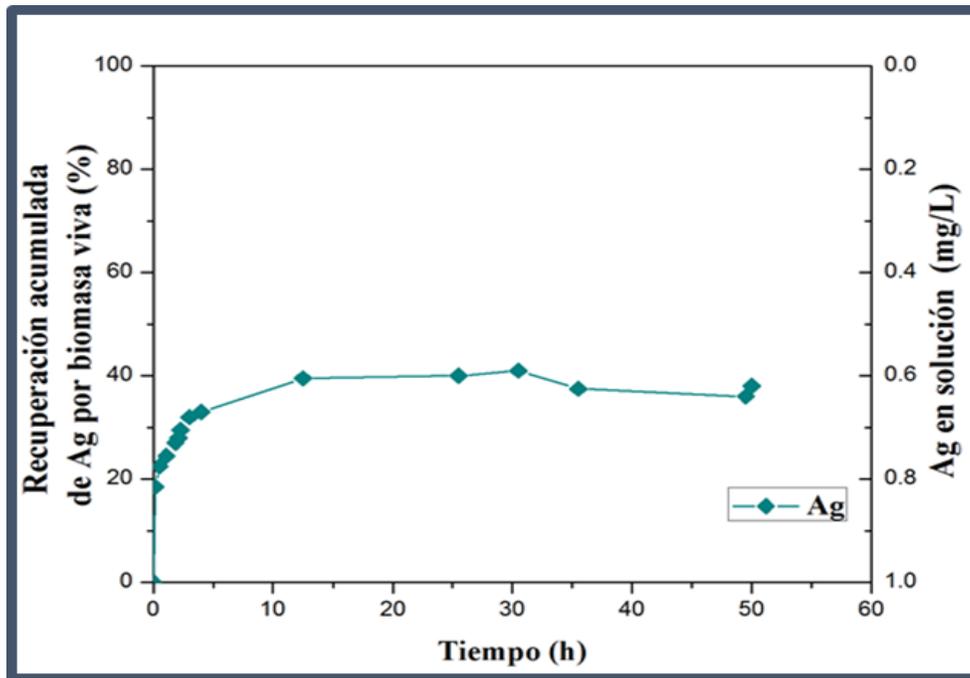


Figura 4.11. Cinética de remoción de Ag por la biomasa de *Aspergillus niger* viva con una concentración de 1 ppm inicial.

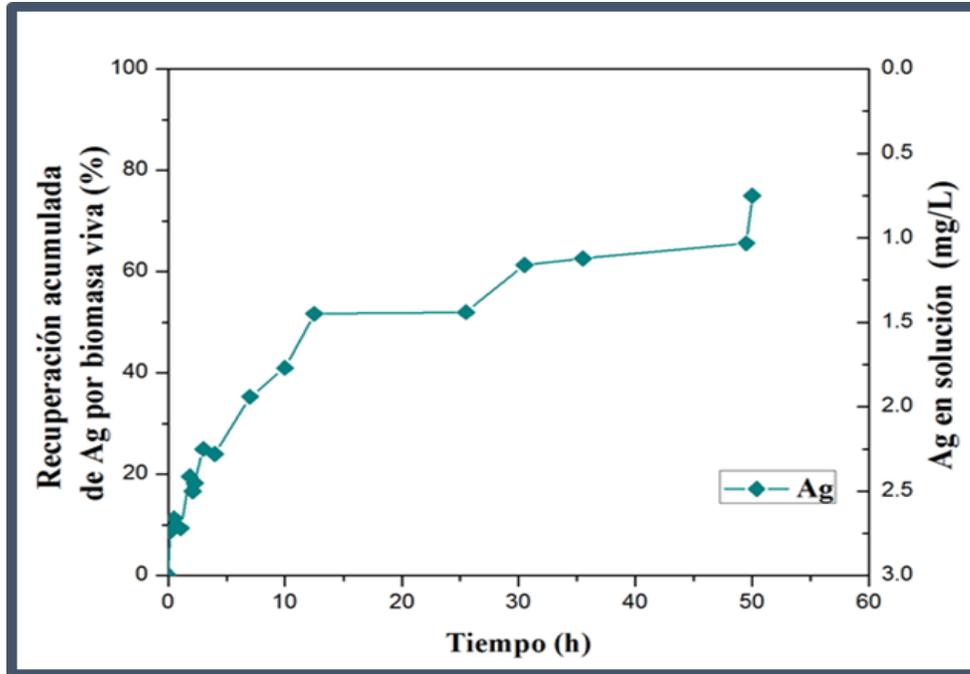


Figura 4.12. Cinética de remoción de Ag por la biomasa de *Aspergillus niger* viva con una concentración de 3 ppm inicial.

La tabla IV.4 indica los datos de máxima remoción ( $q_t$ ) de oro y plata para concentraciones de 1 ppm y 3 ppm implementando biomasa viva bajo estas condiciones experimentales, denotando valores dispersos para cada sistema de recuperación del metal valor, con similitud en concentraciones 3 ppm, más sin embargo, los sistemas con mayor porcentaje fue de 1ppm de oro.

Tabla IV.4. Datos experimentales de la cinética en un sistema con biomasa viva

Sistema	Biomasa en contacto (g)	$q_t$ (mg/g)	% de recuperación	Tiempo (h)
Au 1 ppm	1.794	0.1913	71	12.5
Au 3 ppm	1.564	0.5114	53.33	7
Ag 1 ppm	1.595	0.1237	39.5	12.5
Ag 3 ppm	1.695	0.4572	51.66	12.5

Los datos obtenidos en cinética de sorción implementando biomas viva denoto que el sistema continua recuperando el metal valor aunque el microorganismo no realice actividad metabólica, dato presente en los cuatro sistemas de cinética, por lo cual la experimentación se

traslapo a las mismas condiciones pero implementando un sistema de biomasa muerta para el proceso de remoción de oro y plata.

## 2.5. Cinética de biosorción de oro y plata, sistemas biomasa muerta.

En la fig. 4.13 se observa los resultados de interacción entre biomasa pulverizada del hongo *Aspergillus niger* y una solución de oro a una concentración de 1 ppm por un periodo de tiempo, denotando una rapidez de remoción del metal menor a 30 minutos de contacto, seguida de una etapa pasiva y de retención continua dando una recuperación arriba del 90%. Logrando el tiempo de equilibrio entre 10 y 15 horas, un periodo de tiempo menor que el obtenido en el sistema de contacto con biomasa viva. De igual manera la observación del comportamiento del sistema de biomasa muerta con la interacción de una solución de oro a una concentración de 3 ppm se muestra en la fig. 4.14 que denota conducta similar al sistema de oro a una concentración de 1 ppm, una rapidez en la remoción alcanzando un 80% en un tiempo menor a 30 minutos, continuando sin cambios significativos durante la recuperación del metal, teniendo un tiempo de equilibrio menor a 10 horas. El sistema de biomasa pulverizada en contacto con una solución a 1 ppm y 3 ppm de oro en un periodo de tiempo tuvo un comportamiento semejante de recuperación.

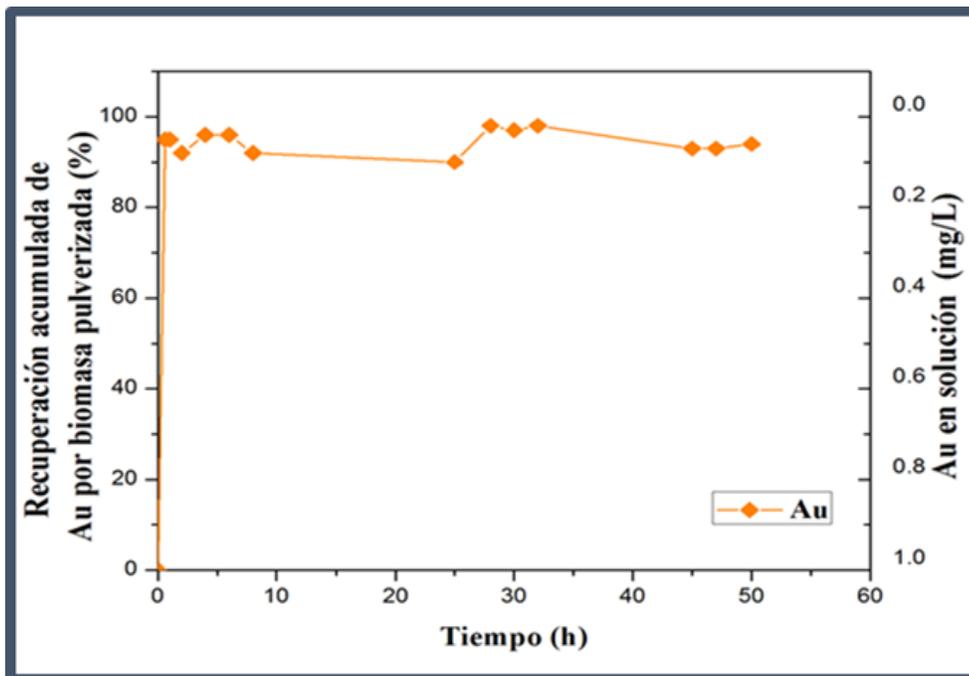
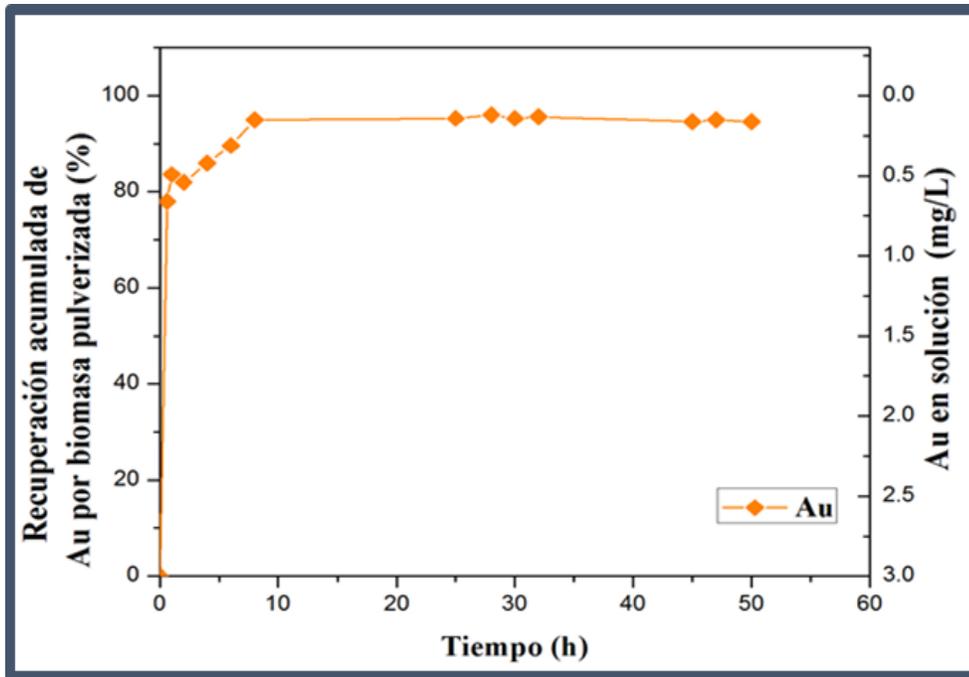


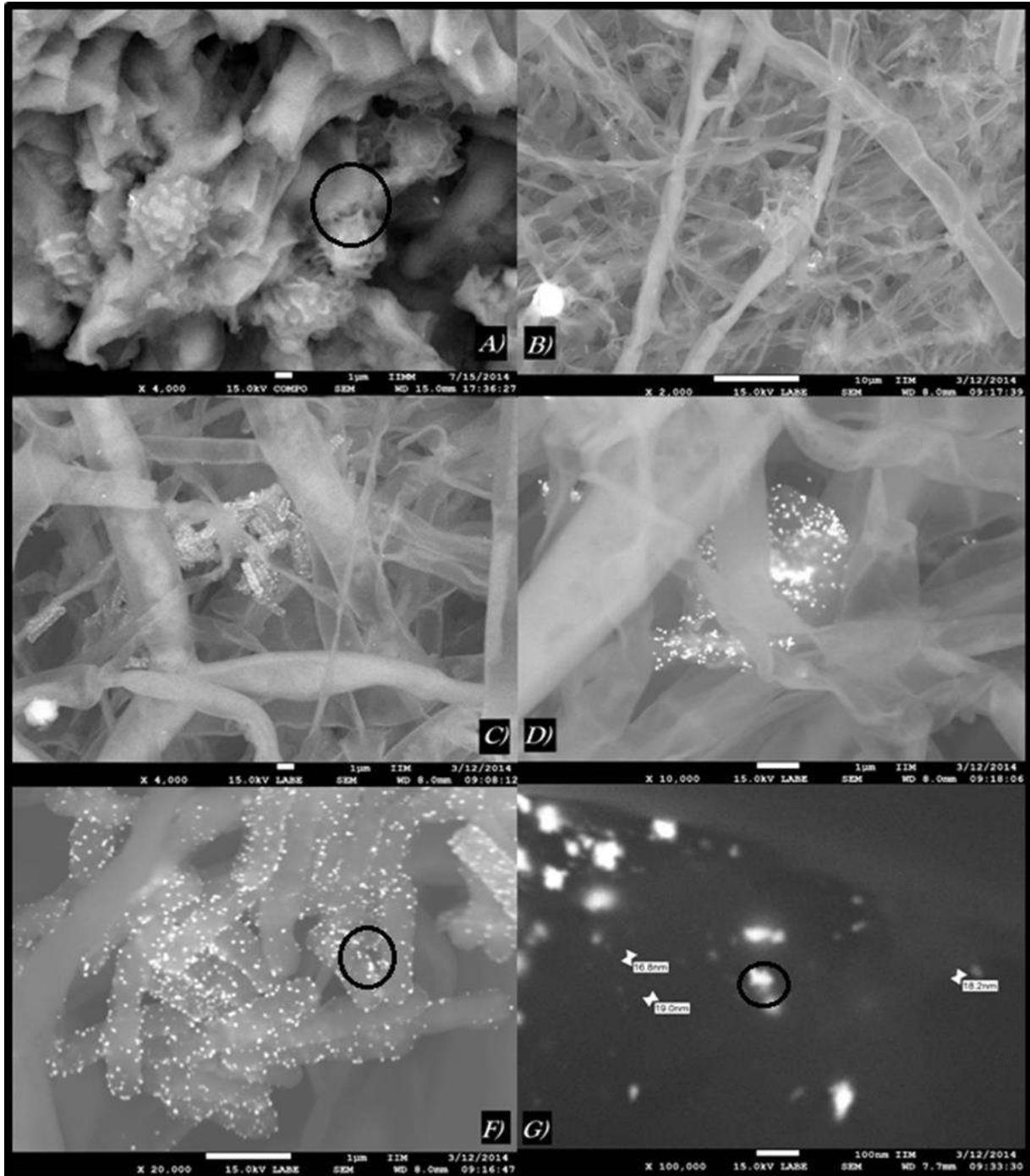
Figura 4.13. Cinética de remoción de Au por la biomasa de *Aspergillus niger* muerta pulverizada con una concentración de 1 ppm inicial



**Figura 4.14.** Cinética de remoción de Au por la biomasa de *Aspergillus niger* muerta pulverizada con una concentración de 3ppm inicial.

La fig. 4.15 muestra un conjunto de micrografías obtenidas a modo de electrones retrodispersados, la micrografía A) es una ampliación de 4000x que muestra la superficie y estructura de la biomasa pulverizada sin ningún contacto con el metal valor denotando la presencia de esporas, la micrografía B) presenta una ampliación de 2000x en la cual se observa la estructura característica del microorganismo que es la presencia de hifas, aunado a la aparición de partículas inmersas en el agregado o cumulo de hifas. Las micrografías C), D) y F) muestran micrografías a ampliaciones de 4000x, 10,000x y 20,000x, respectivamente, las cuales se enfocan en resaltar la presencia de partículas inmersas en la biomasa pulverizada, en la micrografía D) se aprecia una supuesta adherencia de dichas partículas a la estructura de la hifa, la micrografía G) muestra una ampliación de 100,000x permitiendo la medición de dichas partículas oscilando en tamaños de 16.8, 18.2 y 19 nm. La fig. 4.16 presenta un EDS realizado a la micrografía A) de la fig. 4.15 realizado de manera puntual en la zona marcada, acentúa la composición a base de carbono, oxígeno, fósforo etc., presente en una estructura orgánica, la fig. 4.17 presenta un análisis químico ejecutado en la zona marcada de la micrografía (fig. 4.15 F), muestra nuevamente la presencia de carbono característica del microorganismo y oro que es atribuible a las partículas que cubren a las hifas. El análisis químico por EDS fig. 4.18 en la zona marcada en la micrografía G)

de la fig. 4.15, presenta señales intensas de oro intensas, constatando que las partículas dispersas sobre en la estructura de *Aspergillus niger* pertenecen a dicho metal.



**Figura 4.15-** Micrografías A) biomasa fúngica de la cepa de *Aspergillus niger*, B) C) y D) biomasa fúngica pulverizada posterior al contacto con Au, F) y G) partículas de oro en un sistema de una concentración de 3 ppm.

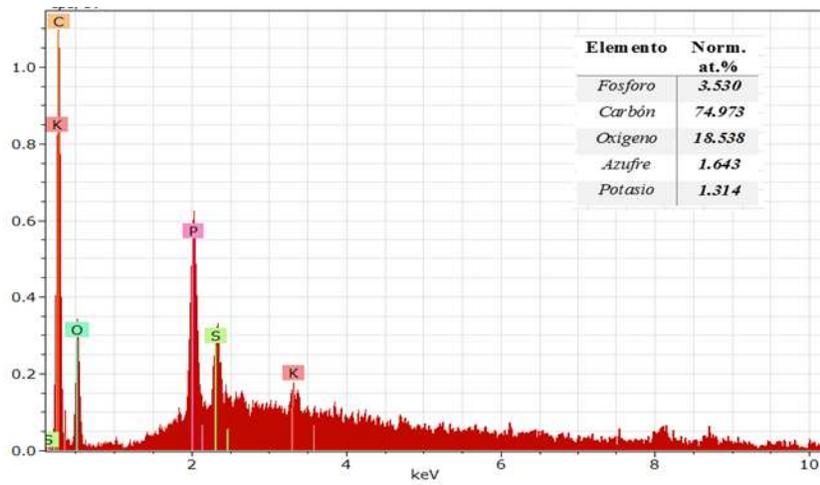


Figura 4.16. Análisis químico por EDS correspondiente a la micrografía A), de la figura 4.15

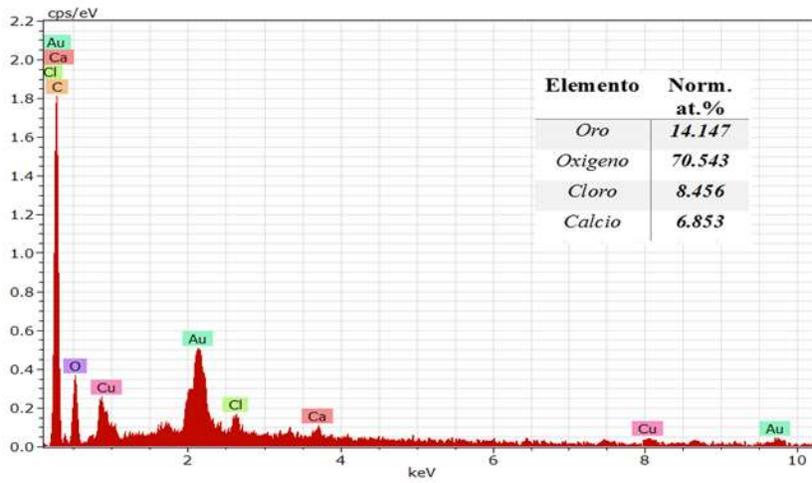


Figura 4.17. Análisis químico por EDS correspondiente a la micrografía F), de la figura 4.15

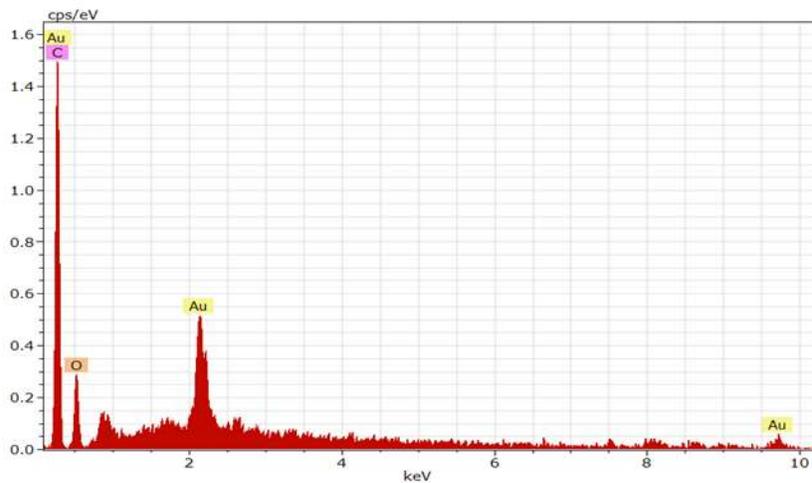


Figura 4.18. Análisis químico por EDS correspondiente a la micrografía G), de la figura 4.15

Los resultados obtenidos de la cinética de sorción de plata se observan en las gráficas 4.19 y 4.20, donde se muestran que el proceso de recuperación fue de manera rápida en un tiempo menor a las primeras 5 horas, seguido de comportamiento continuo obteniendo recuperación del 100% en ambos experimentos, el tiempo de equilibrio se encontró menor a 10 horas de contacto.

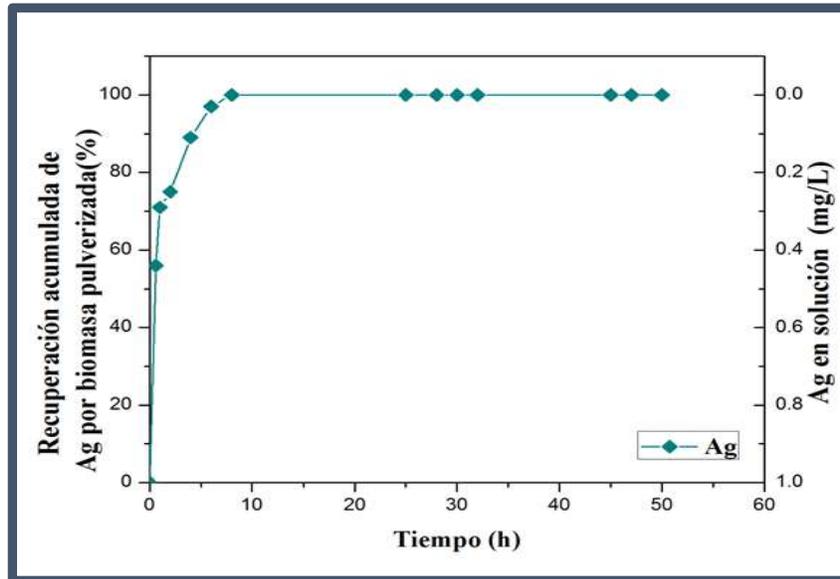


Figura 4.19. Cinética de remoción de Ag por la biomasa de *Aspergillus niger* muerta pulverizada con una concentración de 1 ppm inicial.

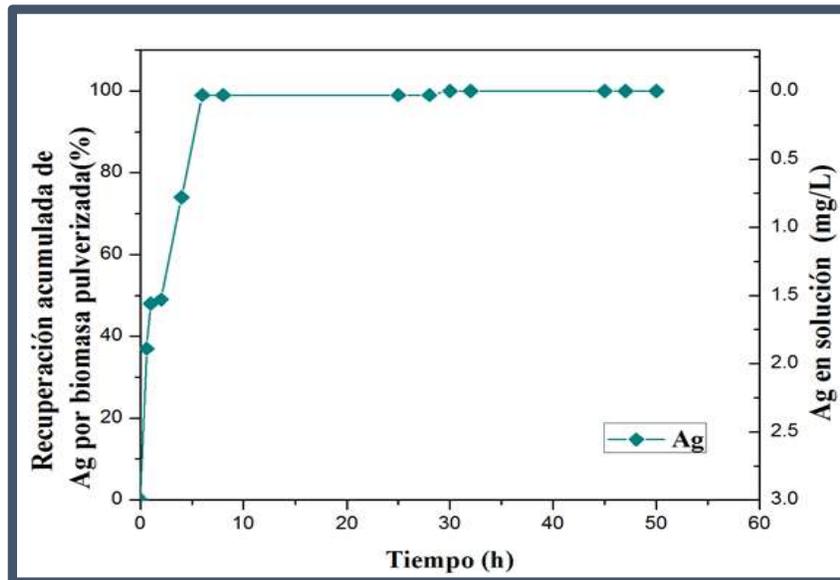


Figura 4.20. Cinética de remoción de Ag por la biomasa de *Aspergillus niger* muerta pulverizada con una concentración de 3 ppm inicial.

Las cinéticas de sorción implementando biomasa pulverizada para sistemas de oro y plata presentaron coloración azulada, aunado a una compactación de la biomasa pulverizada dando la formación de esferas de dicho material y agregados, lo cual se observa en la fig. 4.21.



**Figura 4.21.** Agregado de biomasa en sistema de Au (izquierda) solución filtrada de plata (centro) agregado de biomasa sistema de Ag (derecha).

De igual manera se analizaron mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido la biomasa que interactuó con solución de plata a una concentración de 3 ppm, la figura 4.22 muestra las micrografías pertenecientes a dicha cinética, la micrografía A) es a una amplificación de 4000x obtenida en modo de electrones secundarios de bajo ángulo (LEI), observando la morfología del hongo identificando la presencia de esporas, la micrografía B) es una amplificación de 250x mostrando la morfología del hongo *Aspergillus niger*, constituido por filamentos de tipo tubular. La micrografías C) y D) son a una amplificaciones de 7,000x y 20,000x, respectivamente, en las cuales se aprecia la aparición de partículas dispersas en los filamentos celulares, se realizó un análisis químico por EDS en la zona marcada, a la micrografía D) de la fig. 4.22 presente en la fig. 4.23, el cual indica la presencia de plata en la muestra aunado a componentes propios del microorganismo como carbón, oxígeno azufre etc.

