

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA



Utilización secuencial de microalgas en depuración y adsorción de Cr(VI)

Tesis Doctoral

NOHMAN JBARI

Septiembre 2012

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Nohman Jbari
D.L.: GR 336-2013
ISBN: 978-84-9028-357-8

Utilización secuencial de microalgas en depuración y adsorción de Cr(VI)

Trabajo presentado por D Nohman Jbari para aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Granada, mención internacional, en el programa de doctorado “Biotecnología”

Granada 11 Junio 2012

Fdo: Nohman Jbari

D^a Mercedes Fernández Serrano, Profesora Titular y Directora del Departamento de Ingeniería Química:

CERTIFICA, que el trabajo presentado por D Nohman Jbari se ha realizado en el laboratorio “Cultivo de algas” del Departamento de Ingeniería Química bajo la dirección de los doctores D^a M^a Eugenia Martínez Sancho, D^a Farida El Yousfi y D Sebastián Sánchez Villasclaras.

Fdo: Mercedes Fernández Serrano

LOS DIRECTORES DE LA TESIS

Dra D^a M^a Eugenia
Martínez Sancho
Catedrática de Ingeniería
Química
Universidad de Granada
(España)

Dra D^a Farida El Yousfi
Catedrática de Química
Universidad Abdelmalek
Essaâdi (Marruecos)

Dr D Sebastián Sánchez
Villasclaras
Catedrático de Ingeniería
Química
Universidad de Jaén
(España)

Agradecimientos

Este trabajo no se habría podido realizar sin la colaboración y paciencia de muchas personas que me han brindado su ayuda, sus conocimientos y su apoyo. Quiero agradecer a todas ellas cuanto han hecho por mí, para que este trabajo saliera adelante de la mejor manera posible. Es probable que olvide mencionar a algunas, si es así les pido disculpas.

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a mis directores de tesis D^a M^a Eugenia Martínez Sancho, D^a Farida El Yousfi y D Sebastián Sánchez Villasclaras, por la ayuda, el apoyo, la motivación y la orientación constante que ha posibilitado la realización del presente trabajo.

A los doctores D^a Francesca Pagnanelli, D Luigi Toro y miembros de su grupo, por participar, en mi formación en el tema de biosorbentes, durante los tres meses de estancia en el Departamento de Química de la Universidad “La Sapienza” en Roma.

A D Rafael Órpez, sin cuya ayuda en la obtención de la biomasa necesaria para los experimentos de biosorción, este trabajo hubiera sido todavía más complicado.

A la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI) por la beca de estudios otorgada durante cuatro años (2008-2012).

A los compañeros del Departamento por su desinteresada ayuda, en especial a D^a Saloua Ben Driss Alami por su colaboración en aspectos experimentales.

A mis amigos, que en Granada me han acompañado y animado en todo momento. Especialmente a Farida, Mhamad, Siraj, Suri, Brahim, Rachid, Hanan, Rafa, Amin, Abubakr, Anass, Khalid, Miguel y Alicia.

A mis amigos de toda la vida en Tetuán, Khalid, Omar, Anouar, Yousef, Ousama, Ali y Redouan.

A toda mi familia

Para todos, muchas Gracias

Fdo: Nohman Jbari

A LA MEMORIA DE MI PADRE

ÍNDICE

INDICE

1	RESUMEN	1
2	INTRODUCCIÓN	12
2.1	GENERALIDADES	14
2.2	MICROALGAS UTILIZADAS	17
2.3	ALGUNAS APLICACIONES DE LAS MICROALGAS	19
2.3.1	Depuración de aguas residuales	20
2.3.1.1	Sistemas de tratamiento	20
2.3.1.2	Legislación relativa a los nutrientes	23
2.3.2	Biocombustibles	24
2.3.2.1	Generalidades	24
2.3.2.2	Selección de especies	28
2.3.2.3	Bioquímica del proceso	29
2.3.2.4	Sistemas de producción	32
2.4	METALES PESADOS	35
2.4.1	Generalidades	35
2.4.2	Cromo	37
2.4.3	Usos del cromo	38
2.4.4	Beneficios y toxicocinética	39
2.4.5	Límites permisibles	41
2.5	BIOSORCIÓN DE METALES PESADOS	42
2.5.1	Generalidades	42
2.5.2	Biosorbentes microbianos	46
2.5.2.1	Bacterias	46
2.5.2.2	Hongos	50
2.5.2.3	Algas	54
2.5.3	Mecanismos de la biosorción	57
2.6	MODELOS MATEMÁTICOS PARA LA BIOSORCIÓN	62
2.6.1	Modelos de equilibrio	63
2.6.2	Modelos cinéticos	67
2.7	INMOVILIZACIÓN DE BIOSORBENTES	71
2.8	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN REALIZADA	74
3	MATERIALES Y MÉTODOS	77
3.1	MICROALGAS	79
3.2	MATERIAL UTILIZADO	79
3.2.1	Reactivos químicos	79
3.2.2	Otros materiales y equipos	80
3.3	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	81
3.4	INSTALACIONES EXPERIMENTALES DE CULTIVO	81
3.4.1	Instalación con fotobio-reactores tipo tanque agitado	82
3.4.1.1	Suministro de aire	83
3.4.1.2	Reactores	84

3.4.1.3	Circuito de termostatación	84
3.4.1.4	Agitación	84
3.4.1.5	Iluminación	84
3.4.2	Instalación con un fotobio-reactor tipo air- lift	85
3.5	PROCEDIMIENTO OPERATORIO	86
3.5.1	Conservación de las microalgas	86
3.5.2	Medios de cultivo	87
3.5.3	Precultivos, inoculación y comienzo del cultivo	88
3.5.4	Medida del caudal de aire	89
3.5.5	Medida de la intensidad de iluminación	89
3.6	PARÁMETROS DE MEDIDA DEL CRECIMIENTO CELULAR	90
3.6.1	Absorbancia de la suspensión de células	90
3.6.2	Peso seco celular	90
3.7	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN P Y N DEL MEDIO DE CULTIVO	91
3.7.1	Análisis de PO_4^{3-}	91
3.7.2	Análisis de NO_3^-	92
3.8	PREPARACIÓN DEL MATERIAL BIOSORBENTE	94
3.8.1	Biomasa nativa	95
3.8.2	Biomasa exenta del material lipídico	95
3.9	CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL BIOSORBENTE	96
3.9.1	Titulaciones potenciométricas	96
3.9.1.1	Titulaciones ácido-base	96
3.9.1.2	Titulaciones redox	97
3.9.2	Espectrometría de infrarrojos	99
3.9.3	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, XPS	99
3.9.4	Microscopía electrónica de barrido de alta resolución por emisión de campo, FIB-FESEM	100
3.9.5	Análisis elemental	100
3.9.6	Lípidos totales	100
3.9.7	Ácidos grasos	101
3.10	EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN	101
3.10.1	Instalación experimental	101
3.10.2	Procedimiento operatorio	102
3.10.3	Análisis del Cr(VI)	102
3.10.4	Análisis del Cr(Total)	104
3.10.5	Encapsulación del biosorbente	105
3.11	EXPERIMENTOS REALIZADOS	106
4	RESULTADOS EXPERIMENTALES	110
4.1	CRECIMIENTO Y CONSUMO DE NUTRIENTES	112
4.1.1	<i>Scenedesmus obliquus</i>	112
4.1.2	<i>Botryococcus braunii</i>	114
4.2	CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL BIOSORBENTE	116
4.2.1	Titulaciones potenciométricas	116
4.2.1.1	Titulaciones ácido-base	116
4.2.1.2	Titulaciones redox	124
4.3	EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN	129

4.3.1	Influencia del pH	129
4.3.2	Influencia del tiempo de biosorción	130
4.3.3	Equilibrio de la biosorción	134
4.3.4	Cinética de la biosorción	136
4.3.5	Influencia de la concentración del metal	140
4.3.6	Influencia de la concentración de biosorbente	152
4.3.7	Influencia de la fuerza iónica	155
4.3.8	Influencia de la temperatura	161
4.4	BIOMASA ENCAPSULADA	169
5	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	180
5.1	CRECIMIENTO DE LAS MICROALGAS	182
5.1.1	Parámetros geométricos y operacionales	182
5.1.1.1	Aireación y agitación	182
5.1.1.2	Medios de cultivo	184
5.2	CURVAS DE CRECIMIENTO	184
5.3	CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL BIOSORBENTE	190
5.3.1	Titulaciones potenciométricas	190
5.3.1.1	Titulaciones ácido-base	190
A)	Método de Gran	192
B)	Modelo discontinuo	196
C)	Modelo continuo	199
5.3.2	Análisis de los espectros de infrarrojo	207
5.3.2.1	Biomasa nativas SOCL y BBCL	207
5.3.2.2	Biomasa extraídos los lípidos SOSL y BBSL	211
5.3.2.3	Biomasa con Cr adsorbido	218
5.3.3	Análisis de los espectros XPS	225
5.3.4	Imágenes FIB-FESEM	229
5.3.5	Análisis elemental de los biosorbentes	234
5.3.6	Contenido lipídico y perfil en ácidos grasos de los biosorbentes	235
5.4	EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN	237
5.4.1	Influencia del pH	237
5.4.2	Capacidad reductora de la biomasa	249
5.4.3	Influencia del tiempo de biosorción	253
5.4.4	Equilibrio de biosorción	260
5.4.5	Cinética de la biosorción-bioreducción	270
5.4.5.1	Modelos basados en la adsorción	270
A)	Modelo de pseudo-primer orden	271
B)	Modelo de pseudo-segundo orden	271
C)	Modelo de pseudo-n orden	272
5.4.5.2	Modelo basado en la reacción de reducción	285
A)	Modelo de Park	285
5.4.5.3	Modelo basado en la transferencia de materia	288
A)	Modelo de difusión intrapartícula	288
5.4.6	Influencia de la concentración de biosorbente	299
5.4.7	Influencia de la fuerza iónica	307
5.4.8	Influencia de la temperatura	314
5.5	BIOMASA ENCAPSULADA	327
5.5.1	Experimentos de biosorción	327

5.5.2	Ciclos adsorción-desorción	341
6	CONCLUSIONES	346
7	BIBLIOGRAFÍA	352
8	NOMENCLATURA	382
9	RÉSUMÉ	384

1 RESUMEN

Las microalgas constituyen un conjunto de organismos microscópicos, que se desarrollan en medios acuosos (marinos o de agua dulce) contienen al menos clorofila “a” y poseen estructuras reproductoras simples.

Presentan por lo general un metabolismo fotosintético oxigénico, análogo al de las plantas superiores. Mediante este metabolismo convierten la energía luminosa en energía química, a la vez que utilizan CO₂ como fuente de C y liberan O₂.

Gracias a la fotosíntesis, las microalgas son capaces de producir de forma sostenible numerosos productos de interés comercial empleando una fuente de energía renovable, de forma que actualmente para definir las se utiliza el concepto de biofactoría y la posibilidad de utilización de todos los componentes de la biomasa, lípidos, hidratos de carbono, proteínas, minerales, vitaminas etc... ha introducido el concepto de biorefinerías.

En este trabajo, se han utilizado las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii*. El género *Scenedesmus* es muy común en todo tipo de aguas dulces. Desempeña un papel importante en la producción primaria y contribuye a la purificación de las aguas eutróficas. Las células de *Scenedesmus* están unidas en grupos de 4, 8 o raramente 16, denominados cenobios.

En *Botryococcus braunii* se distinguen 3 razas A, B y L diferenciadas en base a los tipos de hidrocarburos que generan. La raza A produce olefinas C₂₅-C₃₁, n-dialquenos y trialquenos, la B triterpenos insaturados polimetilados denominados botriocenos (C_n H_{2n-10}) n: 30-37 y la raza L produce únicamente un tetraterpeno C₄₄H₇₈ denominado licopadieno. Las células piriformes están agrupadas formando colonias unidas por una matriz de exopolisacáridos.

El cultivo a gran escala de microalgas y el aprovechamiento de la biomasa como fuente de lípidos fue abordado inicialmente en Alemania durante la 2ª Guerra Mundial. A lo largo del tiempo los cultivos de microalgas han sido impulsados por diferentes factores socio-económicos. Siendo los últimos años testigos de los mayores avances y del desarrollo de múltiples aplicaciones.

La aplicación de los denominados “sistemas algas bacterias” para tratamiento de residuos líquidos y producción de algas HRAP (high rate algal ponds), bien para obtener productos para alimentación animal o para la obtención de metano vía digestión anaerobia, fueron ideados por Ostwald y colaboradores en la Universidad de California y se utilizan en numerosos países.

En contraste con los estanques facultativos, HRAP, son poco profundos de 0,3 a 0,6 m, para favorecer la penetración de la luz y la oxigenación es proporcionada vía

fotosíntesis. Pueden operar a tiempos de retención pequeños en el rango de 4 a 10 días dependiendo de las condiciones climáticas. La agitación es proporcionada de forma continua generalmente mediante paletas giratorias, que originan velocidades de circulación del agua de 0,15-0,30 m/s.

Tanto el fósforo como el nitrógeno son los principales nutrientes a eliminar para evitar el peligro de eutrofización. Las algas pueden utilizar una gran variedad de compuestos nitrogenados, inorgánicos u orgánicos como fuente de N para la síntesis de aminoácidos. El fósforo, utilizado en los procesos relacionados con la transferencia de energía y síntesis de ácidos nucleicos, lo toman preferentemente de los fosfatos inorgánicos en sus formas $H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-} .

El biodiesel es obtenido a partir de aceites vegetales (comestibles o no comestibles) usados o no y grasas animales. La utilización de aceites vegetales comestibles ha originado un incremento de los precios, además del consiguiente problema ético que conlleva este uso.

La transición a los biocombustibles de segunda generación, así denominados entre otros, a los procedentes de microalgas, va a contribuir a la desaparición de estas limitaciones. Por un mayor rendimiento por hectárea, dada la mayor velocidad de crecimiento de las microalgas en relación a las plantas superiores C3 o C4, menor necesidad de agua que un cultivo convencional, pudiendo ser de tipo residual y un espacio de menor calidad ya que no se requiere sea tierra de cultivo.

El contenido lipídico de las microalgas es especie-dependiente si bien diferentes situaciones medio ambientales del cultivo, generalmente asociadas a condiciones de estrés, pueden aumentarlo. En muchas algas es posible inducir un alto contenido en lípidos modificando algunos factores condicionantes del crecimiento tales como, el nivel de N en el medio de cultivo, la intensidad de iluminación, temperatura, salinidad y concentración de CO_2 .

Los sistemas empleados con mayor frecuencia para cultivos masivos, son los de tipo estanque abierto, que a pesar de sus formas y tamaños diversos se asemejan al entorno natural de las microalgas. Los reactores cerrados presentan configuraciones diversas, siendo las más usuales las de tipo tubular, plano o columna de burbujeo, contruidos con materiales transparentes.

Los metales pesados constituyen un grupo de la Tabla Periódica con densidad mayor o igual a 5 g/cm^3 . Muchos son esenciales para el crecimiento a pequeñas dosis como As, Cr, Co, Cu, Ni, Se, Va y Zn y a dosis mayores pueden ser tóxicos, como consecuencia de su capacidad para desnaturalizar proteínas, a otros como Au, Ag, Pb, Cd, Hg, U, Be no se les conoce ninguna función biológica.

La contaminación del ambiente con metales tóxicos y radionucleidos surge como resultado de la actividad industrial, aunque también contribuye a ella la agricultura y la eliminación de residuos.

Los métodos convencionales para el tratamiento de aguas residuales que contienen metales pesados resultan costosos e ineficientes, especialmente cuando la concentración del metal es baja. Estos métodos utilizan diferentes operaciones tales como: precipitación, oxidación, reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico, adsorción, filtración con membranas etc. El cromo es un metal pesado de la primera serie de metales de transición. Es el séptimo elemento más abundante en la tierra, habiéndose incrementado en las últimas décadas la cantidad de cromo en ecosistemas acuáticos y terrestres como consecuencia de diferentes actividades humanas.

El uso de sistemas biológicos para la eliminación de metales pesados de medios líquidos diluidos es un proceso eficiente y de bajo costo. Las tecnologías basadas en los microorganismos o sus productos ofrecen una alternativa o ayudan a las técnicas convencionales para la eliminación y recuperación de metales.

Dentro de los materiales biológicos susceptibles de ser utilizados como biosorbentes se encuentran las biomasas, bacteriana, de hongos, levaduras, algas, flora acuática, desechos generados en fermentaciones industriales etc. Estos biosorbentes pueden secuestrar iones metálicos disueltos con alta eficiencia y rápidamente, lo que los hace candidatos ideales para el tratamiento de grandes volúmenes de aguas residuales complejas. El uso de biomasa muerta tiene ventajas sobre el de células vivas. No es necesario adicionar nutrientes, resulta inmune a la toxicidad o condiciones de operación adversas, la recuperación de metales es más fácil por medio de tratamientos que permiten la regeneración de la biomasa.

La utilización de algas como biosorbentes para la remoción de metales pesados comenzó hace décadas y muchos grupos de investigación se dedican a estudiar el papel en este proceso, de macroalgas y algas microscópicas. La pared celular de las *Chlorophyta* es fundamentalmente celulosa y proteínas unidas a polisacáridos formando glucoproteínas. La celulosa se estructura también en forma de fibrillas y en las algas rojas y verdes aparecen otros componentes estructurales fibrilares tales como xilano y manano.

Los experimentos realizados en este trabajo son de distinto tipo:

- Experimentos de crecimiento de las microalgas seleccionadas, en medio sintético y en agua residual urbana, para comparación de las mismas, realizados en Granada. La obtención repetitiva de biomasa a efectos de obtención de material biosorbente se ha realizado en Tetuán y Jaén.
- Experimentos de caracterización de las biomasas como material biosorbente.

- Experimentos de biosorción en discontinuo con las biomásas secas formando aglomerados de tamaño $<100 \mu\text{m}$.
- Experimentos de biosorción en discontinuo con biomasa encapsulada.

El modelo de “Gompertz modificado” es el que mejor reproduce las curvas de crecimiento para las dos microalgas utilizadas, *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii* tanto en medios sintéticos como en aguas residuales.

$$C = C_m \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m e}{C_m} (t_{lag} - t) + 1 \right] \right\}$$

También este modelo ajusta aceptablemente las curvas de consumo de los nutrientes N y P.

$$S = S_o \left\{ 1 - \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m e}{S_o} (t_{lag} - t) + 1 \right] \right\} \right\}$$

La mayor velocidad de crecimiento la presenta *Scenedesmus*, en medio sintético, disminuyendo en casi un 76% al crecer en el agua residual de la ciudad de Tetuán.

Sin embargo para *Botryococcus*, microalga que presenta velocidades de crecimiento más pequeñas, el agua residual de la ciudad de Linares constituye un medio de crecimiento adecuado y comparable al medio sintético. La producción de hidrocarburos en *Botryococcus* está ligada al crecimiento y las pequeñas velocidades de crecimiento que normalmente esta microalga presenta son debidas a que gran parte del consumo energético es derivado a la síntesis de estos compuestos energéticos.

Como material biosorbente, se han utilizado biomásas de las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii* crecidas en aguas residuales urbanas.

A su vez estas biomásas se han utilizado en dos condiciones distintas, denominadas nativa y extraída:

- Por biomasa nativa, se entiende la biomasa con su composición bioquímica inalterada.
- Por biomasa extraída, la que ha sido sometida a un proceso de extracción lipídica.

De forma que se dispone de 4 materiales biosorbentes:

- *Scenedesmus obliquus*, en forma nativa, SOCL
- *Scenedesmus obliquus*, extraídos los lípidos, SOSL
- *Botryococcus braunii*, en forma nativa, BBCL
- *Botryococcus braunii*, extraídos los lípidos, BBSL

Se han utilizado titulaciones potenciométricas ácido-base para identificar y cuantificar los grupos funcionales que intervienen en el proceso de biosorción-bioreducción del Cr(VI).

Una primera estimación de la concentración total de los grupos funcionales ácido-base de la biomasa se ha realizado utilizando el Método de Gran. La modelización de los datos experimentales para determinar la concentración y pKa de cada grupo se ha efectuado utilizando los denominados modelos discontinuo y continuo.

Los resultados confirman lo observado en las curvas de valoración, *Scenedesmus* presenta una concentración total de centros activos superior a *Botryococcus* y mayoritariamente de carácter básico. Los centros activos de *Botryococcus* tienen carácter ácido. El tratamiento de extracción de lípidos disminuye dicha concentración total y hace desaparecer los centros de carácter ácido de *Scenedesmus*. Los grupos funcionales identificados han sido carboxilo, fosfato y amino salvo para *Scenedesmus* sin lípidos que solo tiene de los dos últimos.

Los espectros IR presentan numerosas bandas, de intensidad y localización diferentes, lo que demuestra la existencia de distintos grupos funcionales superficiales que dan una naturaleza compleja y heterogénea a estas biomásas. Sin embargo presentan muchas similitudes. La intensidad de la absorción de radiación infrarroja es superior en *Botryococcus* excepto en la banda de 1641 cm^{-1} correspondiente a la tensión del enlace C=O de la amida I ya que el contenido proteico es por lo general mayor en *Scenedesmus*.

Los espectros de infrarrojo confirman la existencia en la biomasa de los grupos funcionales, carboxilo, fosfato y amina. Los valores de la absorbancia de las bandas que los identifican varían en forma similar a como lo hace la concentración de cada centro después de la extracción lipídica.

Las posiciones de las bandas del espectro XPS después de la biosorción/bioreducción del Cr(VI), coinciden con las posiciones de las bandas características del espectro de la sal de Cr(III). Para visualizar el efecto del entorno químico del cromo retenido, sobre la posición de los picos, se han comparado los espectros con los de los biosorbentes con Cr(III) adsorbido. Las posiciones de las bandas son muy similares, lo que confirma que la forma del cromo retenido por la biomasa en los experimentos de biosorción de Cr(VI), por los cuatro biosorbentes, es el cromo trivalente.

Estas observaciones concuerdan con el aparente alisamiento de la superficie tras la biosorción del Cr que se detecta en las imágenes FIB-FESEM.

El análisis elemental de los biosorbentes muestra que el elemento mayoritario es el C, estando el contenido de las biomásas nativas próximo al valor habitual del 50 %.

Botryococcus presenta un contenido ligeramente superior al de *Scenedesmus* y éste disminuye en ambos casos tras la extracción lipídica, un 13,2 % para SOSL y un 10,0 % para BBSL.

El contenido en lípidos totales es mayor en *Botryococcus* y del orden del 30% del peso seco. Es interesante el bajo contenido en ácidos grasos poliinsaturados de las biomásas, adecuado para su aplicación a la elaboración de biodiesel.

La naturaleza aniónica del Cr(VI) determina la idoneidad de bajos valores de pH ya que éste debe ser inferior al valor correspondiente al punto de carga cero, de forma que la biomasa presente una carga neta positiva. En estas condiciones ocurre la reducción del Cr(VI) a Cr(III) por lo que el proceso debe considerarse de biosorción/bioreducción.

La aparición en el medio líquido de Cr(III) procedente de la reducción de la forma hexavalente lleva a considerar al proceso en sus dos vertientes. Una, detoxificación, considera la desaparición del Cr(VI) del medio líquido por adsorción y reducción y otra, eliminación, considera la desaparición del Cr(Total) del mismo, por retención en la biomasa.

La capacidad reductora de la biomasa, determinada mediante titulaciones redox y el método de “Biomasa limitante” es mayor en SOCL seguida de *Botryococcus* y SOSL.

Los porcentajes de detoxificación y eliminación de Cr del medio líquido aumentan con el tiempo de contacto. La naturaleza del adsorbente y su concentración de centros activos disponibles para la sorción afectan al tiempo necesario para alcanzar el equilibrio. Este se observa para el Cr(total) y no para el Cr(VI) y Cr(III).

Los datos de equilibrio responden a una isoterma tipo II característica de sólidos macroporosos y heterogéneos. El modelo matemático que justifica una variación con forma de S es el modelo de Brunauer-Emmett-Teller que considera adsorción en multicapa y supone una energía de adsorción uniforme

$$q_e = \frac{q_m K_B C_e}{(C_S - C_e) \left[1 + (K_B - 1) \frac{C_e}{C_S} \right]}$$

Las capacidades de sorción para la formación de la monocapa son de 14,77 ; 13,34 ; 33,33 ; y 10,39 mg/g para SOCL, SOSL, BBCL y BBSL respectivamente.

Se han ensayado diferentes modelos cinéticos, basados en la adsorción, en la reducción y en la difusión intrapartícula. Al igual que en la cinética química homogénea se pueden desarrollar modelos generales que no presuponen de antemano un valor numérico del orden de reacción, así el modelo de orden n se plantea sobre las mismas bases que los dos modelos anteriores, para orden de reacción n.

$$q = q_e - [q_e^{(1-n)} - (1-n)k_n t]^{1/n}$$

Las capacidades de sorción, aumentan en el tiempo, variando rápidamente al inicio del proceso para a continuación acercarse lentamente al equilibrio, en todos los casos se ha utilizado un tiempo final de 48 h.

La representación gráfica de los resultados experimentales acorde al modelo de Weber, indica la existencia de multilinealidad. Las constantes de velocidad de difusión aumentan al aumentar la concentración inicial del ión metálico y son mayores en el primer tramo lineal de difusión.

Los valores de los parámetros de la difusión interna pueden relacionarse con la concentración inicial de Cr mediante una ecuación de tipo potencial,

$$k_{d1} = \alpha [\text{Cr(VI)}]_0^\beta$$

El aumento de la concentración de biomasa desde 1 a 10 g/L afecta a la biosorción a través del efecto sobre el pH, consecuencia del consumo de protones necesario para la protonación de la misma.

Este efecto es muy marcado en *Scenedesmus* y poco en *Botryococcus* debido a los pH iniciales distintos y a la naturaleza de las biomasas. Solo utilizando *Botryococcus* a partir de 2 g/L para la biomasa con lípidos y de 6 g/L para la sin lípidos es posible conseguir un 100 % de detoxificación y un 60 % de eliminación de Cr.

Dada la forma de las curvas de porcentajes de detoxificación y eliminación se han ajustado los resultados experimentales de SOCL a un modelo de inhibición y las demás biomasas a un modelo de saturación, similares a los utilizados en cinética enzimática.

$$\% \text{ Cr} = \frac{\% \text{ Cr}_{\text{max}} \cdot [\text{B}]}{K_s + [\text{B}] + \frac{1}{K_i} [\text{B}]^2}$$

$$\% \text{ Cr} = \frac{\% \text{ Cr}_{\text{max}} \cdot [\text{B}]}{K_s + [\text{B}]}$$

Si bien la presencia de nitrato sódico no modifica la especiación del Cr, si disminuye tanto la capacidad de sorción de la biomasa como su capacidad de reducción. La inhibición de la reducción es más marcada en SOSL, biomasa que posee una menor capacidad de 1,28 mmol/g frente a 2,50 mmol/g para BBSL.

Las capacidades de adsorción de las distintas biomasas aumentan con la temperatura en el intervalo 25 a 30°C, el posterior incremento a 35°C hace disminuir este valor en todos los casos. Debido a efectos contrarios, una mejor protonación pero

también una mayor movilidad térmica que origina el debilitamiento de las fuerzas de enlace entre los iones cromato y las biomosas. A mayor temperatura, se favorecen también reacciones de hidrólisis que implican una mayor solubilización de componentes de la biomasa y por tanto una pérdida de sorbente.

La eliminación de los lípidos facilita la adsorción inicial, a 0,25 h, fundamentalmente de tipo superficial, consecuencia de una mayor velocidad inicial de adsorción, r_0 , como se recoge en el ajuste a los diferentes modelos cinéticos. Los máximos porcentajes de detoxificación y eliminación ponen de manifiesto que no hay una tendencia definida de variación con la temperatura, por lo que esta variable no es esencial en el proceso de biosorción.

El proceso de biosorción es más lento con la biomasa encapsulada, mediante esferas de polisulfona. Si se aumenta el tiempo de biosorción se consiguen porcentajes de detoxificación y eliminación superiores a los conseguidos por la biomasa libre. Este aumento no es debido a la adsorción de Cr por la polisulfona, sino a la deseestructuración que experimenta el aglomerado celular en el interior de la cápsula como consecuencia del método de preparación. Esto origina que la biomasa en el interior de la cápsula esté más expuesta a un contacto directo con el Cr, facilitando la adsorción y la reducción.

Las curvas capacidad de sorción-tiempo para los tres tamaños de cápsulas pone de manifiesto que el proceso es más rápido y la retención de Cr es mayor para las cápsulas de menor tamaño, 3 mm seguidas de las de 4 mm y 6 mm, por el incremento de la superficie específica a menor tamaño

La representación $q - t^{0,5}$ correspondiente al modelo de difusión intrapartícula, muestra la existencia de una única zona lineal. Las ordenadas en el origen distintas de cero indican que para ninguno de los tamaños, la etapa controlante es la difusión interna, si bien esta etapa va adquiriendo importancia al aumentar el tamaño de la esfera, siendo C para las esferas de 6 mm, el menor valor, de 0,0875 mmol/g.

Los porcentajes de detoxificación y de eliminación de Cr obtenidos son:

66,1 – 60,5 – 60,2 % para 3 – 4 y 6 mm detoxificación

43,1 – 39,7 - 39,7 % para 3 – 4 y 6 mm eliminación

El análisis de tres ciclos consecutivos adsorción-desorción, utilizando como eluyente NaOH 0,5 N muestra que los dos primeros ciclos se comportan en forma similar, mientras que la eficiencia en retirar Cr del medio se ve considerablemente disminuida en el tercero.

Cuando se considera la cantidad de Cr retenido por la biomasa al final de cada ciclo, q_{retenido} , se observa como la cantidad acumulada aumenta con el ciclo, siendo ésta mayor para las esferas de menor tamaño.

El máximo porcentaje de desorción es del 46 %. Este bajo porcentaje concuerda con que gran parte, posiblemente el 100% del Cr retenido en la biomasa esté en forma de Cr(III). Este cromo en condiciones electrostáticas adversas queda enlazado, por complejación, con los grupos carboxilo o amino de la biomasa y no puede ser eluido mediante un lavado básico

2 INTRODUCCIÓN

2.1 GENERALIDADES

Las microalgas constituyen un conjunto de organismos microscópicos, que se desarrollan en medios acuosos (marinos o de agua dulce) contienen al menos clorofila “a” y poseen estructuras reproductoras simples (Trainor et al., 1976) (Borowitzka, 1992).

Pueden clasificarse taxonómicamente atendiendo a diversos criterios, tales como pigmentación, morfología, motilidad, los productos de reserva de la fotosíntesis y la composición de la pared celular (Trainor et al., 1976).

La pigmentación de las algas es debida al contenido en clorofilas y carotenoides que incluyen carotenos y xantofilas. Además de estos pigmentos, solubles en disolventes orgánicos, las algas contienen pigmentos solubles en agua como las ficobilinas, presentes en algas verde-azuladas, algas rojas y en un pequeño grupo de algas flageladas (Madigan et al., 2001).

La morfología es muy variada. Unas son unicelulares y otras pluricelulares. A su vez las unicelulares pueden presentarse aisladas o en colonias de diversas formas y tamaños.

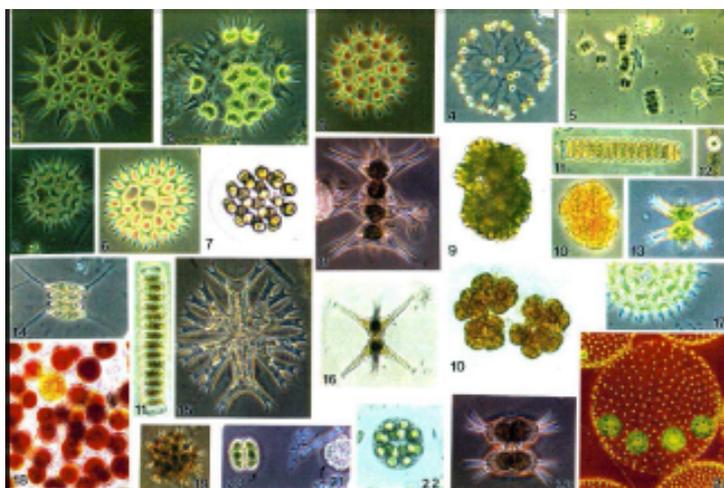


Figura 2.1 Morfología de algunas microalgas. Colección de Gertrud Cromber

El movimiento, activo o pasivo, es frecuente entre las algas. Existen células vegetativas móviles en todas las divisiones a excepción de las algas marrones, en las cuales la motilidad está restringida a los gametos y zoosporas. El movimiento puede observarse en células aisladas así como en colonias y filamentos (Blackburn et al., 2005).

Presentan por lo general un metabolismo fotosintético oxigénico, análogo al de las plantas superiores. Mediante este metabolismo convierten la energía luminosa en energía química, a la vez que utilizan CO₂ como fuente de C y liberan O₂.

Por el carácter fotoautotrófico de la mayoría, los requerimientos nutricionales son mínimos ya que aparte de la fuente de energía y carbono, en el medio acuoso necesitan solo algunas sales inorgánicas que utilizan como fuente de N y P.

Los productos de la fotosíntesis se almacenan, generalmente dentro de las células y frecuentemente, en los cloroplastos, donde se realiza la función fotosintética. Algunas algas, utilizan aparentemente el medio que las rodea como área de almacenamiento del exceso de productos de reserva, que son asimilados cuando se requieren. Hidratos de carbono y lípidos son los productos más frecuentes.

Algunas algas no presentan pared celular, otras en cambio, poseen una pared de estructura compleja. En la composición de la misma se puede encontrar celulosa, xilanos, polisacáridos sulfatados, ácido alginico, proteínas, sílice y carbonato cálcico.

Gracias a la fotosíntesis, las microalgas son capaces de producir de forma sostenible numerosos productos de interés comercial empleando una fuente de energía renovable, de forma que actualmente para definir las se utiliza el concepto de biofactoría y la posibilidad de utilización de todos los componentes de la biomasa, lípidos, hidratos de carbono, proteínas, minerales, vitaminas etc... ha introducido el concepto de biorefinerías.

Su organización celular simple, les permite alcanzar eficiencias fotosintéticas, PE, (basadas en la radiación fotosintéticamente activa, PAR) considerablemente mayores que las de las plantas superiores, habiéndose publicado valores extremos de un 2 % para *Synechococcus sp.* y 19 y 20% para *Tetraselmis suecica* y *Chlorella* respectivamente (Melis et al., 2009) (Camacho et al., 2003).

El tipo de nutrición de las algas puede utilizarse como criterio para su clasificación. Sin embargo, pueden presentarse ambigüedades por la capacidad que muchas algas tienen de cambiar su metabolismo, rápida y reversiblemente, adaptándose a distintas condiciones ambientales (Neilson et al., 1974) (Chen, 1996) (Yang et al., 2000).

En general se identifican los siguientes:

- Autotrofia o fotolitotrofia. En este tipo de nutrición la energía se obtiene por absorción de la luz y el carbono celular procede unicamente de la reducción del dióxido de carbono.

- Mixotrofia, significa satisfacer las necesidades energéticas celulares mediante la luz, mientras que el carbono celular puede obtenerse tanto del dióxido de carbono como de un compuesto orgánico presente en el medio de cultivo.
- Fotoheterotrofia, fotometabolismo o fotoasimilación, consiste en obtener energía de la luz, mientras que el carbono celular se obtiene casi exclusivamente de un sustrato orgánico.
- Heterotrofia, tipo de nutrición que permite a las algas crecer y dividirse en la oscuridad. La energía y el carbono celular proceden del metabolismo de un sustrato orgánico.
- Auxotrofia, implica la necesidad de algunos compuestos orgánicos a baja concentración que no contribuyen en gran medida al carbono celular. Estos compuestos, como algunas vitaminas, reciben el nombre de factores de crecimiento.

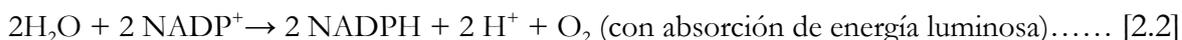
La mayoría de las algas son autotróficas, utilizan la energía de la luz captada por los pigmentos, en la reducción del dióxido de carbono y simultáneamente se produce la oxidación de un sustrato inorgánico, generalmente agua, con desprendimiento de oxígeno (Mathews et al., 2002).

La ecuación general de este proceso se puede expresar:



Donde H_2D representa un dador electrónico (H_2O) y A un aceptor, (CO_2 , NO_3^- , SO_4^{2-}).

El proceso global representado por la ecuación [2.1] se realiza en dos fases. La primera de carácter fotoquímico, transcurre según la reacción:



comprobada en cloroplastos de diversos tipos de algas.

La reacción anterior se realiza en dos etapas y en dos sistemas pigmentarios distintos, los fotosistemas I y II. Ambos sistemas están conectados y liberan energía en una cadena de transporte electrónico que se extiende desde el agua, dador electrónico al NADP^+ , aceptor electrónico.

La ruta completa del flujo electrónico se indica en la Figura 2.2

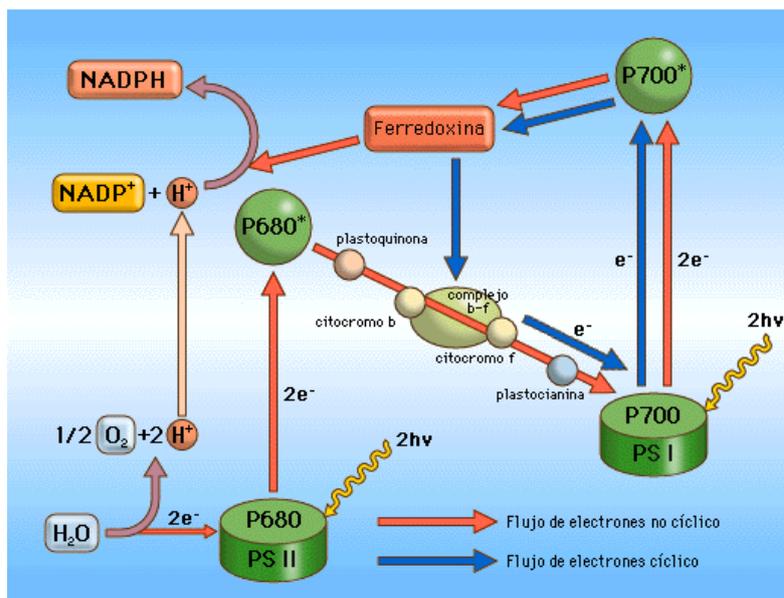


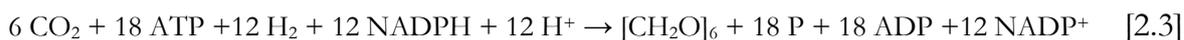
Figura 2.2 Esquema en Z de la fotosíntesis.

<http://www.botanica.cnba.uba.ar/Pakete/3er/fotosintesis/fotosintesis.html>

La fosforilación de ADP a ATP se halla acoplada al flujo de e⁻ y localizada en la cadena central que une a ambos fotosistemas.

La segunda fase por la que transcurre el proceso es de carácter enzimático e implica la utilización de la energía química formada en la fase anterior. En algas eucariotas la fijación autotrófica del CO₂ se efectúa mediante el ciclo de Calvin.

Este ciclo puede resumirse en:



y se divide en tres partes fundamentales:

1. Carboxilación de ribulosa 1,5-difosfato por adición de CO₂ para formar 3-fosfoglicerato.
2. Reducción de 3-fosfoglicerato por NADPH y ATP hasta gliceraldehido-3-fosfato y su transformación continuada hasta glucosa.
3. Regeneración de ribulosa 1,5-difosfato.

2.2 MICROALGAS UTILIZADAS

En este trabajo se han utilizado las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii* cuya clasificación se indica (Javornicky, 1973):

Tabla 2.1 Clasificación de las microalgas utilizadas

CLASIFICACIÓN	<i>Scenedesmus obliquus</i>	<i>Botryococcus braunii</i>
DIVISIÓN	Chlorophyta	Chlorophyta
CLASE	Chlorophyceae	Chlorophyceae
ORDEN	Chlorococcales	Chlorococcales
FAMILIA	Scenedesmaceae	Dictyosphaeraceae
GÉNERO	<i>Scenedesmus</i>	<i>Botryococcus</i>
ESPECIE	<i>obliquus</i>	<i>Braunii</i>

El género *Scenedesmus* es muy común en todo tipo de aguas dulces. Desempeña un papel importante en la producción primaria y contribuye a la purificación de las aguas eutróficas. Las células de *Scenedesmus* están unidas en grupos de 4, 8 o raramente 16, denominados cenobios (Becker, 1984) (Camacho et al., 1989).

Figura 2.3 *Scenedesmus obliquus*

Hay un alto grado de variabilidad en lo que concierne al n° de células por cenobio, tamaño celular, forma celular y a la existencia de espinas u otros ornamentos de la pared celular. Este fenómeno conocido como polimorfismo, pleomorfismo o plasticidad fenotípica depende del medio nutricional, de la edad, densidad de los cultivos y otros factores (Soeder et al., 1988).

Se distinguen al menos dos subgéneros, *Desmodesmus* y *Scenedesmus*, en función de que las células posean o no espinas. A su vez el subgénero *Scenedesmus* se puede dividir en *Acustodesmus* y *Scenedesmus* dependiendo de que las células sean alargadas y con los polos agudos o elipsoidales con los polos truncados.

Las especies del subgénero *Scenedesmus* poseen paredes celulares en multicapa. La capa interior contiene celulosa embebida en una matriz de hemicelulosa, mientras que la capa externa que a su vez posee tres subcapas es del politerpeno resistente a la degradación, esporopolenina (Bisalputra, 1963) (Bisalputra, 1965).

La reproducción es usualmente asexual por formación de autocolonias o autocenobios pero en *Scenedesmus obliquus* se ha observado la reproducción sexual con formación de gametos biflagelados (Trainor, 1976).

En *Botryococcus braunii* se distinguen 3 razas A, B y L diferenciadas en base a los tipos de hidrocarburos que generan. La raza A produce olefinas C_{25} - C_{31} , n-dialquenos y trialquenos, la B, triterpenos insaturados polimetilados denominados botriocenos ($C_n H_{2n-10}$) n: 30-37 y la raza L, produce únicamente un tetraterpeno $C_{44}H_{78}$ denominado licopadieno (Bachofen, 1982). Las células piriformes están agrupadas formando colonias unidas por una matriz de exopolisacáridos.



Figura 2.4 *Botryococcus braunii*

Las células de la raza L (8-9 μm x 5 μm) son más pequeñas que las células de las razas A y B (7-9 μm x 13 μm), y contienen menos pirenoides. Otra diferencia entre las razas es el color de las células en la fase estacionaria de crecimiento. Las de las razas B y L pasan de color verde a rojo-anaranjado y anaranjado-marrón respectivamente, mientras que las A pasan de verde a amarillento. Esta diferencia es debida a la acumulación de ceto-carotenoides, cantaxantina, equinenona, adonixantina etc... en las razas B y L.

Las razas también se diferencian en la naturaleza de los componentes químicos de la pared celular. Las razas A y B contienen compuestos alifáticos de gran tamaño molecular enlazados por puentes de oxígeno mientras que en la raza L se encuentran moléculas de licopadieno unidas por puentes de oxígeno (Largeau et al., 1980) (Kalacheva et al., 2002).

2.3 ALGUNAS APLICACIONES DE LAS MICROALGAS

El cultivo a gran escala de microalgas y el aprovechamiento de la biomasa como fuente de lípidos fue abordado inicialmente en Alemania durante la 2ª Guerra Mundial.

A lo largo del tiempo los cultivos de microalgas han sido impulsados por diferentes factores socio-económicos. Siendo los últimos años testigos de los mayores avances y del desarrollo de múltiples aplicaciones.

2.3.1 Depuración de aguas residuales

Los cultivos de microalgas, constituyen un sistema biológico eficiente en la utilización de nutrientes presentes en las aguas residuales tanto urbanas como industriales. Este uso forma parte de una aplicación general denominada Ficoremediación que puede definirse como la utilización de algas tanto macro como micro en la eliminación o biotransformación de compuestos contaminantes. Entre éstos se incluyen nutrientes y xenobióticos de un agua residual o CO₂ de un aire contaminado. También es interesante la detección de compuestos tóxicos con biosensores basados en microalgas (Olguín, 2003a) (Mallick, 2002).

La eutroficación o enriquecimiento en nutrientes de aguas marinas y superficiales causada por la actividad humana, es un problema muy extendido. En algunas regiones del mundo este problema es acuciante ya que no se dispone de la infraestructura necesaria para el tratamiento de las aguas residuales. En otros, es práctica habitual aplicar tratamiento a las aguas residuales urbanas, pero otras de mayor carga orgánica, como es el caso de aguas residuales procedentes de instalaciones de cría de animales, son vertidas sin ningún tratamiento (Godos et al., 2009).

2.3.1.1 Sistemas de tratamiento

La aplicación de los denominados “sistemas algas bacterias” para tratamiento de residuos líquidos y producción de algas HRAP (high rate algal ponds), bien para obtener productos para alimentación animal o para la obtención de metano vía digestión anaerobia, fueron ideados por Oswald y colaboradores (1963, 1988, 1995) en la Universidad de California y se utilizan en numerosos países (Kong et al., 2010).

Estos sistemas, esquematizados en la Figura 2.5 utilizan bacterias aerobias para la degradación de la materia orgánica a dióxido de carbono, amonio, fosfato y otros productos de oxidación. Éstos son utilizados por las algas que al crecer, generan biomasa y oxígeno fotosintético; el oxígeno se disuelve en el estanque de tratamiento y es utilizado por las bacterias para la descomposición de los residuos (Muñoz et al., 2006).

En contraste con los estanques facultativos, HRAP, son poco profundos de 0,3 a 0,6 m, para favorecer la penetración de la luz y la oxigenación es proporcionada vía fotosíntesis. Pueden operar a tiempos de retención pequeños en el rango de 4 a 10 días dependiendo de las condiciones climáticas. La agitación es proporcionada de forma continua generalmente mediante paletas giratorias, que originan velocidades de circulación del agua de 0,15-0,30 m/s (Dodd, 1986), (Craggs, 2005).

HRAP se han utilizado también para tratar aguas residuales de instalaciones de cría de ganado porcino y de acuicultura (Olguín et al., 1997) (Olguín et al., 2003b). Solo

150 m² de estanque son necesarios en el sur de Francia para eliminar los nutrientes producidos por una tonelada de peces (Pagand et al., 2002) (Yusoff et al., 2001) (Bhatnagar et al., 2011). Una limitación de los estanques HRAP puede ser la existencia de poblaciones predatoras de zooplancton que reducen el crecimiento algal en unos días (Rawat et al., 2011) (Godos et al., 2009) (Travieso et al., 2006).

También son utilizadas las microalgas, para tratamiento terciario ya que su uso presenta algunas ventajas frente a los sistemas convencionales físicos y químicos (De la Noue et al., 1992) (Kang et al., 2006):

- Reposita sobre los principios de los ecosistemas naturales y por lo tanto no es peligroso para el medio ambiente.
- No causa ninguna contaminación secundaria si la biomasa producida es reutilizada
- Las algas no solo consumen N y P para su crecimiento sino que también contribuyen a la depuración por la producción de oxígeno, por la eliminación de metales pesados y sustancias xenobióticas.

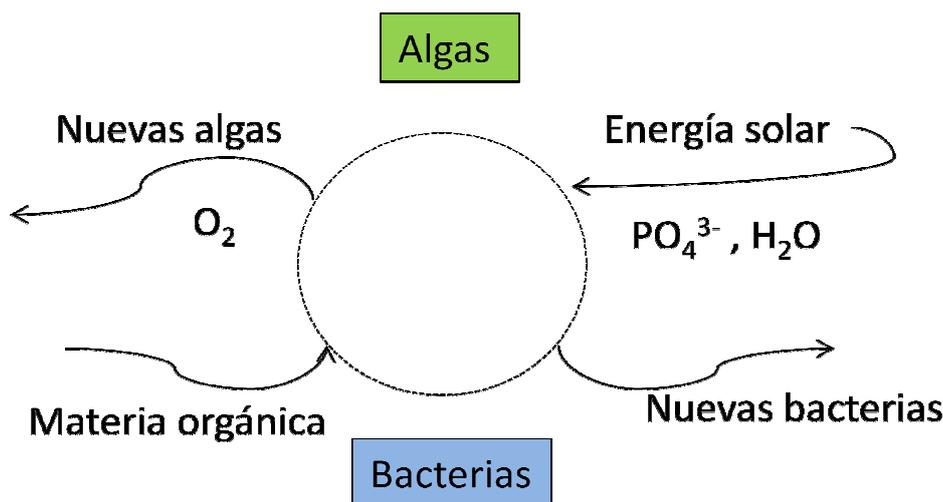


Figura 2.5 Sistemas algas - bacterias

Tanto el fósforo como el nitrógeno son los principales nutrientes a eliminar para evitar el peligro de eutrofización. Las algas pueden utilizar una gran variedad de compuestos nitrogenados, inorgánicos u orgánicos como fuente de N para la síntesis de aminoácidos. El fósforo, utilizado en los procesos relacionados con la transferencia de energía y síntesis de ácidos nucleicos, lo toman preferentemente de los fosfatos inorgánicos en sus formas $H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-} (Aslan et al., 2006).

El uso de microalgas para la eliminación de nutrientes está documentado desde los años 60, (Bogan, 1961) (Golueke et al., 1967) (Abeliovich, 2004).

En instalaciones de un solo estanque y con aguas residuales domésticas se han conseguido eficiencias del 74-83 % y del 95% en la eliminación de nitrógeno y fósforo respectivamente (Shelef et al., 1980). El consumo de N puede incrementarse si previamente se someten las células a un estado de privación del mismo (Aziz, 1993).

Hashimoto et al. (1989) investigan el potencial de eliminación de nutrientes por la microalga *Oscillatoria sp.* En un tratamiento discontinuo, eliminan totalmente NO_3^- y PO_4^{3-} en 7 días. En cultivo continuo, utilizan un reactor tipo tanque continuo con retención de biomasa por filtración. Con un tiempo de retención de sólidos de 7,5 días es posible eliminar el 82 % del P de la corriente influente cuya concentración era de 7 mg/L de PO_4^{3-} .

Las microalgas más utilizadas, por sus capacidades de eliminación de nutrientes son: *Anabaena*, *Botryococcus*, *Chlorella*, *Dunaliella* y *Scenedesmus* entre otras. (Vilchez et al., 1997) (Sydney et al., 2011).

La microalga *Botryococcus braunii*, crece bien en cultivo discontinuo utilizando medios procedentes de un tratamiento secundario de un agua residual urbana. (Sawayama et al., 1992). La velocidad de crecimiento es similar a la existente en un cultivo de referencia el medio Chu 13 modificado. *Botryococcus braunii* utilizó el NO_3^- del medio hasta su consumo, utilizando a continuación el NO_2^- , pero no el NH_4^+ .

El tratamiento terciario de un agua residual urbana con la cianobacteria filamentosa *Phormidium bohneri* es similar al efectuado por microalgas clorofíceas. (Talbot et al., 1993).

(Martínez et al., 2000) logran una disminución significativa en el contenido en P y N de un agua residual urbana sometida a un tratamiento secundario convencional, mediante *Scenedesmus obliquus*.

Se ha descrito la relación existente entre la temperatura e intensidad de iluminación y su efecto sobre el pH y la eliminación de nutrientes. Por lo general, se publica la necesidad de promover la fotosíntesis para lograr buenos resultados de eliminación, sin embargo en sistemas sin control del pH se produce un aumento del mismo. A $\text{pH} > 10$ el amonio pasa de forma iónica a gaseosa NH_3 , siendo eliminado del medio por air-stripping (Voltolina et al., 2005). Algo similar ocurre con el fósforo que a $\text{pH} > 8$ es precipitado como fosfato cálcico.

Uno de los principales problemas que presentan los cultivos de microalgas en suspensión es la recuperación de la biomasa producida. Para facilitar esta recuperación se han diseñado y utilizado sistemas que utilizan microalgas inmovilizadas en diferentes medios soportes, como carragenato, quitosina, alginato, agar, poliuretano etc... (Shi et al., 2007) (Mallick, 2002) (Fierro et al., 2008) (Ruiz et al., 2010).

Spirulina maxima inmovilizada con carragenato potásico es capaz de eliminar N y P de purines de cerdo tratados aeróbicamente. Los máximos porcentajes con una dilución del 50% se alcanzan en 10 días y es posible utilizar la misma carga de células en 10 ciclos de funcionamiento del reactor. Éste último es de tipo air-lift con dos lazos externos (Cañizares et al., 1994).

(Zang et al., 2008) inmovilizan *Scenedesmus obliquus* en esferas de alginato cálcico. En dos horas de cultivo consiguen eliminaciones de un 60 y 100% para N-NH_4^+ y P-PO_4^{3-} partiendo de concentraciones iniciales de 18 y 1,8 mg/L. Los autores encuentran una relación directa entre la densidad de células inmovilizadas, la intensidad de iluminación y la eliminación de nutrientes (Tam et al., 2000).

Además de los nutrientes esenciales N y P las microalgas para su crecimiento precisan otros macronutrientes como S, Ca, Mg y K, micronutrientes como Mo, Fe, Ni, Cu, Zn, B, Mn y Cl, presentes gran parte de ellos en aguas residuales tanto urbanas como industriales (Markou et al., 2011) (Park et al., 2011).

2.3.1.2 Legislación relativa a los nutrientes

Actualmente en España, existen límites para los vertidos procedentes de instalaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas, realizados en zonas propensas a la eutrofización.

El real Decreto-Ley 11/1995, de 28 de Diciembre que establece las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas, incorporó al ordenamiento interno preceptos de la Directiva 91/271/CEE, de 21 de Mayo.

A su vez, el Real Decreto 509/1996, de 15 de Marzo de desarrollo del citado Real Decreto-ley completó la incorporación de la Directiva CEE. Se especifican los requisitos técnicos que deben satisfacer los sistemas colectores, las instalaciones de tratamiento así como los vertidos.

Posteriormente, la Comisión de las Comunidades Europeas consideró que el cuadro del anexo I de la Directiva 91/271/CEE, relativo a los requisitos para los vertidos procedentes de instalaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas, realizados en zonas sensibles, propensas a eutrofización, planteaba problemas de interpretación en algunos Estados Miembros. Por ello, con fecha de 27 de Febrero de 1998, se adoptó la Directiva 98/15/CEE por la que se modifica la anterior, en lo relativo a las especificaciones del cuadro citado.

La Tabla 2.2 muestra los requisitos de los vertidos procedentes de instalaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas realizados en zonas sensibles cuyas aguas sean eutróficas o tengan tendencia a serlo en un futuro próximo. Según la situación local, se podrá aplicar el valor de concentración o el porcentaje de referencia.

Tabla 2.2 Límites a los nutrientes N y P

Parámetros	Concentración mínimo de reducción (1)	Porcentaje de referencia	Método de medida
Fósforo total	2 mg/L (de 10000 a 100000 h-e) 1 mg/L (más de 100000 h-e)	80	Espectrofotometría de absorción molecular
Nitrógeno total (2)	15 mg/L N (de 10000 a 100000 h-e) (3) 10 mg/L (más de 100000 h-e) (3)	70-80	Espectrofotometría de absorción molecular

(1) Reducción relacionada con la carga del caudal de entrada.

(2) Nitrógeno total, equivalente a la suma de nitrógeno Kjeldahl total (N orgánico y amoniacal), nitrógeno en forma de nitrato y nitrógeno en forma de nitrito.

(3) Estos valores de concentración constituyen medias anuales.

2.3.2 Biocombustibles

2.3.2.1 Generalidades

Los biocombustibles más usuales son bioetanol y biodiesel, que pueden reemplazar a la gasolina y al diesel en los vehículos actuales, sin o con ligeras modificaciones en los motores (Lardon et al., 2009).

El biodiesel es obtenido a partir de aceites vegetales (comestibles o no comestibles) usados o no y grasas animales. La utilización de aceites vegetales comestibles ha originado un incremento de los precios, además del consiguiente problema ético que conlleva este uso. Para cubrir un porcentaje pequeño, de las necesidades energéticas de la UE, se requeriría un aumento porcentual considerable, de la tierra destinada a estos cultivos, con la pérdida de biodiversidad que ello originaría (Brennan et al., 2010).

La transición a los biocombustibles de segunda generación, así denominados entre otros, a los procedentes de microalgas, va a contribuir a la desaparición de estas limitaciones. Por un mayor rendimiento por hectárea, dada la mayor velocidad de crecimiento de las microalgas en relación a las plantas superiores C3 o C4, menor necesidad de agua que un cultivo convencional, pudiendo ser de tipo residual y un espacio de menor calidad ya que no se requiere sea tierra de cultivo (Huang et al., 2010) (Mata et al., 2010).

Se investiga la aplicación de métodos de ingeniería genética para desarrollar microalgas optimizadas en cuanto a la productividad en compuestos energéticos. Aunque estas técnicas son de relativa fácil aplicación en organismos tan simples, sin embargo se observan con suspicacia ya que estas microalgas transgénicas podrían ser una amenaza para los ecosistemas. Probablemente serían nocivas y no podrían utilizarse en grandes sistemas de cultivo externo.

El contenido lipídico de las microalgas es especie-dependiente si bien diferentes situaciones medio ambientales del cultivo, generalmente asociadas a condiciones de estrés, pueden aumentarlo. Se han publicado valores medios entre el 1 - 70 % y algunos casos especiales del 90 % referido al peso seco.

En la Tabla 2.3 se comparan tres tipos de microalga promedio con fuentes tradicionales de aceites vegetales (Griffiths et al., 2009).

Tabla 2.3 Fuentes de aceite vegetal

Comparación de materias primas para Biodiesel				
Especie	% aceite en la semilla	Rendimiento L aceite/ha año	Uso de tierra m ² año/kg biodiesel	Productividad biodiesel Kg/ha año
Maíz	44	172	66	152
Soja	18	636	18	562
Jatrofa	28	741	15	656
Girasol	40	1070	11	946
Aceite de palma	36	5366	2	4747
Microalgas (bajo contenido)	30	58700	0.2	51927
Microalgas (contenido medio)	50	97800	0.1	86515
Microalgas (alto contenido)	70	136900	0.1	121104

Aunque el contenido en lípidos de las distintas especies, no es muy diferente, hay variaciones significativas, a favor de las microalgas, en el resto de parámetros considerados.

Los principales componentes de la fracción lipídica microalgal son triacilglicéridos, ácidos grasos libres, ceras, esteroides, hidrocarburos, glucolípidos, fosfolípidos y pigmentos.

No todos los compuestos lipídicos son útiles para la producción de biodiesel, solo los ácidos grasos libres y los unidos covalentemente al glicerol. Éstos constituyen entre un 20-40% de los lípidos totales presentes en la biomasa, si bien esta proporción cambia según la fase de crecimiento, aumentando considerablemente con la edad del cultivo.

También es importante el perfil de ácidos grasos, ya que puede tener diferentes efectos sobre las características del biodiesel producido. En las microalgas, los ácidos grasos pueden ser saturados e insaturados con 12-22 átomos de C siendo algunos de ellos de las familias n-3 y n-6. Para la elaboración de biodiesel es deseable un perfil con bajo grado de insaturación (Brennan et al., 2010).

En muchas algas es posible inducir un alto contenido en lípidos modificando algunos factores condicionantes del crecimiento tales como, el nivel de N en el medio de cultivo, la intensidad de iluminación, temperatura, salinidad y concentración de CO₂ (Hsieh et al., 2009).

Sin embargo, en algunas situaciones como es el caso de la deficiencia en N, el aumento del contenido en lípidos de la biomasa es inversamente proporcional a la productividad lipídica, debido al bajo nivel de un nutriente esencial en el medio de cultivo.

Por lo general, Tabla 2.4, un alto contenido lipídico está asociado a una baja productividad de estos compuestos (Weldy et al., 2007) (Pruvost et al., 2009) (Mandal et al., 2009).

Tabla 2.4 Contenido en lípidos y productividades

Especie	Contenido % peso seco	Productividad Lípidos mg/L d	Productividad Biomasa g/L d	Productividad Biomasa g/m ² d
<i>Botryococcus Braunii</i>	25-75	4-7	0,02	3
<i>Chlorella Vulgaris</i>	5,0-58	11,2-40	0,02-0,20	0,57-0,95
<i>Dunaliella Salina</i>	6-25	116	0,22-0,34	1,6-3,5 20-38
<i>Nannocloropsis sp.</i>	12-53	37,7-90	0,17-1,43	1,9-5,3
<i>Phaeodactylum Tricornutum</i>	18-57	44,8	0,003-1,9	2,4-21
<i>Scenedesmus sp.</i>	19,6-21,1	40,8-53,9	0,03-0,26	2,43-13,52
<i>Tetraselmis Suecica</i>	8,5-23	27-36,4	0,12-0,32	19

Hay autores que consideran que para la producción de compuestos energéticos, la optimización del contenido en lípidos de la biomasa expresado en porcentaje de la misma es menos importante que la optimización de la productividad de biomasa. Así obtienen productividades en lípidos de 0,46 g/L d en condiciones N-suficientes y 0,12 g/L d en condiciones N-deficientes, utilizando *Dunaliella* (Weldy et al., 2007).

La obtención de biodiesel, no es la única aplicación energética de las microalgas. Así es posible la obtención de hidrocarburos a partir de la Clorofícea *Botryococcus braunii*. Estos hidrocarburos pueden utilizarse una vez extraídos de la biomasa o mejorarse (upgrading) mediante craqueo catalítico (Kojima et al., 1999) (Jin-Young et al., 2003).

El desarrollo de la tecnología para una alta eficiencia en la generación de lípidos en la biomasa para su aplicación a la elaboración de biodiesel es también aplicable a la producción de biogás, biohidrógeno, y en general a todos los procesos B-L-T (biomass-to-liquid) a partir de microalgas, según el esquema de conversión de la Figura 2.6 (Lopes da Silva et al., 2009).

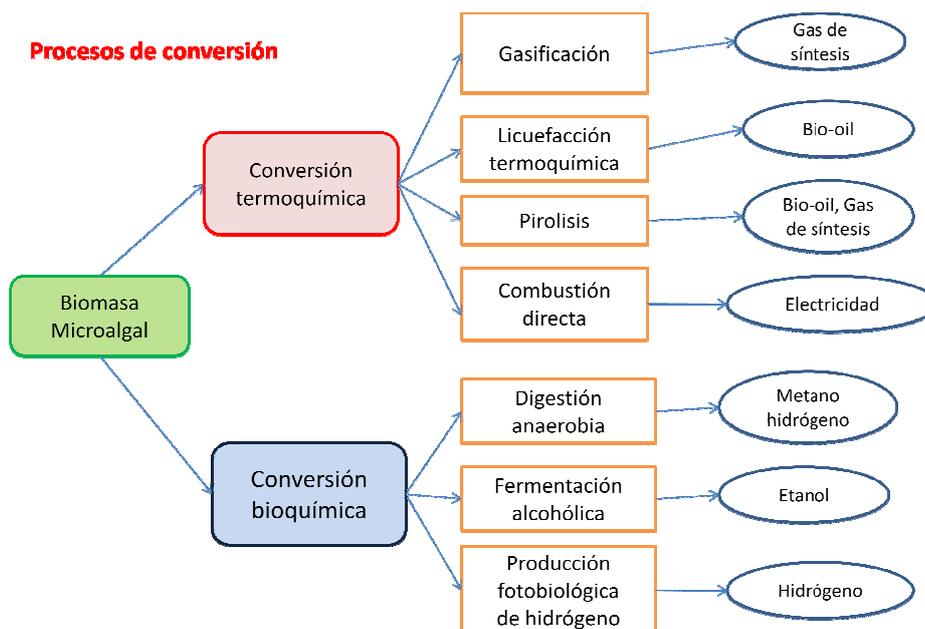


Figura 2.6 Procesos de conversión de la biomasa

2.3.2.2 Selección de especies

La selección de la especie apropiada es un factor importante para la producción de biocombustibles. Con este objetivo la microalga idónea debería cumplir los siguientes requisitos:

Alta productividad lipídica

- Resistente al estrés hidrodinámico que pueden sufrir en los fotobioreactores
- Ser la especie dominante si el cultivo es abierto
- Tener una alta capacidad de fijación de CO₂
- Requerimientos nutricionales, no muy exigentes
- Capacidad de crecer en medios residuales
- Ser tolerante a un amplio intervalo de temperaturas resultado del ciclo diario y de las variaciones estacionales
- Proporcionar co-productos valiosos o ser útil para una aplicación adicional
- Rápido ciclo productivo
- Alta eficiencia fotosintética
- Tener propiedades autofloculantes, para facilitar la separación final del medio nutriente

Actualmente, no se conoce ninguna especie que cumpla todos los requisitos.