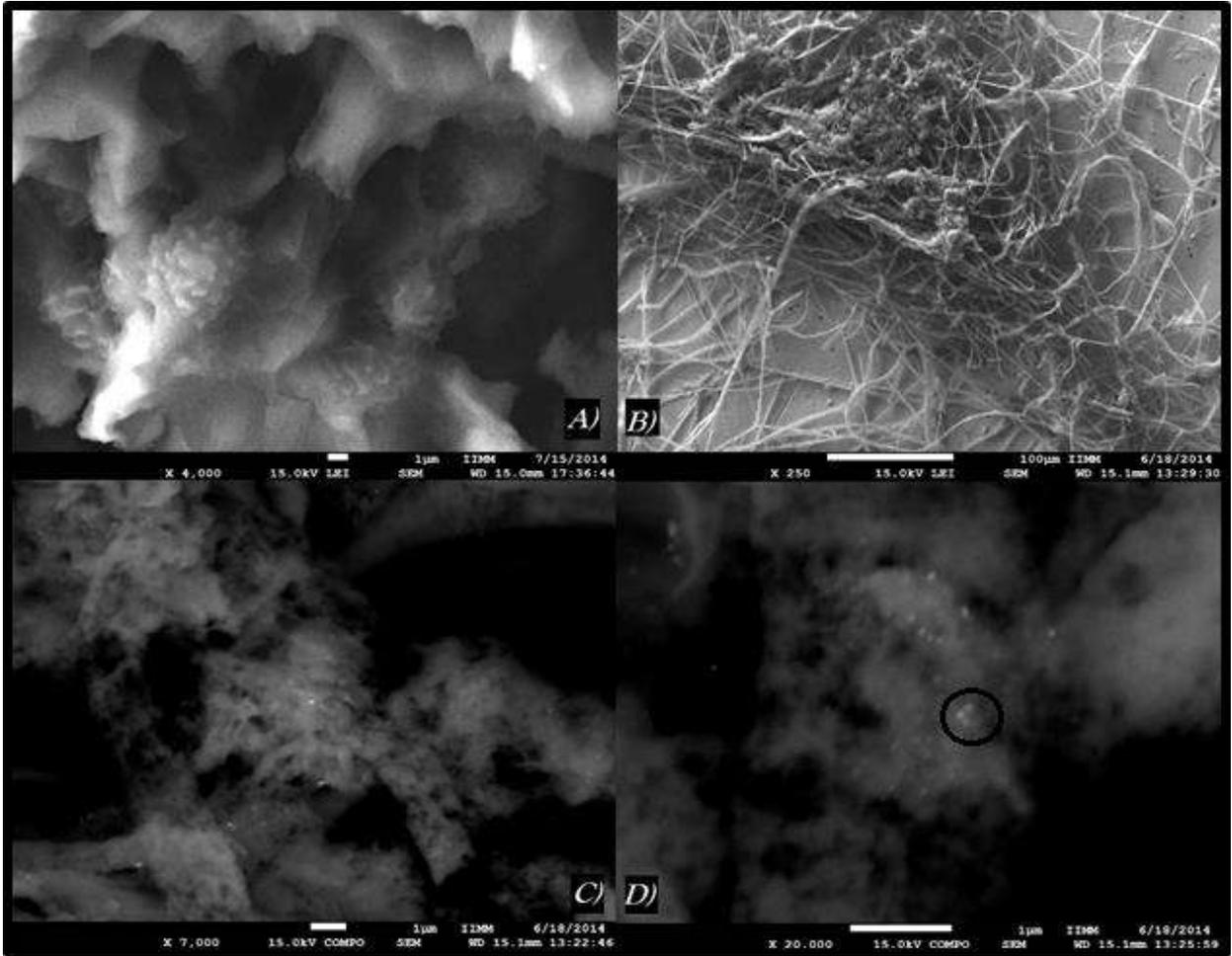


Figura 4.22. Micrografías A) biomasa fúngica de la cepa de *Aspergillus niger*, B) C) y D) biomasa fúngica pulverizada posterior al contacto con Ag en sistema a una concentración de 3ppm

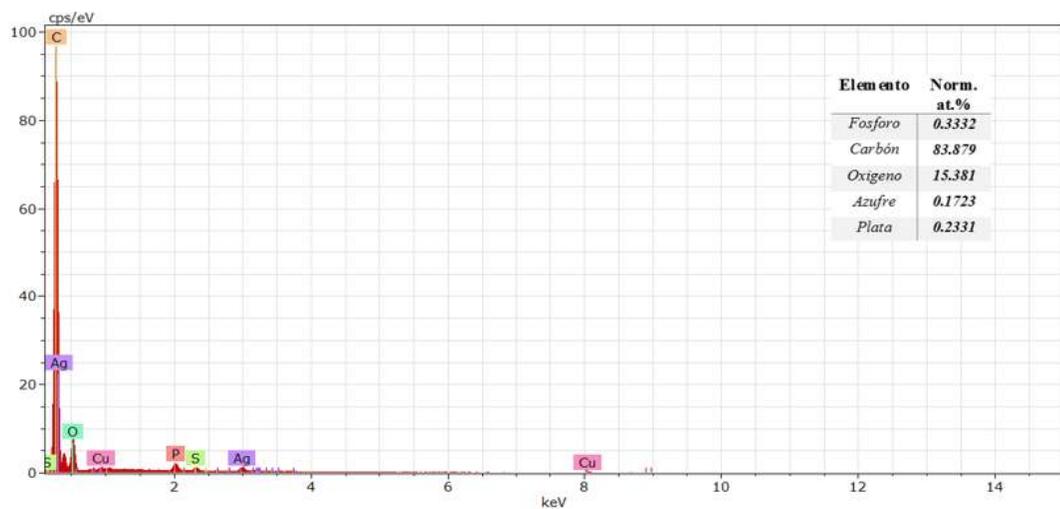


Figura 4.23. Análisis químico por EDS micrografía D) de la figura 4.24.

Los experimentos de cinética de sorción de oro y plata implementando biomasa muerta pulverizada, denoto eficiencia para la remoción de dichos metales, obteniendo porcentajes de hasta el 100% de retención, que en comparativo con los sistemas de cinética implementado biomasa viva fueron del 71% y porcentajes menores, aunado a que dicho sistema posee ventajas en comparativo con el sistema de biomasa viva, ejemplo de ello es innecesario la aplicación de temperatura, el monitoreo y muestre es más simple debido a que no se corre el riesgo de contaminación con un microorganismo ambiental, y la recuperación es simple sin necesidad de una esterilización al final de proceso de remoción.

La tabla IV.5 muestra datos obtenidos durante la cinética de sorción utilizando biomas pulverizada, dichos datos indican un comportamiento similar de remoción de oro y plata por encima de 95%, en un tiempo de aproximadamente 8 horas, siendo de manera presuntiva de decir que el sistema de biomas pulverizada supero al sistema de biomasa viva, esto se determinó por medio de los isotermas de adsorción.

**Tabla IV.5- Datos experimentales de la cinética con sistema biomasa pulverizada**

<i>Sistema</i>	<i>Biomasa en contacto (g)</i>	<i>q<sub>t</sub> (mg/g)</i>	<i>% de recuperación</i>	<i>Tiempo (h)</i>
<i>Au 1 ppm</i>	1	0.476	95	1
<i>Au 3 ppm</i>	1	1.43	95	8
<i>Ag 1 ppm</i>	1	0.5	100	8
<i>Ag 3 ppm</i>	1	1.145	99	8

## **2.6. Cinética de biosorción de oro y plata, sistema biomasa muerta en forma de pellets.**

La cinética de sorción utilizando biomasa pulverizada mostro efectividad en la recuperación de oro y plata, aunado a ciertas ventajas que posee en comparación con la experimentación que implemento biomasa viva del hongo, más sim embargo la dificultad se presentó debido a la cantidad de biomas pulverizada que se sometió a contacto que fue de 1 gramo, el conflicto residió en la recuperación de dicha biomasa ya que por su tamaño era factible su perdida durante el

filtrado. Debido a ello se dio la alternativa de recurrir al uso de biomasa muerta en forma de pellets, dicho sistema de igual manera se realizó la cinética de sorción de oro y plata a 1ppm y 3ppm.

La figura 4.24 y 4.25 muestran los resultados obtenidos en la experimentación de la cinética de sorción de oro con biomasa en forma de pellets, siendo observada una curva de remoción en aumento en un tiempo menor a 10 horas con 67 % de recuperación para la cinética de concentración de 1 ppm de oro, y obteniendo un tiempo de equilibrio entre 20 y 30 horas. Para el sistema a 3ppm de oro el comportamiento del proceso de cinética mostro de igual manera un aumento de recuperación inmediata en las primeras 5 horas de experimentación con una retención del 80% y obteniendo un tiempo de equilibrio de menor a 15 horas.

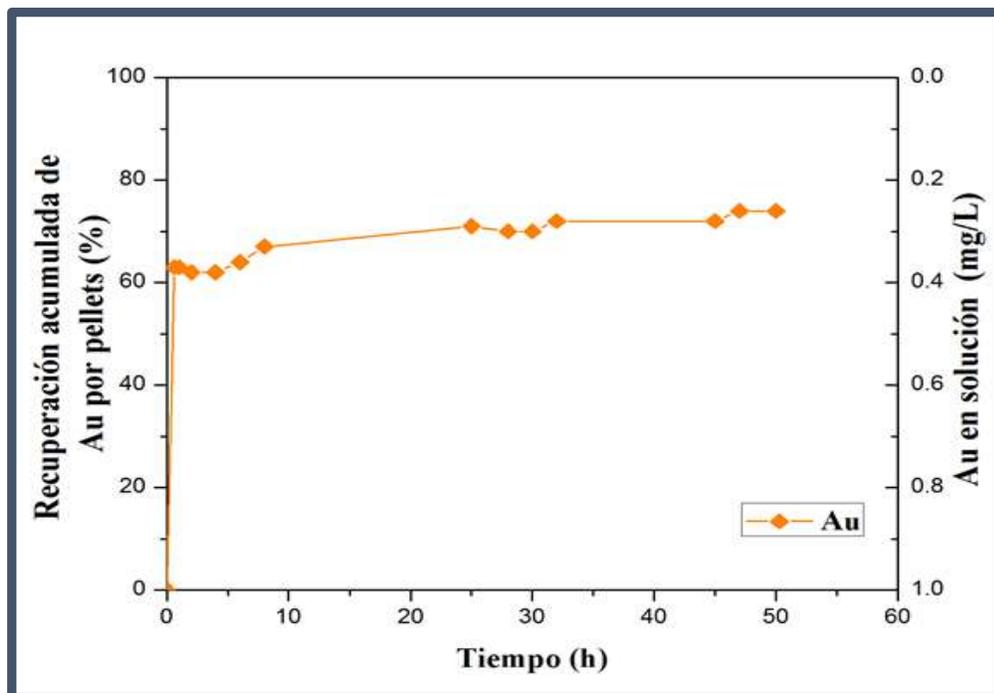
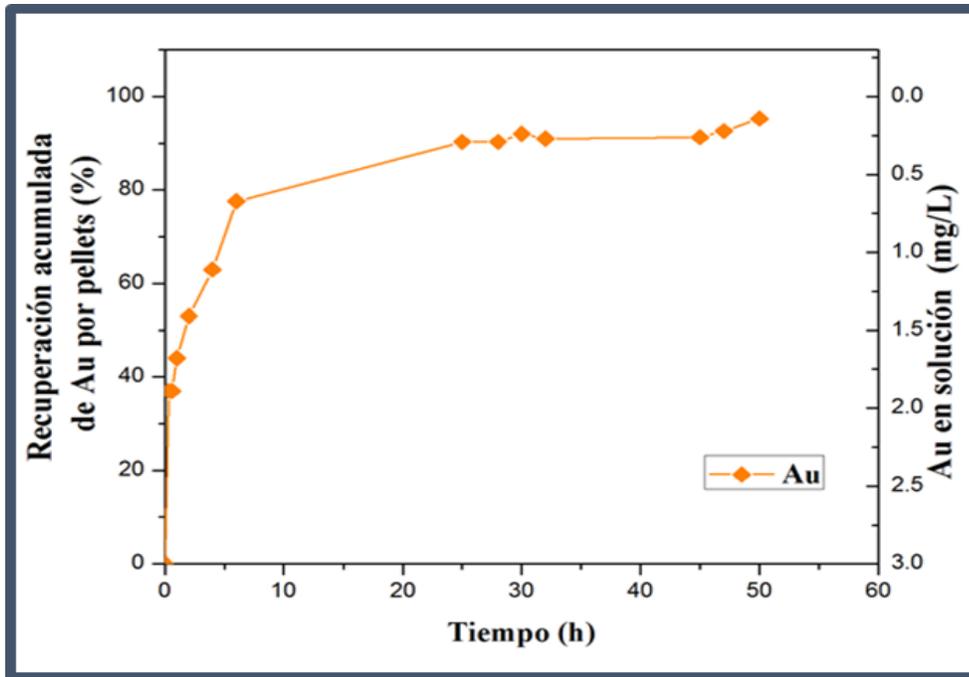
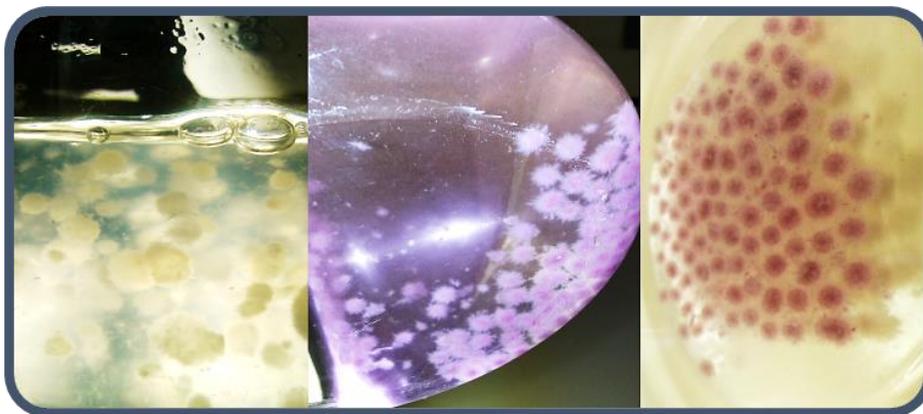


Figura 4.24. Cinética de remoción de Au por biomasa de la *Aspergillus niger* muerta en forma de pellets con una concentración de 1 ppm inicial.



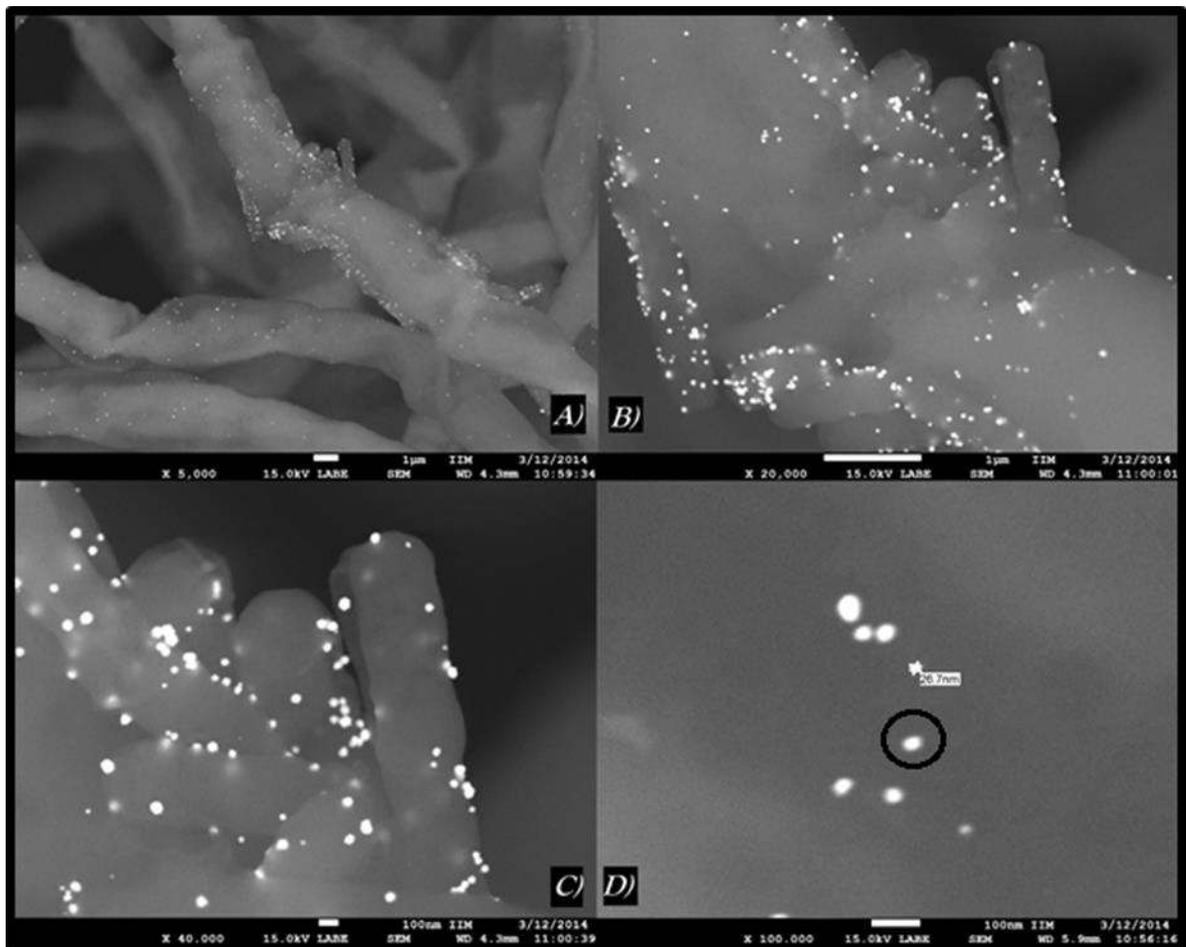
**Figura 4.25.** Cinética de remoción de Au por biomasa de la *Aspergillus niger* muerta en forma de pellets con una concentración de 3 ppm inicial.

En la serie de experimentos de interacción entre la biomasa en forma de pellets y las soluciones de oro y plata se observó la aparición de una coloración violeta y purpura en las soluciones, los pellets se tiñeron de dicha coloración lo cual se visualiza en figura 4.26, esto llevando a cabo posterior al tiempo de contacto. Se atribuye a la resonancia del plasmón superficial el cual es un fenómeno electromagnético que cuando se desplaza a longitudes de ondas mayores presenta cambios de coloración [64].

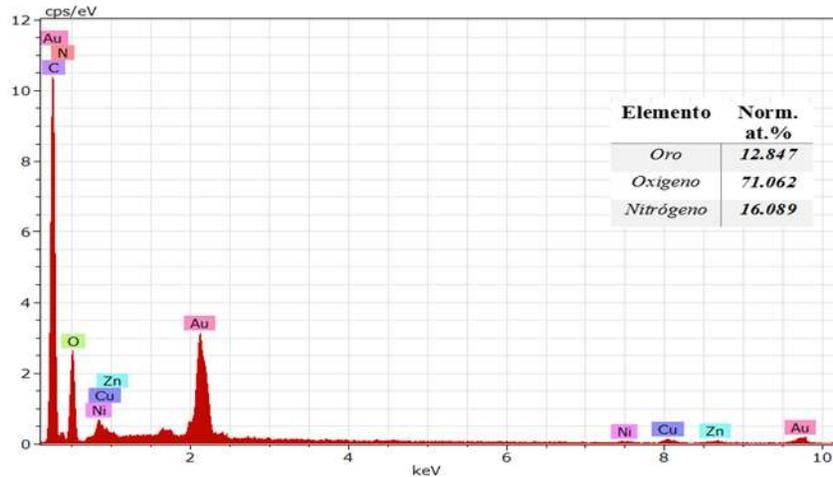


**Figura 4.26.** Pellets naturales (izquierda), pellets en contacto con solución de oro 3 ppm (centro y derecha)

La técnica de microscopía electrónica de barrido permitió el análisis de la biomasa en forma de pellets que interactuó con solución de oro a una concentración de 1 ppm, la fig. 4.27 muestra las micrografías pertenecientes a dicha cinética, la micrografía A) es una amplificación de 5000 x obtenida en modo de electrones retrodispersados, se observa la morfología del hongo identificando la presencia de hifas y presencia de partículas la micrografía B) es una amplificación de 20,000 x mostrando a mayor detalle las partículas presuntamente adheridas a la superficie de la hifa. La micrografía C) es una micrografía con una amplificación de 40,000 x que permite una mejor visualización de las partículas presentes en la micrografía D) es una amplificación a 100,000 x con la cual se realizó la medición del tamaño de una de las partículas que fue de 26.7 nm, de la zona marcada de esta micrografía se hizo un análisis químico por EDS el cual presento señales correspondientes a la presencia de oro lo que se aprecie en la fig. 4.28.



**Figura 4.27.** Micrografías A), B) y C) biomasa fúngica en forma de pellets posterior al contacto con Au D) partícula de oro en un sistema a una concentración de 1 ppm.

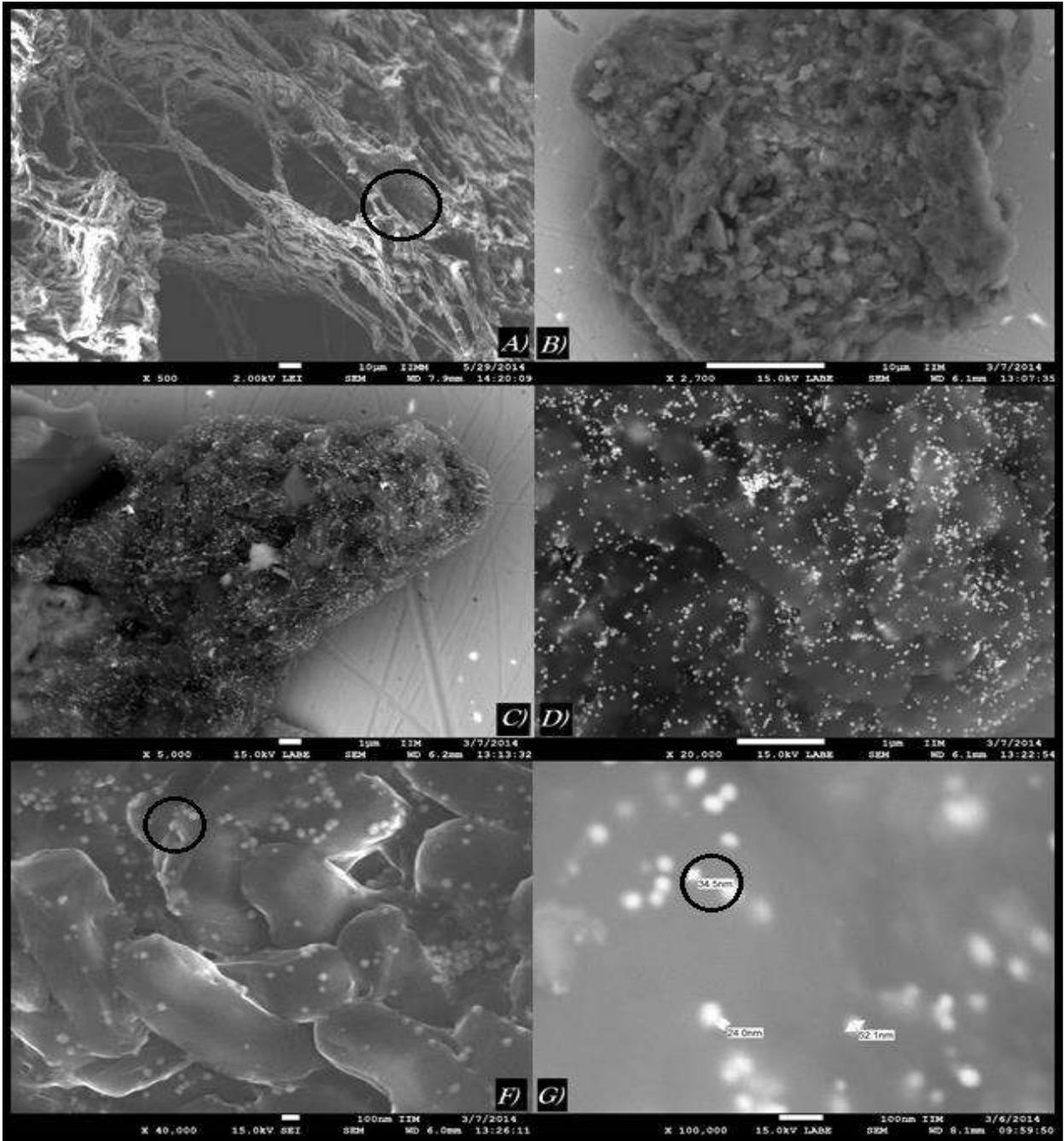


**Figura 4.28.** Análisis químico por EDS de la micrografía D), de la figura 4.27.

La fig.4.29 muestra un conjunto de micrografías pertenecientes a la cinética de remoción de oro a una concentración de 3 ppm, la micrografía A) es una ampliación de 500x obtenida a modo de electrones secundarios de bajo ángulo (LEI) que muestra la superficie y estructura de la biomasa en forma de pellets sin ningún contacto con el metal valor denotando la presencia de estructura de filamentos o hifas propias del hongo, la micrografía B) presenta una ampliación de 2700x obtenida a modo de electrones retrodispersados presentado la biomasa obtenida posterior al contacto con solución de oro se observa una estructura no definida. La micrografía C), es una ampliación de 5000x que de igual manera que la micrografía anterior no se observa una estructura definida pero si la presencia de partículas dispersas sobre la biomasa. Las micrografías D) y F) muestran ampliaciones de 20,000x y 40,000x respectivamente, las cuales se enfocan en resaltar la presencia de partículas inmersas en la biomasa, denotando una estructura similar a las hifas con un cambio aparente en la morfología siendo estas ya no tan definidas, el inciso G) muestra una micrografía a una ampliación de 100,000x permitiendo la medición de dichas partículas oscilando en tamaños de 24, 34.5 y 52.1 nm.