La utilización de microalgas para producción de biocombustibles puede servir además para otros propósitos (Chan et al., 2010):

- Disminución del contenido en CO₂ de gases de chimenea, mediante biofijación, reduciendo así las emisiones de este gas con efecto invernadero.
- Tratamiento de un agua residual por utilización de compuestos de N y P como nutrientes, disminuyendo por tanto el contenido de los mismos (Huang et al., 2010).
- Después de la extracción de los lípidos, la biomasa resultante puede utilizarse como biosorbente de metales pesados (Jae-Yong et al., 2010).
- Una vez recuperado el metal, el residuo puede utilizarse para la recuperación de hidratos de C, para la liberación de energía mediante combustión o para cualquier otro método de conversión (Figura 2.6) (Else et al 2007).

2.3.2.3 Bioquímica del proceso

Los grupos taxonómicos a los cuales pertenecen las microalgas oleaginosas son diversos. En las eucariotas el contenido lipídico es considerado propio de la especie y no del género. Bajo condiciones normales de cultivo presentan un contenido promedio del 25%, valor que es superior bajo condiciones de estrés.

El metabolismo lipídico de las algas es similar al de las plantas superiores, particularmente en la biosíntesis de ácidos grasos y triacilglicéridos.

Presenta tres etapas:

- a) formación de acetil-CoA en el citoplasma
- b) elongación y desaturación de la cadena carbonada de los ácidos grasos
- c) biosíntesis de los triglicéridos.

En el cloroplasto ocurre la síntesis de los ácidos grasos, cuyo paso inicial consiste en la carboxilación del acetil-CoA (dependiente de ATP) para su conversión en malonil-CoA. Esta reacción es catalizada por la acetil-CoA carboxilasa y es considerada el paso limitante del proceso.

Las unidades de acetil-CoA proceden del proceso fotosintético, se originan en el cloroplasto y el intermediario gliceraldehido-fosfato (GAP) es un componente clave.

La reacción anterior es seguida por ciclos de adición descarboxilativa de malonil-CoA a unidades acilo y β -reducción, catalizados por el sistema ácido-graso sintetasa, hasta producir moléculas de C16 y C18 saturadas.

La biosíntesis de triglicéridos ocurre en el citosol y en el retículo endoplásmico esencialmente a través de la catálisis por acil-transferasas del traslado secuencial de ácidos grasos a las posiciones 1, 2 y 3 del glicerol-fosfato, donde antes de la última transferencia se requiere de la desfosforilación del ácido fosfatídico previamente formado. (Fischer et al., 2008) (Hu et al., 2008) (Palk et al., 2009).

En las Figuras 2.7 y 2.8 se esquematiza en términos generales la biosíntesis de lípidos en las microalgas (Zemke et al., 2010).

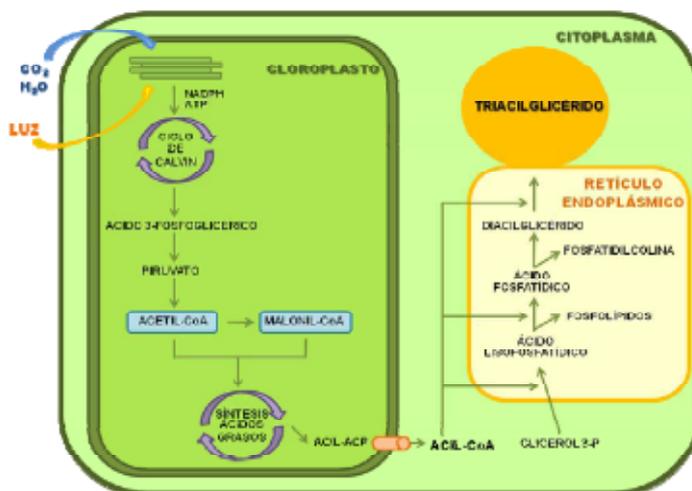


Figura 2.7 Biosíntesis de lípidos

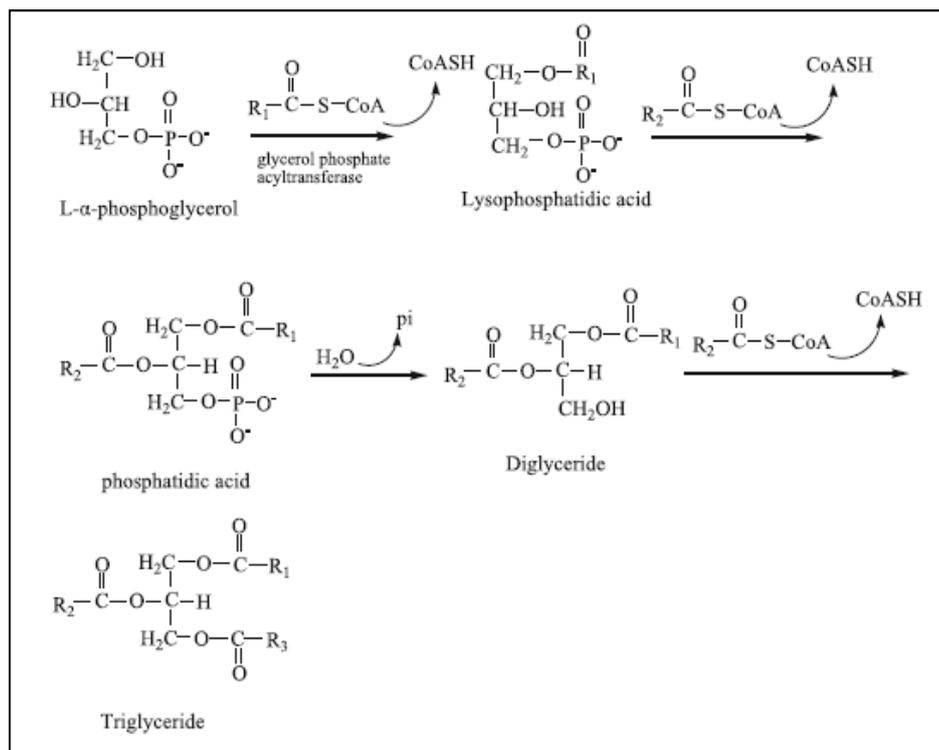


Figura 2.8 Traslado secuencial de ácidos grasos al glicerol-fosfato

Los hidrocarburos de la raza A de *Botryococcus braunii*, Tabla 2.5, no derivan del isopreno sino del ácido oléico (C18:1,cis n9) mediante una ruta de elongación-descarboxilación. El ácido oléico es elongado mediante sucesivas adiciones de unidades C₂ derivadas del acetil-CoA y posteriormente descarboxilado. Esta ruta no es específica y puede aceptar tanto al ácido oléico como al eláidico (C18:1,trans n9) generándose cis y trans dienos.

Tabla 2.5 Hidrocarburos de *Botryococcus braunii*, raza A

HIDROCARBUROS	ESTRUCTURA
1 C ₂₅ H ₄₈ (Pentacosa-1, 16-dieno)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₃ CH=CH ₂
2 C ₂₇ H ₅₂ (Heptacosa-1, 18-dieno)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₅ CH=CH ₂
3 C ₂₉ H ₅₆	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₇ CH=CH ₂

	(Nonacosa-1, 20-dieno)	
4	$C_{31}H_{60}$ (Hentriaconta-1, 22-dieno)	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_{19}CH=CH_2$
5	$C_{29}H_{54}$ (Nonacosa-1, 20, 22-trieno)	$CH_3(CH_2)_5CH=CH-CH=CH-(CH_2)_{17}CH=CH_2$
6	$C_{31}H_{58}$	No elucidado
7	$C_{27}H_{51}$	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_{13}CH=CH-CH=CH_2$

2.3.2.4 Sistemas de producción

La producción de biodiesel a partir de microalgas consta de las etapas recogidas en la Figura 2.9, etapa de producción de la biomasa, etapa de recuperación o cosecha, extracción de los lípidos y recuperación.

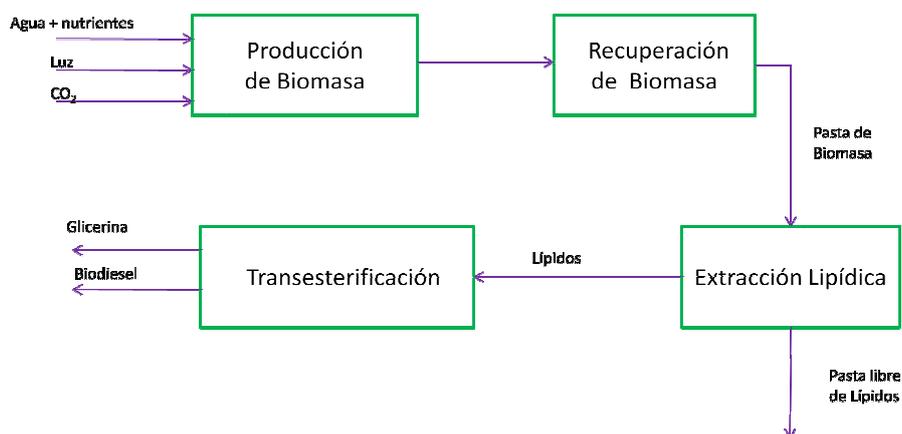


Figura 2.9 Sistemas de producción

Un gran esfuerzo en investigación se ha dirigido y dirige a la etapa de cultivo, ya que en la mayor parte de los casos, constituye la etapa clave que determina la viabilidad económica del proceso (Bosma et al., 2007).

Los sistemas empleados con mayor frecuencia para cultivos masivos, son los de tipo estanque abierto, Figura 2.10, que a pesar de sus formas y tamaños diversos se asemejan al entorno natural de las microalgas. Las concentraciones y productividades en biomasa de estos sistemas es baja en torno a 1g/L y 10-25 g/m² d respectivamente.



Figura 2.10 Reactor abierto tipo estanque

Siempre se ha considerado que las ventajas de este tipo de sistema radican, en sus bajos costes de inversión, y la facilidad de operación y mantenimiento. Sin embargo, presentan inconvenientes adicionales tales, como pérdidas de agua por evaporación, transferencia limitada de CO₂ al cultivo, control escaso sobre las condiciones del cultivo, contaminación, crecimiento de especies algales no deseadas, requerimientos de grandes superficies, periodos de producción elevados (Jorquera et al., 2010).

Solo en el caso de microalgas extremófilas, y condiciones extremas, por ejemplo muy alta salinidad, es posible mantener el crecimiento dominante de dicha población durante tiempos prolongados.

En los sistemas cerrados, por el contrario, se evitan los problemas anteriores, consiguiéndose productividades muy superiores del orden de 5-14 veces a las conseguidas en los sistemas abiertos (Lehr et al., 2009).

Los reactores cerrados presentan configuraciones diversas, siendo las más usuales las de tipo tubular, plano o columna de burbujeo, construidos con materiales transparentes, Figura 2.11. Dada la respuesta característica de las algas a la luz, en condiciones de exposición directa a la luz solar presentan o pueden presentar bajas eficiencias, fotoinhibición e incluso fotoblanqueo (Carvalho et al., 2006) (Sierra et al., 2008) (Kunjapur et al., 2010).



Figura 2.11. Reactores cerrados, plano y tubular

Para incrementar la eficiencia del reactor debe diseñarse de forma que distribuya la luz sobre una gran superficie, lo que proporciona a las células intensidades moderadas. Esto normalmente se consigue organizando los reactores en una construcción tipo valla orientada en la dirección Norte-Sur. De esta forma la luz solar es diluida en horizontal y vertical. Para optimizar este efecto de dilución la superficie del reactor debe ser del orden de 10 veces superior a la superficie de terreno que ocupa (Degen et al., 2001) (Concas et al., 2010).

Un principio básico de diseño es conseguir la mayor relación posible superficie/volumen del reactor. Relaciones S/V de $400 \text{ m}^2/\text{m}^3$ determinan recorridos de luz pequeños y por tanto pueden conseguirse concentraciones de biomasa elevadas, lo que da origen a altas productividades (Molina et al., 2001).

En los fotobioreactores hay que proporcionar un sistema de mezcla que impida la sedimentación de las células, facilite el movimiento de las mismas de zonas de más a menos luz y mejore la transferencia del CO_2 y O_2 . El CO_2 se aporta bien a través de aire, aire enriquecido, gases residuales o gases residuales diluidos, estando las necesidades estequiométricas en torno a $1,7 \text{ g/g}$ biomasa.

La principal desventaja de los sistemas cerrados se atribuye fundamentalmente a la gran cantidad de energía invertida en el funcionamiento de los mismos. Para los reactores planos (flat-plate) se estima en $55 \text{ W}/\text{m}^3$ y entre $2000\text{-}3000 \text{ W}/\text{m}^3$ para los reactores tubulares. Los reactores tipo columna de burbujeo estarían entre ambos pero más próximos a los de tipo plano (Zitelli et al., 2000).

Este resultado contrasta con los valores publicados para reactores tipo estanque de solo $4 \text{ W}/\text{m}^3$.

La utilización exclusiva de fotobioreactores está únicamente justificada para la obtención de productos de alto valor, tales como nutracéuticos, pigmentos, etc.

Para la producción de biodiesel, producto cuyo precio unitario debe ser lo menor posible, se prueban diferentes estrategias de cultivo. Lo que es claro es que la ratio neta de energía (NER) definida como:

$$NER = \frac{\text{Energía producida}}{\text{Energía requerida}} \quad [2.4]$$

debe ser, para un proceso viable, considerablemente mayor a la unidad.

Así, se están probando actualmente diferentes estrategias como, abaratar la construcción del reactor utilizando materiales baratos, probar la utilización del CO₂ a través de un suministro por difusión en vez de por burbujeo, utilizar las configuraciones más económicas, es decir dar preferencia a los reactores tipo panel-plano y la utilización de sistemas integrados, en los que se abaratan costes utilizando nutrientes residuales, aguas residuales, gases efluentes industriales y se buscan co-productos y co-utilización de la biomasa residual, que determinen un balance económico positivo (Cheng et al., 2006) (Huntley et al., 2007).

La etapa de cosechado de la biomasa posterior a la de producción influye notablemente en los costos de elaboración del biodiesel. Los procedimientos más comunes son centrifugación, sedimentación, filtración, floculación bien individualmente o combinados. La selección del método depende fundamentalmente de las características de la especie microalgal utilizada. Últimamente se propone probar a gran escala la técnica de biofloculación o autofloculación, propiedad de algunas algas de flocular mediante la aplicación de algunas condiciones de estrés tales como cambios en el pH y la temperatura y la co-biofloculación en la que se promueve la floculación de una suspensión de microalgas mediante la adición de algunos microorganismos floculantes como levaduras u otras algas (Lee et al., 2009).

2.4 METALES PESADOS

2.4.1 Generalidades

Los avances de la ciencia y la tecnología han originado un aumento en la capacidad del ser humano para explotar los recursos naturales. Esta sobreexplotación ha originado perturbaciones en los ciclos biogeoquímicos elementales (Liu et al., 1993).

La introducción de compuestos químicos xenobióticos o la redistribución masiva de materiales naturales en compartimentos ambientales distintos, puede eliminar la capacidad de autolimpieza de los ecosistemas receptores, originando la acumulación de contaminantes hasta niveles perjudiciales (De Filippis et al., 1994) (Castañé et al., 2003).

La contaminación del ambiente con metales tóxicos y radionucleidos surge como resultado de la actividad industrial, aunque también contribuye a ella la agricultura y la eliminación de residuos. Tabla 2.6 (Cañizares, 2000).

Tabla 2.6 Algunas fuentes antropogénicas de metales tóxicos en ton/año

Metal	Agricultura	Industria	Residuos sólidos	Residuos líquidos
As	7730	7550	793	12842
Cd	3666	2450	1147	21319
Cr	92680	50610	20339	61290
Cu	411	33740	27970	40905
Hg	5245	1145	2420	498
Mn	230600	20515	25256	134055
Ni	60246	7440	259	60710
Pb	192	9300	42100	16470
Sc	6566	4250	348	5904
Va	25470	550	1295	676
Zn	824935	85015	65100	103715

Los metales pesados constituyen un grupo de la Tabla Periódica con densidad mayor o igual a 5 g/cm³. Muchos son esenciales para el crecimiento a pequeñas dosis como As, Cr, Co, Cu, Ni, Se, Va y Zn y a dosis mayores pueden ser tóxicos, como consecuencia de su capacidad para desnaturalizar proteínas, a otros como Au, Ag, Pb, Cd, Hg, U, Be no se les conoce ninguna función biológica (Duruibe et al., 2007).

(Wang et al., 2006) los clasifican en tres grupos :

- Metales tóxicos Hg, Cr, Pb, Zn, Cu, Ni, Cd, As, Co, Sn
- Metales preciosos Pt, Pd, Ag, Au, Ru
- Radionucleidos U, Th, Ra, Am

Debido a su movilidad en los sistemas acuáticos y a su toxicidad se les considera un gran problema para el medio ambiente.

Entre los mecanismos moleculares que determinan la toxicidad de los metales pesados están:

- Desplazamiento de iones metálicos esenciales de biomoléculas
- Modificación de la conformación activa de enzimas y nucleótidos
- Ruptura de la integridad de biomoléculas

Los métodos convencionales para el tratamiento de aguas residuales que contienen metales pesados resultan costosos e ineficientes, especialmente cuando la

concentración del metal es baja. Estos métodos utilizan diferentes operaciones tales como: precipitación, oxidación, reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico, adsorción, filtración con membranas etc. (Fu et al., 2011). En la Tabla 2.7 se comparan las efectividades de varios métodos convencionales (Lesmana et al., 2009).

Tabla 2.7 Efectividad de algunos métodos convencionales

Método	Metal	Concentración inicial, mmol/L	Máxima eliminación, %
Adsorción por C activo	Cu(II)	0,58	99,93
	Zn(II)	0,41	80,00
	Cr(VI)	0,18	72,00
	Co(II)	1,70-6,80	77,96
Adsorción con zeolitas	Cu(II)	1,60-6,40	66,10
	Zn(II)	1,50-6,00	45,96
	Mn(II)	1,80-7,20	19,84
Coagulación química	Cr(VI)	0,48-2,40	11,50
Electrocoagulación	Cr(VI)	0,48-2,40	42,00
Quelación en fluidos supercríticos	Cu(II)	1,60-16,00	63,00
	Cd(II)	1,00	>95,00
Ultrafiltración	Cu(II)	1,00	>95,00
	Co(II)	1,00	>95,00
	Zn(II)	1,00	>95,00

Algunos de los métodos indicados son bastante efectivos, pero inviables por su elevado coste a escala industrial.

El uso de sistemas biológicos para la eliminación de metales pesados de medios líquidos diluidos es un proceso eficiente y de bajo costo (Cañizares, 2000). Las tecnologías basadas en los microorganismos o sus productos ofrecen una alternativa o ayudan a las técnicas convencionales para la eliminación y recuperación de metales (Volesky, 1990) (Volesky, 1994).

2.4.2 Cromo

El cromo es un metal pesado de la primera serie de metales de transición Tabla 2.8, a lo que debe sus principales propiedades químicas y bioquímicas. Es el séptimo elemento más abundante en la tierra, habiéndose incrementado en las últimas décadas la cantidad de cromo en ecosistemas acuáticos y terrestres como consecuencia de diferentes actividades humanas (Volesky, 1995) (Park et al., 2006).

Tabla 2.8 Datos físico-químicos del Cromo

Datos físico-químicos básicos	
Símbolo químico	Cr
Número atómico	24
Peso atómico	51,996 g
Densidad	7,19 g/cm ³ a 20°C
Punto de ebullición	2672 °C
Punto de fusión	1857 °C
Presión de vapor	10 ⁻⁶ Pa a 844°C
Solvólisis	Soluble en H ₂ SO ₄ y HCl diluidos

Presenta distintos estados de oxidación -2; 0; +2; +3 y +6, los derivados de las valencias -2 y +2 tienen poca importancia, y el 0 corresponde al cromo metálico.

Los compuestos con importancia biológica corresponden a derivados de los estados de oxidación +3 y +6, al primer grupo pertenecen el óxido crómico Cr₂O₃ y las sales crómicas, como el cloruro crómico CrCl₃ o el anión cromito Cr(OH)₄⁻ y al segundo grupo, el trióxido de cromo CrO₃, los cromatos CrO₄²⁻ y los dicromatos Cr₂O₇²⁻ (Stern, 1982).

Los derivados de Cr(III) pueden formar iones complejos estables y coloreados.

Los cromatos y dicromatos son agentes oxidantes enérgicos en medio ácido, reduciéndose el Cr(VI) a Cr(III).

El cromo metálico no se encuentra libre en la naturaleza, por su alta reactividad. Es de color blanco plateado, muy resistente al calor y fácilmente se recubre de una delgada capa de óxido que lo protege de un ataque químico posterior. Altamente resistente a la oxidación se utiliza para recubrir metales con el fin de protegerlos de la corrosión, operación que se conoce como cromado (Kotas et al., 2000).

El mineral más importante es la cromita o ferrocromita FeCr₂O₄ que procede fundamentalmente de Sudáfrica y los países pertenecientes a la ex Unión Soviética. El cromo se obtiene calentando la cromita en presencia de aluminio o silicio, mediante un proceso de reducción (Stanley, 2002).

2.4.3 Usos del cromo

El cromo se usa sobre todo en tres tipos de industria:

- Metalúrgica
- Química
- De elaboración de materiales refractarios.

En la industria metalúrgica es un componente esencial de los aceros inoxidable y de otras aleaciones metálicas. Los aceros al cromo son duros, tenaces y resistentes, se emplean sobre todo en planchas de blindaje.

La industria química produce comúnmente derivados de Cr(III) y Cr(VI) que se usan para (Pellon et al., 2003):

- Operaciones de cromado
- Manufactura de pigmentos y colorantes
- Curtido de pieles
- Tratamiento de maderas
- Reactivos químicos
- Agentes de limpieza de vidrio y metales

Cantidades menores de estos compuestos se usan en lodos de perforación, como inhibidores de la corrosión y en tratamiento de aguas.

Para hornos metalúrgicos se elaboran ladrillos a base de magnesita y cromo o cromita granular.

2.4.4 Beneficios y toxicocinética

El Cr es considerado un oligoelemento y es esencial en pequeñas cantidades para el mantenimiento de la salud. Participa en el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y proteínas, siendo su función principal la de potenciar la actividad de la hormona pancreática insulina. La cantidad de Cr mínima diaria recomendada es de 50 µg.

El producto alimentario con mayor contenido en Cr es la levadura de cerveza, también son buenas fuentes, los aceites vegetales, los cereales integrales, las nueces, el mosto y los lácteos.

La absorción del cromo en el organismo es muy baja y se facilita por la presencia de las vitaminas B₁, B₂, y B₃ así como de los elementos Mn y Zn, y algunos aminoácidos como glicina, cisteína y ácido glutámico (Bagchi et al., 2001).

El Cr puede penetrar en el organismo por inhalación, ingestión y en menor medida por absorción a través de la piel.

El cromo puede absorberse por vía respiratoria, cuando se inhala aire que lo contiene. Partículas de cromo metálico se pueden depositar en los pulmones y tras absorción, pasar al torrente sanguíneo. A igual solubilidad, los compuestos de Cr(VI) se absorben más rápidamente que los de Cr(III) (Bagchi et al., 2001).

La absorción por vía digestiva, ocurre como resultado de la ingestión de alimentos o agua que contengan derivados del metal. En el tracto gastrointestinal de humanos y animales, se absorbe un 1 % de Cr(III) y un 10 % de Cr(VI). La forma química, la solubilidad en agua del compuesto y el tiempo de permanencia en el tracto modifican la velocidad de absorción .

Si bien el Cr(III) no se absorbe a través de la piel, si es posible la absorción de algunos compuestos de Cr(VI).

Una vez absorbido, el Cr(III) no atraviesa con facilidad las membranas celulares y se une a la transferrina, una proteína del plasma que transporta hierro. En contraste, el Cr(VI) después de la absorción pasa rápidamente a los eritrocitos en donde se convierte en Cr(III) (Alexander et al., 1995).

Los efectos adversos del cromo para la salud dependen, sobre todo, de la valencia en el momento de la exposición y de la solubilidad del compuesto de que se trate. A dosis y solubilidad similares los compuestos de Cr(VI) son considerablemente más tóxicos que los de Cr(III) (Alcedo, 1990).

En ojos expuestos de manera continua a Cr(VI) se observa conjuntivitis, lacrimo y dolor. El ácido crómico y sus sales son corrosivos para la piel y las mucosas. La lesión característica de la exposición a estos compuestos es una úlcera profunda.

Los efectos sobre el sistema respiratorio se resumen en la Tabla 2.9.

Tabla 2.9 Efectos de la exposición crónica a compuestos de Cr en el sistema respiratorio

Efectos sobre el sistema respiratorio	
Rinitis	Dolor nasal
Laringitis	Úlcera nasal
Bronquitis	Perforación del tabique nasal
Alteración del olfato	Fibrosis pulmonar
Hemorragia nasal	Cáncer de pulmón

La ingestión de pequeñas cantidades de Cr(VI) no tiene efectos indeseables, sin embargo la ingestión de cantidades elevadas causa un cuadro gastrointestinal agudo, con vómitos sanguinolentos, diarrea, sangre en las heces y puede causar colapso cardiovascular y la muerte. Si el intoxicado sobrevive, los efectos posteriores pueden ser necrosis hepática y renal y conducir a la muerte.

2.4.5 Límites permisibles

Los límites permisibles de Cr total en agua potable para consumo público dependen de la legislación específica de los países así, en USA no puede exceder de 100 $\mu\text{g/L}$, mientras que en España este límite está establecido en 50 $\mu\text{g/L}$ (Directiva 98/83; RD 1138/90). Estos límites son inferiores a las concentraciones de cromo que se ha comprobado no tienen efectos adversos para la salud y que son (Albert, 1990):

- 1400 $\mu\text{g/L}$ durante 10 días, para niños
- 240 $\mu\text{g/L}$ por tiempo prolongado, para niños
- 840 $\mu\text{g/L}$ para la exposición crónica en adultos
- 120 $\mu\text{g/L}$ para la exposición de adultos durante toda la vida.

En USA, el organismo Occupational Safety and Health Administration (OSHA) ha establecido que la concentración máxima de cromo en aire por día de 8 h y semana de 40 h es de 500 $\mu\text{g/m}^3$ de aire, para sales de Cr(III) y Cr(II), de 1000 $\mu\text{g/m}^3$ de aire para cromo metálico y sales insolubles. En cuanto al ácido crómico y los derivados de Cr(VI) sus concentraciones en el aire no deben exceder de 100 $\mu\text{g/m}^3$ (ATSDR, 1990).

Por su parte, The National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH considera que todos los derivados del Cr(VI) son carcinógenos potenciales y recomienda un límite de exposición de 1 $\mu\text{g/m}^3$ para un día de 10 h y una semana de 40 h.

En general, los efluentes industriales que contienen Cr se incorporan a las aguas y eventualmente éstas llegan a los océanos. La forma química del Cr dependerá de la presencia de materia orgánica en estas aguas, si la hay el Cr(VI) se reducirá a Cr(III) el cual se podrá adsorber sobre partículas o formar complejos insolubles que pueden permanecer en suspensión o ser incorporados a los sedimentos.

El Cr también aparece en el medio ambiente a partir de todos los procesos de combustión, incluyendo los incendios forestales. En la Tabla 2.10 se resume la distribución porcentual de los aportes globales de cromo al ambiente.

Tabla 2.10 Contribuciones al cromo ambiental

Aportes globales de cromo al ambiente	
Emisiones volcánicas	< 1%
Ciclos biológicos	30 %
Absorción por las plantas	15%
Intemperización de las rocas	15%
Emisiones de fuentes antropogénicas	70%
Producción minero-metalúrgica	3%
Diversos usos	60%
Procesos de combustión	7%

En relación a la legislación española, ésta es algo diferente según la Comunidad Autónoma, así se dispone de los siguientes límites de vertido:

- Valor máximo instantáneo permitido
 - Cr total 5 mg/L ; Ley 10/1993 Madrid, Decreto 16/1999 Murcia, ley 5/2002 Asturias.
 - Cr(VI) 1 mg/L ; Decreto 16/1999 Murcia, Ley 10/1993 Madrid.
- Valor medio anual marcado como objetivo de calidad
 - Cr total 50 µg/L ; Real Decreto 995/2000
 - Cr(VI) 5 µg/L ; Real Decreto 995/2000

2.5 BIOSORCIÓN DE METALES PESADOS

2.5.1 Generalidades

El término biosorción puede definirse como la captación pasiva de iones metálicos, presentes en un medio líquido, mediante la utilización de biomasa no-viva, vía mecanismos físico-químicos como la adsorción, complejación o el intercambio iónico entre otros.

El proceso de biosorción implica la utilización de una fase sólida “sorbente” en contacto con una fase líquida “solvente” que contiene las especies que van a ser adsorbidas “sorbato”. En condiciones idóneas y dada la gran afinidad del sorbente por las especies del sorbato, este último es atraído hacia el sólido y enlazado por diferentes mecanismos. El proceso continua hasta que se establece un equilibrio entre el sorbato disuelto y el sorbato enlazado al sorbente.

La calidad de un sorbente vendrá dada por su capacidad de retención del sorbato. Como última opción es posible recuperar el sorbato y la biomasa mediante el uso de reactivos químicos, permitiendo así una posterior utilización de la misma en un nuevo ciclo de tratamiento. En la Figura 2.12 se esquematiza un proceso de biosorción (Cañizares, 2000).

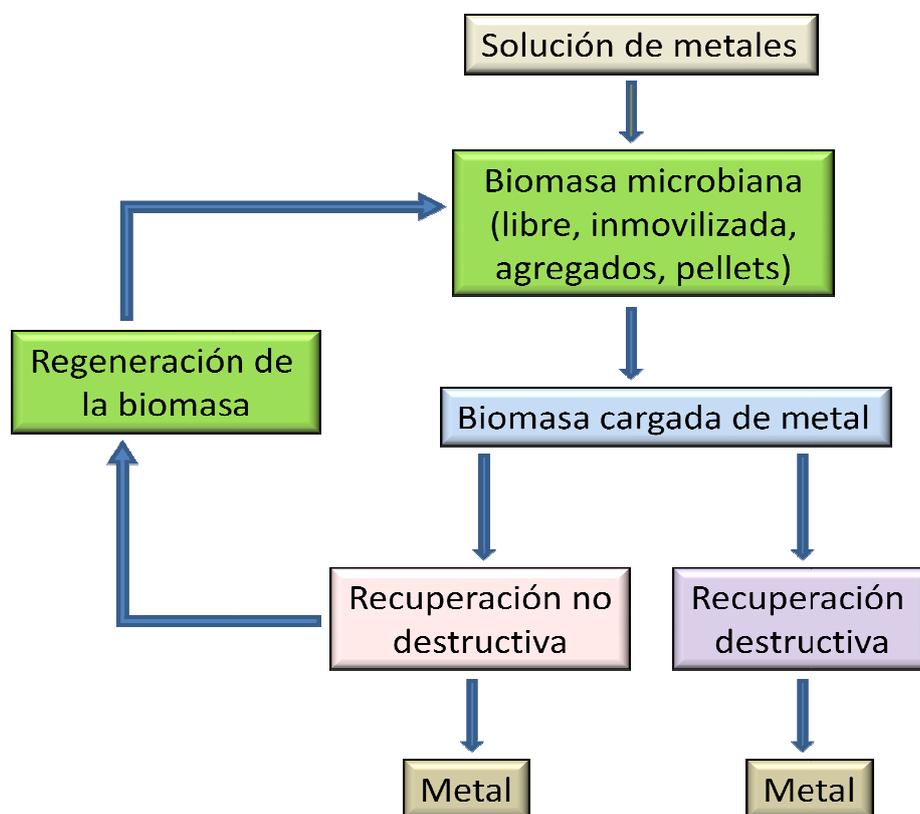


Figura 2.12 Esquema del proceso de biosorción

Dentro de los materiales biológicos susceptibles de ser utilizados como biosorbentes se encuentran las biomasas, bacteriana, de hongos, levaduras, algas, flora acuática, desechos generados en fermentaciones industriales etc. Estos biosorbentes pueden secuestrar iones metálicos disueltos con alta eficiencia y rápidamente, lo que los hace candidatos ideales para el tratamiento de grandes volúmenes de aguas residuales complejas (Wang et al., 2006).