La fig. 4.30 presenta un EDS realizado a la zona marcada de la micrografía A) acentuando la composición a base de carbono, oxígeno, fósforo y sodio presente en una estructura orgánica, la fig. 4.31 presenta un análisis químico ejecutado a la zona marcada de la micrografía F) permaneció la composición a base de carbono y otros elementos propios del hongo y se presentó indicio de la presencia de oro atribuible a las partículas que cubren a las hifas. El análisis químico por EDS realizado de manera puntual a la zona marcada de la micrografía G) representado en la figura 4.32,

presento señales de mayor intensidad para oro, confirmado la presencia de este metal en forma de partículas dispersadas en la biomasa.



**Figura 4.29.** Micrografías A) biomasa fúngica de la cepa de *Aspergillus niger*, (B- F) biomasa fúngica en forma de pellets posterior al contacto con Au y G) partículas de oro en un sistema a una concentración de 3 ppm.

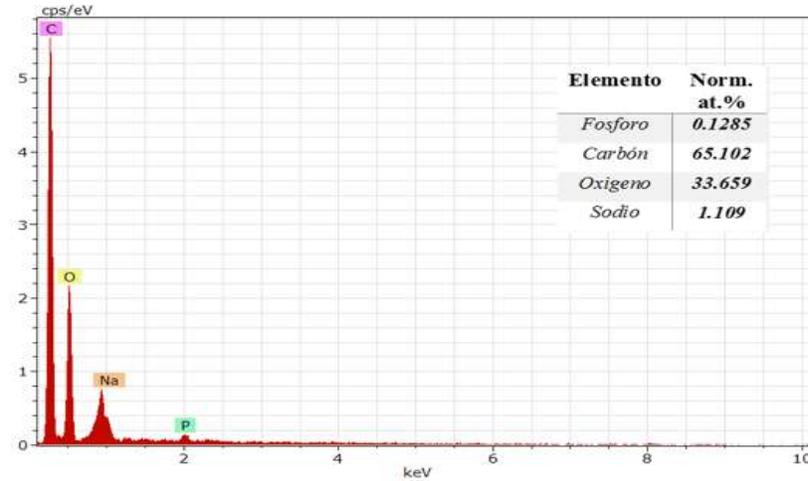


Figura 4.30. Análisis químico por EDS de la micrografía A), de la figura 4.29.

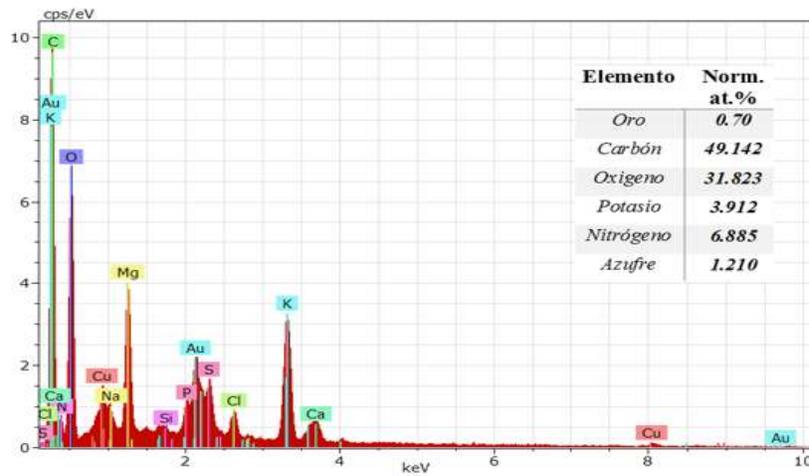


Figura 4.31. Análisis químico por EDS de la micrografía F), de la figura 4.29

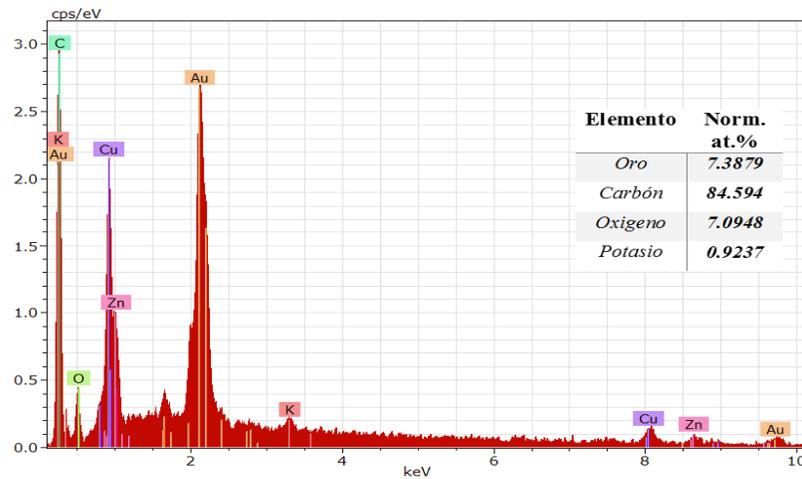


Figura 4.32. Análisis químico por EDS de la micrografía G), de la figura 4.29.

La cinética de sorción para los sistemas de plata a 1ppm y 3ppm en contacto con biomasa muerta en forma de pellets figura 4.33 y 4.34 respectivamente se observa un comportamiento similar al obtenido con contacto con oro, más sin embargo, dicha conducta ocurre de manera inversa, a partir de 1 ppm la remoción de plata incrementa alcanzando el 80% de retención en las primeras 10 horas de experimentación y teniendo un tiempo de equilibrio de entre 20 y 30 horas, y para el proceso de oro a 1ppm es menor el porcentaje de retención. Para la experimentación a 3ppm de plata se obtuvo el 60 % de recuperación en las primeras 10 horas de cinética, y el tiempo de equilibrio se estima menor a 15 horas de contacto, un porcentaje menor que el obtenido en la cinética de biomasa en pellets con oro a una concentración de 3 ppm que fue del 90 %.

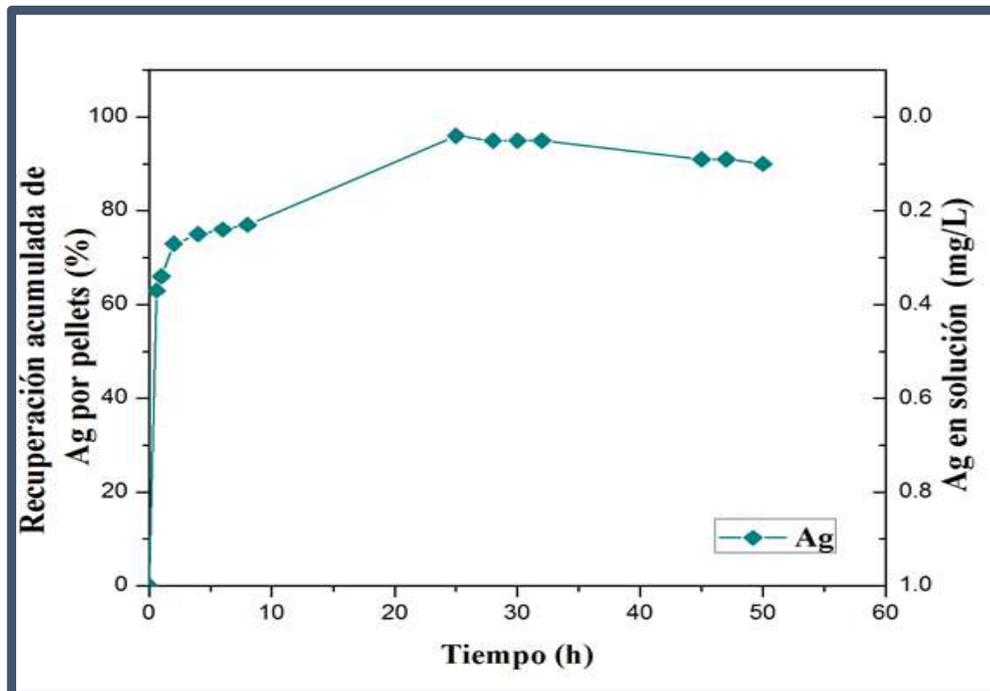
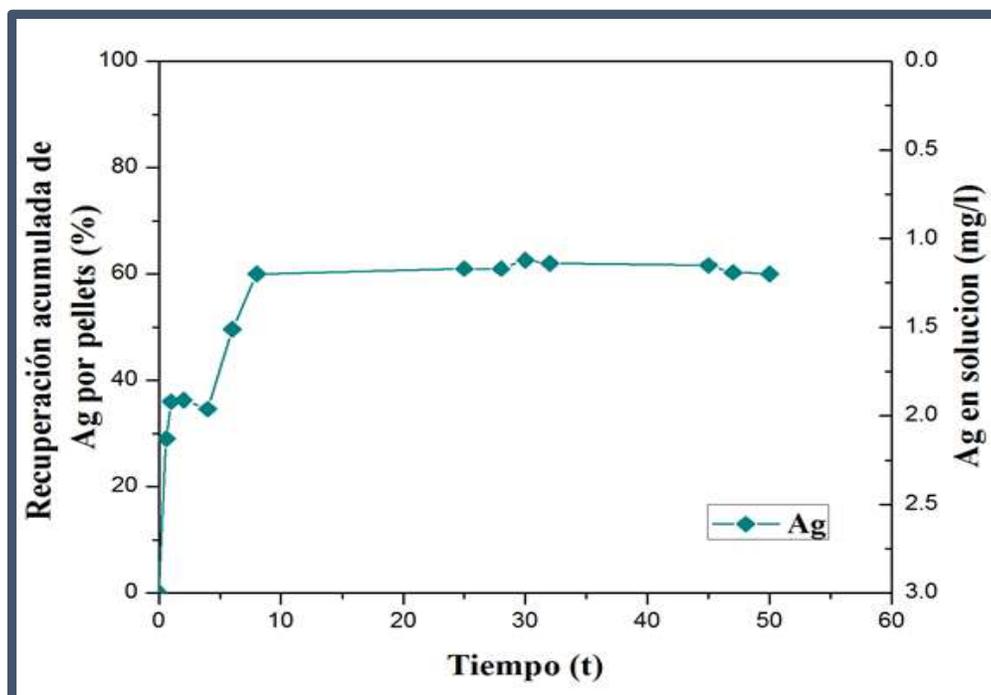


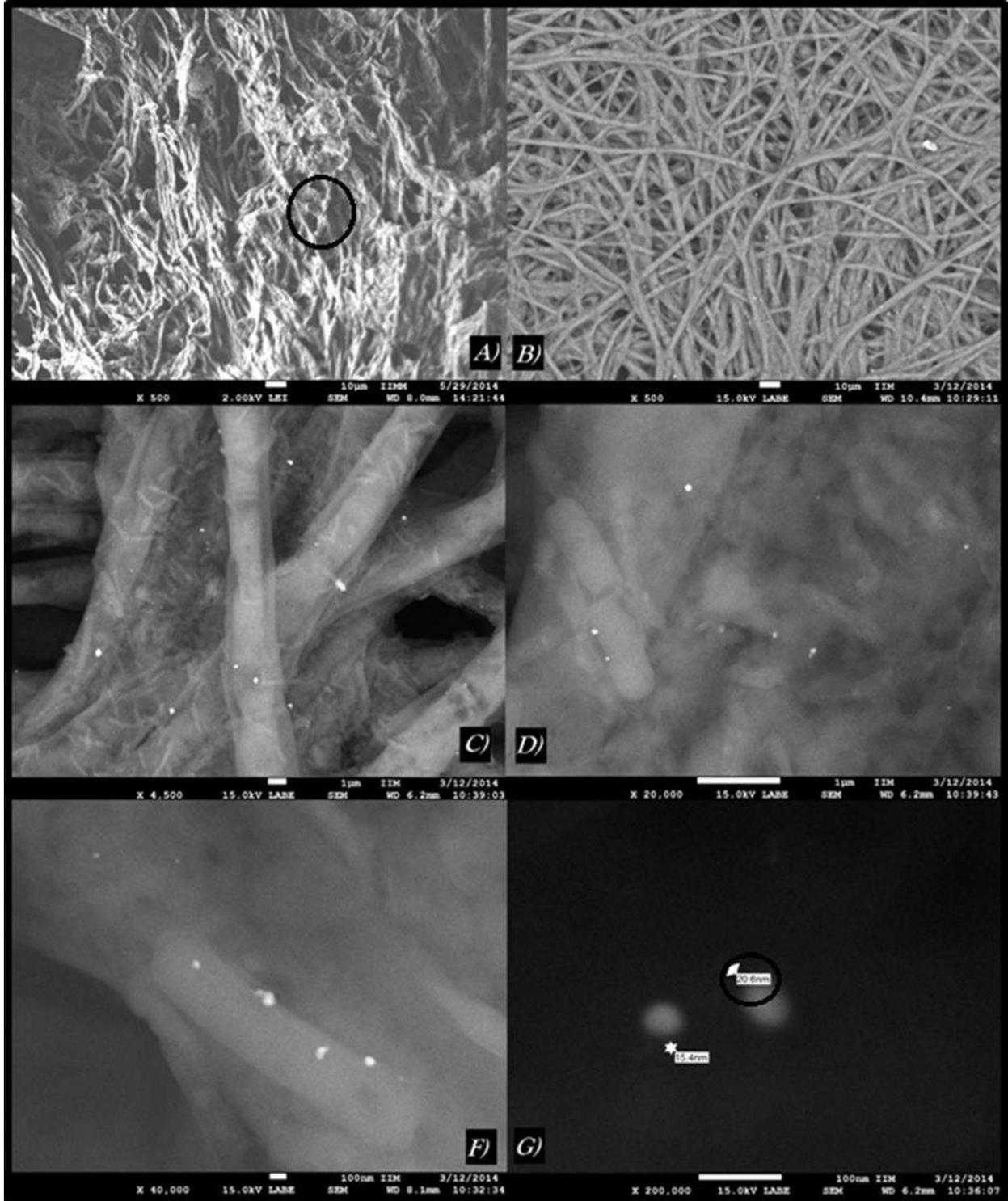
Figura 4.33. Cinética de remoción de Ag por biomasa de la *Aspergillus niger* muerta en forma de pellets con una concentración de 1 ppm inicial.



**Figura 4.34.** Cinética de remoción de Ag por biomasa de la *Aspergillus niger* muerta en forma de pellets con una concentración de 3 ppm inicial.

De igual manera se analizaron mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido la biomasa en forma de pellets que interactuó con solución de plata a una concentración de 3 ppm, la figura 4.35 muestra las micrografías pertenecientes a dicha cinética, la micrografía A) es a una amplificación de 500x obtenida en modo de electrones secundarios de bajo ángulo (LEI), observando la morfología microscópica del hongo, denotando la presencia de hifas la micrografía B) es una amplificación de 500x obtenida a modo de electrones retrodispersados mostrando la permanencia de la morfología del hongo posterior a contacto con el metal valor. Las micrografías C), D) y F) son amplificaciones de 4500x, 20,000x y 40,000x respectivamente en las cuales se aprecia la presencia de partículas dispersas en los filamentos celulares, la micrografía F), es una amplificación de 200,000x obtenida a modo de electrones retrodispersados en la que se aprecian las partículas permitiendo determinar un tamaño aproximado de entre 15.4 y 20.6 nm.

La figura 4.36 muestra el análisis químico por EDS de manera puntual en la zona marcada de la micrografía A) de la figura 4.35 en que se encuentra una composición perteneciente al microorganismo a base de carbono. La figura 4.37 se aprecie el análisis químico puntual por EDS de la zona marcada de la micrografía G), las señales intensas pertenecen a plata que se encuentra presente en forma de partículas dispersas en la biomasa.



**Figura 4.35.** Micrografías A) biomasa fúngica de la cepa de *Aspergillus niger*, B) C), D) y F) biomasa fúngica en forma de pellets posterior al contacto con Ag, G) partículas de plata en un sistema a una concentración de 3ppm

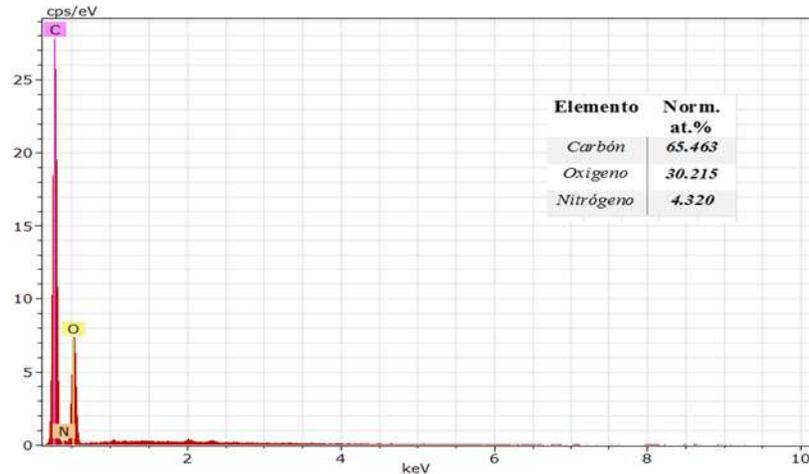


Figura 4.36. Análisis químico por EDS de la micrografía A) de la figura 4.35

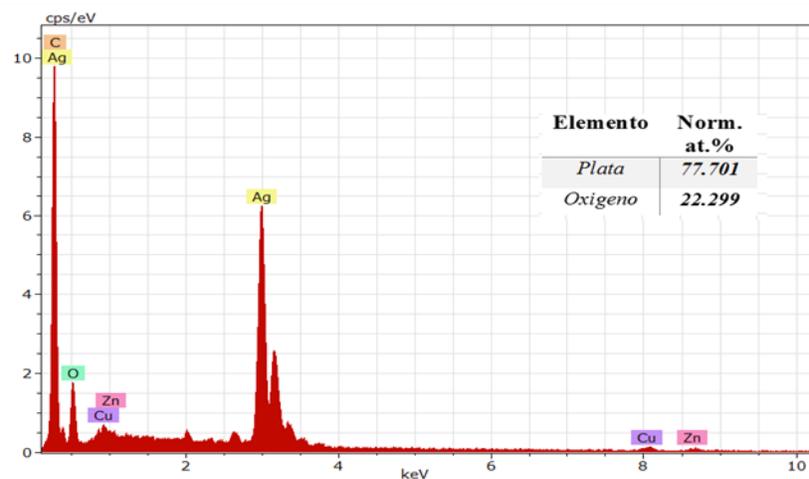


Figura 4.37. Análisis químico por EDS de la micrografía G) de la figura 4.35

La tabla IV.6 presenta la recopilación de datos experimentales del sistema de biomasa en pellets en contacto con soluciones de oro y plata a concentraciones de 1 y 3ppm, con porcentajes de 90 y 96% de recuperación para oro 3ppm y plata 1 ppm en un tiempo de aproximadamente 25 horas siendo un tiempo prolongado en comparativo con la biomasa pulverizada la cual obtiene arriba de 95 % de recuperación, para concentración de 1 ppm fue de 67% de recuperación comparado con el 100% de remoción de oro por la biomasa pulverizada y de igual manera fue para la plata en concentración de 3ppm 60% contra 99% de recuperación siendo aparentemente de mayor eficiencia la biomasa pulverizada, el inconveniente es el proceso de recuperación de dicha biomasa.

Tabla IV.6 Datos experimentales del sistema biomasa en pellets

<i>Sistema</i>	<i>Biomasa en contacto (g)</i>	<i>q<sub>t</sub> (mg/g)</i>	<i>% de recuperación</i>	<i>Tiempo (h)</i>
Au 1 ppm	0.4824	0.7359	67	8
Au 3 ppm	0.4023	3.4263	90	25
Ag 1 ppm	0.5038	0.9428	96	25
Ag 3 ppm	0.5373	1.729	60	8

## 2.7. Modelos de cinética de biosorción.

Los datos experimentales presentados en este apartado describen las cinéticas de sorción de oro y plata a concentraciones de 1 y 3ppm implementado biomas viva, muerta pulverizada y muerta en forma de pellets, fueron ajustados a modelos empíricos de cinética descritos en el capítulo 2 del presente trabajo, pseudo primer orden (Lagergren), pseudo segundo orden y Elovich, mediante un análisis por regresión no lineal utilizando el programa STATISTICA 7.0.

### 2.7.1. Modelos cinéticos para biosorción de oro y plata, sistema biomasa viva.

La figura 4.38 y 4.38 corresponden a los datos experimentales de cinética de sorción con biomasa viva en contacto con oro a una concentración de 1 y 3ppm, respectivamente, ajustados a los modelos anteriormente mencionados. En dichas figuras se observa un buen ajuste o correlación de los datos para los tres modelos para el sistema de 1ppm dando un valor de R o factor de correlación de entre 0.96 y 0.98. Para el sistema a una concentración de 3 ppm de oro el ajuste a los modelos presenta un mejor factor de correlación para el modelo de Elovich con un valor de R= 0.91.

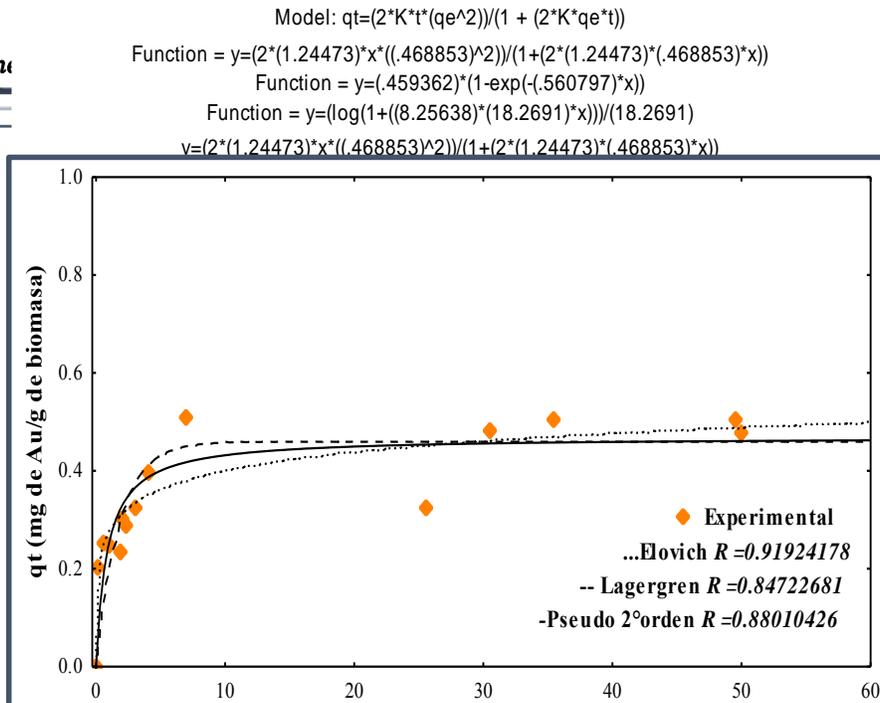
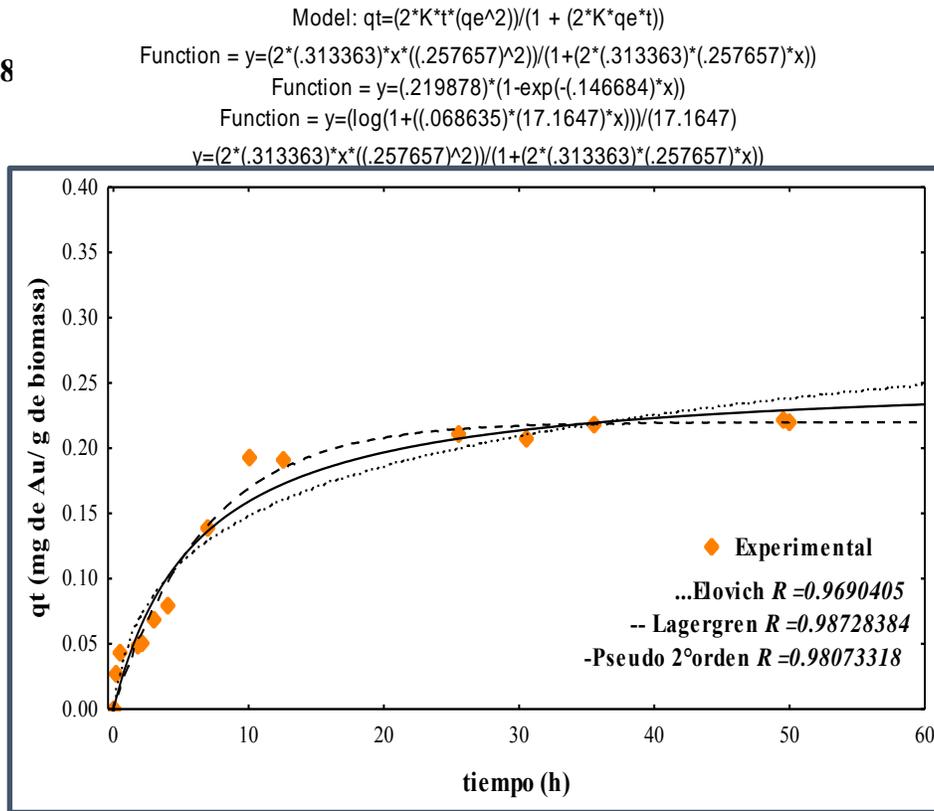


Figura 4.38



entración de

Figura 4.39. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 3 ppm con biomasa viva.

El ajuste se traslapa a los sistemas de plata a concentración de 1 y 3 ppm con contacto de biomasa viva y los resultados se observan en las figuras 4.40 y 4.41, los datos experimentales del sistema a 1 ppm presentan un buen ajuste para los modelos de Elovich y pseudo segundo orden

con factores de correlación de  $R=0.97$  y  $R=0.95$  respectivamente. Basado en el sistema a una concentración de  $1 \text{ ppm}$  de  $\text{Ag}^+$  se aplicaron los modelos cinéticos de Lagergren y Elovich; modelos empíricos con factores de correlación de  $R=0.95$  y  $R=0.97$  respectivamente.