La capacidad de muchos microorganismos vivos de acumular elementos metálicos, se ha estudiado en un principio, desde un punto de vista toxicológico. Cuando se utiliza biomasa viva, el proceso recibe el nombre de bioacumulación, y presenta el inconveniente de que la toxicidad del metal puede conducir a un envenenamiento e inactivación de la misma. Si esto no ocurre, presenta la ventaja de que los mecanismos metabólicos de captación también contribuyen a la eliminación (Inthorn, 2001).

La capacidad de algunas algas de reproducirse y sobrevivir en hábitats contaminados por iones metálicos es debida a (Cheung et al., 2007):

- Adaptación genética
- Cambios fisiológicos consecuencia de la exposición a los metales

Para expresar esta capacidad se han acuñado los términos de “Tolerancia” y “Resistencia”. La “Tolerancia” está relacionada con propiedades intrínsecas del organismo mientras que la “Resistencia” está relacionada con una exposición directa al metal.

Los mecanismos de tolerancia a metales pesados pueden ser de tres tipos (Rai et al., 1981):

- Enlace extracelular y precipitación. Esto es explicado por el hecho de que algunos microorganismos pueden sintetizar polímeros que se sitúan en la parte externa de la membrana celular a la que se enlazan los iones metálicos.
- Impermeabilidad y exclusión. Mecanismo por el cual el ión metálico no puede atravesar la membrana celular. Las moléculas responsables de esta detoxificación externa son principalmente carbohidratos.
- Detoxificación interna. Mecanismo por el que algunos microorganismos desarrollan la producción de péptidos que forman compuestos organometálicos, Fitoquelatinas y Metalotioninas. Estos se almacenan en las vacuolas y así las células controlan la concentración de iones metálicos en el citoplasma evitando efectos tóxicos (Perales et al., 2006).

El uso de biomasa muerta tiene ventajas sobre el de células vivas. No es necesario adicionar nutrientes, resulta inmune a la toxicidad o condiciones de operación adversas, la recuperación de metales es más fácil por medio de tratamientos que permiten la regeneración de la biomasa.

(Macaskie, 1990) y Cañizares (2000) han recopilado las ventajas e inconvenientes de utilizar uno u otro tipo de biomasa:

Ventajas de la utilización de **biomasa viva**:

- Aunque cada célula puede llegar a saturarse, el sistema se auto-restablece como consecuencia del crecimiento.
- Los metales se depositan en un estado químico alterado y menos sensible a la desorción espontánea.

- La actividad metabólica puede ser la única forma económica de lograr cambios de valencia o de degradar compuestos organometálicos.
- Se pueden mejorar las cepas mediante manipulación genética.

- Se pueden emplear dos o más microorganismos de una manera sinérgica.

Ventajas de la utilización de biomasa muerta:

- Su uso es independiente del crecimiento. No está sujeta a limitaciones de toxicidad. No necesita nutrientes, ni es preciso eliminar productos en su caso.
- El proceso de biosorción no está gobernado por limitaciones biológicas.
- Si se utiliza la biomasa inmovilizada, la técnica de inmovilización no viene impuesta por limitaciones de toxicidad o inactivación térmica.
- La biomasa es rápida y eficiente en la recuperación de metales del medio líquido, comportándose como un intercambiador de iones.
- Los metales pueden ser fácilmente liberados y recuperados.

Con respecto a los inconvenientes los mismos autores recopilan los siguientes:

Inconvenientes de la utilización de biomasa viva:

- Solo pueden tratarse medios líquidos con muy baja concentración metálica, para evitar la toxicidad.
- Todos los medios líquidos o corrientes si se opera en continuo deben estar bajo condiciones fisiológicas.
- Los nutrientes no consumidos y productos metabólicos generados estarán en el medio líquido.
- Los productos metabólicos pueden formar complejos con los metales.
- La recuperación de los metales por desorción es limitada debido a que pueden formarse uniones intracelulares.
- El modelado matemático del proceso es mucho más complejo.

Inconvenientes de la utilización de biomasa muerta:

- Rápida saturación, cuando los sitios de interacción con el metal están ocupados hay que eliminar el metal, antes de poder usar de nuevo la biomasa.
- La adsorción es muy sensible al pH.
- Las especies organometálicas no son susceptibles de degradación.

- La mejora de estos procesos es limitada, ya que las células no efectúan el metabolismo y la producción de la biomasa ocurre en una etapa anterior de crecimiento.

2.5.2 Biosorbentes microbianos

Entre la gran variedad de materiales biológicos utilizados como biosorbentes para la remoción de metales pesados de medios líquidos, destacan los microbianos: bacterias, hongos y algas por su eficiencia, bajo coste y disponibilidad (Wang et al., 2009).

Las células microbianas pertenecen a dos tipos: procariotas y eucariotas. Las primeras tienen una estructura simple y no tienen un núcleo diferenciado, perteneciendo a este grupo bacterias y arqueas. El tamaño celular suele estar entre 0,5–1 μm . Las segundas más complejas morfológicamente tienen núcleo diferenciado y muchos orgánulos celulares. Las células de algas, hongos, protozoos, plantas superiores y animales pertenecen a este tipo. Con tamaños celulares entre 2 y más de 200 μm .

La interfase entre las células microbianas y el ambiente externo a las mismas es la superficie celular, su estructura y composición va a determinar la capacidad como material biosorbente.

2.5.2.1 Bacterias

Una bacteria típica, contiene pared celular, membrana celular y un citoplasma en el que los constituyentes del mismo, como ribosomas y el material genético no están diferenciados, con su correspondientes membranas, sino dispersos. Algunas bacterias presentan estructuras especiales como flagelos o capa-S.

- Las funciones de la pared celular son:
- Dar forma a la célula
- Protegerla de la rotura por choque osmótico
- Protegerla de sustancias tóxicas
- Facilitar la normal división celular

La pared celular divide a las bacterias en Gram-negativas y Gram-positivas. Ésta es mucho más compleja químicamente y estructuralmente en las primeras. La forma y consistencia de la pared celular se debe fundamentalmente a la existencia de capas de péptidoglucanos que le confieren rigidez, porosidad y carácter amorfo. La cantidad y composición exacta de estos compuestos varía entre los principales grupos bacterianos.

Un péptidoglucano, Figura 2.13 es un polímero lineal de unidades alternativas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico.

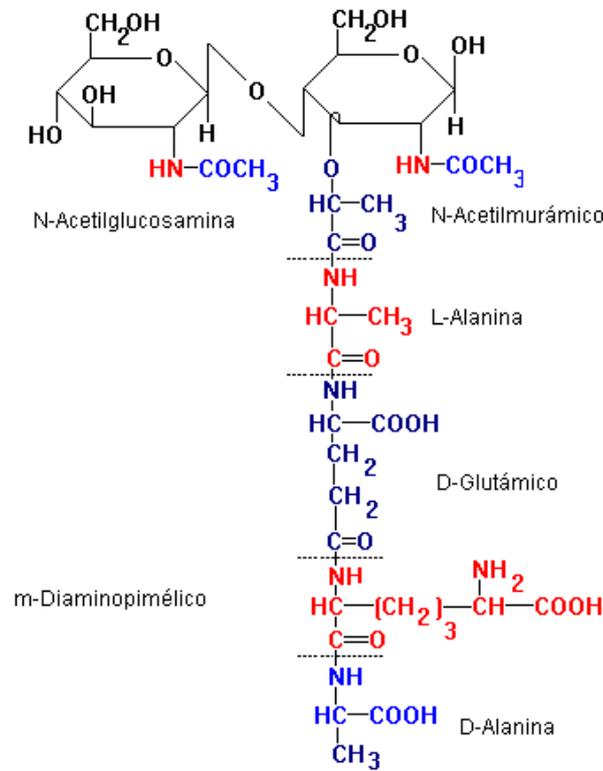


Figura 2.13 Unidad de péptidoglucano

También contienen diferentes aminoácidos, L y D-Alanina, D-ácido glutámico y ácido diaminopimélico. Una cadena peptídica de 4 ó 5 aminoácidos alternadamente de tipo L ó D va unida al grupo carboxilo del ácido N-acetylmurámico.

Una característica común a todas las paredes bacterianas es la formación de puentes entre las cadenas de péptidos. Así hay varios tipos de péptidoglucanos dependiendo de la naturaleza y posición de dichos puentes. Estos compuestos forman una monocapa en las bacterias Gram-negativas (5-10 % del peso de la pared celular), mientras que en las Gram-positivas se sitúan formando entre 20-40 capas (40-90 % del peso de la pared celular) Figura 2.14.

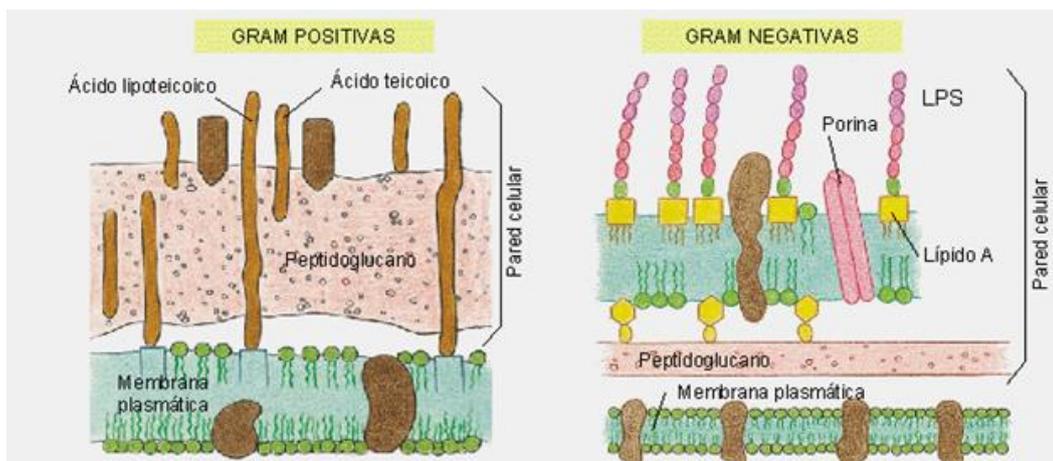


Figura 2.14 Esquema de la pared celular de las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas

<http://www.iesbanaderos.org/html/departamentos/bio-co/Apuntes/Bio/T%2016%20Microbiologia/4%20Bacterias.htm>

La capa de péptidoglucanos se sitúa en las Gram-negativas entre la membrana plasmática y la membrana externa que está compuesta de fosfolípidos, proteínas, entre ellas lipoproteínas y lipopolisacáridos. La carga negativa neta de estas bacterias se atribuye a los lipopolisacáridos. Los grupos fosfato de éstos y de los fosfolípidos se ha demostrado son los centros activos para la interacción con los metales (Remacle, 1990) (Prescott et al., 2002).

En las bacterias Gram-positivas las capas de péptidoglucanos también se sitúan externamente a la membrana plasmática. Ésta también contiene ácidos teicoicos, polímeros del glicerol o ribitol unidos por grupos fosfato. Dado que estos compuestos están cargados negativamente proporcionan a la pared celular carga negativa. También se ha demostrado participan en el secuestro de iones metálicos (Urrutia, 1997).

Algunas bacterias pueden producir cápsulas externas a la pared celular. Estas cápsulas altamente hidratadas (>95 %) están compuestas de polisacáridos y proteínas y en ocasiones se las denomina (EPS) o polisacáridos extracelulares. La disposición de estas cápsulas es importante en la interacción con los metales.

En la Tabla 2.11 se recogen algunos de los más característicos resultados de biosorción de metales pesados, utilizando algunas especies de bacterias.

Tabla 2.11 Biomasa bacteriana utilizada para la biosorción de metales pesados

Metal	Bacteria	Capacidad de biosorción, mg/g	Referencia
Pb	<i>Bacillus sp</i>	92,3	(Tunali et al., 2006)
Pb	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	79,5	(Chang et al., 1997)
Pb	<i>Pseudomonas putida</i>	270,4	(Uslu et al., 2006)
Pb	<i>Streptomyces rimosus</i>	135,0	(Selatnia et al., 2004)
Zn	<i>Pseudomonas putida</i>	17,7	(Chen et al., 2005)
Zn	<i>Streptomyces rimosus</i>	30,0	(Mameri et al., 1999)
Cu	<i>Bacillus sp.</i>	16,3	(Tunali et al., 2006)
Cu	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23,1	(Chang et al., 1997)
Cu	<i>Pseudomonas putida</i>	96,9	(Uslu et al., 2006)
Cu	<i>Streptomyces coelicolor</i>	66,7	(Ozturk et al., 2004)
Cd	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42,4	(Chang et al., 1997)
Cd	<i>Pseudomonas putida</i>	8,0	(Pardo et al., 2003)
Cd	<i>Streptomyces rimosus</i>	64,9	(Selatnia et al., 2004)
Cr(VI)	<i>Bacillus megaterium</i>	30,7	(Srinah et al., 2002)
Cr(VI)	<i>Pseudomonas sp.</i>	95,0	(Ziagova et al., 2007)
Cr(VI)	<i>Staphylococcus xylosus</i>	143,0	(Ziagova et al., 2007)
Ni	<i>Bacillus thurigiensis</i>	45,9	(Ozturk, 2007)
Pd	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	128,2	(De Vargas et al., 2004)
Pt	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	62,5	(De Vargas et al., 2004)
U	<i>Bacillus licheniformis</i>	45,9	(Nakajima et al., 2004)

Los valores de la capacidad de biosorción de la tabla no necesariamente corresponden a los valores máximos. Hay bacterias que tienen la capacidad de biosorción de distintos elementos, mientras que otras son específicas de un determinado elemento metálico.

(Pagnanelli et al., 2000) utilizan la bacteria Gram-positiva *Arthrobacter sp* para comprobar su capacidad de biosorción de Pb, Cu y Fe. Las valoraciones potenciométricas de la biomasa permiten caracterizar el número y concentración de centros activos con carácter ácido-base. Estos mismos autores proponen un original método, SAM, de adiciones sucesivas para la determinación de las isotermas de

adsorción. (Beolchini et al., 2001) con la misma bacteria utilizan un reactor de ultrafiltración/microfiltración UF/MF para retener a las células. Desarrollan un modelo que tiene en consideración el efecto del pH en los parámetros del equilibrio, la rotura celular observada durante el proceso y el efecto de la concentración celular sobre las propiedades de retención de la membrana.

Lodos bacterianos, procedentes de una planta de tratamiento de aguas residuales y constituidos mayoritariamente, por bacterias metanogénas, son utilizados para la adsorción individual y conjunta de Cr(VI) y fenol. (Aksu et al., 2001). El pH óptimo en ambos casos es 1. Las adsorciones mono y multicomponente se ajustan a los modelos no-competitivo y competitivo de Langmuir, Freundlich y Redlich-Peterson.

Sphaerotilus natans, bacteria Gram-negativa aislada de los residuos de una planta de tratamiento de aguas residuales, se utiliza para la recuperación de Cd y Cu de soluciones acuosas. Ambos metales se adsorben como cationes y su biosorción disminuye a pH ácidos. El efecto de la concentración de biomasa depende del pH y del tipo de metal (Esposito et al., 2001).

La afinidad de *Sphaerotilus natans* $Pb > Cu > Zn > Cd$ refleja las propiedades hidrolíticas de los metales estudiados. (Pagnanelli et al., 2003) proponen un modelo que representa el efecto del pH sobre la capacidad máxima de biosorción. La retención de Cu se favorece al aumentar el pH, así a pH 6 es de 60 mg/g y disminuye a 15 mg/g a pH 4. La fuerza iónica creciente conseguida por la adición de nitrato sódico disminuye la retención de Cu. Un modelo de adsorción competitiva reproduce los resultados de la competición Cu-Na (Beolchini et al., 2006).

2.5.2.2 Hongos

Los hongos como material residual de muchas fermentaciones industriales pueden ser baratos y con una buena capacidad de biosorción de metales pesados. Los utilizados a escala industrial suelen ser hongos microscópicos entre los que se puede distinguir a levaduras y mohos.

Las levaduras son unicelulares con dimensiones entre 2,5 a 10 μm de ancho y 4,5 a 21 μm de largo. Generalmente de forma esférica u ovalada, las más importantes comercialmente son las denominadas levaduras de panadería y de elaboración de bebidas fermentadas que pertenecen al género *Sacharomyces*.

Constan de pared celular, membrana citoplásmica, citoplasma e inclusiones, aparato de Golgi, vacuolas, citoesqueleto etc... No tienen flagelos, pero presentan la mayor parte de los orgánulos eucarióticos.

Por otra parte los mohos, hongos microscópicos, se caracterizan por ser filamentosos. Un filamento simple es denominado una hifa y el conjunto de hifas recibe el nombre de micelio, *Penicillium* y *Aspergillus* son ejemplos de este tipo de microorganismos.

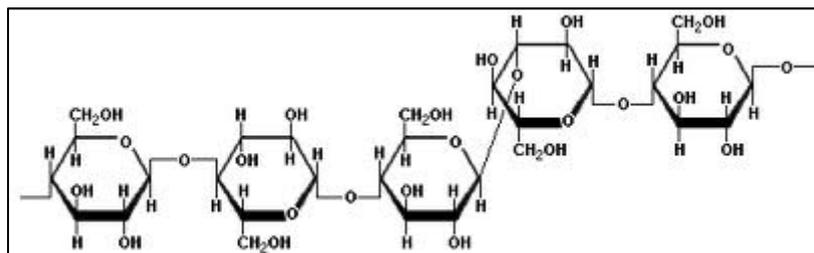
Como en otros microorganismos la pared celular da rigidez, soporte y forma a los hongos, si bien, la composición de la misma es muy diferente a la de las bacterias (organismos procariotas).

Está compuesta principalmente por:

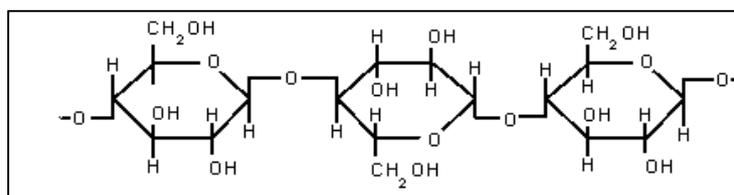
- Polisacáridos (80-90%)
- Proteínas
- Lípidos
- Polifosfatos
- Iones inorgánicos haciendo de unión

La quitina es un compuesto que comúnmente forma parte de la pared celular de los hongos. Es un polisacárido que contiene nitrógeno, consistente en unidades de N-acetilglucosamina.

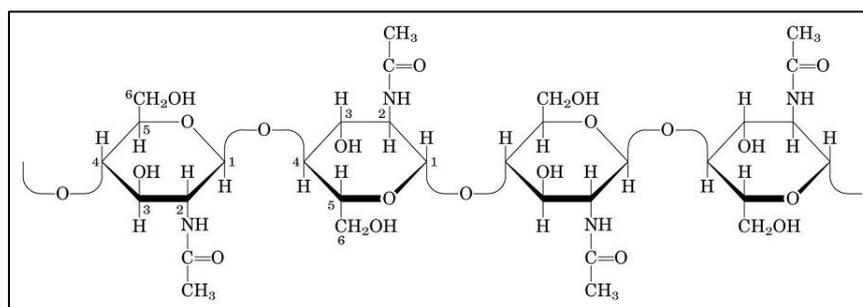
En la pared celular se observan generalmente dos capas, una delgada externa consistente en una mezcla de glucanos, mananos, galactanos y una interna más gruesa de tipo microfibrilar compuesta de celulosa y cadenas de quitina Figura 2.15. La membrana celular es una bicapa continua formada por lípidos que orientan su parte polar hacia el exterior y su parte hidrófoba hacia el interior de la misma.



β -glucano



Celulosa



Quitina

Figura 2.15 Compuestos químicos de la pared celular

<http://www.educa.madrid.org/>

La biomasa de levaduras se ha utilizado con éxito para la remoción de Ag, Au, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, U, Th y Zn de soluciones acuosas. Fundamentalmente se han utilizado levaduras de los géneros *Sacharomyces*, *Candida* y *Pichia*. *S. cerevisiae* puede retirar del medio metales tóxicos, metales preciosos y radionucleidos (Wang et al., 2006) (Wang et al., 2009).

En la Tabla 2.12 se recoge la capacidad de biosorción de diferentes metales pesados mediante la levadura *Sacharomyces cerevisiae* de diferentes procedencias.

Tabla 2.12. Biosorción de metales pesados mediante *Sacharomyces cerevisiae*

Metal	Forma del biosorbente	Capacidad de biosorción mg/g	Referencia
Pb	Células libres	79,2	(Al-Saraj et al., 1999)
Pb	Células inmovilizadas mediante una matriz sol-gel	41,9	(Al-Saraj et al., 1999)
Pb	De una destilería de whisky, liofilizada	189	(Bustard et al., 1998)
Pb	Cultivadas en laboratorio y secadas a 100°C	270,3	(Ozer et al., 2003)
Pb	Levadura de panadero tratada con etanol	17,5	(Goksungur et al., 2005)
Cu	Células libres	6,4	(Al-Saraj et al., 1999)
Cu	De una destilería de whisky, liofilizada	5,7	(Bustard et al., 1998)
Cu	Células inmovilizadas en sepiolita	4,7	(Bag et al., 1999)
Cu	De una industria de fermentación y secadas a 120°C	4,93	(Bakkaloglu et al., 1998)
Cd	Células libres	35,5-58,4	(Park et al., 2003)
Cd	Células inmovilizadas en sepiolita	10,9	(Bag et al., 1999)
Cd	Levadura de panadero tratada con etanol	15,6	(Goksungur et al., 2005)
Cr(VI)	Cultivadas en laboratorio y secadas a 30°C	5,5	(Rapoport et al., 1995)
Cr(VI)	Células de cervecería entrecruzadas con formaldehído	6,3	(Zhao et al., 1998)
Cr(VI)	Cultivadas en laboratorio y secadas a 100°C	32,6	(Ozer et al., 2003)

(Rodríguez et al., 2008) utilizan *Sacharomyces cerevisiae* levadura residual de una fábrica de elaboración de cerveza. Estudian la influencia de pH, concentración de iones, presencia de electrolitos, concentración y tratamiento de la biomasa sobre la biosorción de iones Pb, Cd y Cr(III). El % de recuperación de Pb es mayor que el de los otros iones metálicos. La disminución del pH y el aumento de la fuerza iónica del medio influyen negativamente en todos los casos. Utilizando también *Sacharomyces cerevisiae* residual (Cui et al., 2011) estudian la eliminación de Cr(VI) de una solución

acuosa. Casi el 60% del Cr inicial (100 mg/L) fue adsorbido o reducido en los 10 primeros minutos, a pH 2.

Los hongos del género *Penicillium* y *Aspergillus* son utilizados a escala industrial para la obtención de diversos ácidos orgánicos y enzimas extracelulares (Bapat et al., 2003).

En la Tabla 2.13 se indica la capacidad de adsorción de la biomasa no-viable de estos hongos frente a distintos metales pesados.

Tabla 2.13 Capacidad de biosorción de algunos hongos

Metal	Capacidad de biosorción, mg/g	Referencia
<i>Penicillium chrysogenum</i>		
Pb	116	(Niu et al., 1993)
Cd	56	(Holan et al., 1995)
Ni	82,5	(Su et al., 2006)
Cr(III)	18,6	(Tan et al., 2003)
<i>Aspergillus niger</i>		
Pb	93	(Spanelova et al., 2003)
Cd	1,31	(Kapoor et al., 1999)
Ni	19,6	(Dias et al., 2002)

El orden preferencial de biosorción es Pb>Ni>Cd en ambos hongos, si bien la capacidad es menor para *Aspergillus*.

(Park et al., 2005a) (Park et al., 2005b) utilizando *Aspergillus niger* proponen que el principal mecanismo de eliminación de Cr(VI) es una reacción de reducción y que la mayor parte del Cr en la biomasa está en forma de Cr(III), esta aportación fue de gran originalidad. Desde un punto de vista práctico *Aspergillus* tiene un gran potencial en la transformación de Cr(VI) tóxico en la forma no tóxica de Cr (III).

(Bai et al, 2003) comparan la eficiencia de biosorción de Cr(VI) y la estabilidad de la biomasa de *Rhizopus nigricans* inmovilizada en cinco diferentes matrices poliméricas y su estabilidad a los desorbentes. La capacidad de biosorción de la biomasa inmovilizada fue menor que la de la biomasa nativa. La biomasa inmovilizada en esferas utilizando polisulfona, puede ser regenerada y reutilizada en más de 25 ciclos con una eficiencia de regeneración del 75-78%.

2.5.2.3 Algas

La utilización de algas como biosorbentes para la remoción de metales pesados comenzó hace décadas y muchos grupos de investigación se dedican a estudiar el papel

en este proceso, de macroalgas y algas microscópicas (Jin et al., 1996) (Gin et al., 2002) (Ochie et al., 2008).

En muchas algas la pared celular está compuesta por una malla de fibras de celulosa, modificada por la adición de polisacáridos tales como pectina, xilanos, mananos y ácido algínico. Las Euglenoides carecen de pared celular. En las diatomeas la pared celular está compuesta de sílice a la cual se unen proteínas y polisacáridos.

La pared celular de las algas contiene poros de 3-5 nm de diámetro que permiten la entrada de compuestos de bajo peso molecular como agua, iones inorgánicos, gases y otras pequeñas moléculas, nutrientes para el crecimiento celular.

La pared celular es más compleja en las algas que en bacterias y hongos y en relación a la biosorción son de destacar las algas marrones (*Phaeophyta*), rojas (*Rodophyta*) y verdes (*Chlorophyta*).

En las algas marrones, las paredes celulares contienen celulosa que es el componente estructural; ácido algínico (polímero de los ácidos manurónico y gulurónico) y sus sales de sodio, potasio, magnesio y calcio; y polisacáridos sulfatados en forma de una matriz de fucoidano (Davis et al., 2003). La celulosa forma fibrillas que pueden organizarse en paralelo o al azar, el resto de los componentes de la pared celular se agrupan en una matriz externa amorfa.

Las algas rojas también contienen celulosa, pero su interés respecto a la biosorción estriba en la presencia de polisacáridos sulfatados, tales como agar y carragenato. La celulosa forma parte de una estructura rígida fibrilar más interna y agar y carragenato constituyen una matriz externa mucilaginosa.

La pared celular de las *Chlorophyta* es fundamentalmente celulosa y proteínas unidas a polisacáridos formando glucoproteínas. La celulosa se estructura también en forma de fibrillas y en las algas rojas y verdes aparecen otros componentes estructurales fibrilares tales como xilano y manano.

Solo un número limitado de algas se han ensayado en laboratorio para comprobar su utilidad como biosorbentes, tales como las verdes *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Cladophora*, *Chlamydomonas*, marrones *Sargassum*, *Fucus*, *Ascophyllum*, *Laminaria*, verde-azuladas *Microcystis*, *Oscillatoria*.

En la Tabla 2.14 se recogen las capacidades de adsorción de diversos metales pesados por algunas de ellas.

Tabla 2.14 Capacidad de biosorción de algas

Metal	Alga	Capacidad de biosorción, mg/g	Referencia
Al	<i>Laminaria japonica</i>	75,28	(Lee et al., 2004)
Au	<i>Chlorella vulgaris</i>	25,02	(Ting et al., 1995)
Co	<i>Ulva reticulata</i>	45,97	(Vijayaraghavan et al., 2005)
Cd	<i>Chlorella vulgaris</i>	12,48	(Sandau et al., 1996)
Cd	<i>Ecklonia máxima</i>	83,50	(Feng et al., 2004)
Cd	<i>Laminaria japonica</i>	125,89	(Lee et al., 2004)
Cr(III)	<i>Ascophyllum sp.</i>	129,99	(Kratochvil et al., 1998)
Cr(III)	<i>Sargassum sp.</i>	119,59	(Kratochvil et al., 1998)
Cr(VI)	<i>Chlorella miniata</i>	23,19	(Lau et al., 1999)
Cr(VI)	<i>Chlorella vulgaris</i>	190,62	(Mehta et al., 2001)
Cr(VI)	<i>Ecklonia máxima</i>	94,00	(Feng et al., 2004)
Cr(VI)	<i>Laminaria japonica</i>	101,03	(Lee et al., 2004)
Ni	<i>Chlorella miniata</i>	20,43	(Lau et al., 1999)
Ni	<i>Scenedesmus obliquus</i>	30,18	(Dönmenz et al., 1999)
Ni	<i>Ulva reticulata</i>	46,51	(Vijayaraghavan et al., 2005)
Pb	<i>Ecklonia radiata</i>	281,78	(Matheickal et al., 1996)
Pb	<i>Laminaria japonica</i>	349,09	(Lee et al., 2004)

Estas capacidades de biosorción varían considerablemente de especie a especie e incluso dentro de una misma especie también hay afinidades distintas por un mismo metal. Esta variabilidad en gran parte es achacada a la gran variedad morfológica y química de la pared celular.

En general, los iones metálicos con mayor electronegatividad y menor radio iónico son preferencialmente adsorbidos por las algas. Así Pb presenta los mayores valores de fijación a la biomasa y por el contrario Ni los menores. La mayor parte de los estudios con algas se han efectuado con algas marrones (Phaeophyta).

2.5.3 Mecanismos de la biosorción

Dada la complejidad de los materiales biosorbentes, en general, y de las paredes celulares de los materiales microbianos, en particular, son difíciles de esclarecer los mecanismos por los que la biosorción transcurre (Gadd, 2008).

Muchos grupos funcionales pueden interaccionar con las especies metálicas en diferente extensión y puede verse afectada esta interacción por diferentes factores físico-químicos.

La biosorción con material microbiano, definida como un proceso físico-químico independiente del metabolismo celular puede explicarse por mecanismos que involucran adsorción física, intercambio iónico, complejación/coordiación, microprecipitación y reducción (Ochie et al., 2008).

Previa a la interacción metal-biomasa habrán ocurrido las etapas físicas de transporte del metal desde el seno de la disolución acuosa a la superficie celular.

La adsorción física implica la existencia de débiles fuerzas de Van der Waals entre el sorbato y la superficie del sorbente. Desde un punto de vista termodinámico la adsorción física es espontánea y exotérmica. Si bien este mecanismo no suele desempeñar un papel muy importante en el proceso de biosorción, hay autores que justifican la adsorción como un proceso de interacción electrostática (Ochie et al., 2008)

El intercambio iónico es una reacción química reversible donde un ión en solución es reemplazado por un ión similarmente cargado unido a la partícula sólida (Han et al., 2006). En general este intercambio puede representarse por la ecuación [2.5]:



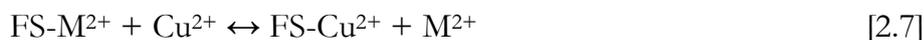
en la que HY representa los centros activos ácidos en la superficie del sólido, M^{x+} es el metal en solución y MY_x el metal adsorbido.

La constante de equilibrio del intercambio iónico puede expresarse por [2.6]

$$K = \frac{[H^+]^x [MY_x]}{[M^{x+}] [HY]^x} \quad [2.6]$$

(Romero et al., 2001) estudian la biosorción de Cd en una macroalga, aplicando técnicas de valoración potenciométrica ácido-base, de espectroscopía de IR, de desplazamiento con Ca y de esterificación. La adsorción se efectúa mediante intercambio iónico, siendo la constante de equilibrio de $0,329 \cdot 10^{-6}$.

La adsorción de Cu(II), Ni(II), Zn(II), Pb(II) y Cr(III) mediante *Penicillium chrysogenum* ocurre mediante intercambio iónico (Tan et al., 2003). La biosorción de Cu en *Fucus serratus* ocurre simultáneamente con la detección de iones Ca en el medio procedente de la biomasa. Este proceso es bien conocido y los autores proponen la ecuación [2.7] para explicar la reacción de intercambio:



La constante aparente de selectividad, ecuación [2.8]:

$$K^{\text{Cu}^{2+}/\text{M}^{2+}} = \frac{\text{FS-Cu}^{2+} [\text{M}^{2+}]}{\text{FS-M}^{2+} [\text{Cu}^{2+}]} \quad [2.8]$$

fue de $3,37 \pm 1,10$ y $3,88 \pm 1,43$ para calcio y magnesio. El valor ligeramente superior para el magnesio denota que es más fácil sustituir los iones Mg en la superficie de *Fucus serratus* por Cu que los iones Ca (Ahmady et al., 2008).

La biosorción de Zn por *Sacharomyces cerevisiae* fue acompañada por una liberación al medio de iones H^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , y Na^+ . La liberación de los cuatro últimos fue considerado una evidencia clara de que el intercambio iónico era el principal mecanismo implicado (Chen et al., 2008).

Los grupos funcionales carboxilo son los más abundantes en la pared celular de las algas y constituyen un porcentaje superior al 70 % de los centros valorables con capacidad ácido-base. Estos grupos, forman complejos bidentados con Cd en *Sargassum* y su papel en la biosorción se ha demostrado tras una parcial o completa esterificación de los mismos (Fourest et al, 1996).

(Raize et al., 2004) proponen la formación de complejos de Cd con grupos funcionales de la biomasa que contienen oxígeno, carbono, nitrógeno, y azufre como mecanismo de la biosorción, por la macroalga marina *Sargassum*. Algo similar observaron para el Pb, en este caso la formación de complejos ocurre de forma simultánea con intercambio iónico.

La quelación, puede definirse como un enlace entre un ión metálico con una molécula orgánica (ligando) para formar un estructura tipo anillo. Varios grupos funcionales de la pared de las algas tales como, carboxilo, hidroxilo, sulfato, fosfato, amidas y aminas pueden ser responsables de este mecanismo. Entre estos grupos los amino son muy efectivos ya que no solo forman quelatos con metales catiónicos sino que también adsorben especies metálicas aniónicas a través de interacciones electrostáticas con formación de puentes de hidrógeno.

La microprecipitación puede producirse como consecuencia de una interacción entre el metal y la pared celular generalmente tras la formación de un complejo e hidrólisis del mismo (Vegliò et al., 1997).

(Pagnanelli et al., 2000) desarrollan un modelo basado en las reacciones posibles entre los metales en solución y los centros activos de la biomasa de *Arthrobacter sp.* El modelo mecanicístico revela la complejidad del proceso y que éste varía en función del pH, así para la biosorción de Cu hasta pH 5 consideran la existencia de intercambio iónico y complejación. Por encima de 5 se debe considerar la precipitación o coprecipitación del metal en la pared celular (Pagnanelli et al., 2003).

El intervalo típico de energías de enlace para los mecanismos de intercambio iónico suelen estar entre 8-16 kJ/mol. (El-Naas et al., 2007) para la biosorción de Pb(II) en *Chlorella vulgaris*, obtienen un valor medio de la energía libre de 4,6 kJ/mol por lo que concluyen que este mecanismo no contribuye a la retirada de Pb del medio. La biosorción no solo depende de la presencia de centros activos, sino que intervienen etapas de complejación y nucleación en la pared celular. Modelando al sistema y considerando a las células como material no poroso, obtienen que tanto la transferencia de materia externa, del metal desde la disolución a la superficie, como la cinética intrínseca de adsorción tienen importancia.

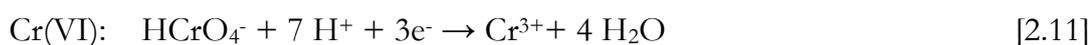
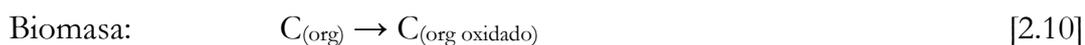
En la biosorción de uranio(VI) por *Cystoseira indica* pretratada con Ca el mecanismo principal es el intercambio iónico como lo demuestra la aparición de iones Ca en el medio conforme la biosorción progresa (Ghasemi et al., 2011).

(Kratochvil et al., 1998) para la biosorción de Cr(III) sobre *Sargassum*, en forma catiónica en disolución, proponen como mecanismo principal el intercambio iónico. Para la biosorción del Cr(VI) como HCrO_4^- a los pH usuales de operación, proponen un mecanismo combinado de intercambio iónico y reacciones redox:

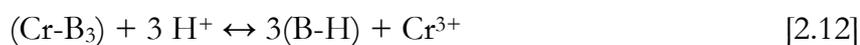
Intercambio aniónico



Reacciones redox



Intercambio catiónico



El mecanismo sugiere que el Cr(VI) puede adsorberse en la biomasa por intercambio iónico de acuerdo a la ecuación [2.9] y oxidar a componentes de la biomasa de acuerdo a [2.10]. Estas reacciones pueden proceder secuencialmente o en paralelo. El mecanismo puede extenderse para incluir otras especies de Cr(VI) tales como $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ y CrO_4^{2-} .

La biosorción de Cr(III) utilizando *Ecklonia sp.* es un proceso de intercambio catiónico entre los iones Cr^{3+} y/o CrOH^{2+} y los protones de los grupos carboxilo de la biomasa (Yun et al., 2001).

(Park et al., 2004) operando con disoluciones de Cr(VI) a 100 mg/L y biomasa de *Ecklonia sp.* encuentran que éste es totalmente reducido a Cr(III). La reducción es independiente de la concentración de Cr(III), lo que sugiere, que en las condiciones de sus experimentos la reacción redox es irreversible. El Cr(III) aparece en la solución pero también en la biomasa.

Durante la reducción del Cr(VI) algunos compuestos orgánicos de la biomasa fueron oxidados a HCO_3^- y CO_2 . Un análisis mediante espectroscopía de RX reveló que el Cr adsorbido en la biomasa estaba en forma de Cr(III) (Park et al., 2005a). Estos autores proponen dos mecanismos para la biosorción del Cr(VI) esquematizados en la Figura 2.16.

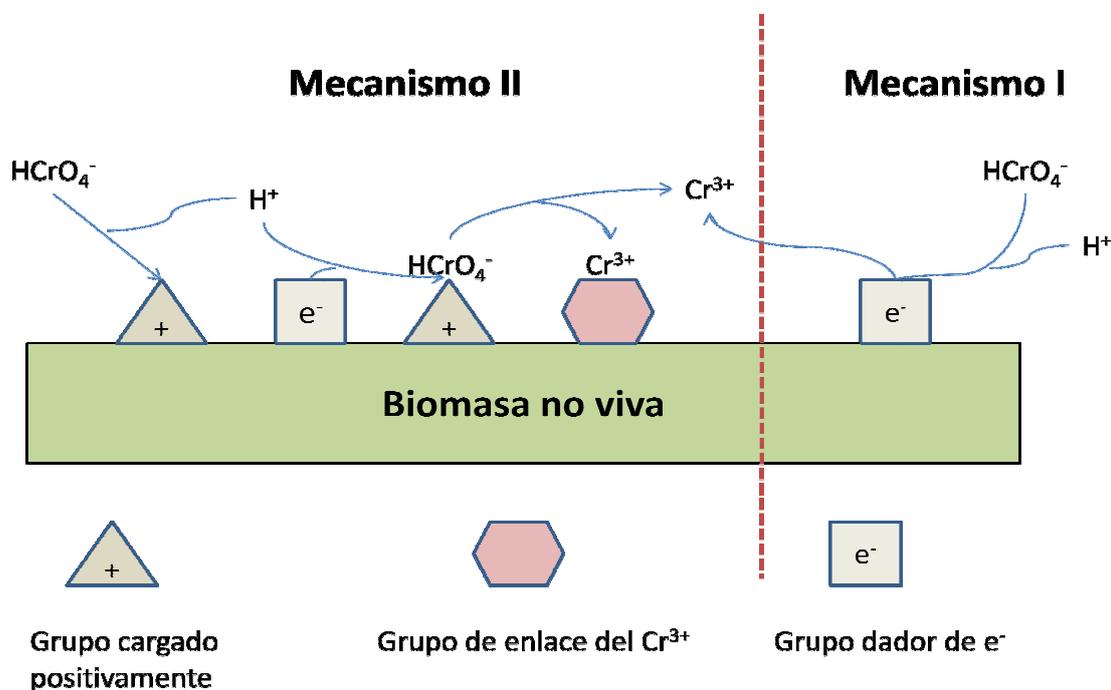


Figura 2.16 Mecanismos para la biosorción de Cr(VI)

El Mecanismo I o de reducción directa implica que el Cr(VI) es reducido a Cr(III) en la fase acuosa, por contacto con los grupos dadores de e^- de la biomasa.

El mecanismo II o de reducción indirecta consta de tres etapas:

1. Unión de los aniones de Cr(VI) a los grupos positivamente cargados de la biomasa.
2. Reducción del Cr(VI) a Cr(III) por grupos dadores de e⁻ adyacentes.
3. Liberación de iones Cr(III) en la solución acuosa debido a la repulsión electrónica entre los grupos positivamente cargados y Cr³⁺. Simultáneamente también puede ocurrir la complejación del Cr(III) con grupos adyacentes capaces de enlazar a este ión.

Que la reacción proceda por uno u otro mecanismo dependerá de las características del sistema de biosorción; pH, temperatura, especies en la biomasa y concentraciones de biomasa y Cr(VI) respectivamente (Park et al., 2005b) (Park et al., 2005c) (Park et al., 2005d).

Llama la atención la cantidad de trabajos publicados sobre la biosorción de Cr(VI) en distintos materiales biológicos publicados antes y después de 2005 que no tienen en cuenta la reducción del Cr(VI). En estos trabajos se evalúa el éxito de la operación en base a la desaparición de Cr(VI) del medio líquido sin tener en cuenta la aparición de Cr(III) en el mismo (Dönmez et al., 1999) (Gupta et al., 2001) (Bai et al., 2003) (Gokhale et al., 2008).

En 2006 (Park et al., 2006) escribieron una carta al editor de la revista Journal of Hazardous Materials poniendo en evidencia la incorrección de los mecanismos que no tenían en cuenta la reducción del Cr(VI).

La complejación superficial fue el principal proceso en la biosorción de Cr(III) por *Chlorella miniata*. Las técnicas instrumentales de microscopía electrónica de barrido y transmisión (SEM y TEM) así como la de RX (EDX) junto con experimentos de desorción lo confirman, siendo el grupo carboxilo el que desempeña el papel más importante (Han et al., 2006). Estos autores para la biosorción de Cr(VI) por la misma microalga proponen dos mecanismos similares a los de Park y desarrollan dos modelos cinéticos que denominan biosorción-reducción y bio-reducción directa (Han et al., 2007)

(El Sikaily et al., 2007) analizan las etapas de transferencia de materia externa e interna del metal, el peso relativo de ambas varía con la concentración de sorbato. A bajas concentraciones el proceso está controlado por la difusión a través de la película líquida y a altas por la difusión intrapartícula.

Un mecanismo similar al de Park es propuesto por (Yang et al., 2008) para la biosorción de Cr(VI) en *Sargassum*. Si bien estos autores proponen los grupos funcionales involucrados. Un esquema del mecanismo se indica en la Figura 2.17.

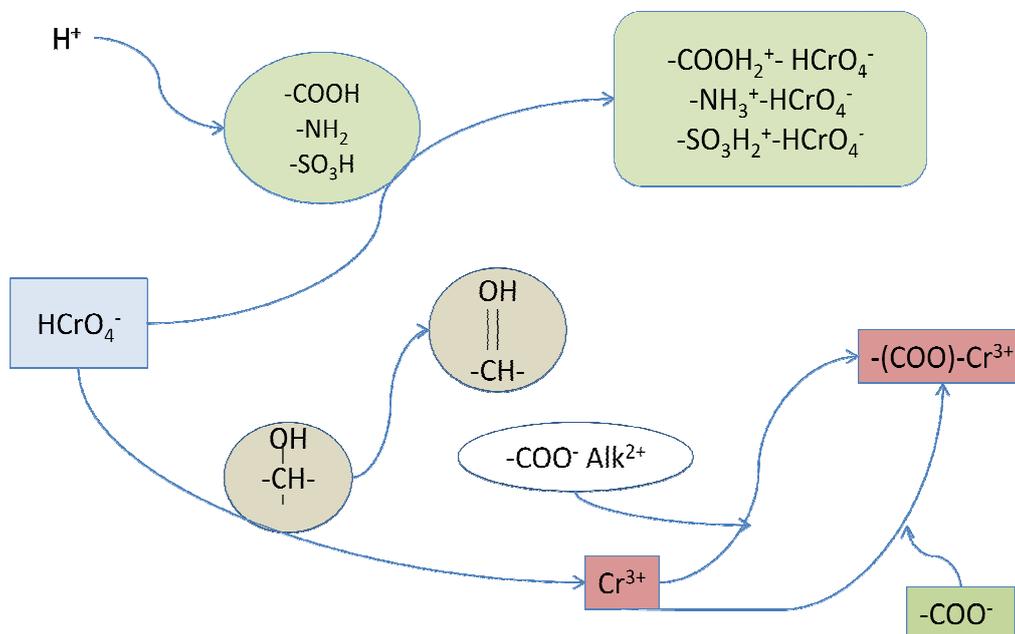


Figura 2.17 Proceso de biosorción de Cr(VI) por *Sargassum*

Los aniones de Cr(VI) pueden formar complejos superficiales con los grupos funcionales protonados de los biosorbentes tales como $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, y $-\text{SO}_3\text{H}$. Aniones de Cr(VI) pueden oxidar a grupos alcohol secundario siendo reducido el metal a Cr(III). Los cationes de Cr(III) producidos pueden quedar en la biomasa mediante intercambio iónico con metales alcalinos, ALK en la Figura 2.17. Además los grupos carboxilo de la biomasa pueden formar complejos con Cr(III) mediante reacciones de coordinación.

Los trabajos más recientes sobre biosorción, no aportan ninguna novedad con respecto a los mecanismos y es práctica general aceptar los propuestos por Park. Si bien (Zheng et al., 2011) mediante espectroscopía fotoelectrónica de RX (XPS) y espectroscopía de absorción de RX (XAFS) elucidan la última etapa del mecanismo. El Cr^{3+} queda retenido en la biomasa formando un complejo metálico con estructura de octaedro, estos iones son coordinados con átomos de oxígeno procedentes de grupos funcionales carboxilo e hidroxilo. Los números de coordinación del complejo formado son 4-6 y la longitud de enlace Cr-O de 1,98 Å.

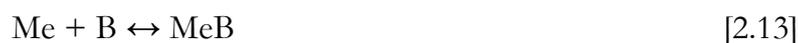
2.6 MODELOS MATEMÁTICOS PARA LA BIOSORCIÓN

2.6.1 Modelos de equilibrio

El análisis del equilibrio de biosorción proporciona información físico-química para evaluar la aplicabilidad del proceso como operación unitaria (Davis et al., 2003).

Para ello es preciso cuantificar la capacidad de una biomasa dada, en retirar metales pesados de la solución acuosa que los contiene. El proceso es comunmente evaluado midiendo la cantidad de metal que permanece en solución una vez que se comprueba es invariable en el tiempo (Volesky, 2003).

La reacción de adsorción puede representarse por :



Me representa el metal en disolución y B los centros activos en la superficie de la biomasa.

La isoterma de Langmuir se obtuvo originalmente estudiando la adsorción de gases sobre C activo (Langmuir, 1918):

$$q_e = \frac{q_{\max} b C_e}{1 + b C_e} \quad [2.14]$$

q_e y q_{\max} representan la cantidad de metal adsorbido en el equilibrio y la capacidad de adsorción máxima del sorbente, este último parámetro indica también el número total de centros de enlace por unidad de peso. Ambas normalmente expresadas en mmol/g o mg/g. C_e , la concentración de metal en solución, una vez alcanzado el equilibrio. El parámetro b es una medida de la afinidad para la biosorción y está relacionado con la constante de equilibrio de la ecuación [2.13] (Crist et al., 1988).

El modelo de Langmuir se usa para estimar la capacidad de biosorción de los adsorbentes y se basa en considerar que la superficie es homogénea, se efectúa en monocapa y sin interacción entre las moléculas adsorbidas. Además el modelo asume energías de adsorción uniformes y que no ocurre la transmigración del sorbato.

La isoterma de Freundlich, (1907)

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad [2.15]$$

es expresada mediante la ecuación [2.15], K_F es la constante de Freundlich relacionada con la capacidad de biosorción de la biomasa y n , indicador de la intensidad de adsorción, caracteriza la heterogeneidad del sistema siendo normalmente mayor que la unidad y tanto mayor cuanto mayor sea la heterogeneidad del mismo.

La ecuación [2.15] si bien originalmente empírica, puede describir la adsorción en multicapa y no asume la saturación del biosorbente. Los centros activos más afines por el metal son ocupados primero y la intensidad de la adsorción decrece con el incremento de la ocupación de los mismos.

Ambas ecuaciones son usadas por muchos autores para ajustar sus resultados de biosorción utilizando biomasa de algas (Karticioglu et al., 2008) (Gupta et al., 2008) (Bayramoglu et al., 2009) (Celekli et al., 2011).

El modelo de Langmuir-Freundlich o de Sips (Sips, 1948)

$$q_e = \frac{q_{\max} b C_e^{1/n}}{1 + b C_e^{1/n}} \quad [2.16]$$

considera que la superficie del sorbente es homogénea y la biosorción es un proceso cooperativo debido a la interacción entre las moléculas de sorbato. (Liu et al., 2008) en su trabajo “Biosorption isotherms, kinetics and thermodynamics”, recogen la deducción de la ecuación [2.16] a partir del equilibrio de adsorción o de consideraciones termodinámicas. Este modelo se reduce al de Langmuir para valores de $n=1$ y al de Freundlich si $b C_e^{1/n} \ll 1$. Es el que mejor reproduce la biosorción de Pb(II) por *Chlorella vulgaris* (El Naas et al., 2007).

En la Tabla 2.15 se recogen otras isothermas de adsorción de dos y tres parámetros (Wang et al., 2009) (Basha et al., 2007).

Tabla 2.15 Isotermas de adsorción

Isotermas	Ecuación	Referencia
BET	$q_e = \frac{B Q C_e}{(C_s - C_e) \left[1 + (B - 1) \frac{C_e}{C_s} \right]}$ <p style="text-align: center;">[2.17]</p>	(Brunauer et al., 1938)
Redlich-Peterson	$q_e = \frac{K_{RP} C_e}{1 + \alpha C_e^\beta}$ <p style="text-align: center;">[2.18]</p>	(Redlich et al., 1959)
Radke-Prausnitz	$q_e = \frac{a r C_e^p}{a + r C^{p-1}}$ <p style="text-align: center;">[2.19]</p>	(Radke et al., 1972)
Koble-Corrigan	$q_e = \frac{A C_e^n}{1 + B C_e^n}$ <p style="text-align: center;">[2.20]</p>	(Koble et al., 1952)
Toth	$q_e = \frac{q_{\max} b_T C_e}{[1 + (b_T C_e)^{1/n}]^n}$ <p style="text-align: center;">[2.21]</p>	(Toth, 1972)

La isoterma de Brunauer-Emmett-Teller (BET) es una extensión del modelo de Langmuir, y supone biosorción en multicapa. Se considera que la ecuación de Langmuir es aplicable a cada capa y una dada, puede no estar completamente formada y ya estarse formando la siguiente.

C_s es la concentración de saturación del soluto. B es una constante relacionada con la energía de interacción con la interfase y Q es la cantidad de soluto adsorbido por unidad de peso de adsorbente, para formar una monocapa completa en la superficie.

El modelo de Redlich-Peterson es similar al de Sips. El parámetro β puede variar entre 0 y 1. Si $\beta=1$ el modelo se reduce al de Langmuir y si $\alpha C_e^\beta < 1$, puede aproximarse a la isoterma de Freundlich. (El Sikaily et al., 2007) utilizan esta isoterma, entre otras, para ajustar sus resultados de biosorción de Cr(VI) por el alga *Ulva lactuca*.

La isoterma de Radke-Prausnitz puede reorganizarse dividiendo por r e introduciendo $K=a/r$.

$$q_e = \frac{a C_e^p}{K + C^{p-1}}$$

Si $K \gg C^{p-1}$ la ecuación [2.22] se reduce a la de Freundlich y en el caso contrario [2.22] puede simplificarse a :

$$q_e = a C_e \quad [2.23]$$

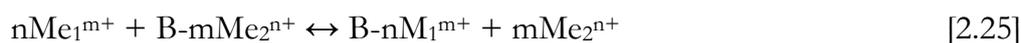
Modelos de 3 parámetros son también los de Koble-Corrigan y Toth. El primero se reduce también a Langmuir y Freundlich y el segundo asume una distribución de energía asimétrica cuasi-gaussiana. La mayor parte de los centros de sorción tienen energías menores que el valor medio. Si $n=1$ esta isoterma se reduce a la de Langmuir .

Los modelos de intercambio iónico son una buena representación del proceso de biosorción ya que en mucha biomasa microbiana, protonada o que contiene iones metálicos ligeros, este mecanismo ha sido comprobado (Mehta et al., 2005).

La biosorción puede en este caso representarse por ej. :



o por



Estos modelos, mecanicísticos, consideran que los centros activos a los que los iones metálicos, procedentes de la disolución, van a unirse están inicialmente ocupados (Pagnanelli et al., 2002) (Volesky, 2003).

Para la reacción [2.25] la constante de equilibrio está representada por (Volesky, 2003):

$$K_{M_1M_2} = \frac{q_{M_1}^n C_{eM_2}^m}{q_{M_2}^m C_{eM_1}^n} \quad [2.26]$$

y considerando la reacción de intercambio iónico puede obtenerse:

$$q_{M_1} = \frac{Q}{1 + \frac{C_{eM_2}}{K_{M_1M_2} C_{eM_1}}} \quad y \quad q_{M_2} = \frac{Q}{1 + \frac{C_{eM_1}}{K_{M_1M_2} C_{eM_2}}} \quad [2.27]$$

donde m y n son las valencias de Me_1 y Me_2 , Q representa la concentración total de centros activos, q_{M_1} y q_{M_2} los contenidos de Me_1 y Me_2 en la biomasa y C_{eM_1} y C_{eM_2} las concentraciones de ambos metales en solución, una vez alcanzado el equilibrio. Una ventaja del modelo es que si la biomasa está pre-protonada, y el intercambio se produce entre Me_1 y H^+ , la concentración de protones y por tanto el pH aparecen en la isoterma (Gin et al., 2002).

Estos modelos de intercambio reproducen la mayor parte de los resultados obtenidos en biosorción de metales, pero no incluyen en su formulación factores tales, como concentración de biomasa, fuerza iónica etc. (Han et al., 2006) proponen un

modelo para la adsorción de Cr(III) por *Chlorella miniata* que considera simultáneamente intercambio iónico con protones y complejación superficial.

Hay ecuaciones para representar el equilibrio, mucho más complejas, que incorporan la concentración del ión metálico, pH, fuerza iónica e incluso el deterioro de la biomasa. Una de ellas es el modelo de dos centros, grupos carboxil y sulfato presentes en la biomasa y que considera la unión de un catión metálico y de protones a la misma (Schiewer, 1999). El elevado número de parámetros de estos modelos los hacen en muchas ocasiones impracticables. (Pagnanelli et al., 2003) proponen una isoterma que representa el efecto de la concentración de protones, insertando en el modelo de Langmuir una función empírica que relaciona q_{max} con pH.

(Beolchini et al., 2006) tras observaciones experimentales y por analogía con las reacciones enzimáticas, proponen la influencia de la fuerza iónica como la de un inhibidor competitivo en la biosorción del metal.

Cuando varios iones metálicos están presentes en la fase acuosa, puede existir competición entre ellos por los centros activos y la formulación de los modelos de equilibrio suele ser más compleja. Si bien, se utilizan ecuaciones basadas en las isotermas básicas.

Así el modelo de Langmuir no-modificado se formula (Al-Asheh et al., 1998):

$$q_{e,i} = \frac{q_{max,i} b_i C_{e,i}}{1 + \sum_{i=1}^N b_i C_{e,i}} \quad [2.28]$$

donde $q_{max,i}$ y b_i se derivan de las correspondientes isotermas individuales.

El modelo de Langmuir modificado (Chong et al., 1996):

$$q_{e,i} = \frac{q_{max,i} b_i \frac{C_{e,i}}{\mu_i}}{1 + \sum_{i=1}^N b_i \frac{C_{e,i}}{\mu_i}} \quad [2.29]$$

donde μ_i es un factor de corrección, estimado a partir de los datos de adsorción competitiva. Si μ_i se aproxima a 1 la ecuación [2.29] se reduce a [2.28] y la adsorción es no competitiva, si $\mu_i < 1$ existe competición entre los diferentes sorbatos (Aksu et al., 2000) (Aksu et al., 2001).

2.6.2 Modelos cinéticos

Los modelos cinéticos, para la biosorción, proporcionan información sobre el comportamiento dinámico del sistema y son imprescindibles, tanto para el diseño de los equipos, donde se lleva a cabo el proceso, como para el control de los mismos.

Como en todo sistema heterogéneo en el que se ponen en contacto una fase líquida y un sólido, aparecen etapas físicas de transferencia de materia junto a la adsorción superficial, que como se ha considerado en el apartado 2.5.3 de esta Memoria puede ser de naturaleza física y/o química.

Los modelos que tienen en cuenta las diferentes etapas, se basan en el desarrollado por (Yagi et al, 1955) para las reacciones gas-sólido no catalizadas y consideran las siguientes:

- Transferencia de materia externa, de los iones metálicos desde el seno de la fase líquida hasta la superficie externa del sorbente.
- Transferencia de materia interna o difusión del sorbato por el interior de la partícula sólida, si ésta es porosa.
- Adsorción de los iones metálicos en los centros activos del sólido.

La biosorción en discontinuo, suele efectuarse en reactores tipo tanque agitado. Dado que la resistencia a la transferencia de materia externa disminuye aumentando la agitación, y que se suele considerar la biomasa microbiana como partículas no porosas, pocos autores consideran todas las etapas en la formulación de los modelos cinéticos (Volesky, 2003).

(Mao et al., 1993) desarrollan un modelo para la adsorción de proteínas sobre partículas porosas y no porosas, con el objeto de determinar la importancia relativa de las diferentes etapas. El modelo se aplicó a la biosorción de Cu por *Chlorella vulgaris* asumiendo la biomasa algal como partículas no porosas (Haskin et al., 2001). Estos autores utilizan la teoría de la película para describir la transferencia de materia externa y la reacción la consideran como reversible de 2º orden. Concluyen que no hay una sola etapa limitante y que la dos contribuyen casi por igual en el proceso de biosorción. (El Naas et al., 2007) utilizando la misma microalga determinan que la transferencia de materia externa, es la etapa dominante a bajas concentraciones de Pb(II), mientras que la cinética intrínseca domina a altas concentraciones.

Utilizando residuos vegetales como paja de arroz, cáscara de coco o raíces de jacinto, (Singha et al., 2011) analizan las diferentes etapas en la biosorción de Cr(VI). El proceso global fue controlado por las dos etapas de transferencia de materia, externa e interna conjuntamente. El coeficiente de difusión efectiva fue del orden de 10^{-10} m²/s para todos los biosorbentes utilizados.

(Weber et al., 1963) desarrollan el modelo de difusión intrapartícula, considerando la doble naturaleza de la difusión, en la película y en los poros. En cualquier caso, la cantidad de metal adsorbido a un tiempo t, debe ser directamente proporcional a la raíz cuadrada del tiempo de contacto. [2.30]

$$q_t = k_{id} t^{0,5} \quad [2.30]$$

Si bien este modelo se aplicó originalmente a partículas porosas de carbón activo, se ha aplicado también a muchos biosorbentes. Se han calculado los coeficientes de difusión intrapartícula para tratar de aclarar el proceso.

Los modelos cinéticos más utilizados son aquellos que consideran la etapa de adsorción, la limitante del proceso. Son muchos los existentes que en sus versiones integradas toman las formas siguientes:

Modelo de Lagergren o de pseudo-primero orden:

$$q_t = q_e(1 - \exp(-k_1 t)) \quad [2.31]$$

donde q_t y q_e son las capacidades de adsorción de la biomasa a un tiempo t y en el equilibrio y k_1 la constante cinética de adsorción. Los resultados experimentales de (Travieso et al., 2002) para la biosorción de Co utilizando *Scenedesmus obliquus* se ajustan a este modelo proporcionando valores teóricos que se desvían en menos del 7 %.

Modelo de pseudo-segundo orden:

$$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + q_e k_2 t} \quad [2.32]$$

Ambos modelos están basados en la capacidad de sorción del sólido, considerando el modelo de Lagergren a la fuerza impulsora de tipo lineal.

Los resultados de (Bayramoglu et al., 2009) con *Scenedesmus quadricauda*, inmovilizado en alginato, y adsorbiendo individualmente Cu(II), Zn(II) y Ni(II) se ajustan mejor al modelo de pseudo-segundo orden. Lo mismo ocurre para Pb(II) mediante especies de *Spirogyra*, Cr(VI) mediante *Chamydomonas reinhardtii*, Cu(II), Ni(II) y Cr(III) mediante *Spirulina sp.*, Cr(III) mediante *Spirogyra condensata* y *Rhizoclonium hieroglyphicum* (Gupta et al., 2008) (Anca et al., 2005) (Doshi et al., 2007) (Onyanha et al., 2008).

En el trabajo revisión de (Liu et al., 2008) “Biosorption isotherms, kinetics and thermodynamics” se recogen las aproximaciones de diferentes autores, para justificar, utilizando reacciones de intercambio iónico, los modelos de pseudo-primero y pseudo-segundo orden.

Otro modelo cinético, es el que considera la biosorción como una reacción reversible de primer orden en ambos sentidos. Este modelo está basado en las concentraciones de sorbato, en el medio líquido y en el sólido. Para esta última se

utiliza una concentración aparente por unidad de volumen de suspensión en vez de por unidad de peso de sorbente.

$$\frac{C_A - C_{Ae}}{C_{A0} - C_{Ae}} = e^{-(k_1 + k_{-1})t} \quad [2.33]$$

C_{A0} , C_A y C_{Ae} representan las concentraciones de sorbato, inicial, a cada tiempo y en el equilibrio. Las constantes cinéticas k_1 y k_{-1} corresponden a la reacción directa e indirecta respectivamente.

Basado en la suposición de que la velocidad de adsorción solo depende de la fracción de centros activos disponibles a cada tiempo, (Ritchie, 1977) propuso una ecuación cinética inicialmente desarrollada para la adsorción de gases en sólidos.

$$\frac{q_e}{q_e - q_t} = \frac{1}{q_e} + k_2 t \quad [2.34]$$

El modelo de Elovich incorpora α , velocidad inicial de adsorción y β constante de desorción relacionada con la extensión de la cobertura superficial y la energía de activación para la quimisorción.

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln t \quad [2.35]$$

Este modelo ajusta, con valores de r^2 superiores a 0,977 y errores standard menores de 0,844, los resultados de adsorción de Cr(VI) mediante la macroalga *Cystoseira indica* (Basha et al., 2007)

Para la biosorción de Cr(VI), (Park et al., 2005b)(Park et al., 2005d) (Park et al., 2008b) deducen una ecuación cinética basada en el mecanismo por ellos propuesto. La etapa principal en la eliminación de Cr(VI) por biomasa microbiana, es la reducción del mismo a Cr(III):



Considerando la reacción, irreversible, de primer orden en el sorbato y de primer orden en el compuesto orgánico reductor obtienen la ecuación:

$$[\text{Cr(VI)}] = \frac{C_{OC}^* [B] [\text{Cr(VI)}]_o - [\text{Cr(VI)}]_o^2}{C_{OC}^* [B] \exp(k(C_{OC}^* [B] - [\text{Cr(VI)}]_o)t) - [\text{Cr(VI)}]_o} \quad [2.37]$$

donde $C_{OC}^*[B]$ indica la concentración inicial del compuesto reductor presente en la biomasa, $[\text{Cr(VI)}]_o$ y $[\text{Cr(VI)}]$ las concentraciones de cromo hexavalente al comienzo y a cada tiempo t durante el transcurso de la biosorción y k la constante cinética de 2º orden (Saha et al., 2010) (Lesmana et al., 2009) (Liu et al., 2008).