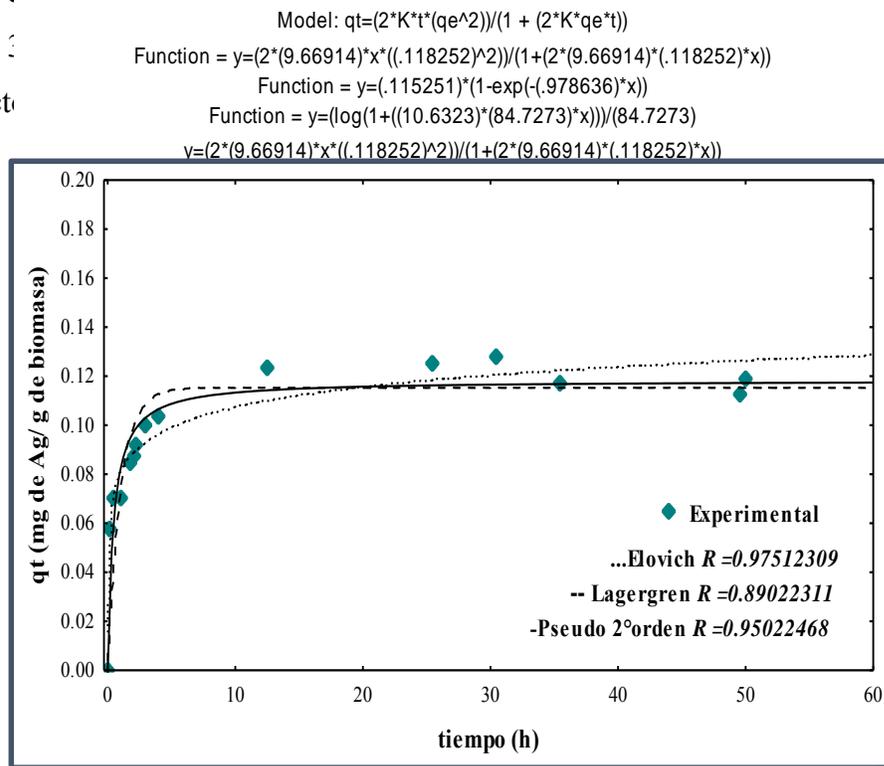


Figura 4.40.

una

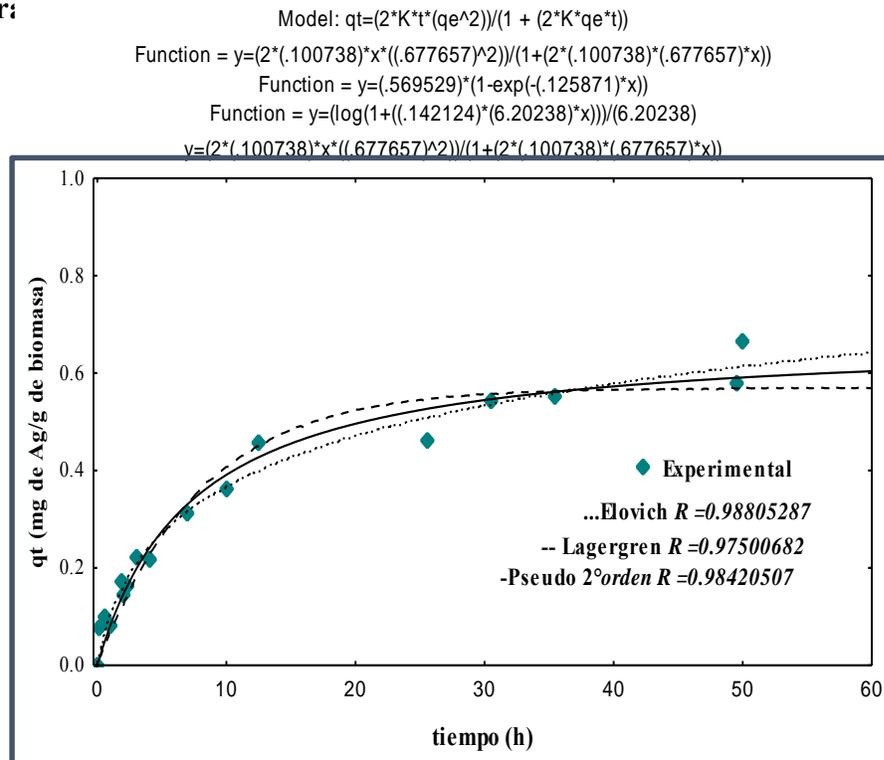


Figura 4.41. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de  $\text{Ag}^+$  a una concentración de  $1 \text{ ppm}$  con biomasa viva.

La tabla IV.7 presenta los parámetros obtenidos por regresión no lineal de los datos de cinética de sorción de oro y plata en contacto con biomasa viva, para los modelos empíricos de Lagergren, pseudo segundo orden y Elovich, así como sus coeficientes de correlación

**Tabla IV.7.-** Parámetros de los modelos empíricos de cinética de sorción de oro y plata en contacto con biomasa viva de *Aspergillus niger*.

Sistema Biomasa viva	Pseudo-Primer orden (Lagergren)			Pseudo-Segundo orden			Elovich		
	$K_L$ ( $h^{-1}$ )	$q_e$ (mg/g)	R	$K_2$ ( $h^{-1}$ )	$q_e$ (mg/g)	R	$\alpha$ ( $h^{-1}$ )	$\beta$ (mg/g)	R
Au 1 ppm	0.146684	0.219878	0.98728384	0.313363	0.257657	0.98073318	0.06864	17.16472	0.9690405
Au 3 ppm	0.560797	0.459362	0.84722681	1.244733	0.468853	0.88010426	8.25638	18.26915	0.91924178
Ag 1 ppm	0.115251	0.978636	0.89022311	9.669144	0.118252	0.95022468	10.63230	84.72733	0.97512309
Ag 3 ppm	0.125871	0.569529	0.97500682	0.100738	0.677657	0.98420507	0.142124	6.202377	0.98805287

Para la selección del modelo que describa mejor el proceso de sorción de oro y plata para las concentraciones de 1 y 3 ppm utilizando biomasa viva de *Aspergillus niger*, con la excepción del sistema de oro a 1 ppm el cual se correlaciono con el modelo de Lagergren. Para los tres sistemas restantes, los coeficientes de correlación se ajustaron al modelo de Elovich, debido a que propone la descripción de un proceso de sorción de un soluto disuelto por un sólido absorbente que de manera general involucra una variación de la energía de quimisorción con respecto a la cantidad de superficie recubierta, dicha ecuación ha sido utilizada adecuadamente en sistemas altamente heterogéneos [58].

Sin embargo, para el sistema de oro a 1ppm de concentración los factores de correlación obtenidos son muy semejantes, más sin embargo, los parámetros de velocidad de sorción  $K_1$ ,  $K_2$  y  $\alpha$  permiten delimitar la elección teniendo al modelo de segundo orden como supuesta descripción del sistema, el cual sugiere que la superficie del absorbente en este caso la biomasa es heterogénea y el mecanismo dominante es quimisorción

### 2.7.2. Modelo cinético para biosorción de oro y plata, sistema biomasa pulverizada.

De igual manera los experimentales de la cinética de sorción de oro y plata con biomasa pulverizada se ajustaron a los modelos empíricos. En la gráfica de la fig. 4.42 se puede observar la correlación que existe entre los datos experimentales en todo el intervalo de tiempo y los datos predichos por los modelos de Elovich, Lagergren y pseudo segundo orden, el factor de correlación perteneciente para cada modelo indica un ajuste de los datos experimentales a cada una de las ecuaciones de los modelos cinéticos. La fig. 4.43 pertenece a la gráfica en la cual se muestra el ajuste de datos experimentales de la cinética de biosorción de oro a una concentración inicial de 3 ppm con biomasa pulverizada, los datos del factor de correlación obtenidos de igual manera que el sistema de 1 ppm permiten que se acople a cualquiera de los tres modelos a ajustar.

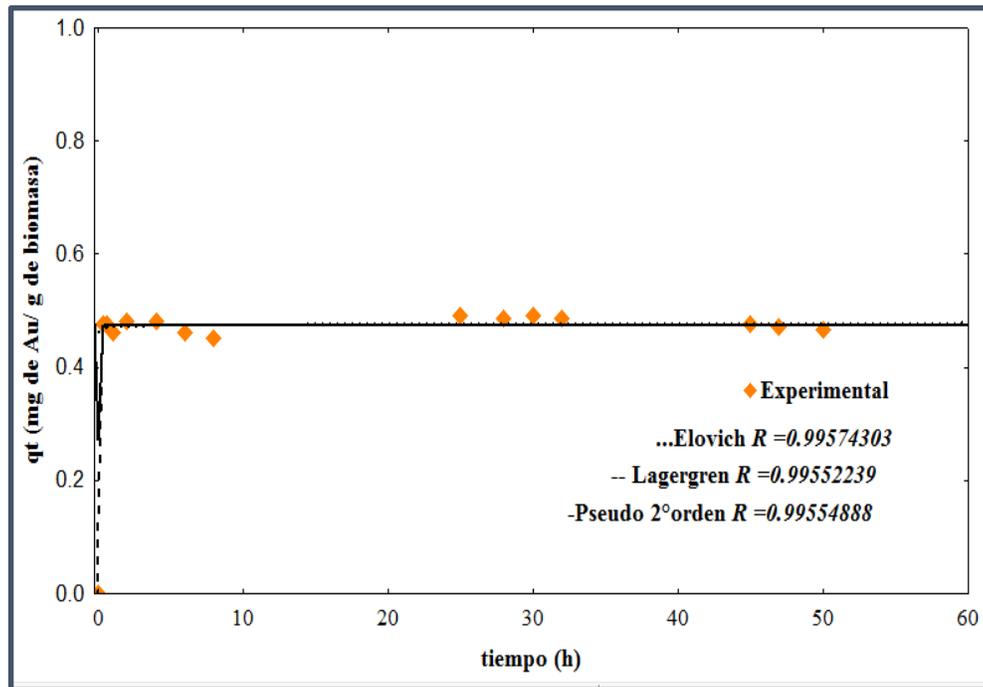


Figura 4.42. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 1 ppm con biomasa pulverizada.

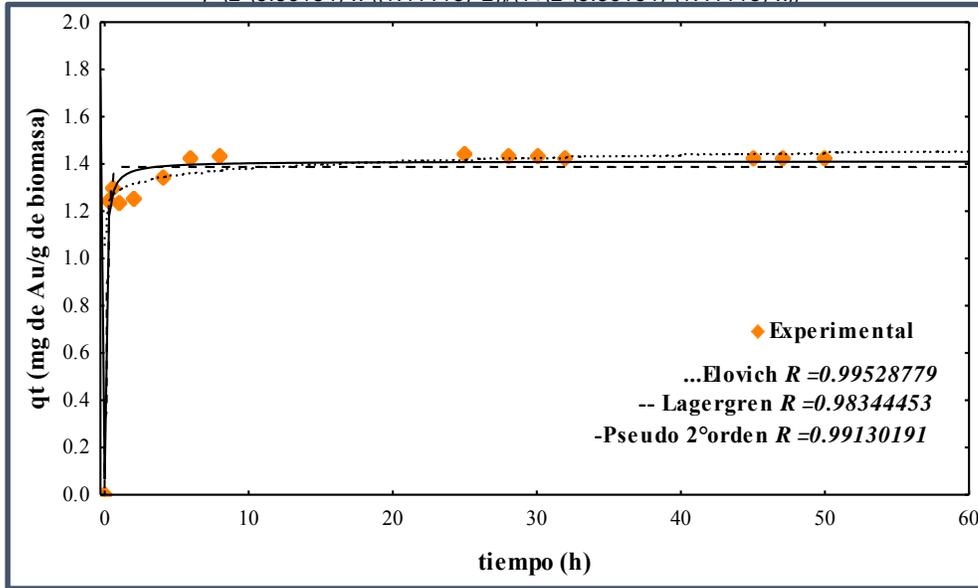
$$\text{Model: } qt = (2 * K * t * (q_e^2)) / (1 + (2 * K * q_e * t))$$

$$\text{Function } = y = (2 * (5.86184) * x * ((1.41118)^2)) / (1 + (2 * (5.86184) * (1.41118) * x))$$

$$\text{Function } = y = (1.38732) * (1 - \exp(-(6.41318) * x))$$

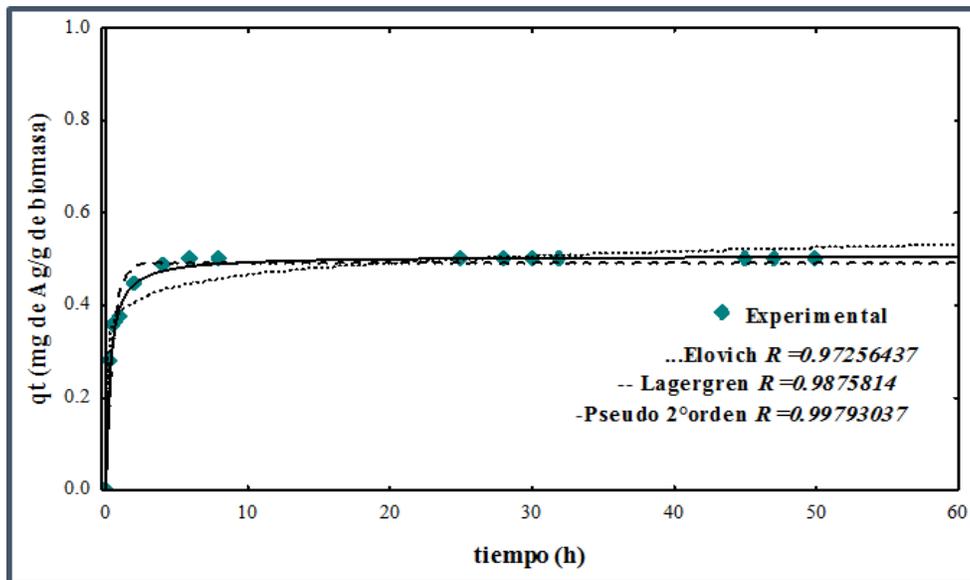
$$\text{Function } = y = (\log(1 + ((27178e8) * (24.71) * x))) / (24.71)$$

$$y = (2 * (5.86184) * x * ((1.41118)^2)) / (1 + (2 * (5.86184) * (1.41118) * x))$$



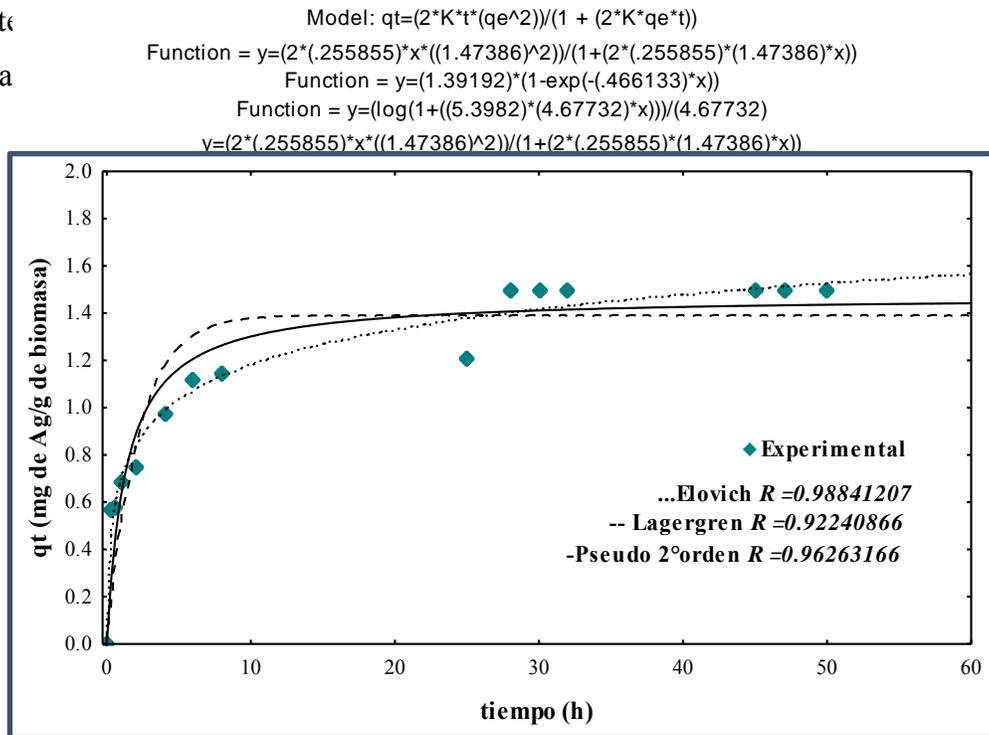
**Figura 4.43.** Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 3 ppm con biomasa pulverizada.

En la fig. 4.44 se observa la curva de cinética de sorción de biomasa pulverizada en contacto con plata a una concentración de 1 ppm, se observa un buen ajuste de los datos experimentales entre las curvas de los modelos de cinética lo que se refleja en el coeficiente de correlación cuyos valores son muy semejantes, más sin embargo, los datos se acoplan de manera más asertiva al modelo de pseudo segundo orden.



**Figura 4.44.** Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Ag a una concentración de 1 ppm con biomasa pulverizada.

La fig. 4.45 representa los datos experimentales del sistema de biomasa pulverizada en contacto con plata a una concentración de 3 ppm, obtenidos en los ajustes de los modelos cinéticos, se observa una buena correlación entre los datos y los modelos, sin embargo presenta un mejor coeficiente de manera



**Figura 4.45.** Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Ag a una concentración de 3 ppm con biomasa pulverizada.

En la tabla IV.8 se describen los parámetros de cinética de adsorción de oro y plata a concentraciones de 1 y 3 ppm con biomasa pulverizada, obtenidos de los ajustes de los distintos modelos cinéticos probados en este estudio, los valores de coeficientes de correlación son muy semejantes entre cada modelo por lo cual se analizan los parámetros restantes para determinar cuál es modelo que mejor se ajusta a los sistemas de sorción. El sistema de oro a una concentración de 1ppm los valores del coeficiente de correlación son muy semejantes por lo que observamos el parámetro de  $K_1$  y  $K_2$ , siendo este último parámetro con un valor de 464.8 correspondiente a la velocidad de sorción perteneciendo dicho sistema al modelo de pseudo segundo orden que implica un proceso de quimisorción e indica que la superficie del biosorbente es heterogénea. Para las cinéticas de oro a una concentración de 3ppm y plata 1 y 3 ppm de igual manera presentan valores del coeficiente de correlación semejantes por lo que la elección del modelo de ajuste se atribuye

al posible mecanismo de sorción de los sistemas el cual es descrito por el modelo de pseudo segundo orden predominando quimisorción.

**Tabla IV.8.** Parámetros de los modelos empíricos de cinética de sorción de oro y plata en contacto con biomasa pulverizada de *Aspergillus niger*.

Sistema Biomasa pulverizada	Pseudo-Primer orden (Lagergren)			Pseudo-Segundo orden			Elovich		
	$K_L$ (h <sup>-1</sup> )	$q_e$ (mg/g)	R	$K_2$ (h <sup>-1</sup> )	$q_e$ (mg/g)	R	$\alpha$ (h <sup>-1</sup> )	$\beta$ (mg/g)	R
Au 1 ppm	58.27380	0.47429	0.99552239	464.8854	0.4748	0.99554888	1.502072	5.672542	0.99574303
Au 3 ppm	6.413183	1.387320	0.98344453	50.861843	1.411177	0.99130191	2.717786	2.471005	0.99528779
Ag 1 ppm	0.492680	2.023019	0.9875814	3.576190	0.507228	0.99793037	1535.390	27.724	0.97256437
Ag 3 ppm	0.466133	1.391923	0.92240866	0.255855	1.473859	0.96263166	5.398200	4.677324	0.98841207

### 2.7.3. Modelos cinéticos para biosorción de oro y plata, sistema biomasa en forma de pellets.

Los datos experimentales de la cinética de sorción de oro y plata con biomasa muerta en forma de pellets se ajustaron a modelos de cinética por análisis de regresión no lineal. La figura 4.46 corresponde a el análisis de la cinética de sorción de oro partiendo de una concentración de 1 ppm, observando que los datos experimentales se ajustan bien entre las curvas de los modelos de cinética, denotando en los valores de coeficientes de correlación semejantes, más sin embargo sobresale el dato correspondiente al modelo de Elovich.

La fig.4.47 se observa que los datos experimentales se ajustan de mejor manera a la curva del modelo de Elovich y la curva del modelo de pseudo segundo orden, esto se ejemplifica con los valore obtenidos de los factores de correlación de 0.98 y 0.97, respectivamente.

El ajuste de las cinéticas de sorción con plata a concentración de 1ppm, la correlación de los datos se ajusta a la curva del modelo de cinética de Evolich con un coeficiente de 0.99, lo que se observa en la fig. 4.48. La grafica de la fig. 4.49 proporciona los datos obtenidos de los ajustes de los modelos de cinética de biosorción, presentando una semejanza en la correlación de los datos experimentales con las curvas de los modelos de Evolich y modelos de pseudo segundo orden teniendo ambos un valor de coeficiente de 0.96.

$$\text{Model: } qt = \frac{2 \cdot K \cdot t \cdot (q_e^2)}{1 + (2 \cdot K \cdot q_e \cdot t)}$$

$$\text{Function } = y = \frac{2 \cdot (.13326) \cdot x \cdot ((3.51615)^2)}{(1 + (2 \cdot (.13326) \cdot (3.51615) \cdot x))}$$

$$\text{Function } = y = (3.34275) \cdot (1 - \exp(-.572009 \cdot x))$$

$$\text{Function } = y = \frac{\log(1 + ((20.8496) \cdot (2.10588) \cdot x))}{(2.10588)}$$

$$y = \frac{2 \cdot (.13326) \cdot x \cdot ((3.51615)^2)}{(1 + (2 \cdot (.13326) \cdot (3.51615) \cdot x))}$$

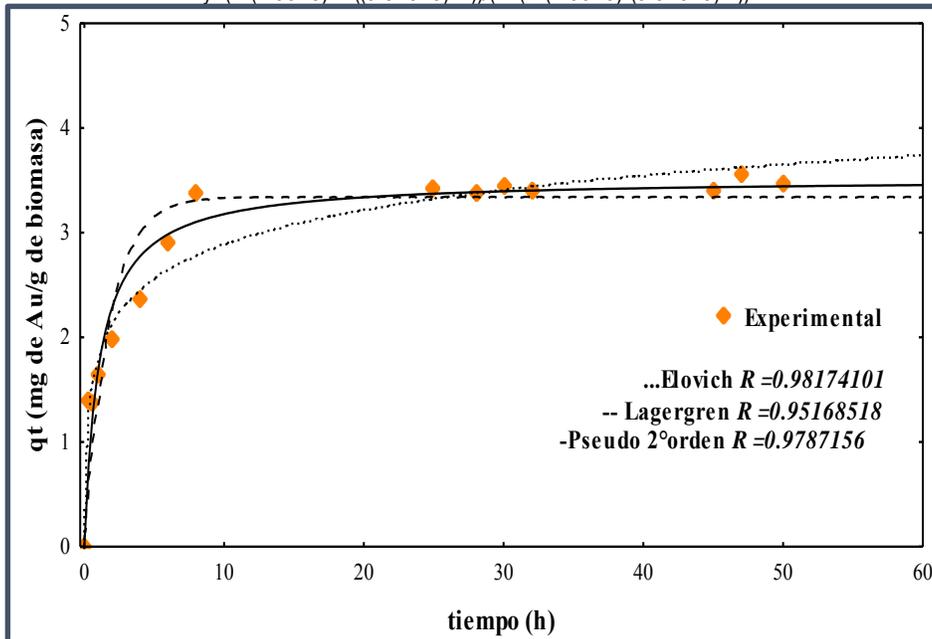


Figura 4.46

Entración de

$$\text{Model: } qt = \frac{2 \cdot K \cdot t \cdot (q_e^2)}{1 + (2 \cdot K \cdot q_e \cdot t)}$$

$$\text{Function } = y = \frac{2 \cdot (10.9665) \cdot x \cdot ((.727917)^2)}{(1 + (2 \cdot (10.9665) \cdot (.727917) \cdot x))}$$

$$\text{Function } = y = (.714211) \cdot (1 - \exp(-6.70388 \cdot x))$$

$$\text{Function } = y = \frac{\log(1 + ((44712e5) \cdot (39.5537) \cdot x))}{(39.5537)}$$

$$y = \frac{2 \cdot (10.9665) \cdot x \cdot ((.727917)^2)}{(1 + (2 \cdot (10.9665) \cdot (.727917) \cdot x))}$$

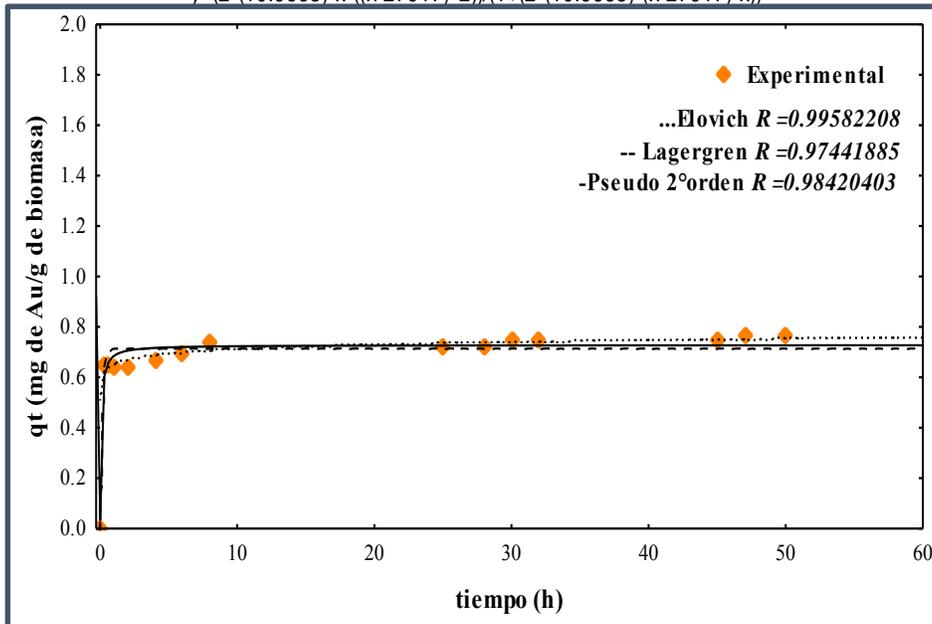


Figura 4.47. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Au a una concentración de 3 ppm con biomasa en forma de pellets.