2.7 INMOVILIZACIÓN DE BIOSORBENTES

Las desventajas del uso de biomasa microbiana en un proceso de biosorción, incluyen su tamaño de partícula tan pequeño, su baja resistencia mecánica y la dificultad para separarla del efluente (Tsezos, 1988).

El pequeño tamaño de partícula determina que se requieren unas presiones hidrostáticas excesivamente altas para que la fase fluida con los iones metálicos circule, a una velocidad razonable, en reactores de lecho de relleno o de lecho expandido (Wang et al., 2009).

La inmovilización de la biomasa en estructuras sólidas evita estos problemas, ya que se prepara un biosorbente (biomasa microbiana+matriz) con el tamaño adecuado, la fortaleza mecánica, la rigidez y la porosidad necesaria para su uso con fines prácticos.

La inmovilización es un término general que describe muchas formas de unión celular o de atrapamiento. Se usan diferentes técnicas tales como floculación, adsorción, enlace covalente al portador, entrecruzamiento, encapsulación en gel, atrapamiento en una matriz polimérica (Mehta et al., 2005) (Bashan et al., 2010).

En general se distinguen dos tipos de estrategias de inmovilización la activa y la pasiva. En la activa, es preciso disponer de la biomasa deseada, bien por cultivo, bien residual etc. antes de su atrapamiento, en una matriz que es preciso elaborar. En los métodos pasivos se dispone de la matriz y son las células microbianas las que la colonizan. Evidentemente este segundo método es utilizado para biomasa viva, si bien ésta puede ser inactivada tras la colonización del soporte (Bashan et al., 2010).

Se han utilizado un gran número de compuestos químicos, para la elaboración de las matrices de inmovilización, entre las que se incluyen alginato sódico o cálcico, polisulfona, poliacrilamida, sílice etc. para la inmovilización activa Figura 2.18. La biomasa microbiana junto con la matriz, se dispone en forma de esferas, gránulos o pellets. Para la pasiva se utiliza espuma de poliuretano, partículas de arcilla, esferas de vidrio u otras matrices inertes (Al-Hakawati et al., 2000) (Aktar et al., 2003) (Basha et al., 2007) .

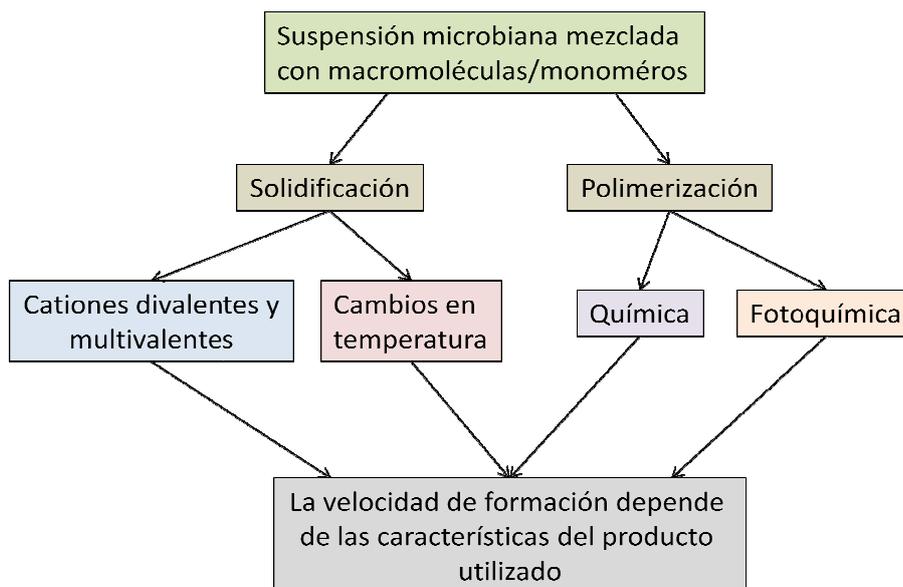


Figura 2.18 Uso de polímeros como matriz para la inmovilización

En términos generales, muchos métodos de inmovilización comparten el protocolo de elaboración indicado en la Figura 2.18, independientemente del polímero utilizado. La suspensión microbiana se mezcla con una macromolécula o los monómeros de un polímero. La mezcla solidifica para producir un gel polimérico.

La matriz de inmovilización y forma de preparación determinan la fortaleza mecánica y química final de la partícula del nuevo biosorbente Figura 2.19. Este es de desear que sea reutilizable, luego debe soportar repetidos ciclos biosorción-desorción.

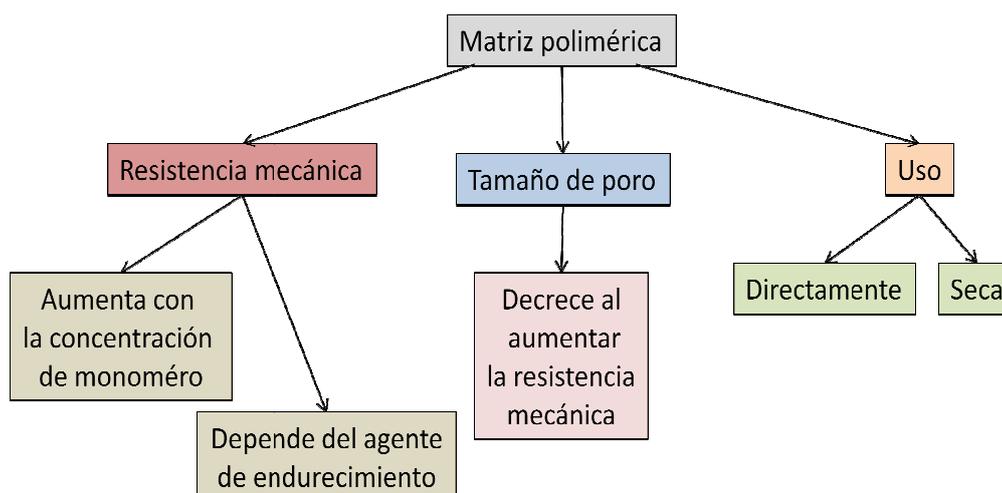


Figura 2.19 Características de la matriz de inmovilización

La explotación biotecnológica del proceso de biosorción, para la recuperación de metales pesados, depende de la eficiencia en la desorción del metal y regeneración del biosorbente para su uso en repetidos ciclos adsorción–desorción.

Es deseable el uso de desorbentes no destructivos, baratos, eficientes y que no originen problemas medioambientales. La eficiencia de la desorción es expresada por la relación S/L sólido-líquido. El sólido representa la cantidad de sólido biosorbente expresado en peso seco y el líquido la cantidad de eluyente utilizado. Lo deseable es la utilización de altas relaciones. Como agentes en la desorción se utilizan ácidos minerales débiles, EDTA, carbonatos, bicarbonatos, hidróxido amónico, sódico etc.

(Travieso et al., 2002) utilizan un método pasivo de inmovilización. *Secenedesmus obliquus* coloniza la superficie de un tambor rotatorio cubierto de una banda de espuma de poliuretano de 0,5 mm de espesor (BIOALGA). El alga crece en un agua residual sintética y una vez colonizada la matriz se utiliza para la biosorción de Co. La velocidad de giro del tambor es 2 rpm y se alcanza una eliminación del 94,5 % en 10 días. (Akhtar et al., 2008) utilizan *Chlorella sorokiniana* inmovilizada en pequeñas porciones de esponja loofa, una vez colonizada liofilizan el conjunto que es utilizado con posterioridad para la biosorción de Cr(III).

El hongo *Rhizopus nigricans* es inmovilizado en 5 diferentes matrices poliméricas alginato cálcico, alcohol polivinílico, poliacrilamida, poliisopreno y polisulfona para analizar sus capacidades de adsorción y su estabilidad a diferentes ciclos adsorción-desorción. El Cr(VI) puede ser eluido con 0,01 N NaOH. La biomasa inmovilizada en esferas de polisulfona puede reutilizarse durante más de 25 ciclos y la eficiencia de regeneración fue de 75-78 % (Bai et al., 2003) (Anca et al., 2005) utilizan como matriz para la inmovilización del hongo *Lentinus sajor-caju*, carboximetilcelulosa.

Las condiciones en la preparación de las esferas tales como temperatura y concentración de polisulfona influyen sobre las características de esta matriz, fundamentalmente sobre tamaño y distribución de poros. (Beolchini et al., 2003) inmovilizan *Spherotilus natans* para la biosorción de Cu(II) y desarrollan un modelo cinético basado en el del núcleo decreciente para las reacciones no catalizadas sólido-líquido.

(Chen et al., 2007) inmovilizan *Escherichia coli* recombinante utilizando la técnica del sol-gel para la biosorción de Cd(II). Los geles de sílice se preparan a partir de la hidrólisis de un precursor, alcoxido de silicio, bajo condiciones ácidas y la formación del gel se induce por la adición de una base. Los geles inicialmente son blandos y tienen un gran contenido en agua, el envejecimiento de los mismos origina una condensación y endurecimiento. La estructura del gel sintetizado recuerda a un material cerámico. Los autores no observan pérdida de capacidad del biosorbente tras cinco ciclos de

operación. Tanto la transferencia de materia externa como la interna afectan a la biosorción.

Las características de un criogel, elaborado a partir de alcohol polivinílico, para usarlo como matriz para la inmovilización de algas marinas, fueron estudiadas por (Sheng et al., 2008). Las esferas del nuevo biosorbente mostraron menor capacidad para la retirada de Cu(II) del medio líquido que la biomasa de *Sargassum* libremente suspendida.

El alginato cálcico utilizado para la inmovilización de *Oscillatoria* es capaz de adsorber Cd(II) del medio. (Karticioglu et al., 2008) comparan la biosorción de la biomasa viva y no viva y encuentran que la capacidad de sorción de la primera es mayor. Muchos investigadores utilizan el alginato debido a su biodegradabilidad, su carácter hidrofílico, presencia de grupos carboxílicos y origen natural (Bayramoglu et al., 2009).

En el estudio de la biosorción de Cr(VI) por *Spirulina platensis* inmovilizada en alginato cálcico, (Gokhale et al., 2009) como paso previo, optimizan la formación de esferas del biosorbente. Analizan la influencia del tamaño de esfera, concentración de alginato y carga de biomasa a utilizar.

(Shen et al., 2008) estudian la biosorción de Pb(II) y Cr(VI) por *Synechococcus sp.* inmovilizado en alginato cálcico. El modelo de Freundlich ajusta los resultados de adsorción de Cr(VI). La reducción del Cr(VI) ocurre después de que se ha adsorbido electrostáticamente sobre la superficie del biosorbente. (Kathiravan et al., 2010) interpretan sus resultados de biosorción de Cr(VI), por *Bacillus sp.*, inmovilizado en alginato cálcico, en base a un modelo que tiene en cuenta la transferencia de materia externa y la reducción en superficie del Cr(VI). El modelo testado es útil para el diseño de un reactor industrial. La presencia de nanotubos de carbono en una matriz mezcla de alginato cálcico y alcohol polivinílico aumentó la reducción de Cr(VI) por *Pseudomonas aeruginosa* (Pang et al., 2011).

(Akar et al., 2009) como agente de inmovilización utilizan gel de sílice generado decreciendo el pH de una solución de un silicato alcalino. *Phaseolus vulgaris* inmovilizado mostró una alta capacidad de sorción de Ni(II) 98,01 mg/g y el equilibrio se estableció en un tiempo muy corto, 5 min. La aplicabilidad del sistema se confirmó utilizando un reactor de lecho de relleno.

2.8 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN REALIZADA

Esta Tesis Doctoral constituye el primer trabajo de una línea de investigación del grupo “Cultivo de Microalgas” que tiene como objetivo general utilizar la biomasa de microalgas como biosorbente de Cr(VI).

Este Trabajo ha sido coordinado y dirigido por miembros de tres grupos de investigación diferentes :

« Cultivo de Microalgas RNM-168 » con sede en el Departamento de Ingeniería Química, de la Facultad de Ciencias , de la Universidad de Granada.

« Chimie de l’Eau et Pollution Atmosphérique ER-CEPA » del Departamento de Química, en la Facultad de Ciencias de la Universidad Abdelmalek Essaâdi de Tetuán-Marruecos.

« Bioprocesos TEP-138» perteneciente al Departamento de Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales, en la Facultad de Ciencias Experimentales de la Universidad de Jaén.

Los estudios de viabilidad económica de cultivos masivos de algas indican que los sistemas de interés son aquéllos con la mayor integración posible, en los que se consiguen varios objetivos en un único cultivo. En este sentido, son de interés los sistemas basados en la obtención de biocombustibles a partir de microalgas de agua dulce.

Dado el tipo de producto a obtener, no es necesaria la utilización de los denominados medios limpios, por lo que es de interés el uso de nutrientes de tipo residual, tanto contenidos en medios acuosos, como en efluentes gaseosos, constituyéndose así, un sistema integrado de depuración y obtención de compuestos energéticos.

La biomasa extraída, es susceptible de aprovechamiento como biosorbente, para la recuperación de metales pesados de medios líquidos que los contienen.

Este trabajo se enmarca en el proyecto de investigación “Tratamiento terciario de aguas residuales, eliminación de dióxido de carbono y producción de compuestos energéticos utilizando microalgas”. Ministerio de Ciencia e Innovación (2009/2012) CTM2009-11613.

Dentro de los objetivos particulares se encuentran:

- Caracterización del crecimiento de las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii* en aguas residuales urbanas en relación a los medios sintéticos. El crecimiento masivo en las aguas residuales proporciona el material biosorbente de partida.

- Acondicionamiento de las biomasa, tratamiento de extracción de la fracción lipídica para obtener los cuatro biosorbentes utilizados, biomasa nativa y extraídas denominadas SOCL, SOSL, BBCL y BBSL.
- Caracterización del material biosorbente. Para ello se han utilizado diferentes técnicas, tales como las titulaciones potenciométricas ácido-base y redox, análisis de IR, que tratan de identificar no solo los centros activos responsables de la interacción con el metal y de la retención del mismo, sino también de aquéllos que puedan ser responsables de su reducción en las condiciones experimentales utilizadas. Espectros XPS, e imágenes FIB-FESEM.
- Caracterización de la composición elemental de la biomasa, contenido lipídico y perfil en ácidos grasos de los biosorbentes.
- Estudio de la biosorción/bioreducción de Cr(VI) en un medio acuoso sintético, en discontinuo. Con el objeto de analizar la influencia sobre el proceso de las variables más importantes, tales como pH, tiempo de biosorción, concentración de metal, concentración de biomasa, fuerza iónica y temperatura.
- Ensayo de diferentes modelos matemáticos de equilibrio y cinéticos con el objeto de interpretar los resultados y de proporcionar modelos válidos, tanto para la simulación, como para el diseño de un proceso de biosorción.
- Estudio de la biosorción, tras encapsulación de la biomasa en esferas de polisulfona. Efectos de la encapsulación sobre el equilibrio y cinética del proceso. Influencia del tamaño de las esferas utilizadas. Visualización de las esferas mediante imágenes SEM.
- Estudio de ciclos adsorción-desorción con esferas de distinto tamaño. Análisis de la recuperación del Cr y de la influencia del tamaño de la esfera.
- Los resultados de este primer trabajo deben servir de punto de partida para profundizar en el estudio de eliminación de metales pesados de efluentes industriales mediante una biomasa residual.
-

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MICROALGAS

Se han utilizado las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii*. Figura 3.1. *Scenedesmus obliquus* identificada como CCAP 276/3A suministrada por “Culture Centre for Algae and Protozoa” Oban (Reino Unido).

Botryococcus braunii facilitada por el Dr. Pierre Metzger (Laboratoire de Chimie Bioorganique et Organique Physique) de la École Nationale Supérieure de Chimie, Paris (Francia). Esta microalga se aisló a partir de una muestra de agua del lago Lingoult en la región de Morvan y fue identificada como perteneciente a la raza A (Metzger et al., 1985).

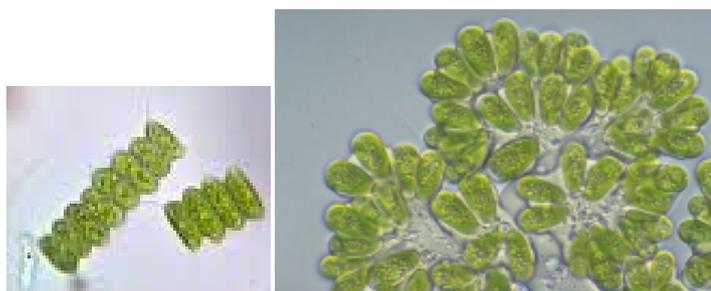


Figura 3.1 Microalgas utilizadas

3.2 MATERIAL UTILIZADO

3.2.1 Reactivos químicos

- Acetona, CH_3COCH_3 , QP, Panreac.
- Ácido cítrico, $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$, PA-ACS-ISO, Panreac.
- Ácido clorhídrico 35%, HCl , PRS, Panreac.
- Ácido L(+) ascórbico, $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, PA-ACS, Panreac.
- Ácido orto-fosfórico 85%, H_3PO_4 , QP, Quimon.
- Acido sulfúrico 96%, H_2SO_4 , PA, Panreac.
- Agar-agar, PRS, Panreac.
- Azida sódica, NaN_3 , PA, Panreac.
- Cloruro cálcico, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, PA-ACS, Panreac.
- Cloruro sódico, NaCl , PA, Panreac.
- Cloruro de manganeso, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, PRS, Merck.
- Dicromato potásico, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, PRS, Panreac.
- 1,5- Difenilcarbazida, $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$, PA, Panreac.
- EDTA, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, PA, Panreac.
- Fosfato dihidrógeno sódico, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck.
- Fosfato monohidrógeno sódico, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, Merck.

- Ftalato ácido de potasio, $C_6H_4COOHCOOK$, PA, Panreac.
- Hidróxido amónico 30%, NH_4OH , PRS, Panreac.
- Hidróxido sódico, $NaOH$, PA-ACS-ISO, Panreac.
- Metanol, CH_3OH , HPLC, Panreac
- Molibdato amónico, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, Panreac.
- Molibdato sódico, $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$, PA, Merck.
- N,N-Dimetilformamida, $(CH_3)_2NCHO$, Panreac.
- Naranja de metilo, Probus.
- Nitrato de cromo, $Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$.
- Nitrato sódico, $NaNO_3$, PRS, Panreac.
- Nitrato potásico anhidro, KNO_3 , Merck.
- Permanganato potásico, $KMnO_4$, Probus.
- Resina de polisulfona, pellets, Acrös.
- Salicilato sódico, $C_7H_5NaO_3$, PRS, Panreac.
- Sulfato amónico ferroso, $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$, PRS, Panreac.
- Sulfato de cobre, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, QP, Probus.
- Sulfato ferroso, $FeSO_4 \cdot 5H_2O$, PA, Panreac.
- Sulfato de magnesio, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, QP, Probus.
- Tartrato antimonil-potásico, $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2H_2O$, PA, Panreac.
- Tartrato sódico-potásico, $NaK(COO)_2(CHOH)_2 \cdot 4H_2O$, PA, Panreac.
- Triclorometano estabilizado con etanol, $CHCl_3$, Panreac.

3.2.2 Otros materiales y equipos

- Agitador de tubos de ensayo, HEIDOLPH, Reax 2000.
- Agitadores magnéticos, VELP SCIENTIFICA, Age.
- Analizador elemental, FISON'S CARLO ERBA 1108 CHNS
- Autoclave, SELECTA, Autester G.
- Balanza de precisión, COBOS, AY220
- Baño termostático con circulación, SELECTA, Ultraterm.
- Bomba peristáltica, GILSON, minipuls 3.
- Cabina de flujo laminar, CRUMA, 370FL.
- Centrífuga termostataada digital, SELECTA, Medifriger.
- Compresor de aire RENA, 301.
- Espectrofotómetro de infrarrojo, PERKIN ELMER, Spectrum 65 FT-IR.
- Espectrofotómetro UV-Visible, UNICAM, Helios α .
- Espectrómetro XPS, KRATAS AXIS, Ultra-DLD.

- Estufa de secado y esterilización, RAYPA.
- Filtros esterilizantes, MILLIPORE, Millex-FG50.
- Lámparas fluorescentes circulares, PHILIPS, TLE 40W/54.
- Lámparas fluorescentes longitudinales, OSRAM, L40W/10
- Micropipetas automáticas, NICHIPET.
- Microscopio electrónico de barrido, AURIGA CARL ZEISS, SMT.
- Microscopio óptico, SWITF.
- pH-metro, CRISON, micropH 2000.
- Radiómetro BIOSPHERICAL INSTRUMENTS, QSL 2100.
- Reactor B BRAUN, Biostat®
- Reactores encamisados de vidrio, AFORA.
- Tamices, FILTRA.
- Unidad refrigeradora, SELECTA.

3.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Los experimentos realizados en este trabajo son de distinto tipo:

- Experimentos de crecimiento de las microalgas seleccionadas, en medio sintético y en agua residual urbana, para comparación de las mismas, realizados en Granada. La obtención repetitiva de biomasa a efectos de obtención de material biosorbente se ha realizado en Tetuán y Jaén.
- Experimentos de caracterización de las biomásas como material biosorbente.
- Experimentos de biosorción en discontinuo con las biomásas secas formando aglomerados de tamaño $<100 \mu\text{m}$.
- Experimentos de biosorción en discontinuo con biomasa encapsulada.

A continuación se describen las instalaciones y procedimiento operatorio utilizado.

3.4 INSTALACIONES EXPERIMENTALES DE CULTIVO

La biomasa algal se ha obtenido en tres instalaciones experimentales distintas:

- Una instalación de cultivo discontinuo con reactores tipo tanque agitado, del Grupo de Investigación RNM 168 “Cultivo de microalgas” existente en el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Granada.
- Una instalación de cultivo discontinuo con reactores tipo tanque agitado, del Departamento de Química, en la Facultad de Ciencias de la Universidad

Abdelmalek Essaâdi de Tetuán-Marruecos, (Grupo de investigación “Chimie de l’Eau et Pollution Atmosphérique ER-CEPA”).

- Una instalación de cultivo discontinuo con un reactor tipo air-lift en el Departamento de Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales, (Grupo de investigación “Bioprocesos TEP-138”) en la Facultad de Ciencias Experimentales de la Universidad de Jaén.

Los reactores tipo tanque se han utilizado para el cultivo de *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii*. Para la obtención repetitiva de *Botryococcus braunii* se ha utilizado un reactor tipo air-lift. Todas las instalaciones van situadas en dependencias internas de los laboratorios, lo que facilita el control de los cultivos.

3.4.1 Instalación con fotobio-reactores tipo tanque agitado

Los reactores están situados en una instalación que permite el suministro de aire, agua de termostatación, luz y agitación Figura 3.2.

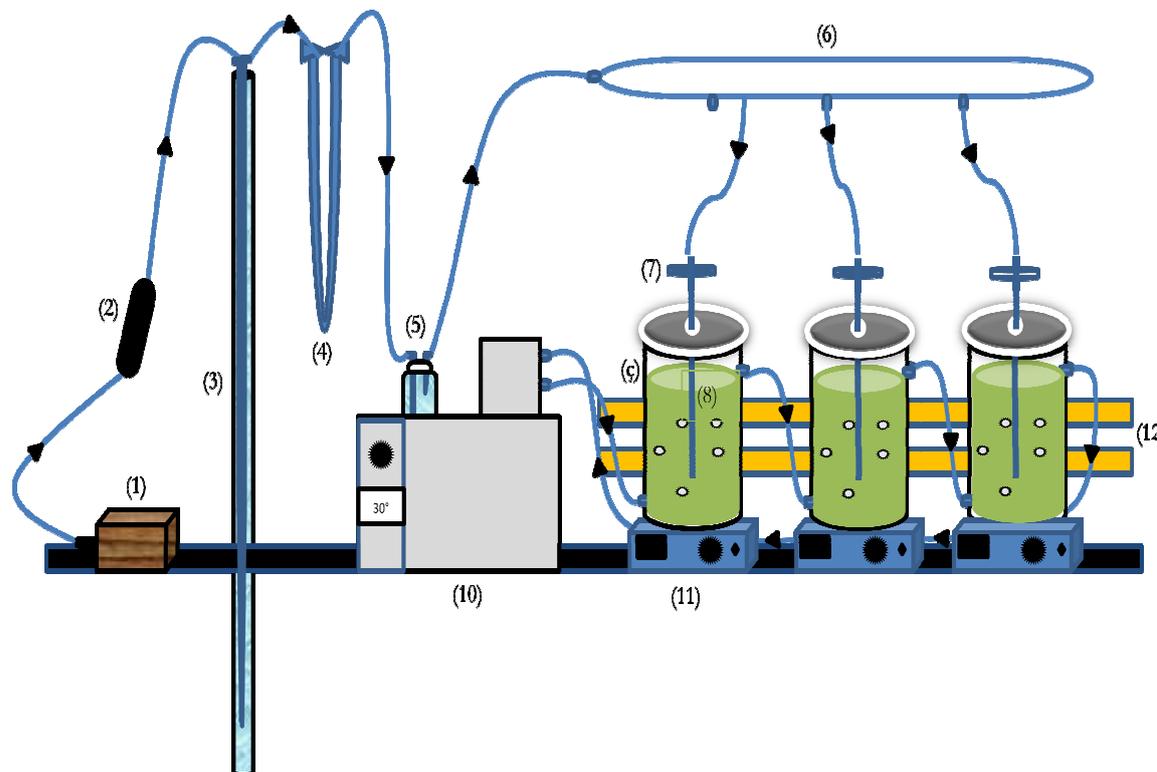


Figura 3.2 Instalación de cultivo discontinuo con fotobio-reactores tipo tanque agitado



Figura 3.3 Reactor de la instalación de cultivo anterior

Los componentes de la instalación de cultivo y su funcionamiento se detallan en los siguientes apartados.

3.4.1.1 Suministro de aire

El compresor -1- con regulador de caudal, introduce el aire procedente de la dependencia de cultivo, en la instalación. El aire en su circulación hasta los reactores pasa por las siguientes unidades:

- Un filtro -2- conteniendo algodón hidrófobo para eliminar las impurezas en suspensión.
- Una columna estabilizadora -3- que contiene agua y que posibilita conocer la presión de salida del aire y la pérdida de carga que origina la instalación.
- Un diafragma de vidrio -4- conectado a un manómetro diferencial que permite medir el caudal volumétrico.
- Un humidificador -5- que contiene agua a la misma temperatura que el medio de cultivo en los reactores, minimiza la pérdida de agua en los mismos.
- Un distribuidor del aire – 6- divide la corriente gaseosa en 3 partes.
- El aire es esterilizado a continuación mediante un filtro -7- de 0,2 μm de tamaño de poro.
- El burbujeador -8- introduce el aire en cada reactor.

El caudal de aire suministrado a cada reactor ha sido de 500 ml/min equivalente a una velocidad específica de aireación de 1 v/v/min.

3.4.1.2 Reactores

Los fotobio-reactores -9- utilizados tipo tanque agitado, son de forma cilíndrica de 500 ml de capacidad útil y disponen de camisa de termostatación por la que circula agua acondicionada a 25°C.

Las dimensiones de los reactores Tabla 3.1 son:

Tabla 3.1 Dimensiones de los tanques agitados

Cilindro	Diámetro, D_i	Altura, H_i
Interno	7 cm	20 cm
Externo	10 cm	21,5 cm

Los 500 ml de medio de cultivo utilizado alcanzan una altura h_i de 13 cm. Los reactores van provistos de una tapa de vidrio, con una entrada y salida para el aire. Como burbujeador -8- se ha utilizado un tubo de vidrio de 0,5 cm de diámetro interno, con solo un orificio situado a 2,3 cm del fondo del reactor y a 1,5 cm sobre el agitador.

3.4.1.3 Circuito de termostatación

El agua de termostatación es impulsada desde un baño termo-regulado de circulación -10- donde se acondiciona a la temperatura de cultivo seleccionada de 25°C.

En algunas ocasiones era imprescindible el enfriamiento del agua del baño mediante una unidad refrigeradora.

3.4.1.4 Agitación

Cada reactor va situado sobre un agitador magnético -11- funcionando de forma continuada. El imán utilizado ha sido de 3,9 cm de longitud d_i y 0,8 cm de ancho.

La agitación magnética, a 250 rpm, sumada a la proporcionada por el burbujeo del aire, evita la sedimentación y la flotación de las células. Los cultivos estaban perfectamente mezclados de forma que las muestras eran representativas del contenido del reactor.

3.4.1.5 Iluminación

Dos lámparas fluorescentes -12-, luz día, en ciclos de 12 h luz/12 h oscuridad suministran la iluminación necesaria para el cultivo.

Se utilizó un controlador de tiempo para mantener la duración de los ciclos luz/oscuridad y un radiómetro para la medida de la intensidad de iluminación que fue de $304 \mu\text{Einstein}/\text{m}^2\text{s}$.

3.4.2 Instalación con un fotobio-reactor tipo air-lift

El fotobio-reactor tipo air-lift utilizado se esquematiza en la Figura 3.4. El reactor Braun, mod. Biostat[®] MD, está formado por una unidad de control -1- de las variables de operación, una unidad central -2- y un vaso tipo Air-lift -3- con una capacidad útil de 5 L.

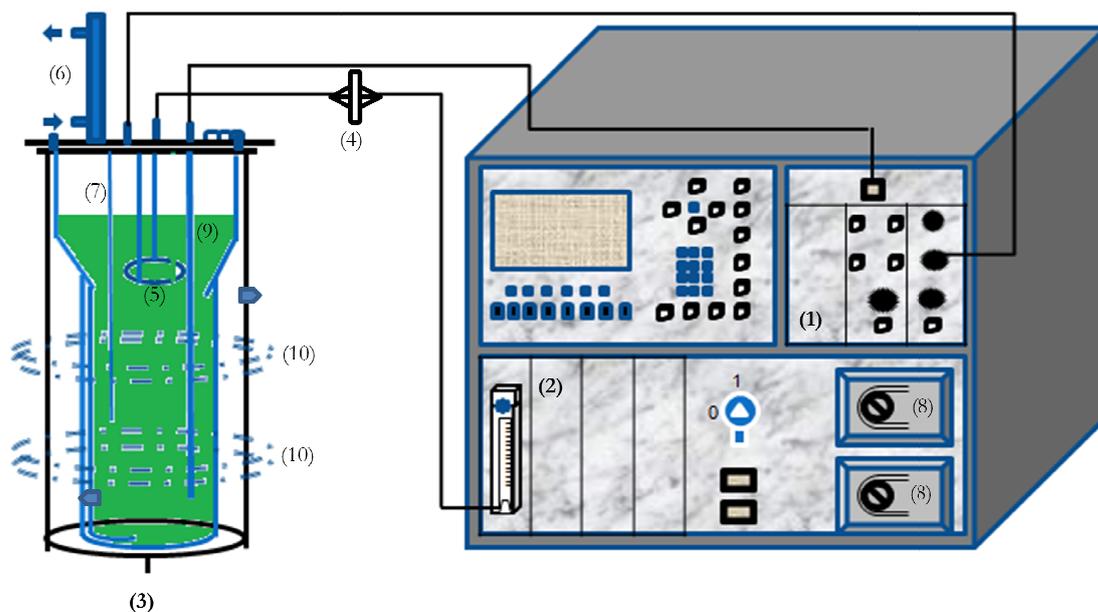


Figura 3.4 Fotobio-reactor tipo air-lift

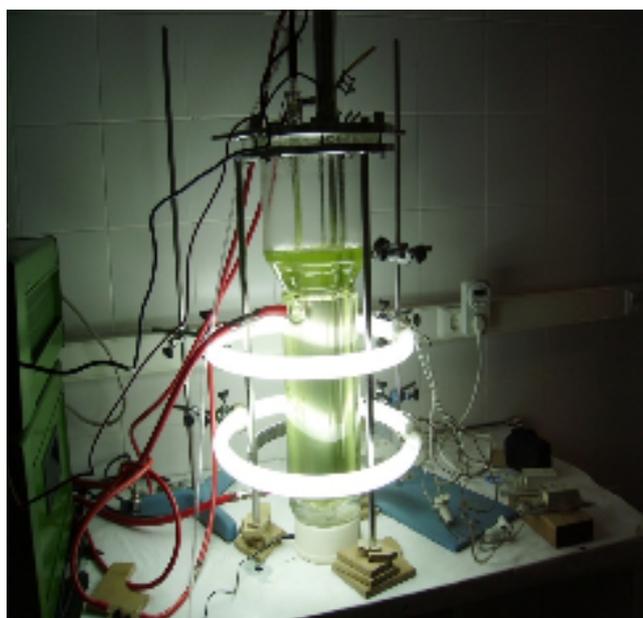


Figura 3.5 Vista del reactor air-lift

En el vaso de cultivo la agitación viene determinada por el propio funcionamiento del reactor. El aire suministrado asciende por el interior de un cilindro metálico que se encuentra situado en el centro. La disminución de densidad que origina la aireación provoca una corriente ascendente de la fase líquida por el mismo cilindro metálico. La desgasificación espontánea que se produce en la parte superior del reactor, origina un aumento de densidad de la fase líquida, que provoca una corriente descendente por la parte exterior del mencionado cilindro.