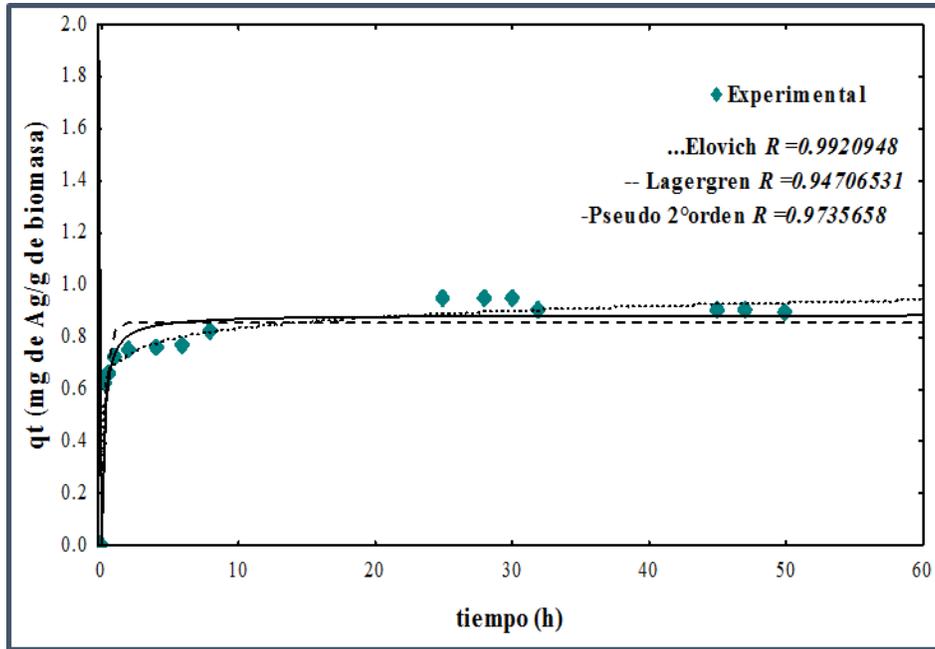


Figura 4.48

$$Function = y = (2 * (.389722) * x * ((1.77502)^2)) / (1 + (2 * (.389722) * (1.77502) * x))$$

$$Function = y = (1.69913) * (1 - \exp(-(.832988) * x))$$

$$Function = y = (\log(1 + ((30.9587) * (4.8034) * x))) / (4.8034)$$

$$y = (2 * (.389722) * x * ((1.77502)^2)) / (1 + (2 * (.389722) * (1.77502) * x))$$

entración de

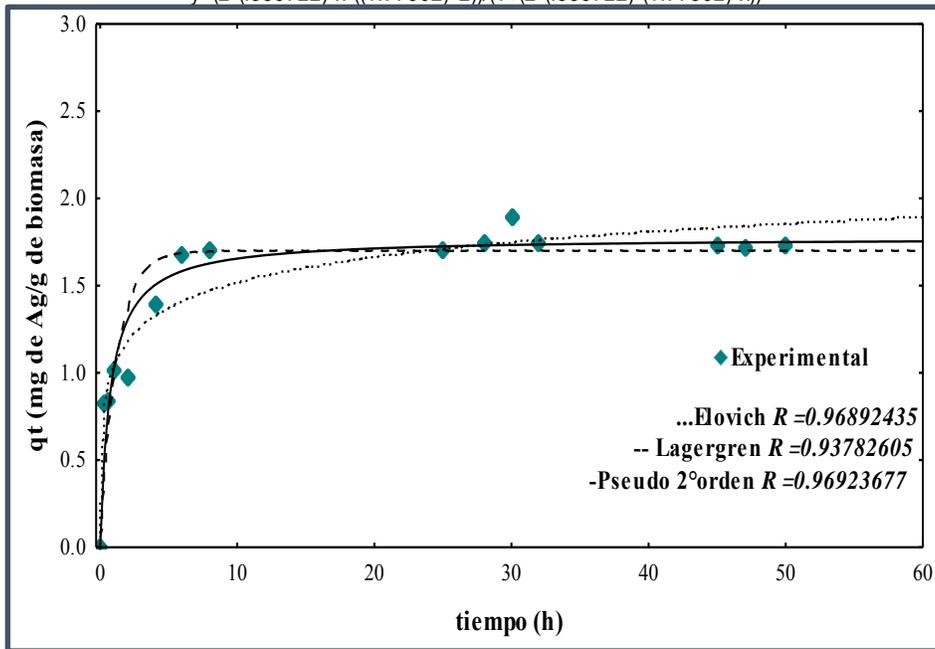


Figura 4.49. Modelos cinéticos aplicados al proceso de biosorción de Ag a una concentración de 3 ppm con biomasa en forma de pellets.

La tabla IV.9 muestra los parámetros obtenidos del ajuste de datos de cinética de biosorción empleando biomasa muerta en forma de pellets a los modelos correspondientes, en los cuatro

sistemas los valores del coeficiente correlación oscilaron entre 0.96 y 0.99 perteneciendo a los ajustes a modelos de Elovich y modelo de pseudo segundo orden, y de manera general los tres experimentos con biomasa viva, pulverizada y en pellets se encuentra la correlación con dichos modelos. Sin embargo se puede decir que los datos experimentales pueden tener un ajuste matemático adecuado a diferentes modelos de cinética de sorción, de distintas características cada uno de ellos. Sin embargo, la selección del modelo que puede ser utilizado para describir el proceso de cinética depende de la naturaleza del sistema adsorbato adsorbente en particular; así como de la concordancia entre dichas propiedades del sistema y las características del modelo que se ajusta a los datos experimentales. Dicho esto, el proceso general de biosorción de oro y plata podría ajustarse al modelo de pseudo-segundo orden el cual se ha utilizado para describir la cinética de remoción de metales pesados en un adsorbente en particular [49], el cual describe que la capacidad de adsorción es proporcional a al número de sitios activos ocupados en el adsorbente, cuyo mecanismo de remoción es la quimisorción como paso dominante en el sistema.

**Tabla IV.9.-** Parámetros de los modelos empíricos de cinética de sorción de oro y plata en contacto con biomasa muerta en forma de pellets de *Aspergillus niger*.

Sistema Biomasa Pellets	<i>Pseudo-Primer orden (Lagergren)</i>			<i>Pseudo-Segundo orden</i>			<i>Elovich</i>		
	$K_L$ ( $h^{-1}$ )	$q_e$ ( $mg/g$ )	$R$	$K_2$ ( $h^{-1}$ )	$q_e$ ( $mg/g$ )	$R$	$\alpha$ ( $h^{-1}$ )	$\beta$ ( $mg/g$ )	$R$
<i>Au 1 ppm</i>	6.703879	0.714211	0.97441885	10.96655	0.72792	0.98420403	4.471152	3.955369	0.99582208
<i>Au 3 ppm</i>	0.572009	3.342752	0.95168518	0.133260	3.5161147	0.9787156	20.84963	2.10588	0.98174101
<i>Ag 1 ppm</i>	2.962006	0.858403	0.94706531	2.872756	0.886738	0.9735658	5781.355	16.475	0.9920948
<i>Ag 3 ppm</i>	0.832988	1.699133	0.93782605	0.389722	1.775015	0.96923677	30.95868	4.80340	0.96892435

#### **4.8. Isotermas de adsorción.**

En lo subsecuente se descartó la utilización del microorganismo vivo ya que requiere de alimento constante y condiciones idóneas de crecimiento (temperatura y pH), además la adaptación del metabolismo celular implica cambios morfológicos en la biomasa (agregación), lo que se traduce en la disminución del área superficial expuesta minimizando el contacto con el metal, lo que repercute en su recuperación [60]. Todo esto implicó dificultades para determinar experimentalmente su comportamiento en los sistemas de recuperación de oro y plata a concentraciones elevadas descritas en la tabla III.3, ya que los resultados de la cinética de crecimiento celular en presencia de 3 ppm de oro y plata no influyeron aparentemente en su desarrollo, más sin embargo, la recuperación (Anexo 3) muestra varias fluctuaciones durante el proceso de sorción de dichos elementos manifestando inestabilidad a un comportamiento exponencial.

Ahora bien, las isotermas son modelos que describen una amplia gama de equilibrios de adsorción y permiten una interpretación de lo que se puede producir en la interacción entre un sorbato y un adsorbente. Las curvas experimentales de la biomasa fúngica pulverizada obtenidas del proceso de sorción de oro y plata a diferentes concentraciones a un tiempo de equilibrio menor a 12 horas, se muestran en las fig. 4.50 y 4.51, según la clasificación de Giles [31] (anexo 8), las isotermas pueden ser descritas por su forma, la cual se relaciona con su mecanismo de adsorción, la naturaleza del adsorbato y de la superficie del adsorbente. De acuerdo a lo anterior, la forma inicial de las isotermas presentaron un comportamiento similar a la clase L mientras que la parte superior describe el subgrupo IV. Esto indica una gran afinidad entre el soluto y el adsorbente para bajas concentraciones, caracterizándose por la disminución de la pendiente a medida que incrementa la concentración del soluto, ya que a medida que transcurre la adsorción aumenta la dificultad para que el soluto encuentre sitios de unión vacantes (reducción de los sitios de adsorción) [31].

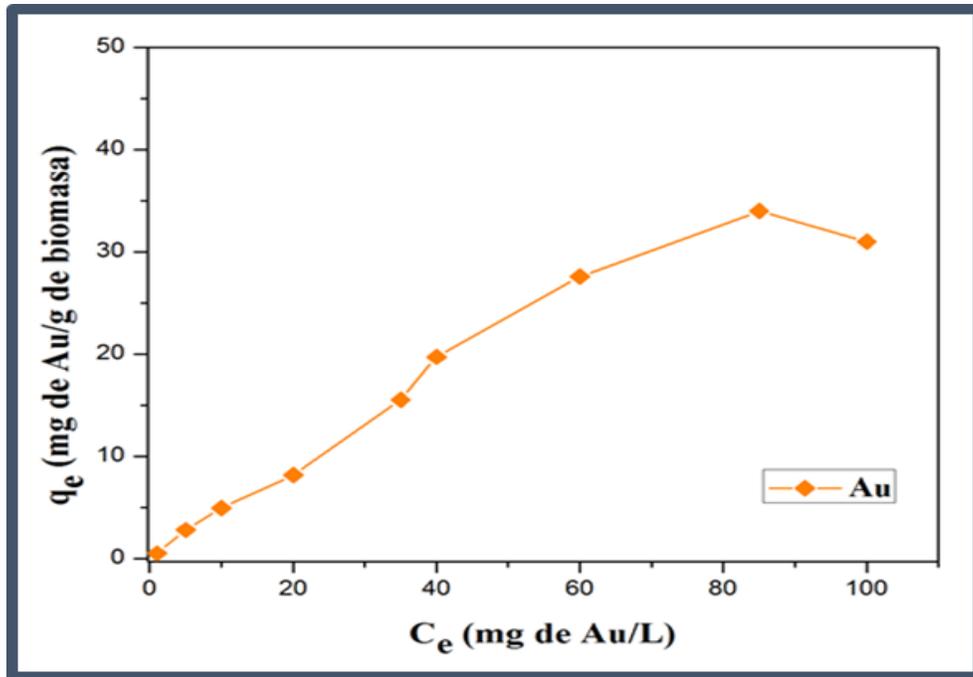


Figura 4.50. Capacidad de biosorción del oro ( $q_e$ ) con la biomasa fúngica pulverizada como una función de la concentración al equilibrio en la solución ( $C_e$ ).

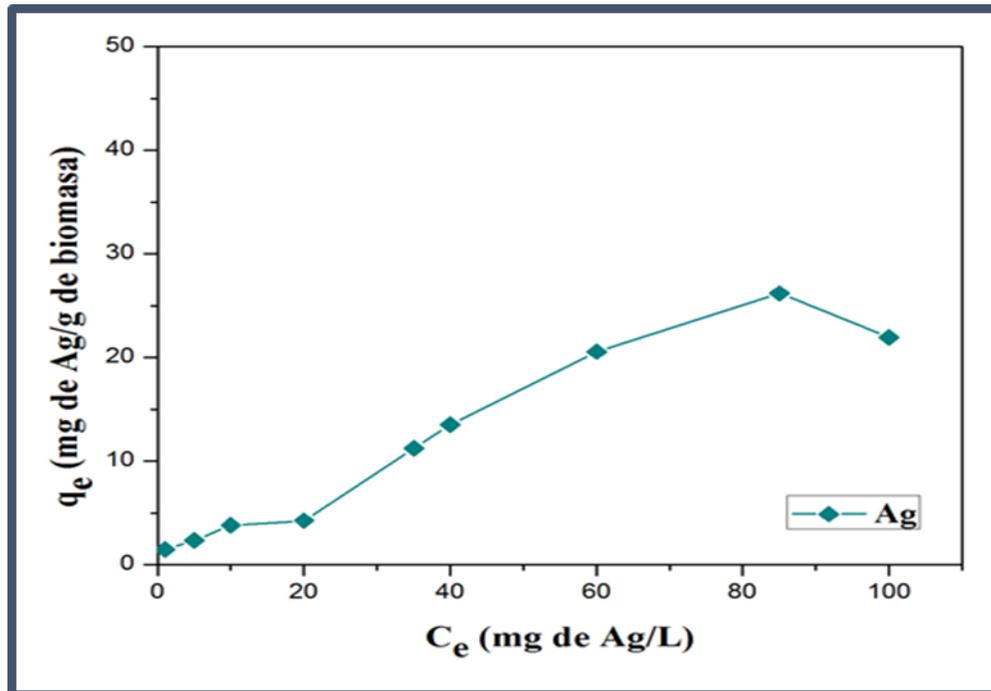


Figura 4.51. Capacidad de biosorción de plata ( $q_e$ ) con la biomasa fúngica pulverizada como una función de la concentración al equilibrio en la solución ( $C_e$ ).

Los datos experimentales se analizaron mediante regresión no lineal utilizando el programa de STATISTICA 7 se ajustaron a modelos que son descritos en el marco de referencia del presente trabajo, isoterma de Langmuir, Freundlich e isoterma de Langmuir-Freundlich. La figura 4.51 se observa el ajuste de datos del sistema biomasa pulverizada en contacto con oro, denotando que los datos experimentales concuerdan con la gráfica del modelo de Freundlich y la gráfica del modelo de Langmuir con coeficientes de correlación de 0.98 para ambos modelos.

La grafica de la figura 4.52 muestra el ajuste de los datos experimentales a modelos de isotermas de adsorción dando una correlación de 0.97 para la los modelos de Langmuir y el modelo conjugado de Langmuir-Freundlich.

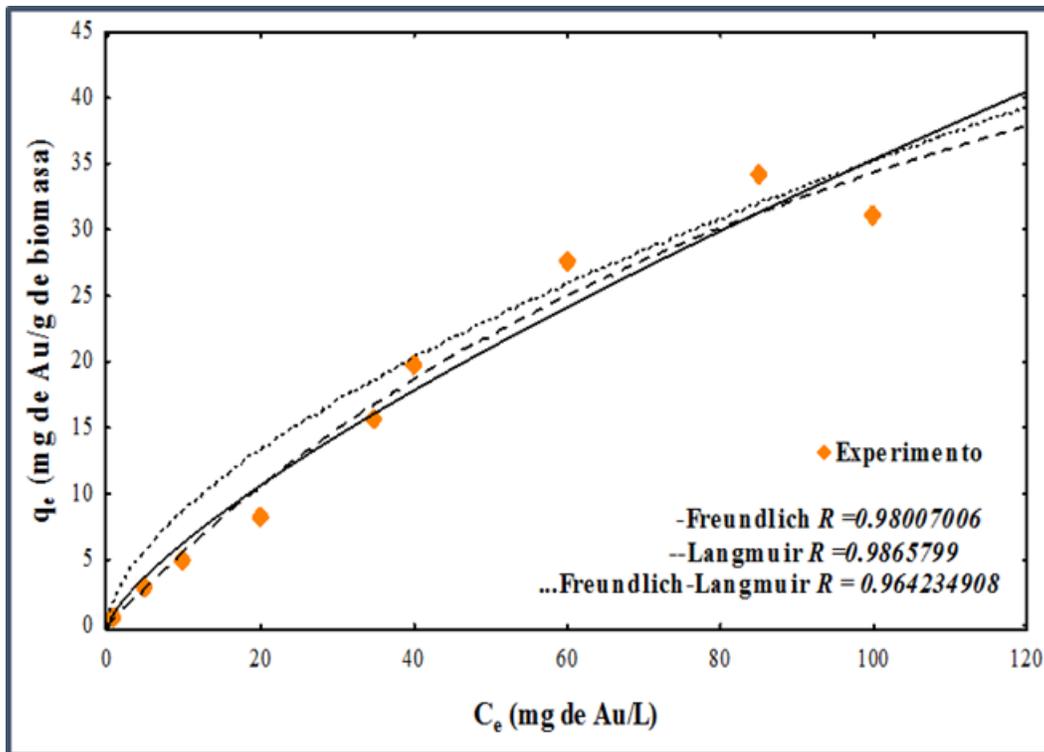


Figura 4.52. Isoterma de adsorción de oro para el sistema de biomasa pulverizada.

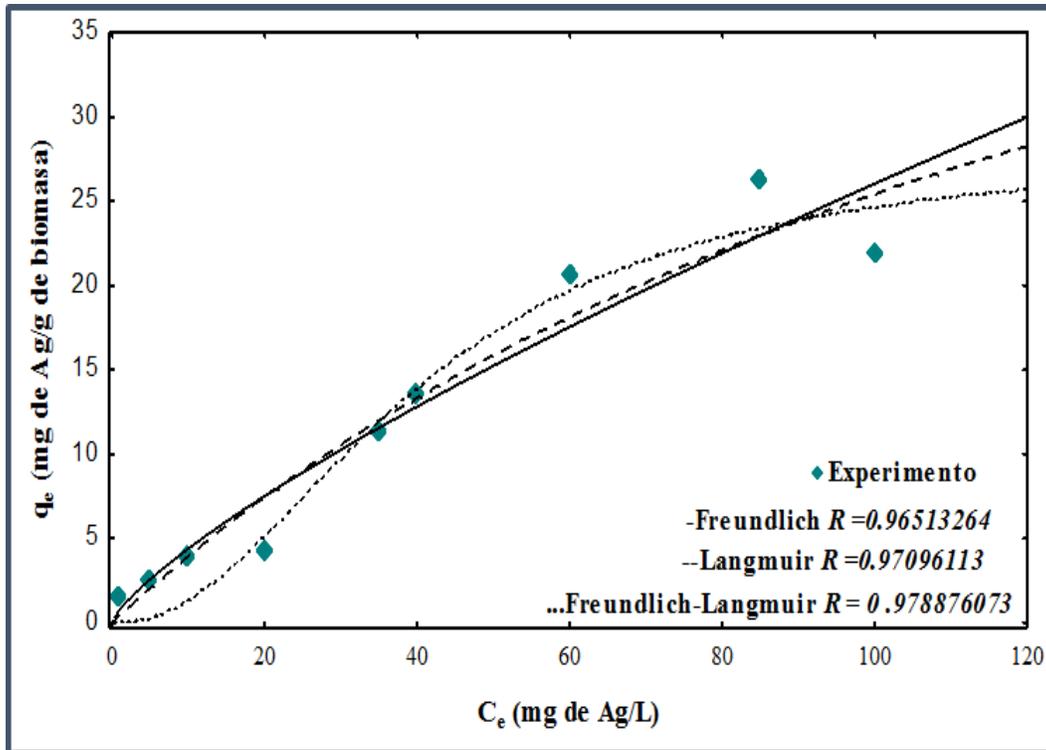
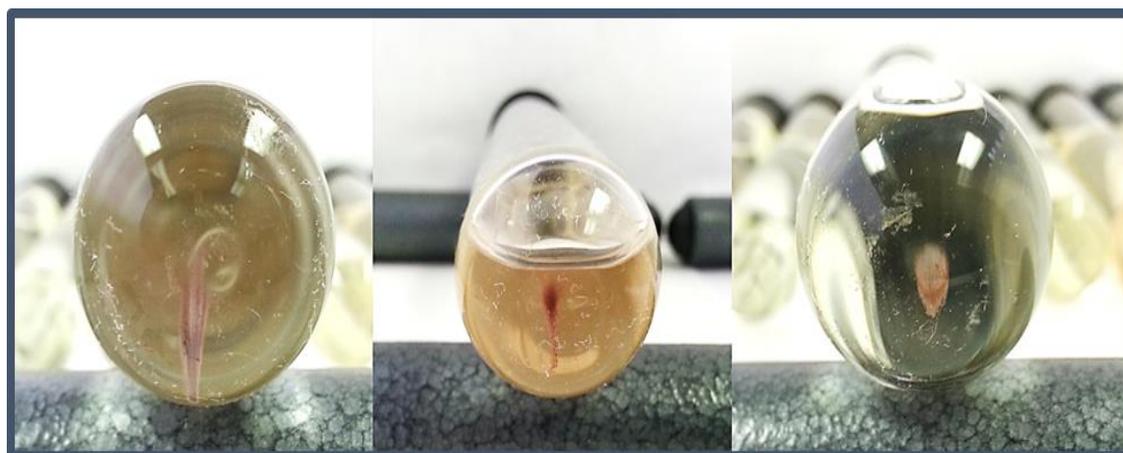


Figura 4.53. Isotherma de adsorción de plata para el sistema de biomasa pulverizada.

En los experimentos de contacto entre la biomasa pulverizada del hongo *Aspergillus niger* y soluciones de oro y plata a diferentes concentraciones (anexo 2) se observó una coloración en las soluciones. Dicha pigmentación roja viro a violeta y finalmente a un tono purpura azulado, como se observa en la figura 4.54, esto fue reportado por Luty-Blocho y colaboradores [64], los cuales mencionan que la resonancia del plasmón superficial es un fenómeno electromagnético que cuando se desplaza a longitudes de ondas mayores (cambios de color), se atribuye a la agregación de nanopartículas, reportando para la plata una coloración amarilla inicial, pasando por violeta hasta purpura azulado que son colores que se atribuyen a la aglomeración de nanopartículas [65], diferenciándose del oro únicamente por la coloración rojiza inicial. Sin embargo, en los sistemas de sorción de plata no se observó la tonalidad amarilla, los aglomerados sedimentados se muestran en la fig.4.55 con una coloración purpura.



**Figura 4.54.** Alícuotas de las soluciones de oro posterior al contacto con la biomasa pulverizada de *Aspergillus niger*.



**Figura 4.55.** Precipitados presentes en alícuotas de soluciones de plata con previo contacto con la biomasa pulverizada de *Aspergillus niger*.

La biomasa en contacto con la solución de oro se presenta en la imagen de la fig. 4.56, de la cual se realizó un análisis por microscopía electrónica de barrido, la micrografía A) es una ampliación de 500x obtenida por modo de electrones secundarios en la cual se muestra la morfología característica del hongo con la presencia de partículas dispersas por la biomasa. Las micrografías B) y C) son ampliaciones a 2000x y 5000x, respectivamente, obtenidas a modo de electrones retrodispersados, dicha ampliación permite diferenciar las partículas presentes teniendo formas semicirculares y romboédricas. La micrografía D) es una ampliación de 100,000x en la cual se realiza un análisis químico puntual de la zona marcada por EDS obteniendo un espectro con composición química característica fig. 4.57 a un organismo a base de carbono

aunado a la presencia de oro, correspondiendo a las partículas presentes en la biomasa. La fig. 4.58 muestra un análisis del precipitado obtenido de la solución de plata en contacto con la biomasa pulverizada, la micrografía A) a una amplificación de 5000x obtenida a modo de electrones retrodispersados muestra una serie de cúmulos o agregados de partículas en la solución. Las micrografías B) y C) muestra amplificaciones de 20000x y 30000x obtenida a modo de electrones secundarios, observando dos zonas de la muestra las cuales presenta en mismo tipo de agregados, la micrografía D) es una amplificación de 40,000x en la cual se realizó un análisis químico puntual por EDS en la zona marca, presentado un espectro con señales propias de la presencia de plata y cloro perteneciente al precipitado de la solución de plata con previo contacto de biomasa fúngica pulverizada presente en la fig. 4.59.