El suministro de aire se realiza mediante la unidad central, haciéndolo pasar a través de un filtro estéril -4- de 0,2 μm de tamaño de poro para su esterilización y se distribuye mediante un burbujeador -5- circular.

La salida del aire del reactor ocurre por el interior de un intercambiador de calor -6- que simultáneamente se utiliza para la circulación del agua de termostatación.

El agua de termostatación circula por el interior de la camisa del reactor. La temperatura es medida mediante un sensor esterilizable -7- y controlada por la unidad central. El agua procede de un baño termostático con circulación.

La unidad central dispone también de dos bombas peristálticas -8- para ácido y base con las que se puede regular el pH que es medido continuamente por un electrodo de pH -9-, esterilizable que va conectado a la unidad de control.

Para la iluminación se han utilizado dos lámparas circulares -10- de 35 cm de diámetro. La inferior va situada a una altura de 15 cm sobre la base del reactor y separada de la superior a una misma distancia de 15 cm. El contenido del reactor solo se ilumina cuando circula en flujo descendente por el cilindro externo de vidrio y circula en oscuridad en flujo ascendente por el interior del cilindro metálico.

3.5 PROCEDIMIENTO OPERATORIO

3.5.1 Conservación de las microalgas

El mantenimiento de *Scenedesmus obliquus* se realiza en medio de cultivo RL solidificado con agar al 2% en peso, en tubos de vidrio de 100 ml de capacidad.

En cada tubo se introduce una disolución de agar en 25 ml de medio de cultivo a pH 7, obtenida calentando hasta comienzos de ebullición. Los tubos se cierran con un tapón de algodón hidrófobo y se esterilizan en autoclave durante 20 minutos a 121°C.

La solidificación se realiza por enfriamiento hasta temperatura ambiente y en posición inclinada para aumentar la superficie de inoculación. Los tubos así preparados se dejan secar durante varios días y a continuación se inoculan las algas con asa de platino y

flameo constante en cabina de flujo laminar. Se ha utilizado la técnica de inoculación en zig-zag.

Estos tubos se mantienen a temperatura ambiente y bajo iluminación artificial continua, tipo luz-día, y constituyen el stock de *Scenedesmus*.

Botryococcus braunii se mantiene en medio líquido utilizando matraces Erlenmeyer de 100 ml de capacidad, esterilizados en autoclave, en los que se introduce medio RL esterilizado por filtración. Se utilizan portafiltros de policarbonato con prefiltros de lana de vidrio y membranas de acetato de celulosa, con un tamaño de poro de 0,2 μm , previamente esterilizados. Los matraces inoculados permanecen a temperatura ambiente y bajo iluminación artificial continua.

Para mantener la viabilidad de las células se realizan periódicas transferencias a nuevos tubos y a nuevos matraces en ambos casos.

3.5.2 Medios de cultivo

Como medio de mantenimiento, se ha utilizado el medio mineral RL (Rodríguez-López, 1964), rutinariamente utilizado en el laboratorio para todas las microalgas.

Este medio se prepara a partir de 6 disoluciones madres y su composición en macro y micronutrientes se recoge en la Tabla 3.2

Tabla 3.2 Medio de cultivo RL

Macronutrientes	Concentración, g/L
KNO ₃	1,011
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0,163
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	7,8· 10 ⁻³
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,247
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,015
F _e SO ₄ ·7H ₂ O	7,0· 10 ⁻³
Na ₂ H ₂ C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₈ ·2H ₂ O	9,3· 10 ⁻³
Micronutrientes	Concentración, mg/L
Mn	0,055
Zn	0,070
Cu	0,064
B	0,011
Mo	7,0·10 ⁻³

Como medio sintético de cultivo a efectos de comparación del crecimiento de ambas algas se ha seleccionado el medio CHU-13*4 (Banerjee et al., 2002) 4 veces concentrado, preparado a partir de disoluciones madres. La Tabla 3.3 recoge la composición final de dicho medio.

Tabla 3.3 Medio de cultivo CHU-13*4

Macronutrientes	Concentración, g/L
KNO ₃	0,20
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,04
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,10
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,05
FeC ₆ H ₅ O ₇ ·3H ₂ O	0,01
C ₆ H ₈ O ₇ ·H ₂ O	0,10
Micronutrientes	Concentración, mg/L
Mn	0,50
Cu	0,02
Co	0,02
B	0,50
Mo	0,02

Las aguas residuales utilizadas han sido aguas residuales urbanas de la ciudad de Tetuán, ARUT, procedente del tratamiento no convencional del centro experimental de las nuevas tecnologías del agua TAMUDA-Tetuán para *Scenedesmus* y agua residual urbana ARUJ, procedente del tratamiento secundario de la EDAR de la ciudad de Linares (Jaén), proporcionada por la empresa “Aguas Jaén, S.A.” para *Botryococcus*. En la Tabla 3.4 se recogen las composiciones medias de ambas aguas.

Tabla 3.4 Composición media de las aguas residuales

Parámetros	ARUT	ARUJ
pH	8,5	7,6
Conductividad (20°C), μS/cm	1465	978
Sólidos totales, mg/L	718	647
DQO, mg O ₂ /L	340	50
DBO ₅ , mg O ₂ /L	64	16
N-NH ₄ ⁺	68	15
N-NO ₃ ⁻	23	15
N- NO ₂ ⁻	0,05	0,3
P-PO ₄ ³⁻	1,35	11,5
SO ₄ ²⁻	4,5	92

3.5.3 Precultivos, inoculación y comienzo del cultivo

Antes del comienzo de los cultivos propiamente dichos, se realiza una etapa de precultivo, con el objeto de disponer de un inóculo apropiado.

Para *Scenedesmus* este precultivo se realiza en medio sólido. Para ello se inoculan en condiciones estériles, 15 tubos que se mantienen durante 4 días a temperatura ambiente e iluminación continua.

Transcurridos los 4 días señalados, se suspenden las células en agua desionizada estéril, recogiénolas mediante asa de platino. A continuación se determinan la concentración de la suspensión de células y el volumen a adicionar de inóculo a cada reactor.

Los inóculos de *Botryococcus* se preparan directamente en los reactores, para ello se centrifuga una suspensión de células en mantenimiento, y se inoculan 100 ml de medio de cultivo, dejando crecer el precultivo durante 7 días a 25 °C e iluminado continuamente.

Transcurridos los 7 días, la suspensión anterior es utilizada como inóculo, añadiendo sobre la misma 400 ml de medio de cultivo y dando comienzo el cultivo propiamente dicho.

Los medios de cultivo se esterilizan por filtración. El material de vidrio se esteriliza en autoclave, las operaciones de inoculación se hacen en cabina de flujo laminar. Los reactores inoculados se sitúan en la instalación de cultivo ajustando temperatura, caudal de aire, iluminación y conectando la agitación magnética.

Inmediatamente que se inoculan los reactores, se toma la primera muestra.

3.5.4 Medida del caudal de aire

La medida del caudal de aire se realizó mediante la utilización de un diafragma de vidrio acoplado a un manómetro diferencial multiplicador de dos líquidos, agua y alcohol amílico coloreado con yodo.

El diafragma se calibró previamente midiendo las diferencias de altura manométrica, Δh , que originaban el paso de caudales conocidos de aire, Q . Para el calibrado se conectó un medidor de burbuja en serie con la instalación.

Mediante regresión lineal de los resultados se obtuvo:

$$\log Q = 1,698 + 0,703 \log \Delta h \quad [3.1]$$

En la ecuación [3.1] Q y Δh deben expresarse en ml/min y mm respectivamente. El coeficiente de regresión r^2 fue de 0,996.

3.5.5 Medida de la intensidad de iluminación

La intensidad inicial de iluminación se ha medido en el interior de los reactores vacíos. Se ha utilizado un radiómetro con un colector óptico de teflón de 1,9 cm de diámetro. Este sensor, Figura 3.6, permite la medida exacta de la radiación

fotosintéticamente activa (PAR) tanto en inmersión como en aire. El radiómetro se utiliza conectado a un ordenador en el que mediante el software apropiado, permite la lectura directa de la intensidad de iluminación en $\mu\text{Einstein}/\text{cm}^2/\text{s}$.



Figura 3.6 Sensor para la medida de la iluminación

3.6 PARÁMETROS DE MEDIDA DEL CRECIMIENTO CELULAR

La medida de la concentración celular en los cultivos se ha realizado utilizando dos parámetros relacionados entre sí, la absorbancia de la suspensión de células y el peso seco celular.

3.6.1 Absorbancia de la suspensión de células

Las absorbancias se han determinado a la longitud de onda, λ , de 600 nm para *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii*. Esta λ se ha seleccionado tras la realización del espectro de absorción de una suspensión de células de ambas microalgas, siendo 600 nm la longitud de onda en que la absorbancia era menor.

Cuando la concentración celular es tal que se supera la absorbancia de 0,4 se procede a la dilución más apropiada, para evitar el incumplimiento de la Ley de Lambert-Beer. Tanto para las diluciones como para el blanco se utilizaba el medio de cultivo correspondiente.

3.6.2 Peso seco celular

El peso seco expresado en g de biomasa seca por litro de suspensión se relaciona con la absorbancia de la suspensión mediante una recta de calibrado.

Ambas rectas, ecuaciones [3.2] y [3.3] se obtuvieron midiendo las absorbancias de suspensiones de volumen conocido, en las que el peso seco se determinó por medio de centrifugación, lavado y desecación a 105°C hasta pesada constante.

Para *Scenedesmus obliquus*

$$C = 0,341 \cdot A_{600} + 2,08 \cdot 10^{-3} \quad r^2 = 0,992 \quad [3.2]$$

Para *Botryococcus braunii*

$$C = 480,3 \cdot A_{600} - 0,32 \quad r^2 = 0,999 \quad [3.3]$$

En la Figura 3.7 se indica una de las rectas de calibrado obtenida para *Scenedesmus obliquus*.

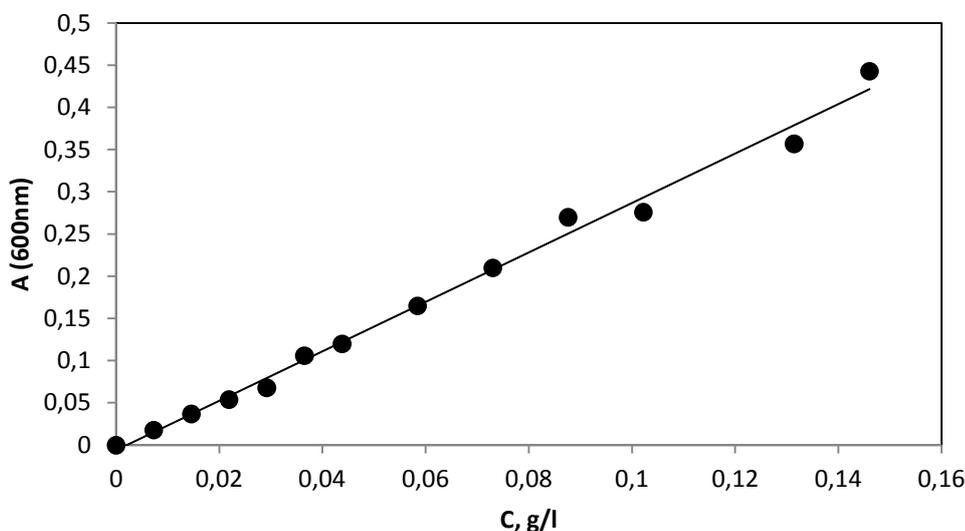


Figura 3.7 Recta de calibrado A_{600} – Peso seco

3.7 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN P Y N DEL MEDIO DE CULTIVO

3.7.1 Análisis de PO_4^{3-}

Los ortofosfatos se han determinado mediante el método colorimétrico del ácido ascórbico. Este método se fundamenta en que el molibdato amónico y el tartrato antimonil potásico reaccionan en medio ácido para formar un heteropoliácido, el ácido fosfomolibdico, que es reducido por el ácido ascórbico dando un intenso color azul de molibdeno.

Las disoluciones que se utilizan para este método son:

- Ácido sulfúrico: 5 N.
- Solución de $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2 H_2O$: 2,743 g/L
- Solución de $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$: 40 g/L
- Ácido ascórbico: 0,01 M
 - Reactivo combinado: Para 100 ml de reactivo se mezclan 50 ml de ácido sulfúrico, 5 ml de la solución de tartrato antimonil potásico, 15 ml de la solución de molibdato amónico y 30 ml de la solución de ácido ascórbico. El reactivo es estable durante 4 h.

Para la determinación del fósforo existente en el transcurso de un cultivo se toman muestras de la suspensión de células que se centrifugan a 3600 rpm durante 3 min. A continuación se enrasa a 25 ml el volumen de sobrenadante tomado, la muestra no debe contener más de 1mg/L de $P-PO_4^{3-}$, si esto ocurriera se procede a la dilución con agua destilada.

A los 25 ml se le añade 1 gota de indicador fenolftaleína. Si aparece color rojo se adiciona H_2SO_4 5N gota a gota hasta que comience a desaparecer. Se añaden 4 ml de reactivo combinado, dejando desarrollar el color durante 15 min. La absorbancia se mide a 880 nm frente a un blanco de agua destilada tratada en la misma forma que la muestra.

La concentración se determina a partir de una recta de calibrado, absorbancia a 880 nm-concentración de $P-PO_4^{3-}$ mg/L, Figura 3.8. Esta recta es preciso obtenerla cada vez que se prepara la disolución de ácido ascórbico.

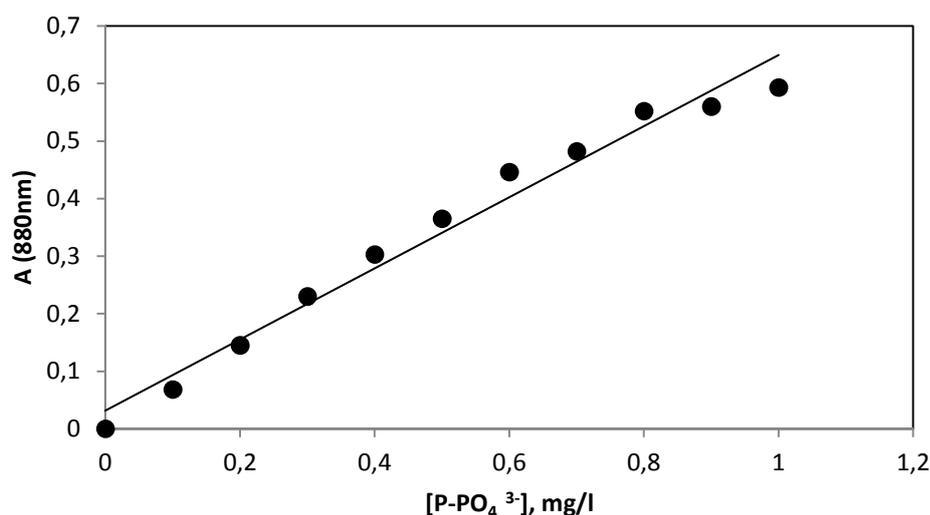


Figura 3.8 Recta de calibrado Absorbancia- concentración de $P-PO_4^{3-}$

La recta de calibrado seleccionada, su ecuación es:

$$A_{880} = 0,618 [P - PO_4^{3-}] + 0,031 \quad r^2 = 0,977 \quad [3.4]$$

3.7.2 Análisis de NO_3^-

El método colorimétrico utilizado se fundamenta, en que el ion nitrato en presencia de salicilato sódico origina un compuesto de sustitución, p-nitrosalicilato, de color amarillo.

Las disoluciones que se precisan son:

- Disolución de NaOH: 10 mol/L
- Disolución de tartrato doble de sodio y potasio: disolver 15 g en 250 ml de la disolución de NaOH
- Disolución de salicilato sódico al 0,5%. Estable solo 24 horas.
- Ácido sulfúrico concentrado
- Cloroformo

Para determinar la concentración de nitratos en el medio de cultivo, se toma la muestra del sobrenadante tras centrifugación y se enrasa a 10 ml. Si la muestra tiene una concentración de N-NO₃⁻ superior a 2,5 mg/L se procede a la dilución de la misma.

A los 10 ml de muestra se añade 1ml de la solución de salicilato y en estufa a 90°C se lleva a sequedad. Se deja enfriar una vez seca y se añaden 2 ml de ácido sulfúrico, transcurridos 10 min se añaden 15 ml de agua destilada y 15 ml de la solución de tartrato. 15 min después puede medirse la absorbancia a 415 nm frente a un blanco de agua destilada tratado en la misma forma. El color es estable durante 1 hora.

La recta de calibrado se prepara tomando volúmenes conocidos de una solución patrón de nitrato potásico, obtenida por dilución de una solución madre. El cloroformo añadido a la solución madre desempeña un papel de estabilizante. Es preciso obtener la recta de calibrado cada vez que se prepara una nueva solución de salicilato. En la Figura 3.9 se recoge una recta de calibrado cuya ecuación es:

$$A_{415} = 0,278 [N - NO_3^-] + 0,001 \quad r^2 = 0,998 \quad [3.5]$$

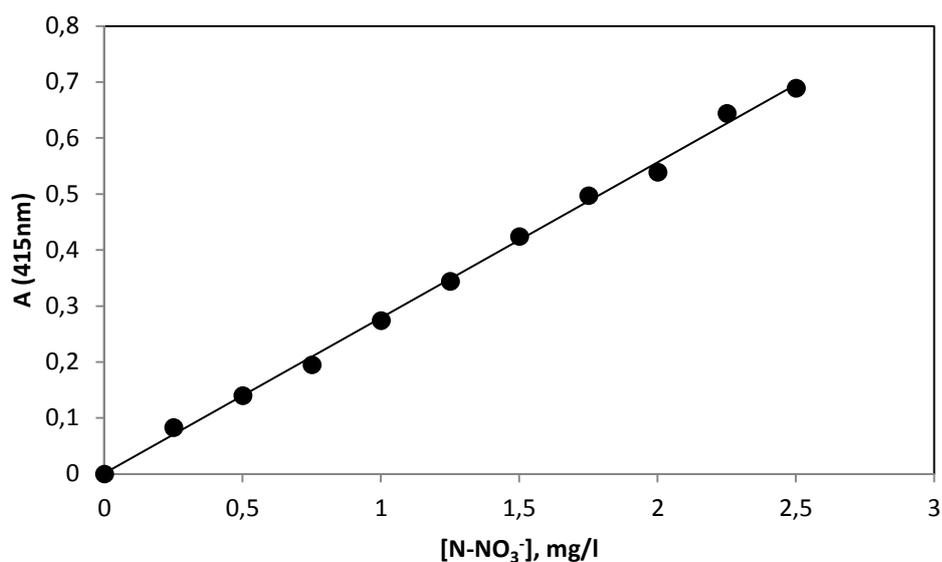


Figura 3.9 Recta de calibrado Absorbancia-concentración de N-NO₃⁻

3.8 PREPARACIÓN DEL MATERIAL BIOSORBENTE

Como material biosorbente se han utilizado biomásas de las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii* crecidas en aguas residuales urbanas.

A su vez estas biomásas se han utilizado en dos condiciones distintas, denominadas nativa y extraída:

- Por biomasa nativa, se entiende la biomasa con su composición bioquímica inalterada.
- Por biomasa extraída, la que ha sido sometida a un proceso de extracción lipídica.

De forma que se dispone de 4 materiales biosorbentes:

- *Scenedesmus obliquus*, en forma nativa, SOCL
- *Scenedesmus obliquus*, extraídos los lípidos, SOSL
- *Botryococcus braunii*, en forma nativa, BBCL
- *Botryococcus braunii*, extraídos los lípidos, BBSL

En la Figura 3.10 se incluyen unas imágenes que ponen de manifiesto el aspecto de las diferentes biomásas utilizadas.

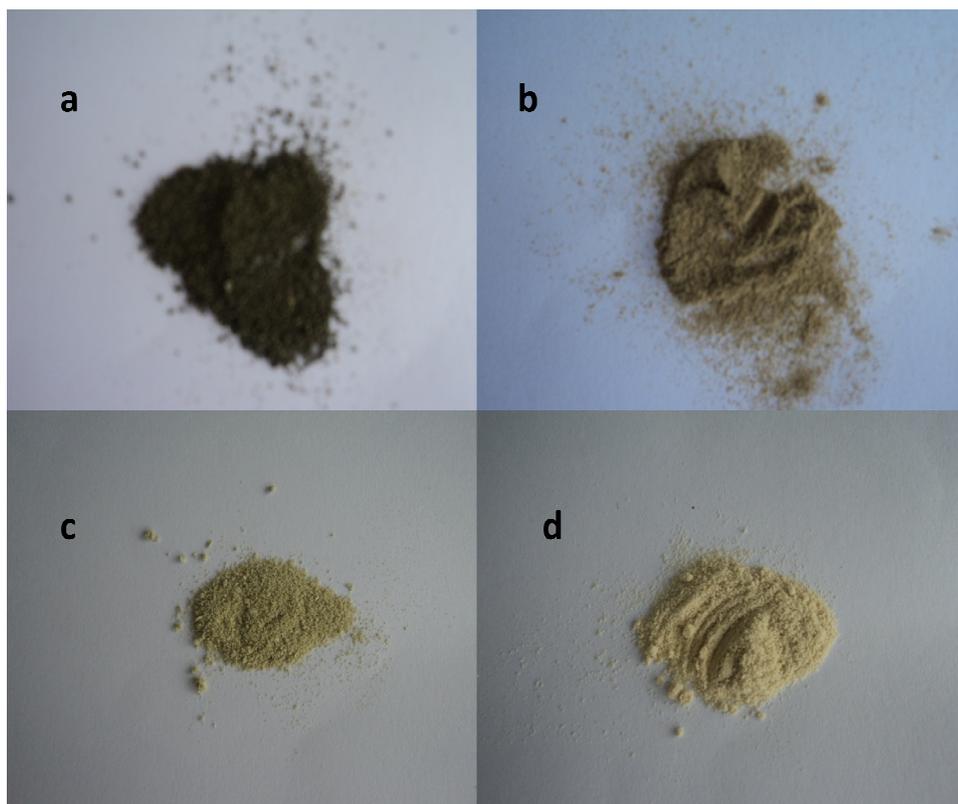


Figura 3.10 a) *Scenedesmus obliquus* nativa, b) *Scenedesmus obliquus* extraída, c) *Botryococcus braunii* nativa, d) *Botryococcus braunii* extraída

3.8.1 Biomasa nativa

La biomasa, cultivada en agua residual urbana, se cosecha al inicio de la zona estacionaria de crecimiento.

Para ello, se centrifuga la suspensión de células a 3500 rpm durante 3 min. Se elimina el sobrenadante y se lava el residuo sólido con agua destilada. Se resuspende la biomasa en el agua de lavado y se centrifuga de nuevo, repitiendo esta operación dos veces.

A continuación la biomasa se seca en estufa a 80°C hasta pesada constante. La biomasa seca se tritura en mortero hasta que pase por un tamiz de 100 μm de luz de malla.

3.8.2 Biomasa exenta del material lipídico

Para la extracción del material lipídico la biomasa nativa se mezcla en proporción de 1 g biomasa seca-100 ml de agente extractor. El agente extractor es una mezcla cloroformo-metanol en relación 2:1.

La extracción, Figura 3.11, se efectúa en recipiente cerrado, durante 18-20 h, con agitación suave y continuada. Transcurrido el tiempo de extracción se centrifuga la suspensión a 3500 rpm durante 3 min, se elimina el sobrenadante y se lava dos veces el sólido con metanol (Bertheas et al., 1999) .

El residuo sólido se seca, tritura y tamiza en la forma ya descrita en el apartado 3.8.1.



Figura 3.11 Detalle de la extracción

3.9 CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL BIOSORBENTE

3.9.1 Titulaciones potenciométricas

3.9.1.1 Titulaciones ácido-base

Para caracterizar las propiedades ácido-base de los centros activos superficiales se han realizado las curvas de titulación de suspensiones de los biosorbentes utilizados, graficando el valor del pH frente a los ml de titulante añadidos.

Se ha utilizado la técnica del pH creciente, adicionando inicialmente un volumen conocido de HCl contrastado, a las suspensiones, para reducir el pH y a continuación se procede a la titulación continua añadiendo pequeñas cantidades de una solución contrastada de NaOH como agente valorante (Pagnanelli et al., 2004).

En la Figura 3.12 se indica un esquema de la instalación utilizada. En el reactor encamisado de 500 ml -1- se introduce una suspensión de 0,1 g de biosorbente en 100 ml

de agua desionizada y exenta de dióxido de carbono. Para ello el agua era hervida y tratada con burbujeo de nitrógeno media hora antes de empezar el experimento para liberar su contenido en CO_2 .

A continuación se añade un volumen conocido de una disolución contrastada de HCl 0,069 M a la suspensión para disminuir el pH hasta un valor de 2,5 aproximadamente.

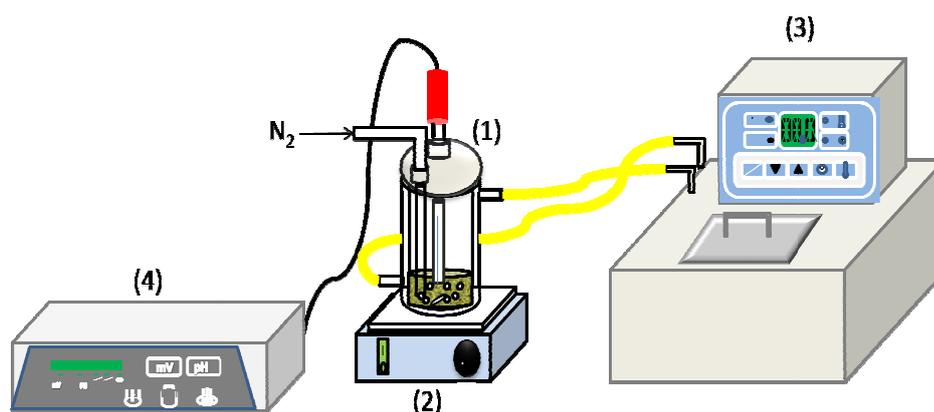


Figura 3.12 Instalación utilizada en las titulaciones ácido-base

La suspensión se valora con una disolución contrastada de NaOH 0,07M. El titulante se añade en alícuotas de 75 μl y entre cada adición el tiempo de equilibrado es de 2 minutos (Martín-Lara et al., 2008).

La biomasa se mantiene en suspensión mediante agitación magnética suave y a una temperatura constante de 25°C . Se utilizan respectivamente el agitador magnético -2- y un baño termostático -3- con circulación del fluido de intercambio.

Para evitar la interferencia del CO_2 , la suspensión se mantiene bajo un corriente de nitrógeno durante todo el tiempo de la valoración.

El pH se determina usando un pH-metro -4- con electrodo de vidrio, calibrado al inicio de la valoración con disoluciones tampón de pH 4,6 y 7,02. Las valoraciones se realizan por duplicado.

En las mismas condiciones sin biomasa, se realiza la titulación de los controles.

3.9.1.2 Titulaciones redox

Para determinar la capacidad reductora de la biomasa se han obtenido las curvas de titulación redox de suspensiones de los biosorbentes utilizados, graficando el valor del potencial E, mV, frente a los ml de titulante añadidos.

Estas titulaciones se han realizado mediante un valorador automático Titrino, GP 736, Metrohm, utilizando disoluciones de dicromato potásico y de sal de Mohr ($(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2, 6\text{H}_2\text{O}$; 0,1N).

La suspensión a valorar se prepara mezclando 1ml de la disolución de cromo con 6 ml aproximadamente de agua desionizada, se ajusta el pH a 2 para la suspensión de SOCL y SOSL y a 1 para BBCL y BBSL. A continuación se enrasa el volumen a 10 ml con agua desionizada y se añaden 0,01 g del biosorbente.

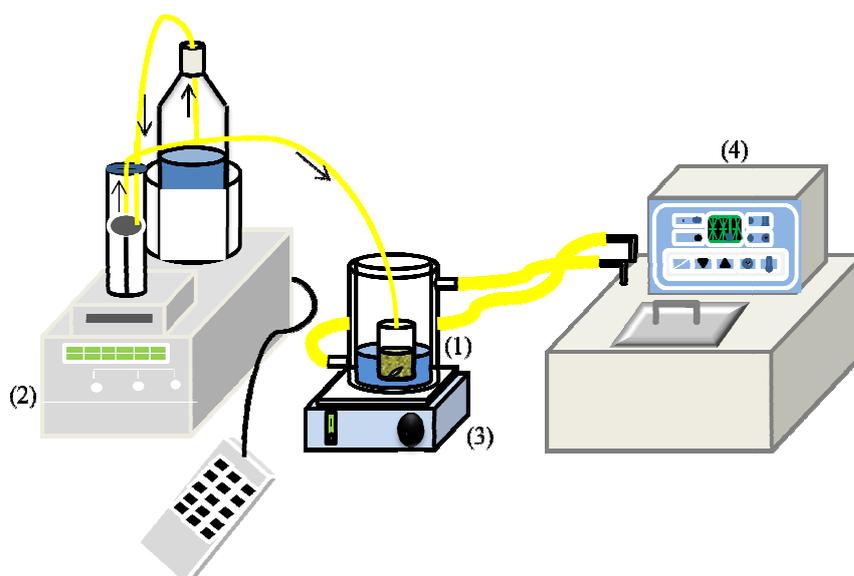


Figura 3.13 Instalación utilizada en las titulaciones redox

En el reactor encamisado (1), de la instalación utilizada cuyo esquema se indica en la Figura 3.13, se titula la suspensión de cada biosorbente con adiciones de 10 μl de la disolución de la sal de Mohr 0,1 N usando el Titrino (2). El tiempo de espera entre cada adición es de 15 min. Durante la titulación, la suspensión se mantiene con agitación magnética suave (3) y a una temperatura de 25°C (4).

El mismo procedimiento se ha utilizado para la titulación del control (10 ml de la disolución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

3.9.2 Espectrometría de infrarrojos

Se han realizado los espectros de infrarrojos de todos los biosorbentes utilizados, antes y después de la biosorción de Cr(VI), con el objeto de identificar los grupos funcionales presentes en la superficie de los mismos y las modificaciones que induce la adsorción del metal.

Para ello se ha utilizado un Espectrofotómetro de infrarrojo Perkin Elmer por transformada de Fourier modelo Spectrum 65 FT-IR que permite operar en un intervalo de 7500 a 370 cm^{-1} con una resolución de 0,5 cm^{-1} .

La espectroscopia infrarroja (IR) es una técnica de espectrometría de absorción que utiliza la región infrarroja del espectro electromagnético. Cuando la radiación infrarroja incide sobre una muestra, es capaz de provocar cambios en los estados vibracionales de las moléculas constituyentes de la misma. La absorción de radiación es indicativa del tipo de enlaces y de los grupos funcionales presentes en la misma.

El tipo de espectrómetro utilizado permite la introducción de la muestra en polvo $<100 \mu\text{m}$ en el pocillo destinado al efecto, sin ningún tipo de acondicionamiento previo.

3.9.3 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, XPS

Esta técnica se ha utilizado con el objeto de determinar el estado de oxidación, Cr(VI) o Cr(III) del Cr adsorbido en las diferentes biomasas utilizadas.

Los espectros se han obtenido en el Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada, mediante un espectrómetro Kratos Axis Ultra-DLD.