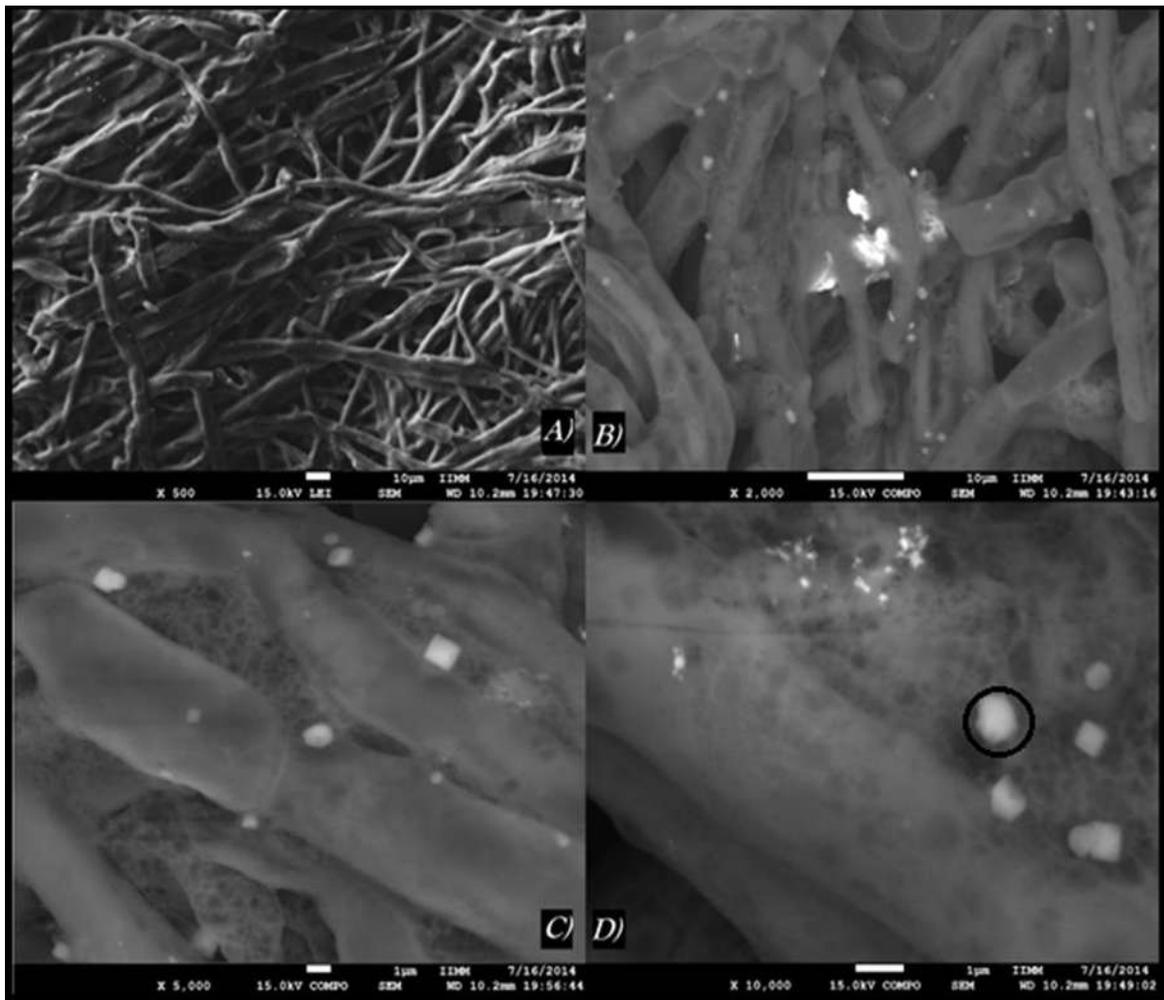


Figura 4.56. Micrografías de la biomasa fúngica de la cepa de *Aspergillus niger*, posterior al contacto con solución de oro.

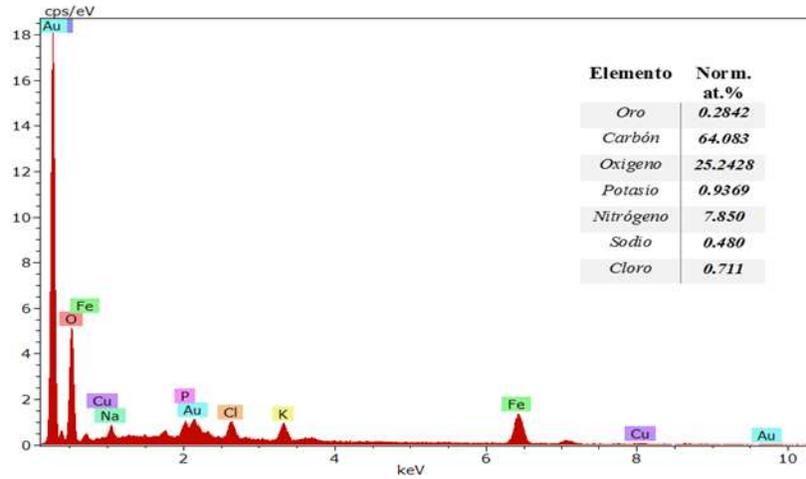


Figura 4.57 Análisis químico por EDS micrografía D) de la figura 4.56.

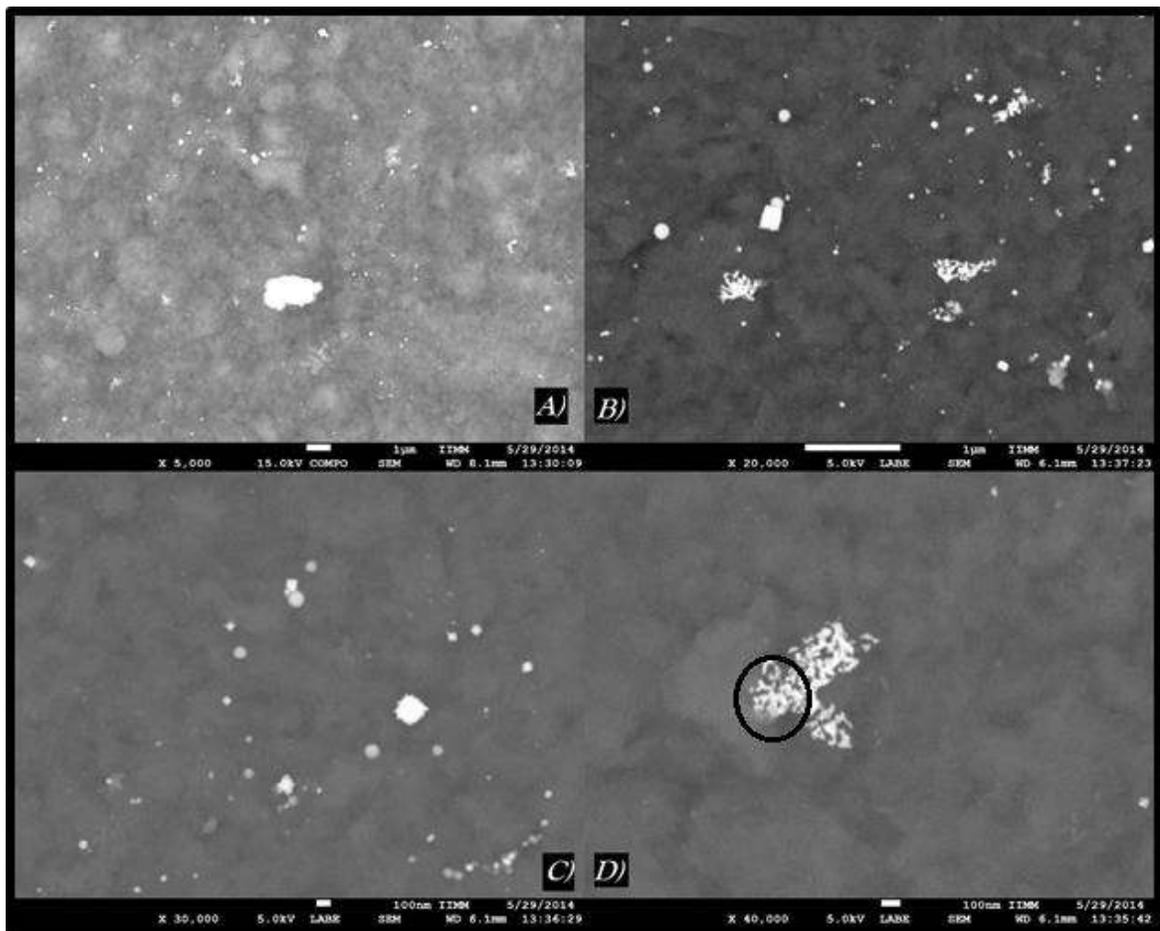
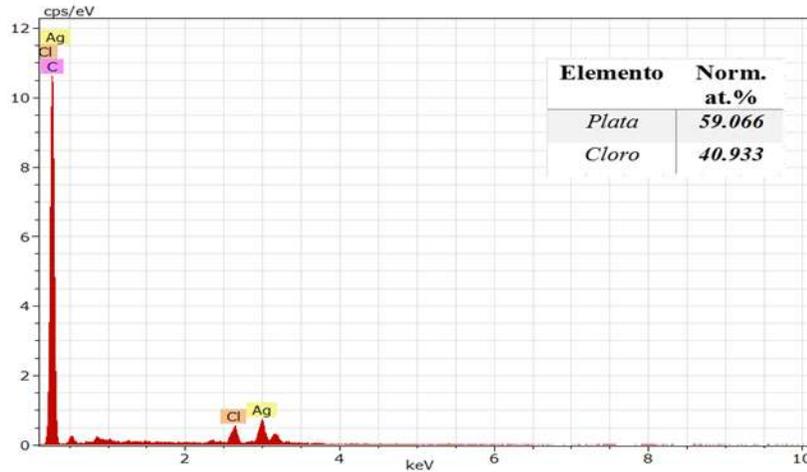


Figura 4.58. Micrografías del precipitado presente en la solución de plata previo contacto con biomasa fúngica.



**Figura 4.59.** Capacidad de biosorción del oro ( $q_e$ ) con la biomasa fúngica en forma de pellets como una función de la concentración al equilibrio en la solución ( $C_e$ ).

La experimentación que se realizó a partir de biomasa muerta en forma de pellets muestra dos mecanismos diferentes para oro y plata. La isoterma perteneciente a la sorción de oro (fig.4.60) denoto en dos comportamientos, el primero engloba hasta el quinto punto de la gráfica, el cual fue similar a la clase S subgrupo II, implicando que la adsorción esta facilitada a elevadas concentraciones de soluto, sin embargo, para este tratamiento el comportamiento es inverso. Para la segunda parte, es similar a la clase L subgrupo III indicando que a bajas concentraciones existe mayor afinidad, lo cual va disminuyendo a medida que aumenta la concentración [54].

La isoterma que se obtuvo de la sorción de plata por biomasa muerta en forma de pellets (fig. 4.61) presento una forma similar a la clase S subgrupo III o mx, mostrando que a bajas concentraciones de soluto existe poca afinidad entre el soluto y el adsorbente. Esta afinidad se incrementa hasta que se saturan los sitios de adsorción, existiendo una atracción intermolecular moderada observándose la formación de concentrados en la superficie del adsorbente [31], tal como se muestra en la fig. 4.65.

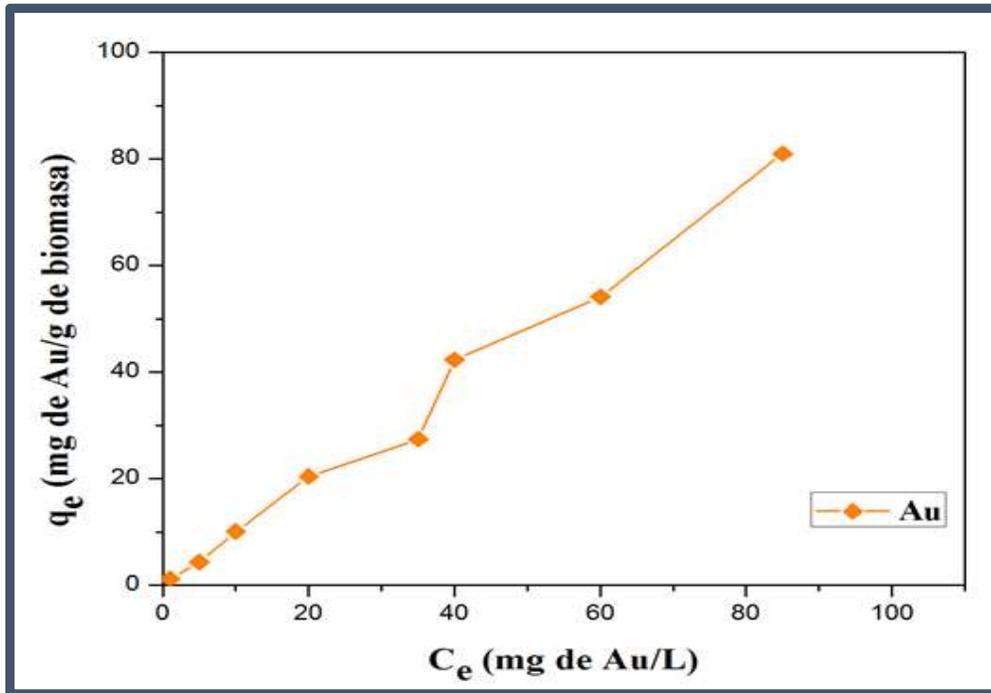


Figura 4.60. Capacidad de biosorción de la oro ( $q_e$ ) con la biomasa fúngica en forma de pellets como una función de la concentración al equilibrio en la solución ( $C_e$ ).

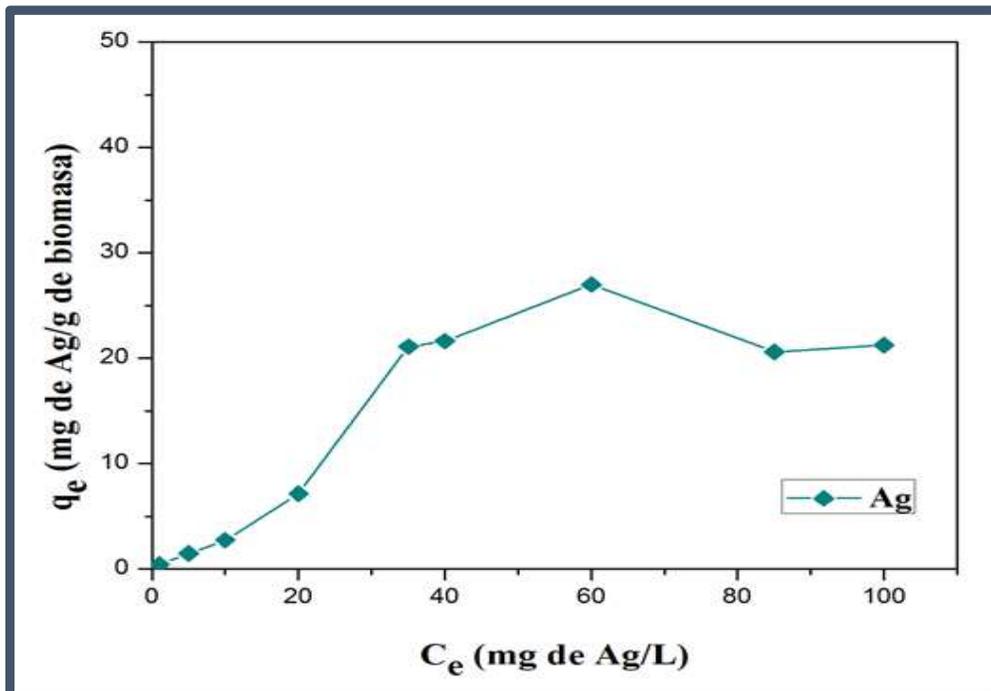


Figura 4.61. Capacidad de biosorción de la plata ( $q_e$ ) con la biomasa fúngica en forma de pellets como una función de la concentración al equilibrio en la solución ( $C_e$ ).

De igual manera se realizó el ajuste de datos experimentales del sistema de contacto de biomasa en forma de pellets y soluciones de oro y plata a diferentes concentraciones. La fig. 4.62 presenta la gráfica ajustada a las ecuaciones de Langmuir, Freundlich y Langmuir-Freundlich en el sistema de oro con biomasa, observando que el modelo que mejor se ajustan es el conjugado de Langmuir –Freundlich con un factor de correlación de 0.93.

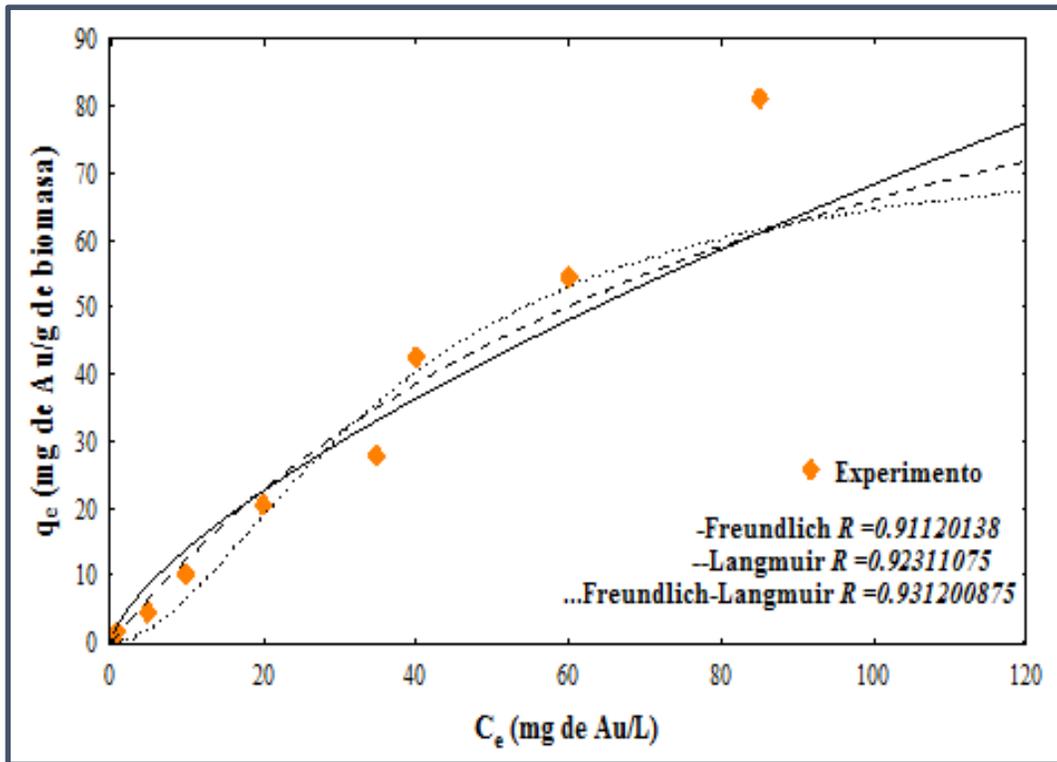


Figura 4.62. Isoterma de adsorción de oro para el sistema de biomasa pellets,

La fig. 4.63 muestra el ajuste de los datos experimentales del sistema de contacto de biomasa en pellets con una solución de plata, obteniendo los valores de correlación de 0.96 y 0.97, para los modelos de Freundlich, Langmuir, repitiendo el valor de 0.97 para el modelo conjunto de Freundlich-Langmuir, siendo datos muy semejantes, pudiendo ajustar en los tres modelos descritos

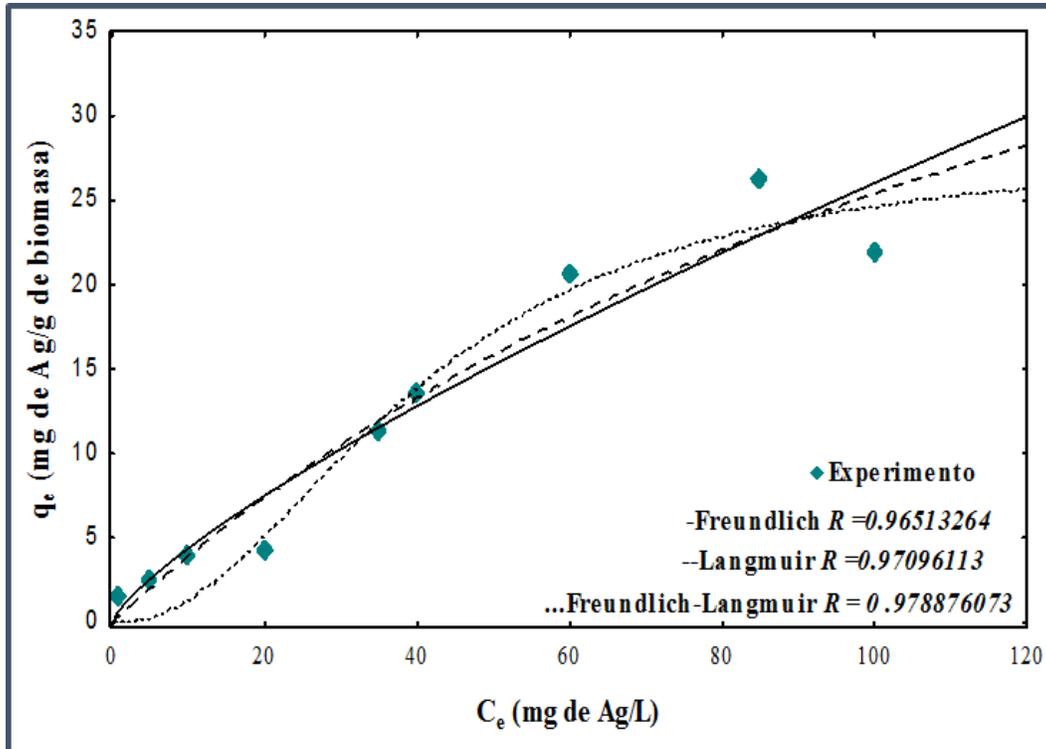


Figura 4.63. Isotherma de adsorción de plata para el sistema de biomasa pellets.

El mecanismo de resonancia del plasmón explicado anteriormente se presenta de igual manera en el sistema de biomasa en forma de pellets en contacto con soluciones de oro y plata, observándose en la solución después del contacto, el viraje de la coloración rojiza a púrpura con tonalidades azuladas lo cual se muestra en la fig.4.64. Mientras que para el sistema en contacto se observa en la fig.4.65 aglomeración abundante en la superficie del pellets de tonalidad rojiza así como en suplección.



Figura 4.64. Alícuotas de las soluciones de oro posterior contacto con la biomasa en forma de pellets de *Aspergillus niger*.



**Figura 4.65.** Pellets con pigmentación rojiza posterior al contacto en la solución de oro.

La biomasa en forma de pellets que fue puesta en contacto con solución de oro se analizó por microscopía electrónica de barrido, figura 4.66, la micrografía A) muestra una ampliación de 700x observando la presencia de partículas en diversas formas desde triangulares, hexagonales, semicirculares, que se aprecian mejor en la micrografía B) una ampliación de 2000x de la zona marcada de la micrografía A).

La micrografía C) es una ampliación de 1000x obtenida a modo de electrones retrodispersados de la cual se realizó un análisis de mapeo mostrado la presencia de oro en las partículas de diversa formas. La micrografía F) es una ampliación de 1000x obtenida a modo de electrones dispersados e la que se observa dentro de la partícula de forma hexagonal entidades semiesféricas, la micrografía G) es una ampliación a 10,000x en la cual se muestra una partícula de forma hexagonal a la cual se realizó un análisis químico puntual por EDS fig. 4.67 mostrando una composición con presencia de oro.

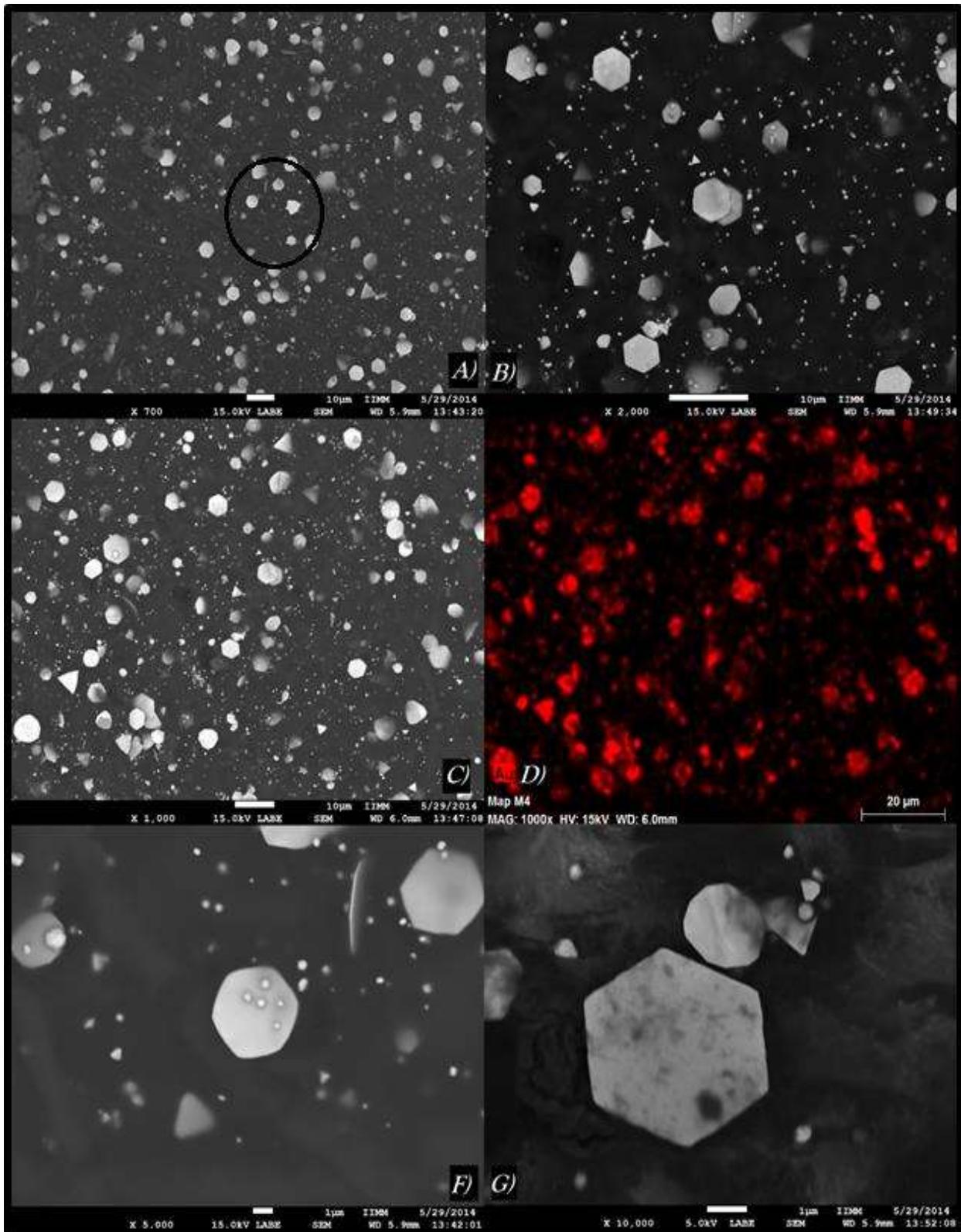
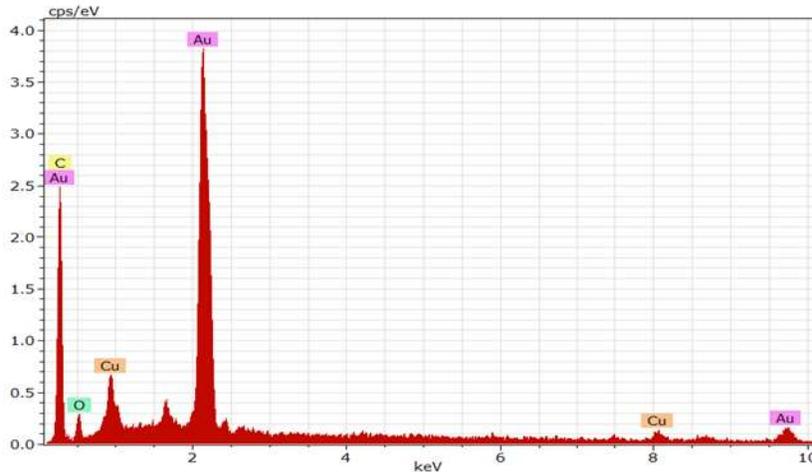


Figura 4.66. Micrografías de la biomasa fúngica en forma de pellets de la cepa de *Aspergillus niger*, posterior al contacto con solución de oro.

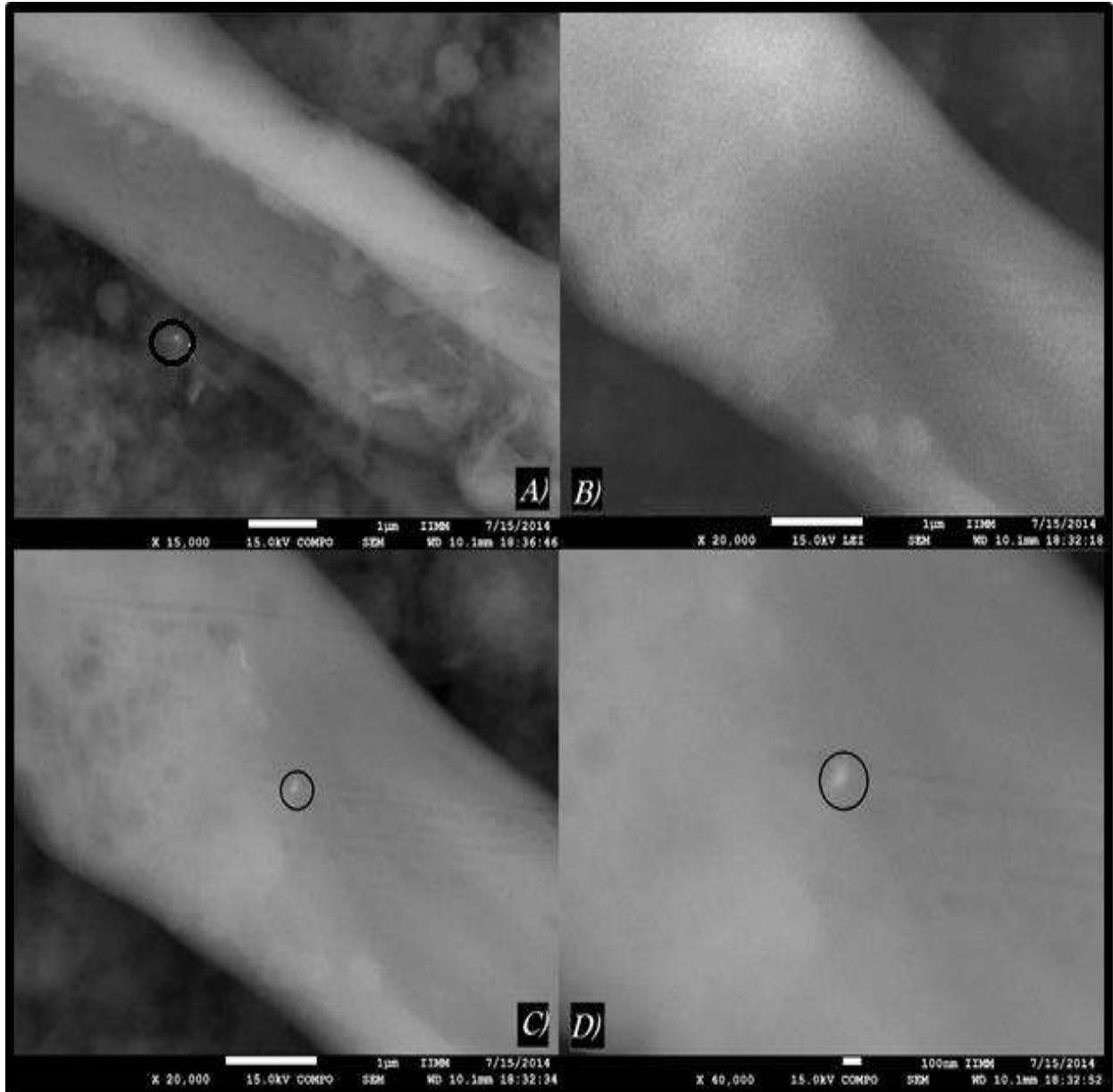


**Figura 4.67.** Análisis químico por EDS micrografía G) de la figura 4.66.

La figura 4.68 muestra una serie de micrografías en las que se aprecia la presencia de partículas de plata en la superficie de las hifas y dentro de las mismas, la micrografía A) es ampliación de 15,000x obtenida en el modo de electrones retrodispersados por contraste de número atómico (COMPO), en la zona marcada se encuentra una partícula adjunta a un filamento de *Aspergillus niger*, a la cual se le realizó un análisis químico por EDS fig. 4.69 mostrando una composición característica del microorganismo con presencia de carbono, oxígeno, fósforo y azufre, aunado a la presencia de plata constituyendo dicha entidad. La micrografía B) corresponde a otra zona diferente de la misma muestra a una ampliación de 20,000x obtenida en el modo de electrones secundarios de bajo ángulo (LEI) en la que se aprecia una estructura filamentosa perteneciente al microorganismo, de la cual se realizó un análisis químico por EDS fig. 4.70 mostrando un espectro con señales de elementos constituyentes del hongo, carbono, oxígeno, fósforo y calcio perteneciente del agua. La micrografía C) es obtenida a modo de electrones retrodispersados por contraste de número atómico de la micrografía B) en la que se observa una partícula en el interior de la hifa, por lo cual se hizo una ampliación de la zona marcada obteniendo la micrografía D) a una ampliación de 40,000x a la cual se realizó un análisis químico puntual por EDS en la zona marcada fig. 4.71 que marca la presencia de plata perteneciente a la partícula y carbono que forma parte de la estructura filamentosa del microorganismo.

De tal manera se puede percibir que el hongo *Aspergillus niger* recupera plata en forma de partículas que pueden encontrarse presuntamente adheridas a la superficie de la hifa, este proceso

de adsorción se ha informado como una propiedad de la pared celular fúngica y se produce de manera independiente del metabolismo celular [61]. El proceso de biosorción se ha reportado la presencia de dos fases, la primera como rápida reacción superficial inferior a los 4 segundos que se atribuye a adsorción superficial seguida de una captación del metal mucho más lenta, que se atribuye a la difusión de los iones dentro de las estructuras celulares [62].



**Figura 4.68.** Micrografías de la biomasa fúngica en forma de pellets de la cepa de *Aspergillus niger*, posterior al contacto con solución de plata.

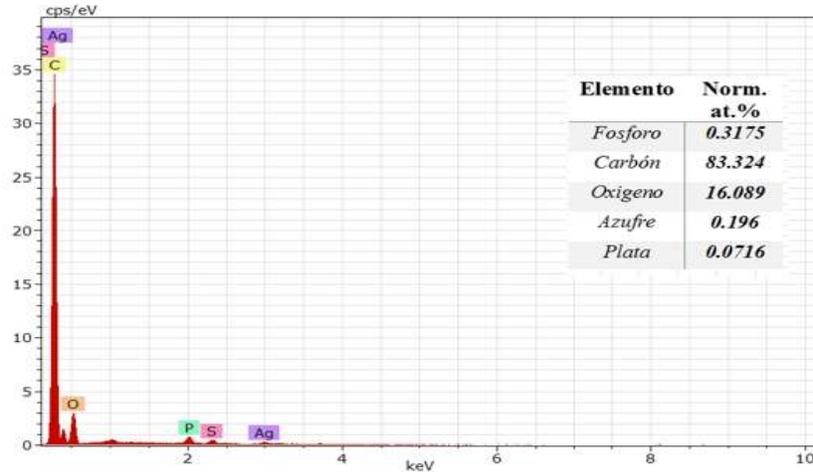


Figura 4.69. Análisis químico por EDS micrografía A) de la figura 4.68.

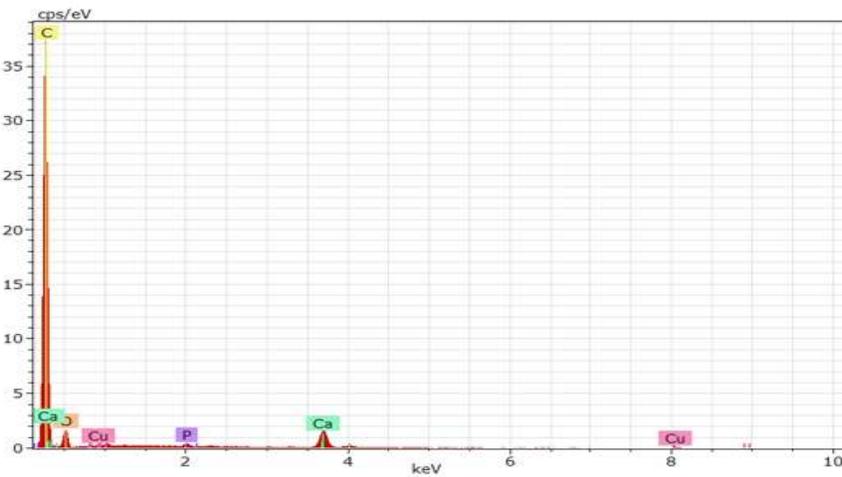


Figura 4.70. Análisis químico por EDS micrografía B) de la figura 4.68.

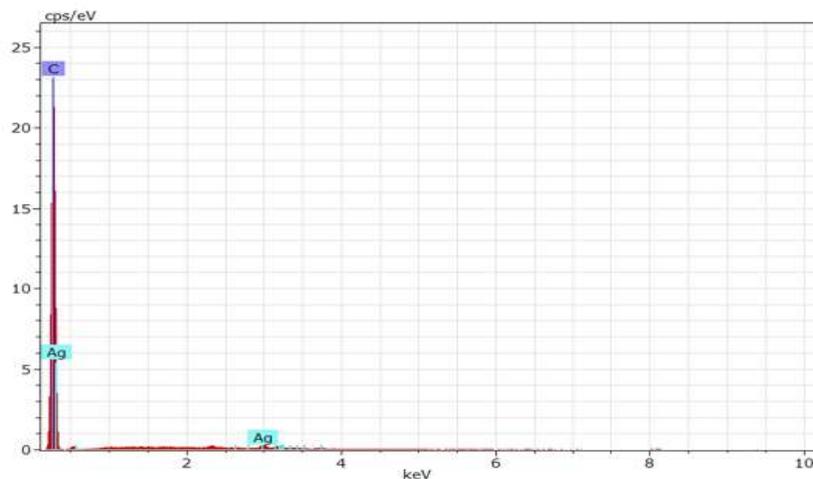


Figura 4.71. Análisis químico por EDS micrografía D) de la figura 4.68.

Las figuras 4.55 y 4.67 muestran que en los filamentos del hongo se produce la precipitación química de nanopartículas de oro y plata respectivamente, bajo las condiciones experimentales observadas en este trabajo de investigación (1 atmósfera de presión, 298 K, y pH de menor a 6).

De lo anterior, el mecanismo de atrapamiento de los metales valiosos por parte de la biomasa que este trabajo propone es: atracción y unión de las especies en solución por parte de los filamentos del hongo (biosorción), seguida por la síntesis de nanopartículas de oro o de plata a partir de las especies atrapadas entre las hifas, posteriormente sucede la precipitación química de las partículas nanométricas y, finalmente la difusión de éstas hacia la biomasa.

La tabla IV.10 y IV.11 muestran los parámetros obtenidos para los modelos isotérmicos para los sistemas de biosorción de oro y plata con biomasa de *Aspergillus niger* pulverizada y en forma de pellets. Se observa que el sistema de biosorción de oro por biomasa pulverizada se ajusta al modelo de Freundlich con un factor de correlación de 0.98, más sin embargo el valor del parámetro es muy semejante con el modelo de Langmuir, que describe procesos de sorción considerando que la unión a la superficie opera fuerzas electrostáticas o de Van der Waals y suponiendo que todos los sitios de adsorción poseen igual afinidad por el adsorbato [62].

Sin embargo la biomasa contiene más de un tipo de grupo funcional que contribuye al proceso y cada uno posee afinidad diferente por el metal [63], el modelo de Freundlich describe procesos de sorción sobre superficies heterogéneas o superficies con sitios de unión con afinidades diferentes, y asume que los sitios de unión más fuertes son ocupados en primera instancia y que la fuerza de unión disminuye a medida que se incrementa el grado de ocupación de los sitios de unión [61].

La elección del modelo de isoterma adecuado para describir el equilibrio de sorción debe tener concordancia con las características del sistema en estudio y no solamente el ajuste matemático o con un coeficiente de correlación elevado, dicho esto el sistema de biosorción de oro por biomasa pulverizada de *Aspergillus niger* concuerda con el modelo de Freundlich teniendo una  $Q_0$  de 77.72 mg de oro por cada gramo de biomasa, para el sistema de plata su  $Q_0$  es de 64.14 mg de plata por cada gramo de biomasa y el proceso de sorción es afín al modelo duplo de Langmuir –Freundlich que describe la presencia de diferentes tipos de sitios de sorción y por lo tanto posee una superficie heterogénea.

Para los sistemas de sorción de oro y plata empleando biomasa en forma de pellets, el modelo que se ajustó para ambos procesos fue el duplo de Langmuir–Freundlich con coeficientes

de correlación de 0.93 y 0.98 respectivamente, que describe la superficie heterogénea del biosorbente, teniendo valores de  $Q_0$  125.83 mg de oro por cada gramo de biomasa, para el sistema de plata su  $Q_0$  es de 34.42 mg de plata por cada gramo de biomasa. Teniendo una mejor recuperación del metal valor utilizado biomasa de *Aspergillus niger* pulverizada. Los valores de  $Q_0$  de oro y plata obtenidas por cualquier sistema supera a algunos biosorbentes mencionados en el capítulo 1.

**Tabla IV.10.-** Parámetros obtenidos de los modelos isotérmicos aplicados al proceso de biosorción para oro y plata con biomasa de *Aspergillus niger* pulverizada.

Sistema Biomasa pulverizada	Langmuir			Freundlich			Langmuir- Freundlich			
	$Q_0$ (mg/g)	b (L/mg)	R	$K_F$	n	R	$K_{LF}$	$a_{LF}$	n	R
Au	77.723	0.007	0.986	1.137	1.340	0.980	2.215	0.602	0.000002	0.964
Ag	64.140	0.006	0.970	0.737	1.292	0.965	0.010	2.131	0.0246	0.978

**Tabla IV.11.-** Parámetros obtenidos de los modelos isotérmicos aplicados al proceso de biosorción para oro y plata con biomasa de *Aspergillus niger* en forma de pellets.

Sistema Biomasa pellets	Langmuir			Freundlich			Langmuir- Freundlich			
	$Q_0$ (mg/g)	b (L/mg)	R	$K_F$	n	R	$K_{LF}$	$a_{LF}$	n	R
Au	125.836	0.011	0.923	2.877	1.453	0.911	0.123	0.027	1.777	0.931
Ag	34.425	0.026	0.915	2.232	1.868	0.872	0.00001	0.043	5.541	0.980

## Capítulo V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 2.1. Conclusiones.

- EL presente proyecto cumplió con los objetivos propuestos, la evaluación del hongo *Aspergillus niger* como biosorbente de oro y plata en solución.
- La conservación y generación de biomasa a partir de la cepa fúngica *Aspergillus niger* 16404, fue constante lo que permitió el desarrollo del presente trabajo.
- La implementación de biomasa viva de *Aspergillus niger* como biosorbente de oro y plata genero porcentajes de recuperación por debajo del 71%, representando un sistema complejo de trabajar.
- Las cinéticas de biosorción de oro y plata a concentración de 1 ppm y 3 ppm implementando biomasa muerta pulverizada obtuvieron rendimientos por encima del 95% de recuperación alcanzando el tiempo de equilibrio en alrededor de 12 horas de contacto, ajustando la descripción del proceso por el modelo de cinética de Elovich, siendo el sistema con mejores porcentajes de recuperación superando la utilización de biomasa viva y en forma de pellets.
- Las cinticas de biosorción de oro y plata a concentración de 1 ppm y 3 ppm implementando biomasa muerta en forma de pellets fue menos eficiente en comparativa con la biomasa pulverizada, presentando un rendimiento por debajo de 96% con un tiempo de equilibrio menor 25 horas, y el modelo de cinética que se ajusta a este sistema es el de Elovich, y se observó que el parámetro de velocidad incremento con respecto de la concentración en oro y es inverso para el sistema en plata.
- La recuperación de oro y plata en los procesos de cinética de sorción fue en forma de partículas adheridas a superficie de la estructura fúngica o hifas, de tamaños variables menores a 100 nm, presentado diseminación dentro de las mismas.

- La isoterma de Langmuir–Freundlich es el modelo que se ajusta a los sistemas biosorción de oro y plata con biomasa muerta pulverizada y en forma de pellet, describiendo la superficie del biosorbente como heterogénea.
- Los sistemas de recuperación de oro y plata utilizando el hongo *Aspergillus niger*, obtuvieron valores significativos de recuperación, sin procesos como la modificación de la biomasa por tratamientos químicos, ni ajuste de variables como el pH, la temperatura, ni aumento de la contracción de biomasa, factores que promueven o inhiben la remoción de los metales.
- La máxima recuperación de oro y plata implementando como biosorbente la biomasa fúngica pulverizada fue de 77.72 mg de oro por cada gramo de biomasa y 64.14 mg de plata por cada gramo de biomasa. La máxima recuperación de oro y plata implementando como biosorbente la biomasa fúngica en forma de pellets fue de 125.58 mg de oro por cada gramo de biomasa y 34.42 mg de plata por cada gramo de biomasa, denotando la eficiencia de cada biomasa en la recuperación de cada metal.
- La recuperación de oro y plata de los experimentos de isotermas fue en forma de partículas de diversas formas y tamaños adheridas a la superficie de la estructura filamentosa del hongo, aunado a la formación de precipitados de los metales.
- No se encontró información que constatará el comportamiento de las curvas de potencial zeta a diferentes valores de pH del medio con la cual sustentará la atracción del microorganismo por las especies cloradas de oro y plata en estado iónico; sin embargo, se generó la curva de potencial zeta en el rango de trabajo de pH de 3 a 6, donde se aprecia el valor positivo de este potencial para *Aspergillus niger 16404*, (Anexo 9), y como primera aproximación permite establecer que ocurre el fenómeno de atracción de las especies iónicas de oro o de plata hacia la superficie positiva del microorganismo. En cuanto a los posibles mecanismos de nucleación y precipitación química de las partículas de metal, quedan fuera del alcance de este trabajo de investigación.

## **2.2. Recomendaciones.**

En el presente trabajo se estudió la recuperación de oro y plata en un medio acuoso sintético usando el hongo *Aspergillus niger*, aun que es necesario profundizar en lo siguiente:

- Utilización del microorganismo con actividad metabólica como único sistema de estudio en la recuperación de oro y plata en solución.
- Utilización de biomasa muerta procedente de la industria alimenticia para los procesos de recuperación de oro y plata.
- Encontrar condiciones ideales de proceso de recuperación de oro y plata implementado el hongo *Aspergillus niger* mediante la modificación de variables como el pH, la concentración de biosorbente, la temperatura, y tiempo de contacto.
- Establecer mecanismo de interacción de los componentes de la superficie celular en contacto con el oro y plata en solución.
- Definir la preferencia de interacción del microorganismo por un metal, trabajando en sistema conjunto de oro y plata en solución.
- Investigar el efecto de iones competitivos en la recuperación de oro y plata en un lixiviado industrial.
- Estudiar la posibilidad de desorción de los metales removidos por el biosorbente, para la reutilización de la biomasa en un nuevo ciclo de sorción.
- Investigar el proceso de recuperación del metal en solido por vía de incineración.
- Estudiar el proceso de biosorción utilizando un consorcio de microorganismos.
- Estudiar del efecto de sorción de una biomasa modificada (inmovilización y pretratamiento químico).

## BIBLIOGRAFÍA

1. *LibraryMine* [en línea]. Disponible en: URL:< <http://www.infomine.com/library/>> [Consulta 13-NOV-2012].
2. Alonso, R.N., *Diccionario minero: Glosario de voces utilizadas por los mineros de Iberoamérica*. 3era ed. Madrid: CSIC. 1995. p. 24.
3. Ocampo, J.L., *Tesoros legendarios de Colombia y el mundo*. 1era ed. Colombia: PLAZA Y JANÉS. 2004. p. 17.
4. Lenntech, B.V., *Water Treatment Solutions Lenntech* [en línea]. Disponible en: URL: < <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/au.htm>> [Consulta 13-NOV-2012].
5. *Metalurgia del oro y plata* [en línea]. Disponible en: URL: < <http://es.scribd.com/doc/26719258/Metalurgia-Del-Oro-y-Plata>> [Consulta 13-NOV-2012].
6. Lenntech, B.V., *Water Treatment Solutions Lenntech* [en línea]. Disponible en: URL: < <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/ag.htm>> [Consulta 13-NOV-2012].
7. Muños, M, C; *Mundo Mineral: plata nativa* [en línea] España. Disponible en: URL: <<http://mundo-mineral.blogspot.mx/2010/01/plata-nativa.html>> [Consulta 13-NOV-2012].
8. Esparza, M.M: *Lixiviación Microbiana: del ADN a las aplicaciones industriales en la minería* [en línea] Chile. Disponible en: URL:< <http://dc178.4shared.com/doc/MmwT-5Zq/preview.html>> [Consulta 16-NOV-2012].
9. Vullo, L, D; Química Viva *Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente* I (3) [en línea]. Disponible en: URL: <<http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/metales/metales.htm>> [Consulta 16-NOV-2012].
10. Gavrilescu, M., *Biosorption in Environmental Remediation*. Ed 1. Springer Netherlands. 2010. p. 35-99.
11. Zimmermann, M., y Wolf, K., *Biosorption of Metals*. Springer Berlin Heidelberg. 2010. p. 379-392
12. Donati, E; *Biominería y biorremediación, dos aportes biológicos hacia una menor contaminación*. [en línea].Disponible en: URL: < <http://es.scribd.com/doc/69438936/20071005-Biomineria-y-Biorremediacion-Donati>> [Consulta 16-NOV-2012].
13. Ahalya, N; *Research Journal Of Chemistry And Environment*. Biosorption of Heavy Metals [en línea], 7(4). Disponible en: URL: <<http://wgbis.ces.iisc.ernet.in/energy/water/paper/biosorption/biosorption.htm#6>> [Consulta 18-NOV-2012].
14. Mack, C. Wilhelmi, B. Duncan, J.R. y Burgess, J.E. Biosorption of precious metals. *Biotechnology Advances*, 25(3), 264-271. 2007.

15. Gomes, N.C.M. Camargos, E.R.S. Dias, J.C.T. y Linardi, V.R. Gold and silver accumulation by *Aspergillusniger* from cyanide-containing solution obtained from the gold mining industry. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14(1), 149-149. 1997.
16. Viraraghavan, T. Y., Srinivasan, A., *Fungal Biosorption and Biosorbents*. Springer Netherlands. 2011. p. 143-158.
17. Cañizares, V. R. Revista Latinoamericana de Microbiología. *Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana* [en línea]. Disponible en: URL:<<http://www.medigraphic.com/pdfs/lamico/mi-2000/mi003f.pdf>> [Consulta 18-NOV-2012].
18. Wang, J.-S., Xin, J.-H., Yun, G.-L., Shui, B.-X., y Zheng, L.-B., Biosorption of uranium (VI) by immobilized *Aspergillusfumigatus* beads. *Journal of Environmental Radioactivity*, 101(6), 504-508. 2010.
19. Martínez, B.I; Adsorción de oro y plata y formación de nanopartículas en microorganismos aislados de residuos mineros. XIII Congreso Nacional de biotecnología y bioingeniería [en línea] Disponible en: URL: <[http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA\\_VI/CVI-18.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_VI/CVI-18.pdf)> [Consulta 19-NOV-2012].
20. Pighi, L.,Pümpel, T., Y Schinner, F.,. Selective accumulation of silver by fungi. *Biotechnology Letters*, 11(4), 275-280. 1989.
21. Pümpel, T., Y Schinner, F., Silver tolerance and silver accumulation of microorganisms from soil materials of a silver mine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 24(3), 244-247. 1986.
22. Mier. T., Toriello, C., Ulloa, M., *Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio*. 1era ed. México D.F. 2002.
23. Weast, R.C., Handbook of chemistry and physics. 64va ed. Boca Raton, Florida: CRC PRESS. 1984. p B-101.
24. CAMIMEX: Informe Anual 2012 [en línea]. Disponible en: URL: < <http://www.camimex.org.mx/files/7013/5409/1184/2012.pdf>> [Consulta 15- DIC-2012].
25. Logsdon, J. M., Hagelstein, K., Mudder, I. T. El manejo del cianuro en la extracción de oro. *Consejo Internacional De Metales y Medio Ambiente* [en línea]. Disponible en: URL:<[http://www.caem.com.ar/wpcontent/uploads/EI%20Manejo%20del%20cianuro%20\(ICMM\).pdf](http://www.caem.com.ar/wpcontent/uploads/EI%20Manejo%20del%20cianuro%20(ICMM).pdf)> [Consulta 14-NOV- 2012].
26. Chang, R., College, W. *Química*. 7ma ed. Colombia: McGraw-Hill. 2005. p. 848.
27. Vargas, E. P., *Metalurgia del oro y uso adecuado del cianuro, Módulos de Capacitación Técnico Ambiental*. Empresa Minera MACDESA [en línea]. Chaparra. Disponible en: URL:

- <[http://geco.mineroartesanal.com/tiki-download\\_wiki\\_attachment.php?attId=357](http://geco.mineroartesanal.com/tiki-download_wiki_attachment.php?attId=357)> [Consulta 2-ENE-2013].
28. FUNDAR, Centro de Análisis e Investigación, *Minería, comunidades y medio ambiente Investigaciones sobre el impacto de la inversión canadiense en México* [en línea]. México. Disponible en: URL:<<http://es.scribd.com/doc/43997559/7/La-extraccion-de-oro-por-el-metodo-de-lixiviacion-cianurada>> [Consulta 2-ENE-2013].
  29. Kapoor, A., y Viraraghavan, T., Fungal biosorption — an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. *Bioresource Technology*, 53(3), 195-206. 1995.
  30. Rodríguez, A.I., Cárdenas, F.G., y Martínez, V.M., El uso de diferentes biomásas para la eliminación de metales pesados en sitios contaminados. Ide@s CONCYTEG [en línea], 7 (85), pp. 911-922. Disponible en: URL:<[http://www.concyteg.gob.mx/ideasConcyteg/Archivos/85\\_3\\_ACOSTA\\_RODRIGUEZ\\_ET\\_AL.pdf](http://www.concyteg.gob.mx/ideasConcyteg/Archivos/85_3_ACOSTA_RODRIGUEZ_ET_AL.pdf)> [Consulta 2-ENE-2013].
  31. Rodríguez, R., García-Cortes, A. Los residuos minero-metalúrgicos en el medio ambiente. 1era ed. 2006. Instituto Geológico y Minero de España. Madrid, España. pp. 151 y 152.
  32. Hidalgo, V. A. R. *Biosorción de plomo y cadmio mediante el aprovechamiento de residuos de madera (aserrín de pino) y extractos de algas marinas (alginato de calcio)*. Licenciatura en biología. Tesis. Facultad de Biología. Universidad Michoacana De San Nicolás De Hidalgo, México. 2010.
  33. Nakajima, A. Accumulation of gold by microorganisms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(4), 369-374. 2003.
  34. Becerra-Jiménez, J.M.E., Sánchez-Díaz, J. C., Arellano-Ceja, J., González-Álvarez, A., y Martínez-Ruvalcaba, A., *Quitosán fúngico: fuentes y propiedades*. Revista Científica, 2011. 3 (5).
  35. Pontón, J., *La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina*. Revista Iberoamericana de Micología, 2008. 25(2): p. 78-82.
  36. Das, N., *Recovery of precious metals through biosorption — A review*. Hydrometallurgy, 2010. 103(1-4): p. 180-189.
  37. Horrutiner, Yusleydi Enamorado et al. *Caracterización de la biomasa inactiva de Aspergillus niger O-5 como sorbente de Pb (II)*. *Quím. Nova* [online]. 2011, vol.34, n.7, pp. 1141-1146. ISSN 0100-4042. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000700007>.
  38. Cárdenas-González, J.F., V.M. Martínez-Juárez, and I. Acosta-Rodríguez, *Remoción de Cromo (VI) por una Cepa de Paecilomyces sp Resistente a Cromato*. Información tecnológica, 2011. 22: p. 43-50.

39. Mata, Y.N., E. Torres, M.L., A. Ballester, F. González, J.A. Muñoz, *Gold (III) biosorption and bioreduction with the brown alga Fucusvesiculosus*. *Journal of Hazardous Materials*, 2009. 166(2–3): p. 612-618.
40. Sheng, P.X., Wee, K. H., Ting, Y. P. Chen, J. Paul., *Biosorption of copper by immobilized marine algal biomass*. *Chemical Engineering Journal*, 2008. 136(2–3): p. 156-163
41. Balanta, D., Grande, C. D., & Zuluaga, F. *Extracción, identificación y caracterización de quitosano del micelio de Aspergillus Niger y sus aplicaciones como material bioadsorbente en el tratamiento de aguas*, 2010. Universidad del País Vasco.
42. Khoo, K.M. Ting, Y.P. *Biosorption of gold by immobilized fungal biomass*. *Biochemical Engineering Journal*, 2001. 8(1): p. 51-59.
43. Poma, Pedro A. Intoxicación por plomo en humanos. *An. Fac. med.* [en línea]. 2008, 69 (2), pp. 120-126. Disponible en: <[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832008000200011&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832008000200011&lng=es&nrm=iso)> [consulta 29-MAY-2014].
44. Ramírez, Augusto V. El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. *An. Fac. med.* [en línea]. 2005, 66 (1), pp. 57-70. Disponible en: <[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832005000100009&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832005000100009&lng=es&nrm=iso)> [consulta 29-MAY-2014].
45. Villena, G.K. and M. Gutiérrez-Correa, *Biopelículas de Aspergillus niger para la producción de celulasas: algunos aspectos estructurales y fisiológicos*. *Revista Peruana de Biología*, 2003. 10: p. 78-87.
46. García, V., Yipmantin, A., Guzmán, E., Pumachagua, R. & Maldonado, H., *Estudio de la cinética de biosorción de iones plomo en pectina reticulada proveniente de cáscaras de cítricos*. *Rev. Soc. Quím. Perú* [en línea]. 2011, 77 (3), pp. 173-181. Disponible en: <[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2011000300002&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2011000300002&lng=es&nrm=iso)>. [consulta 14-JUL-2014].
47. Pinzón Bedoya, M. L., Vera Villamizar, L. E. *Modelamiento de la cinética de bioadsorción de cr (iii) usando cáscara de naranja*. *DYNA*, [en línea], 76 (160), pp. 95-106. Disponible en: <<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/13588/14379>>. [consulta 13-JUL-2014].
48. Ho, Y.S. McKay, G. *Pseudo-second order model for sorption processes*. *Process Biochemistry*, 1999. 34(5): p. 451-465.
49. Weber, W.J. Smith, E.H. *Simulation and design models for adsorption processes*. *Environmental Science & Technology*, 1987. 21(11): p. 1040-1050.

50. Günay, A., Arslankaya, E., Tosun, İ. *Lead removal from aqueous solution by natural and pretreated clinoptilolite: Adsorption equilibrium and kinetics*. Journal of Hazardous Materials, 2007. 146(1–2): p. 362-371.
51. Álvarez ME, Isaza G, Echeverry HM. *Efecto antibacteriano in vitro de Austroeuatoriuminulaefolium H.B.K. (Salvia amarga) y Ludwigiapolygonoides H.B.K. (Clavo de laguna)*. Biosalud 2005; 14:46-55.
52. Tortora, G., Funke, B., Case, C., *Introducción a la Microbiología*. Ed 9. Panamericana. 2007. pp. 176-178.
53. Kwak, I.S. Yun, Y.S. *Recovery of zero-valent gold from cyanide solution by a combined method of biosorption and incineration*. Bioresource Technology, 2010. 101(22): p. 8587-8592.
54. Guzmán, A. M. C. *La contaminación de agua y suelos, su prevención con nuevas sustancias naturales*. 1era edición, 2007. Universidad de Sevilla. Sevilla, España. pp. 25-27.
55. Rodríguez, M.E., Miranda, R.C., Olivas, R., Sosa, C.A. *Efectos de las condiciones de operación sobre la biosorción de  $Pb^{++}$ ,  $Cd^{++}$  y  $Cr^{+++}$ , en solución por *Saccharomyces cerevisiae* residual*, Información Tecnológica: 19, (6) 47-55 (2008).
56. In J. M. Chalmers and P. R. Griffiths (ed.), *Handbook of vibrational spectroscopy*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, United Kingdom. Pages 1-27
57. Cárdenas, J., Moctezuma, M. G., Acosta, I., Martínez, V., M., *Biosorción de Plomo (II) en solución por diferentes biomásas fúngicas*. Revista Latinoamericana de Recursos Naturales 9 (1): 57-61, 2013
58. Ho, Y.S., Porter, J.F., McKay, G. *Equilibrium isotherm studies for the sorption of divalent metal ion onto peat: copper, nickel and lead singlecomponent systems*. *Water, Air and Soil Pollution*, (2002). 141, 1-33.
59. Jing-song Wang, Xin-jiang Hu, Yun-guo Liu, Shui-boXie, Zheng-lei Bao. *Biosorption of uranium (VI) by immobilized Aspergillus fumigatus beads*. *Journal of Environmental Radioactivity* 101 504–508. 2010.
60. Kaushik, P., Malik, A. *Comparative performance evaluation of Aspergillus lentulus for dye removal through bioaccumulation and biosorption*. Environmental Science and Pollution Research, 2013. 20(5): p. 2882-2892.
61. Gharieb, M., *Biosorption and solubilization of copper oxychloride fungicide by Aspergillus niger and the influence of calcium*. Biodegradation, 2002. 13(3): p. 191-199.
62. Sala, L. F.; García, S.I., González, J. C., Frascaroli, M. I., Bellú, S., Mangiameli, F., Blanes, P., Mogetta, M. H., Andreu, V., Atria, A. M., Salas-Peregrin, J. M. *Biosorción para la eliminación de*

- metales pesados en aguas de desecho. *Anales de Química de la Real Sociedad Española*. 106 (2), 114-120. 2010.
63. Mejía Sandoval, Gregory. Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* [en línea] 2006, 1 (Enero-Junio). Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321428096010>> [consulta 12-AGO-2014].
64. Luty-Błocho, M., Fitzner, K., Hessel, V., Löb, P., Maskos, M., Metzke, D., Paclawski, K. and Wojnicki, M. Synthesis of gold nanoparticles in an interdigital micromixer using ascorbic acid and sodium borohydride as reducers. *Chemical Engineering Journal*, 171 (1), 279-290. 2011
65. Cruz, D. A., Rodríguez, M.C., López, J. M., Herrera, V. M., González, O. A., Hernández, C. A., *Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda*. *Av. Cien. Ing.* 3(2): 67-78. 2012.

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Preparación y composición de los medios de cultivo.

**Composición general de los medios de cultivo Papa dextrosa y Sabouraud**

<i>Agar Papa dextrosa</i>	<i>Agar Sabouraud</i>
Infusion de papa 200	Pectona de caseína 5g
Dextrosa 20	Pectona de carne 5 g
Agar bacteriológico 15	Dextrosa 40 g
	Agar bacteriológico

La preparación fue suspender 3.9 grs de agar Papa dextrosa en 100 ml de agua destilada y 9.75 grs de agar Sabouraud en 100 ml de agua destilada, se mezcla hasta uniformar, se procede a calentar agitando constantemente y hervir 1 min hasta disolver, midiendo y obteniendo un pH de  $5.6 \pm 0.2$  para ambos medios, se distribuye en los tubos para su esterilización en el autoclave marca FELISA por 15 min a  $121^{\circ}\text{C}$  (a 15 libras de presión), dejando reposar y solidificar, para el caso de gelosa en placa o caja Petri, el vaciado a dicho recipiente se realiza cerca del mechero y después de su esterilización, posterior a su solidificación se almacenaron en refrigeración a  $7^{\circ}\text{C}$ .

Anexo 2. Condiciones finales de los experimentos de isotermas.

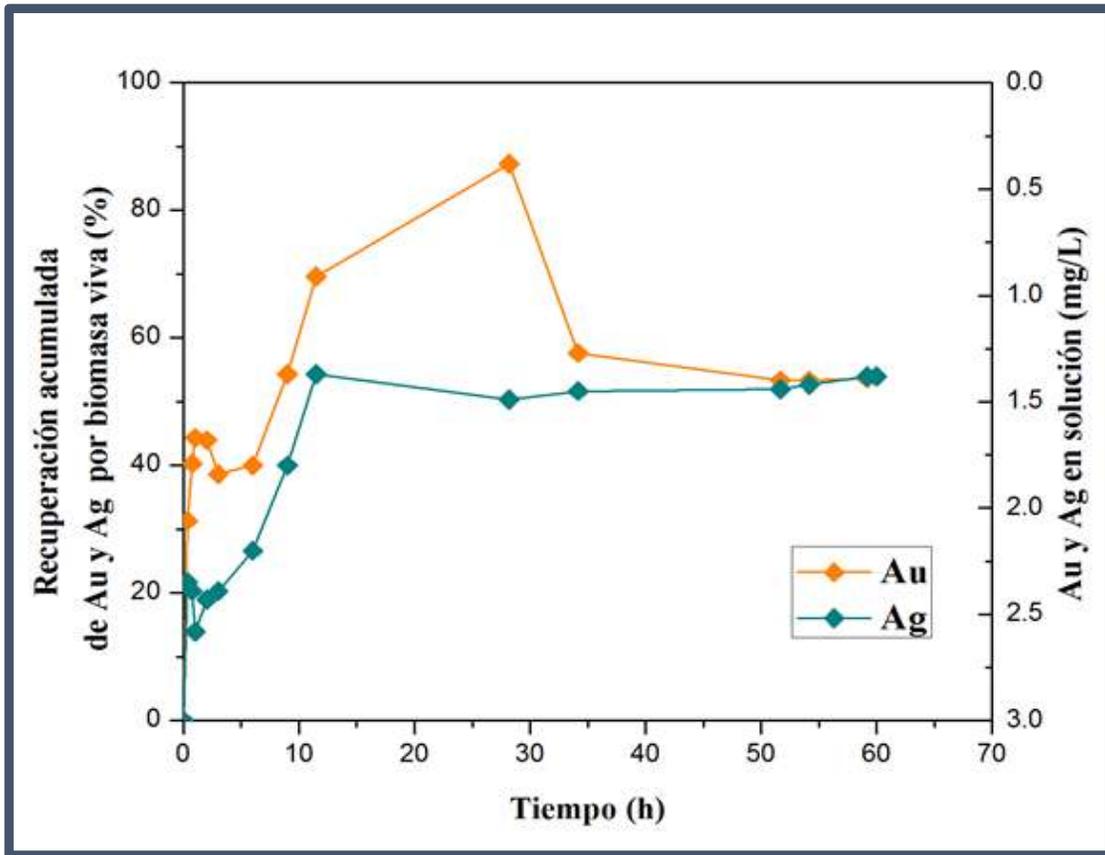
<i>Matraz</i>	<i>Volumen de la solución</i>	<i>Concentración de Au en solución</i>	<i>pH de la solución después del contacto</i>	<i>Cantidad de pellets recuperados por filtrado (g)</i>
1	100 ml	0	6.39	-
2	100 ml	1 ppm	3.22	0.1964
3	100 ml	5 ppm	2.26	0.1973
4	100 ml	10 ppm	2.01	0.1779
5	100 ml	20 ppm	1.74	0.1914
6	100 ml	35 ppm	1.57	0.2315
7	100 ml	40 ppm	1.53	0.2768
8	100 ml	60 ppm	1.39	0.2096
9	100 ml	85 ppm	1.37	0.2714
10	100 ml	100 ppm	1.42	0.4023

<i>Matraz</i>	<i>Volumen de la solución</i>	<i>Concentración de Ag en solución</i>	<i>pH de la solución después del contacto</i>	<i>Cantidad de pellets recuperados por filtrado (g)</i>
1	100 ml	0	6.39	-
2	100 ml	1 ppm	5.47	0.297
3	100 ml	5 ppm	5.73	0.3489
4	100 ml	10 ppm	5.80	0.3101
5	100 ml	20 ppm	5.43	0.2635
6	100 ml	35 ppm	4.71	0.2052
7	100 ml	40 ppm	4.19	0.1982
8	100 ml	60 ppm	4.02	0.1479
9	100 ml	85 ppm	3.92	0.1393
10	100 ml	100 ppm	3.88	0.1741

<i>Matraz</i>	<i>Volumen de la solución</i>	<i>Concentración de Au en solución</i>	<i>pH de la solución</i>	<i>Cantidad de biomasa pulverizada (g)</i>
1	100 ml	0	6.40	0.2
2	100 ml	1 ppm	2.76	0.2
3	100 ml	5 ppm	2.25	0.2
4	100 ml	10 ppm	2.00	0.2
5	100 ml	20 ppm	1.76	0.2
6	100 ml	35 ppm	1.57	0.2
7	100 ml	40 ppm	1.48	0.2
8	100 ml	60 ppm	1.41	0.2
9	100 ml	85 ppm	1.31	0.2
10	100 ml	100 ppm	1.27	0.2

<i>Matraz</i>	<i>Volumen de la solución</i>	<i>Concentración de Ag en solución</i>	<i>pH de la solución</i>	<i>Cantidad de biomasa pulverizada (g)</i>
1	100 ml	0	6.40	0.2
2	100 ml	1 ppm	4.06	0.2
3	100 ml	5 ppm	3.78	0.2
4	100 ml	10 ppm	3.88	0.2
5	100 ml	20 ppm	3.85	0.2
6	100 ml	35 ppm	3.82	0.2
7	100 ml	40 ppm	3.75	0.2
8	100 ml	60 ppm	3.50	0.2
9	100 ml	85 ppm	3.31	0.2
10	100 ml	100 ppm	3.47	0.2

Anexo 3. Cinética de remoción de oro y plata implementado biomasa viva de *A. niger*.



**Anexo 4.** Funciones obtenidas de los modelos propuestos en los sistemas de cinéticas de adsorción de oro y plata utilizando biomasa viva.

<b><i>Cinética de plata a una concentración de 1 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((10.6323) * (84.7273) * x))) / (84.7273)$
<i>Lagergren</i>	$y = (.115251) * (1 - \exp(-(.978636) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (9.66914) * x * ((.118252)^2)) / (1 + (2 * (9.66914) * (.118252) * x))$
<b><i>Cinética de oro a una concentración de 1 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((.068635) * (17.1647) * x))) / (17.1647)$
<i>Lagergren</i>	$y = (.219878) * (1 - \exp(-(.146684) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (.313363) * x * ((.257657)^2)) / (1 + (2 * (.313363) * (.257657) * x))$
<b><i>Cinética de oro a una concentración de 3 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((8.25638) * (18.2691) * x))) / (18.2691)$
<i>Lagergren</i>	$y = (.459362) * (1 - \exp(-(.560797) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (1.24473) * x * ((.468853)^2)) / (1 + (2 * (1.24473) * (.468853) * x))$
<b><i>Cinética de plata a una concentración de 3 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((.142124) * (6.20238) * x))) / (6.20238)$
<i>Lagergren</i>	$y = (.569529) * (1 - \exp(-(.125871) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (.100738) * x * ((.677657)^2)) / (1 + (2 * (.100738) * (.677657) * x))$

**Anexo 5.** Funciones obtenidas de los modelos propuestos en los sistemas de cinéticas de adsorción de oro y plata utilizando biomasa pulverizada.

<b><i>Cinética de plata a una concentración de 1 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((1535.39) * (27.7239) * x))) / (27.7239)$
<i>Lagergren</i>	$y = (.49268) * (1 - \exp(-(2.02302) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (3.57619) * x * ((.507228)^2)) / (1 + (2 * (3.57619) * (.507228) * x))$
<b><i>Cinética de oro a una concentración de 1 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((150e111) * (567.254) * x))) / (567.254)$
<i>Lagergren</i>	$y = (.474286) * (1 - \exp(-(58.2738) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (464.885) * x * ((.474817)^2)) / (1 + (2 * (464.885) * (.474817) * x))$
<b><i>Cinética de oro a una concentración de 3 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((27178e8) * (24.71) * x))) / (24.71)$
<i>Lagergren</i>	$y = (1.38732) * (1 - \exp(-(6.41318) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (5.86184) * x * ((1.41118)^2)) / (1 + (2 * (5.86184) * (1.41118) * x))$
<b><i>Cinética de plata a una concentración de 3 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((5.3982) * (4.67732) * x))) / (4.67732)$
<i>Lagergren</i>	$y = (1.39192) * (1 - \exp(-(.466133) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (.255855) * x * ((1.47386)^2)) / (1 + (2 * (.255855) * (1.47386) * x))$

**Anexo 6.** Funciones obtenidas de los modelos propuestos en los sistemas de cinéticas de adsorción de oro y plata utilizando biomasa muerta en forma de pellets.

<b><i>Cinética de plata a una concentración de 1 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((5781.35) * (16.4746) * x))) / (16.4746)$
<i>Lagergren</i>	$y = (.858403) * (1 - \exp(- (2.96201) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (2.87276) * x * ((.886738)^2)) / (1 + (2 * (2.87276) * (.886738) * x))$

<b><i>Cinética de oro a una concentración de 1 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((44712e5) * (39.5537) * x))) / (39.5537)$
<i>Lagergren</i>	$y = (.714211) * (1 - \exp(- (6.70388) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (10.9665) * x * ((.727917)^2)) / (1 + (2 * (10.9665) * (.727917) * x))$

<b><i>Cinética de oro a una concentración de 3 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((20.8496) * (2.10588) * x))) / (2.10588)$
<i>Lagergren</i>	$y = (3.34275) * (1 - \exp(- (.572009) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (.13326) * x * ((3.51615)^2)) / (1 + (2 * (.13326) * (3.51615) * x))$

<b><i>Cinética de plata a una concentración de 3 ppm</i></b>	<b><i>Función obtenida</i></b>
<i>Elovich</i>	$y = (\log(1 + ((30.9587) * (4.8034) * x))) / (4.8034)$
<i>Lagergren</i>	$y = (1.69913) * (1 - \exp(- (.832988) * x))$
<i>Pseudo segundo orden</i>	$y = (2 * (.389722) * x * ((1.77502)^2)) / (1 + (2 * (.389722) * (1.77502) * x))$

**Anexo 7.** Funciones obtenidas de los modelos propuestos en los sistemas de isotermas de adsorción de oro y plata.

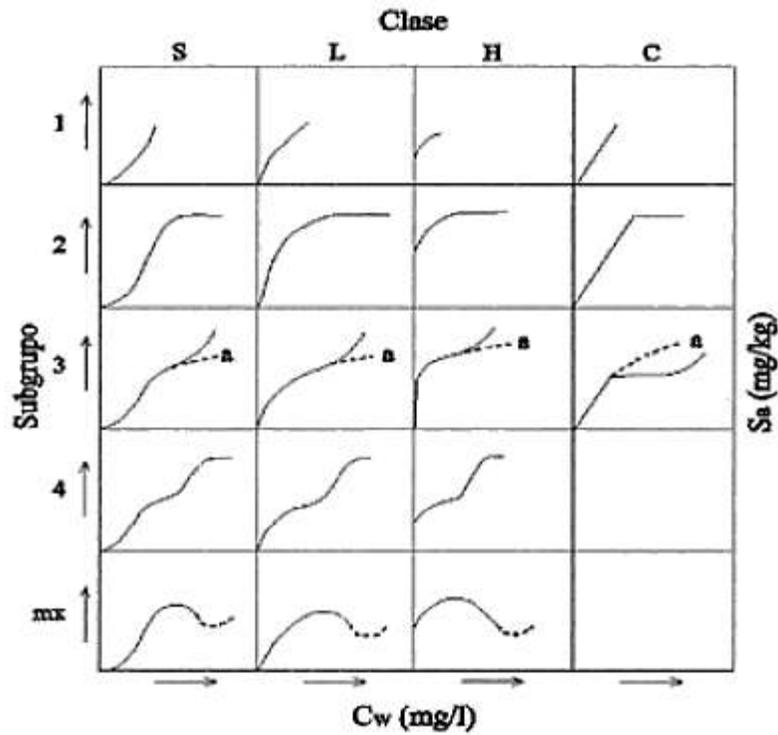
<b>Isoterma de plata utilizando biomasa pulverizada</b>	<b>Función obtenida</b>
Freundlich	$y = (.737424) * (x^{1/(1.2923)})$
Langmuir	$y = ((64.1401) * (.006563) * x) / (1 + ((.006563) * x))$
Freundlich-Langmuir	$y = ((.010591) * (x^{2.13115})) / (1 + (((.024684) * x)^{2.13115}))$

<b>Isoterma de oro utilizando biomasa pulverizada</b>	<b>Función obtenida</b>
Freundlich	$y = (1.13795) * (x^{1/(1.34037)})$
Langmuir	$y = ((77.724) * (.007924) * x) / (1 + ((.007924) * x))$
Freundlich-Langmuir	$y = ((2.21546) * (x^{.602529})) / (1 + (((.216e-5) * x)^{.602529}))$

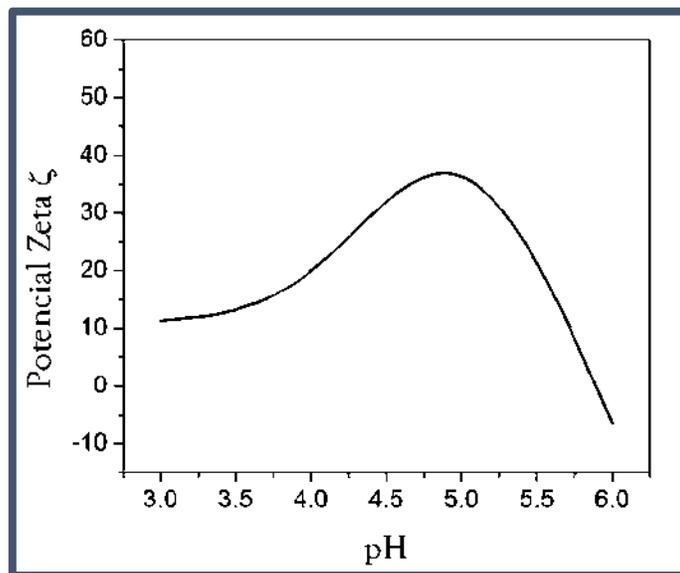
<b>Isoterma de oro utilizando biomasa en forma de pellets</b>	<b>Función obtenida</b>
Freundlich	$y = (2.87749) * (x^{1/(1.45376)})$
Langmuir	$y = ((125.836) * (.011069) * x) / (1 + ((.011069) * x))$
Freundlich-Langmuir	$y = ((.123671) * (x^{1.77738})) / (1 + (((.027054) * x)^{1.77738}))$

<b>Isoterma de plata utilizando biomasa en forma de pellets</b>	<b>Función obtenida</b>
Freundlich	$y = (2.23272) * (x^{1/(1.86835)})$
Langmuir	$y = ((34.426) * (.026423) * x) / (1 + ((.026423) * x))$
Freundlich-Langmuir	$y = ((.669e-6) * (x^{5.54154})) / (1 + (((.043678) * x)^{5.54154}))$

Anexo 8. Clasificación de las isothermas y representación de los diversos subgrupos de isothermas de adsorción [31].



Anexo 9. Potencial Zeta.



**Anexo 10.** Documento de certificación de la cepa ATCC *Aspergillus niger* 16404.