Esta técnica se basa en el efecto fotoeléctrico. El equipo, mediante una fuente de RX de doble ánodo Mg/Al, genera una radiación que al incidir sobre la muestra origina la emisión de fotoelectrones, que proporcionan información sobre la naturaleza del átomo emisor.

Mediante XPS se pueden identificar todos los elementos presentes en la muestra excepto H y He. La concentración mínima detectable es del 0,1 % en peso.

Los espectros XPS vienen expresados en intensidad de la fotoemisión en cps frente a energía de enlace en eV, proporcionan información semicuantitativa de la composición elemental de la muestra con un error inferior al 10%.

Las muestras no requieren preparación específica, son biomasa en polvo con Cr adsorbido y tamaño $<100 \mu\text{m}$. Para una interpretación adecuada de los resultados ha sido

necesario obtener también los espectros de sales de Cr(III) y Cr(VI) y de biomasa con Cr(III) adsorbido.

3.9.4 Microscopía electrónica de barrido de alta resolución por emisión de campo, FIB-FESEM

Las imágenes superficiales de los biosorbentes, a diferente resolución, se han obtenido en el CIC de la Universidad de Granada mediante una estación de trabajo CrossBeam por bombardeo iónico focalizado FIB, incorporada a un microscopio electrónico de barrido de alta resolución por emisión de campo, FESEM, AURIGA de Carl Zeiss SMT.

Mediante esta técnica se consigue, utilizando un haz de electrones, imágenes de alta resolución que permiten la observación y caracterización superficial de materiales inorgánicos y orgánicos.

Las muestras a observar mediante esta técnica se requiere que sean conductoras, ya que de no serlo se cargan durante la irradiación desviando el haz electrónico y originando distorsiones en la imagen. Por ello se recubren las muestras con una película conductora de espesor comprendido entre 10 y 25 nm. La elección del material de recubrimiento depende del objetivo del análisis.

Para muestras biológicas, como es el caso, la preparación de las mismas se llevó a cabo también en el servicio CIC en el Laboratorio de Preparación de Muestras Biológicas. A partir de las biomásas en polvo se les hizo, en unos portamuestras específicos, un recubrimiento de carbono, mediante la técnica de evaporación térmica.

3.9.5 Análisis elemental

Se ha realizado este análisis utilizando un equipo Fison's Carlo Erba. 1108 CHNS, que permite la determinación inmediata de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre, pudiendo cuantificarse el oxígeno como la diferencia a 100.

Las muestras analizadas han sido las diferentes biomásas utilizadas. La cantidad necesaria para la determinación es en torno a 2 mg de biosorbente en polvo que se envuelven en una lámina de estaño. Los gases procedentes de la oxidación total de las muestras pasan por una columna cromatográfica y un detector de conductividad térmica, pudiéndose cuantificar CO₂, N₂, H₂O y SO₂.

3.9.6 Lípidos totales

Para la obtención de los lípidos totales, se lleva a cabo una extracción utilizando una mezcla cloroformo-metanol 2:1 (v:v) en una relación aproximada de 100 ml de mezcla extractora por cada gramo de biomasa seca utilizada. El procedimiento operatorio es el descrito en el apartado 3.8.2.

La cantidad de lípidos extraídos se obtiene por diferencia de pesada de la muestra seca antes y después de la extracción (Bligh et al., 1959).

3.9.7 Ácidos grasos

La identificación de los ácidos grasos de la biomasa, se ha realizado mediante cromatografía de gases de acuerdo al procedimiento descrito por (Lepage et al., 1984).

En un tubo de ensayo se introducen de 5 a 10 mg de biomasa seca a la que se adiciona 1 ml de una mezcla formada por cloruro de acetilo en metanol en proporción 1:20 (v/v). La metanolisis se efectúa a 100°C durante 1 hora.

Una vez la muestra está a temperatura ambiente se añaden 0,5 ml de n-hexano y 1 ml de agua ultrapura. Se agita, centrifuga y separa la fase orgánica que contiene los ésteres metílicos y se almacena a 4°C hasta su inyección en el cromatógrafo.

Se ha utilizado un cromatógrafo de gases, provisto de detector de ionización de llama. La programación de temperaturas ha sido la siguiente: inicial del horno 150°C durante 8 min y a continuación elevación de 3°C/min hasta alcanzar 190°C permaneciendo 23,5 min. Temperatura del inyector y detector 220°C.

La columna utilizada de sílice fundida SP2330 de 30 m de longitud y 0,25 µm de diámetro es de alta polaridad. Supelco.

El caudal de gas ha sido de 0,7 mL/min. Se han inyectado 1,4 µL de la disolución de ésteres metílicos. Los patrones utilizados han sido “rapessed oil mix” y “Pufas-1”.

3.10 EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN

Los experimentos de biosorción se han realizado en discontinuo utilizando reactores tipo tanque agitado.

3.10.1 Instalación experimental

En la Figura 3.14 se esquematiza la instalación experimental utilizada.

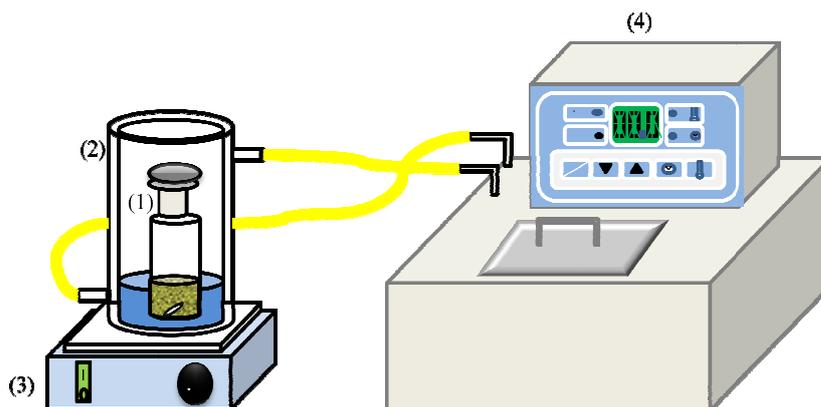


Figura 3.14 Instalación de Biosorción

Sorbente y sorbato se ponen en contacto en un recipiente de vidrio, cerrado -1- de 250 ml de capacidad. El recipiente va introducido en agua cuya temperatura se mantiene, ya que por la camisa del recipiente -2- circula el fluido de intercambio, procedente del baño termostático con circulación -4-, a la temperatura seleccionada. La suspensión se mantiene mediante agitación magnética -3-.

3.10.2 Procedimiento operatorio

Los experimentos comienzan con la preparación del sorbato. Las disoluciones de Cr(VI), a la concentración deseada, se preparan por dilución, mediante agua desionizada, a partir de una solución madre de reserva de 1000 mg/L de Cr(VI) utilizando $K_2Cr_2O_7$.

Una vez, 50 ml de sorbato, se disponen en el recipiente -1- se ajustan la temperatura y el pH del experimento y se introduce el sorbente a la relación sorbente/sorbato seleccionada.

La biosorción se cuantifica mediante el análisis del Cr, Cr(VI) y Cr(Total) existente en el medio líquido. Para los experimentos de estudio del equilibrio, una vez transcurrido el tiempo del experimento, se toman muestras que se centrifugan durante 2 min a 3500 rpm y se procede al análisis del sobrenadante. Para los experimentos cinéticos se analiza el sobrenadante a diferentes tiempos de contacto sorbente/sorbato.

3.10.3 Análisis del Cr(VI)

La determinación de las concentraciones de Cr(VI) se ha realizado mediante espectrofotometría UV-visible usando el método colorimétrico de la 1,5-difenilcarbazida. En solución ácida se produce un complejo de color rojo-violeta. La concentración del Cr(VI) es proporcional a la absorbancia del complejo a 540 nm (APHA, AWWA, WPCF, Standard Methods, 1992).

Las disoluciones que se precisan son:

- H₂SO₄: 2N
- Solución de 1,5-difenilcarbazida: 250 mg en 50 ml de acetona.

En matraz aforado de 10 ml se mezclan la muestra de sobrenadante, con 4 ml de H₂SO₄ y se enrasa con agua desionizada. En un tubo de ensayo se adiciona a los 10 ml anteriores, 0,2 ml de la solución de 1,5-difenilcarbazida, se mezclan y se deja desarrollar el color de 5 a 10 minutos. Se mide la absorbancia frente a un blanco de agua desionizada a 540 nm.

Para la elaboración de la recta de calibrado, se preparan una solución de Cr(VI) de reserva y una solución de Cr(VI) patrón.

La primera, de concentración en Cr(VI) 1000 mg/L se prepara disolviendo en agua desionizada 2,828 g de K₂Cr₂O₇ (previamente secado a 105 °C durante 2 h) y se enrasa a 1000 ml. La solución patrón se obtiene por dilución de la de reserva, tomando 10 ml y enrasando a 100 ml.

A partir de la solución patrón se obtienen disoluciones que contienen desde 0,1 a 1 mg/L de Cr(VI), Tabla 3.5. A volúmenes determinados de la solución patrón se añaden 40 ml de H₂SO₄, 2N y se enrasa a 100 ml. En un matraz de 100 ml se añaden 2 ml de la disolución de 1,5-difenilcarbazida. Transcurridos 10 min se mide la absorbancia a 540 nm frente a un blanco de agua desionizada. (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec 2008), (Uysal et Ar 2007).

Tabla 3.5 Datos de la recta de calibrado

Volumen de la solución Patrón, ml	Volumen total, ml	Concentración de cromo,mg/L	Absorbancia 540 nm
0,0	100	0,0	0,000
0,2	100	0,1	0,075
0,4	100	0,2	0,155
0,6	100	0,3	0,235
0,8	100	0,4	0,309
1,0	100	0,5	0,381
1,2	100	0,6	0,456
1,4	100	0,7	0,530
1,6	100	0,8	0,605
1,8	100	0,9	0,676
2,0	100	1,0	0,740

En la Figura 3.15 se representa una recta de calibrado cuya ecuación [3.6] es:

$$[\text{Cr(VI)}] = 1,327 A_{540} \quad r^2 = 0,999 \quad [3.6]$$

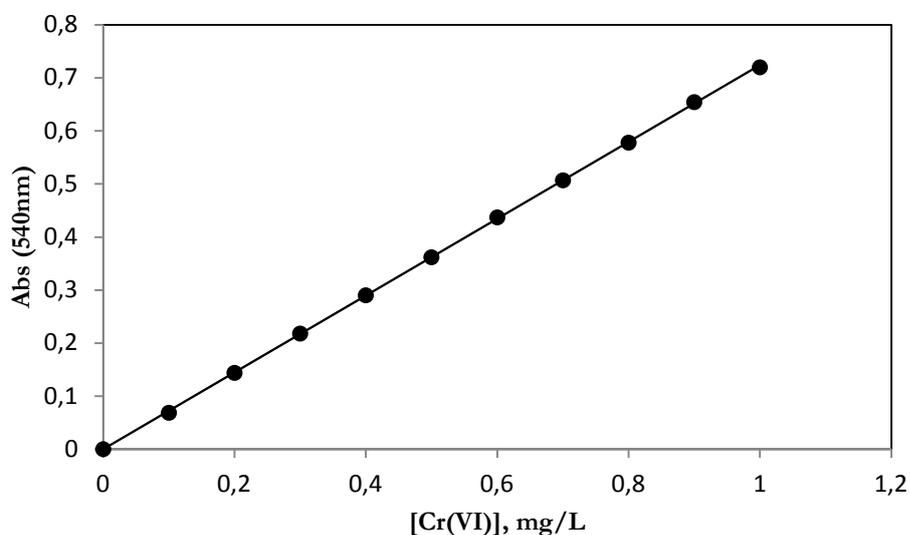


Figura 3.15 Recta de calibrado Absorbancia-concentración de Cr(VI)

3.10.4 Análisis del Cr(Total)

El Cr(Total) se ha obtenido tras oxidación de la muestra para transformación del Cr(III) en Cr(VI).

Los reactivos que se precisan para la oxidación son:

- NH_4OH
- H_2SO_4 , 1:1
- KMnO_4 : 4 g en 100 ml de agua desionizada
- NaN_3 : 0,5 g en 100 ml de agua desionizada
- H_3PO_4
- Naranja de metilo

El procedimiento operatorio para la oxidación ha sido el siguiente:

Con micropipeta se lleva a un matraz una porción determinada de la muestra exenta del biosorbente. Empleando como indicador naranja de metilo, se añade NH_4OH concentrado hasta que la solución sea justo básica, acorde al indicador utilizado.

A continuación se añade H_2SO_4 1:1, gota a gota, hasta que se vuelva ácida, y 1 ml adicional. Se ajusta el volumen a aproximadamente 40 ml, se añade una porción de plato poroso y se calienta a ebullición. En estas condiciones se añade la solución de KMnO_4 gota a gota, hasta que se mantenga un color rojo oscuro.

Se continúa con la muestra en ebullición durante 2 minutos más. Se añade 1ml de la solución de azida sódica y se mantiene a una suave ebullición. Si el color rojo no desaparece por completo en 30 segundos, se añade otro ml de solución de NaN_3 y se continúa la ebullición 1 minuto más, después de desaparecido el color por completo.

A continuación, se deja enfriar y se añaden 0,25 ml de H_3PO_4 concentrado. Con H_2SO_4 0,2 N y el micro-pHmetro se ajusta el pH de la solución a $1 \pm 0,3$. Se enrasa la muestra a 100 ml. Una vez finalizada la oxidación se determina la concentración de Cr(Total) en forma hexavalente mediante el método descrito en el apartado 3.10.3. La concentración de Cr(III) se determina por diferencia entre el Cr(Total) y el Cr(VI).

3.10.5 Encapsulación del biosorbente

Con objeto de proporcionar a la biomasa resistencia mecánica y forma definida, características de las que no disponen los aglomerados celulares, se ha procedido a su encapsulación utilizando como agente polimérico polisulfona (Bai et al., 2003) (Beolchini et al., 2003) (Vijayaraghavan et al., 2007).

Este compuesto se caracteriza por su gran estabilidad química, en disoluciones ácidas, alcalinas y en muchos disolventes no polares, requisito imprescindible para su utilización en la biosorción de Cr(VI). Las membranas que se elaboran con este compuesto, Figura 3.16, poseen también buena resistencia mecánica, soportan temperaturas hasta $170\text{ }^\circ\text{C}$ y tienen tamaño de poro reproducibles y del orden de 40 nm.

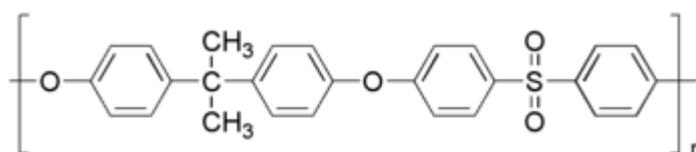


Figura 3.16 Unidad de polisulfona

La polisulfona se disuelve en N,N-Dimetilformamida en proporción del 10 % (w/v) mediante agitación mecánica a temperatura ambiente durante un tiempo de 10 h aproximadamente. La cantidad deseada de biomasa se adiciona a la disolución y ésta se deja caer gota a gota sobre agua desionizada a 5°C y en continua agitación, mediante un agitador magnético. Las esferas se forman por un proceso de inversión de fases. Una vez formadas se dejan durante 16 h para que finalice la polimerización. A continuación se lavan con agua desionizada y se mantienen en un baño de agua durante 18 h a fin de eliminar restos de N,N-Dimetilformamida. Las esferas finalmente se almacenan a 4°C .

Esferas sin biomasa se preparan mediante el mismo procedimiento, con el objeto de utilizarlas en experimentos de control.

Diferentes diámetro de boquilla en el vertido de la mezcla polisulfona disuelta-biomasa sobre el agua desionizada fría, permiten obtener esferas de distinto diámetro. Se ha operado con tres boquillas distintas que han permitido obtener esferas de 3, 4 y 6 mm de diámetro medio.

En todos los casos la proporción de biomasa en las esferas ha sido del 3% y se ha utilizado una concentración de biomasa de 1 g/L. Los experimentos con biomasa encapsulada se han realizado siguiendo un procedimiento análogo al utilizado con la biomasa libre, descrito en el apartado 3.10.2.

Para los experimentos de adsorción-desorción se han ensayado cuatro eluyentes distintos, agua desionizada y disoluciones de HCL, Na₂CO₃ y NaOH de concentración 0,1; 0,01 y 0,5 N respectivamente (Bai et al., 2003) (Beolchini et al., 2003) (Vijayaraghavan et al., 2007). Se han analizado tres ciclos, separando y dejando secar las esferas entre el final de cada etapa de adsorción e inicio de la etapa de desorción siguiente.

3.11 EXPERIMENTOS REALIZADOS

De forma resumida se exponen a continuación, los experimentos realizados:

Tabla 3.6 Crecimiento de *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii*

MICROALGA	MEDIO	CRECIMIENTO			
		T, °C	I ₀ , μEinstein/m ² s.	Luz/Oscuridad	Aireación, V/V/min
<i>Scenedesmus obliquus</i>	RL	25	304	12/12	1
<i>Scenedesmus obliquus</i>	ARUT	25	304	12/12	1
<i>Botryococcus braunii</i>	CHU13*4	25	304	12/12	1
<i>Botryococcus braunii</i>	ARUJ	25	304	12/12	1

Tabla 3.7 Titulaciones ácido-base

BIOSORBENTE	[B], g/l	T, °C
SOCL	1	25
SOSL	1	25
BBCL	1	25
BBSL	1	25

Tabla 3.8 Titulaciones redox

BIOSORBENTE	[B], g/l	T, °C	pH
SOCL	1	25	2
SOSL	1	25	2
BBCL	1	25	1
BBSL	1	25	1

Tabla 3.9 Influencia del pH

BIOSORBENTE	pH ₀	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)], mg/L
SOCL	1,02	1	25	100
SOCL	2,02	1	25	100
SOCL	3,03	1	25	100
SOCL	4,07	1	25	100
BBCL	1,04	1	25	100
BBCL	1,93	1	25	100
BBCL	2,79	1	25	100
BBCL	4,19	1	25	100

Tabla 3.10 Influencia del pH

BIOSORBENTE	pH ₀	[B], g/L	T, °C	[Cr(III)], mg/L
SOCL	2-3-4-5	1	25	25
BBCL	1-3-4-5	1	25	25

Tabla 3.11 Influencia del tiempo de biosorción

BIOSORBENTE	TIEMPO, h	pHo	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)], mg/L
SOCL		2	1	25	100
SOSL	0-0,25-0,5-0,75-1-1,5-2-4-	2	1	25	100
BBCL	6-8-10-24-30-34-48-72-96-120-144	1	1	25	100
BBSL		1	1	25	100

Tabla 3.12 Equilibrio

BIOSORBENTE	pHo	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)] _o , mg/L
SOCL	2	1	25	
SOSL	2	1	25	
BBCL	1	1	25	25-35-45-55-65-75-85-100
BBSL	1	1	25	

Tabla 3.13 Cinética – Concentración del metal

BIOSORBENTE	pHo	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)] _o , mg/L
SOCL	2	1	25	
SOSL	2	1	25	
BBCL	1	1	25	25-50-75-100
BBSL	1	1	25	

Tabla 3.14 Influencia de la concentración de biosorbente

BIOSORBENTE	pHo	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)] _o , mg/L
SOCL	2		25	100
SOSL	2	1-2-3-4-5-6-7-8-10	25	100
BBCL	1		25	100
BBSL	1		25	100

Tabla 3.15 Influencia de la fuerza iónica

BIOSORBENTE	pH ₀	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)] ₀ , mg/L	[NaNO ₃], M
SOSL	2	1	25	100	0-0,01-0,1
BBCL	1	1	25	100	

Tabla 3.16 Influencia de la temperatura

BIOSORBENTE	pH ₀	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)] ₀ , mg/L
SOCL	2	1	25-30-35	100
SOSL	2	1		100
BBCL	1	1		100
BBSL	1	1		100

Tabla 3.17 Biomasa encapsulada - equilibrio

BIOSORBENTE	pH ₀	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)] ₀ , mg/L
BBSL	1	1	25	25-35-45-55-65-75-85-100

Tabla 3.18 Biomasa encapsulada - cinética

BIOSORBENTE	pH ₀	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)] ₀ , mg/L	d _p , mm
BBSL	1	1	25	100	3-4-6

Tabla 3.19 Biomasa encapsulada – ciclos adsorción desorción

BIOMASA ENCAPSULADA – CICLOS ADSORCIÓN DESORCIÓN						
BIOSORBENTE	pH ₀	[B], g/L	T, °C	[Cr(VI)] ₀ , mg/L	d _p , mm	CICLOS
BBSL	1	1	25	100	3-4-6	3

4 RESULTADOS EXPERIMENTALES

En este apartado se recogen los resultados experimentales obtenidos en este trabajo.

4.1 CRECIMIENTO Y CONSUMO DE NUTRIENTES

4.1.1 *Scenedesmus obliquus*

Tabla 4.1 Crecimiento de *Scenedesmus obliquus*

Medio: Sintético Luz/oscuridad: 12/12 h T: 25°C Aireación: 1 V/V/min

t, h	[B], g/L	[P-PO ₄ ³⁻], mg/L	[N-NO ₃ ⁻], mg/L
0	0,11	6,83	24,46
24	0,24	3,90	13,27
31	0,29	3,46	11,46
48	0,22	2,87	8,05
55	0,34	2,60	6,02
72	0,38	1,93	0,94
79	0,46	1,76	0,87
96	0,38	1,44	0,61
103	0,50	1,23	0,35
120	0,58	0,71	0,25
144	0,59	0,42	0,16
168	0,66	0,08	0,09
192	0,58	0,01	0,08
216	0,60	0,01	0,04
240	0,65	0,01	0,04

Tabla 4.2 Crecimiento de *Scenedesmus obliquus*

Medio: ARUT

Luz/oscuridad: 12/12 h

T: 25°C

Aireación: 1 V/V/min

t, h	[B], g/L	[P-PO ₄ ³⁻], mg/L	[N-NO ₃ ⁻], mg/L
0	0,09	24,64	18,69
21	0,07	19,02	16,89
31	0,09	17,37	16,40
45	0,08	16,21	16,57
51	0,10	16,01	17,04
73	0,10	16,65	19,45
95	0,13	16,81	20,17
118	0,18	16,31	19,73
141	0,20	15,60	18,69
147	0,22	15,28	18,46
165	0,22	15,07	18,52
171	0,25	15,58	18,93
189	0,25	15,56	19,95
195	0,29	14,21	19,71
213	0,30	15,13	18,10
219	0,30	15,41	17,79
243	0,36	14,55	18,13
261	0,39	14,18	18,60
291	0,37	13,34	14,96
284	0,33	13,46	16,60
308	0,41	13,42	9,90
332	0,49	13,88	7,08

356	0,52	14,47	7,01
361	0,52	14,38	7,42
385	0,52	12,98	7,59
404	0,54	11,67	6,63
428	0,58	10,86	5,41

4.1.2 Botryococcus braunii

Tabla 4.3 Crecimiento de *Botryococcus braunii*

Medio: Sintético Luz/oscuridad: 12/12 h T: 25°C Aireación: 1 V/V/min

t, h	[B], g/L	t, h	[B], g/L
0	0,03	511	0,47
24	0,04	536	0,50
47	0,05	560	0,54
71	0,06	585	0,56
96	0,08	610	0,60
124	0,09	640	0,59
148	0,10	655	0,66
165	0,12	689	0,69
191	0,13	706	0,71
215	0,16	729	0,75
237	0,18	754	0,79
284	0,24	802	0,83
309	0,24	824	0,86
332	0,28	846	0,94

356	0,30	871	1,00
389	0,34	897	1,05
409	0,36	945	1,05
459	0,40	967	1,04
490	0,44		

Tabla 4.4 Crecimiento de *Botryococcus braunii*

Medio: ARUJ Luz/oscuridad: 12/12 h T: 25°C Aireación: 1 V/V/min

t, h	[B], g/L	t, h	[B], g/L
0	0,02	511	0,39
24	0,03	536	0,44
47	0,04	560	0,44
71	0,04	585	0,46
96	0,06	610	0,48
124	0,06	640	0,52
148	0,08	655	0,55
165	0,09	689	0,59
191	0,10	706	0,62
215	0,13	729	0,65
237	0,15	754	0,69
284	0,18	802	0,74
309	0,22	824	0,71
332	0,23	846	0,79
356	0,28	871	0,93

389	0,29	897	0,97
409	0,33	945	1,04
459	0,35	967	1,03
490	0,38		

4.2 CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL BIOSORBENTE

4.2.1 Titulaciones potenciométricas

4.2.1.1 Titulaciones ácido-base

Tabla 4.5 Titulación ácido-base

Biosorbente: Ninguno [B]: 0 g/L T: 25°C V_a: 5 mL pH₀: 2,19
t_c: 2 min

V _{NaOH} , mL	pH						
0,075	2,19	1,575	2,35	3,075	2,62	4,575	3,41
0,150	2,19	1,650	2,36	3,150	2,63	4,650	3,54
0,225	2,20	1,725	2,37	3,225	2,65	4,725	3,75
0,300	2,21	1,800	2,38	3,300	2,67	4,800	4,10
0,375	2,22	1,875	2,39	3,375	2,69	4,875	6,04
0,450	2,22	1,950	2,40	3,450	2,72	4,950	9,45
0,525	2,23	2,025	2,41	3,525	2,74	5,025	9,85
0,600	2,24	2,100	2,42	3,600	2,77	5,100	10,08
0,675	2,25	2,175	2,44	3,675	2,79	5,175	10,23
0,750	2,25	2,250	2,45	3,750	2,82	5,250	10,34

0,825	2,26	2,325	2,46	3,825	2,85	5,325	10,44
0,900	2,27	2,400	2,48	3,900	2,88	5,400	10,51
0,975	2,28	2,475	2,49	3,975	2,92	5,475	10,58
1,050	2,28	2,550	2,5	4,050	2,95	5,550	10,63
1,125	2,29	2,625	2,52	4,125	3,00	5,625	10,69
1,200	2,23	2,700	2,53	4,200	3,04	5,700	10,73
1,275	2,31	2,775	2,55	4,275	3,10	5,775	10,78
1,350	2,32	2,850	2,57	4,350	3,16	5,850	10,85
1,425	2,33	2,925	2,58	4,425	3,23		
1,500	2,34	3,000	2,60	4,500	3,31		

Tabla 4.6 Titulación ácido-base

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L T: 25°C V_a: 5 mL

pH_o: 2,45 t_c: 2 min

V _{NaOH} , mL	pH						
0,075	2,47	1,575	2,80	3,075	4,22	4,575	7,51
0,150	2,49	1,650	2,83	3,150	4,42	4,650	7,75
0,225	2,50	1,725	2,85	3,225	4,65	4,725	8,00
0,300	2,52	1,800	2,88	3,300	4,87	4,800	8,26
0,375	2,53	1,875	2,91	3,375	5,06	4,875	8,60
0,450	2,54	1,950	2,94	3,450	5,24	4,950	8,94
0,525	2,56	2,025	2,97	3,525	5,40	5,025	9,24
0,600	2,57	2,100	3,01	3,600	5,57	5,100	9,45
0,675	2,58	2,175	3,04	3,675	5,72	5,175	9,69

0,750	2,60	2,250	3,09	3,750	5,88	5,250	9,86
0,825	2,62	2,325	3,14	3,825	6,03	5,325	10,00
0,900	2,63	2,400	3,19	3,900	6,18	5,400	10,14
0,975	2,65	2,475	3,24	3,975	6,31	5,475	10,23
1,050	2,67	2,550	3,31	4,050	6,44	5,550	10,35
1,125	2,68	2,625	3,39	4,125	6,58	5,625	10,44
1,200	2,70	2,700	3,47	4,200	6,72	5,700	10,52
1,275	2,72	2,775	3,58	4,275	6,87	5,775	10,59
1,350	2,74	2,850	3,69	4,350	6,99	5,850	10,67
1,425	2,76	2,925	3,85	4,425	7,15		
1,500	2,78	3,000	4,02	4,500	7,32		

Tabla 4.7 Titulación ácido-base

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L T: 25°C V_a: 5 mL
 pH₀: 2,63 t_c: 2 min

V _{NaOH} , mL	pH						
0,075	2,63	1,575	2,93	3,075	4,24	4,575	9,93
0,150	2,64	1,650	2,95	3,150	4,51	4,650	10,05
0,225	2,65	1,725	2,97	3,225	4,94	4,725	10,14
0,300	2,66	1,800	3,00	3,300	5,49	4,800	10,23
0,375	2,67	1,875	3,03	3,375	5,94	4,875	10,33
0,450	2,68	1,950	3,06	3,450	6,24	4,950	10,41
0,525	2,70	2,025	3,09	3,525	6,47	5,025	10,49
0,600	2,71	2,100	3,12	3,600	6,69	5,100	10,57

RESULTADOS EXPERIMENTALES

0,675	2,72	2,175	3,16	3,675	6,90	5,175	10,64
0,750	2,74	2,250	3,20	3,750	7,10	5,250	10,69
0,825	2,75	2,325	3,24	3,825	7,32	5,325	10,74
0,900	2,76	2,400	3,29	3,900	7,63	5,400	10,78
0,975	2,78	2,475	3,34	3,975	8,05	5,475	10,83
1,050	2,80	2,550	3,40	4,050	8,64	5,550	10,86
1,125	2,81	2,625	3,46	4,125	9,05	5,625	10,90
1,200	2,83	2,700	3,53	4,200	9,31	5,700	10,93
1,275	2,85	2,775	3,62	4,275	9,46	5,775	10,96
1,350	2,87	2,850	3,72	4,350	9,58	5,850	11,00
1,425	2,88	2,925	3,85	4,425	9,71		
1,500	2,91	3,000	4,01	4,500	9,81		

Tabla 4.8 Titulación ácido-base

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L T: 25°C V_a: 2 mL

pH₀: 2,71 t_c: 2 min

V _{NaOH} ,mL	pH	V _{NaOH} ,mL	pH	V _{NaOH} , mL	pH	V _{NaOH} , mL	pH
0,020	2,72	0,840	2,95	1,720	3,44	2,540	7,73
0,040	2,72	0,860	2,96	1,740	3,45	2,560	8,10
0,060	2,73	0,880	2,96	1,760	3,47	2,580	8,44
0,080	2,73	0,900	2,97	1,780	3,49	2,600	8,76
0,100	2,74	0,920	2,98	1,800	3,51	2,620	8,91
0,120	2,74	0,940	2,99	1,820	3,53	2,640	9,08
0,140	2,75	0,960	3,00	1,840	3,56	2,660	9,14
0,160	2,75	0,980	3,00	1,860	3,59	2,680	9,28
0,180	2,76	1,000	3,01	1,880	3,61	2,700	9,39
0,200	2,76	1,020	3,02	1,900	3,64	2,720	9,48
0,220	2,77	1,040	3,03	1,920	3,66	2,740	9,55
0,240	2,77	1,060	3,03	1,940	3,69	2,760	9,65
0,260	2,78	1,080	3,04	1,960	3,72	2,780	9,72
0,280	2,78	1,100	3,05	1,980	3,75	2,800	9,76
0,300	2,79	1,180	3,09	2,000	3,78	2,820	9,82
0,320	2,79	1,200	3,10	2,020	3,81	2,840	9,88
0,340	2,80	1,220	3,11	2,040	3,84	2,860	9,91
0,360	2,80	1,240	3,12	2,060	3,87	2,880	9,95
0,380	2,81	1,260	3,13	2,080	3,91	2,900	9,99
0,400	2,82	1,280	3,14	2,100	3,94	2,920	10,01
0,420	2,82	1,300	3,15	2,120	3,99	2,940	10,05

RESULTADOS EXPERIMENTALES

0,440	2,83	1,320	3,16	2,140	4,03	2,960	10,08
0,460	2,83	1,340	3,17	2,160	4,06	2,980	10,11
0,480	2,84	1,360	3,18	2,180	4,11	3,000	10,13
0,500	2,84	1,380	3,19	2,200	4,18	3,020	10,15
0,520	2,85	1,400	3,20	2,220	4,26	3,040	10,19
0,540	2,85	1,420	3,21	2,240	4,35	3,060	10,22
0,560	2,86	1,440	3,23	2,260	4,41	3,080	10,24
0,580	2,87	1,460	3,24	2,280	4,52	3,100	10,28
0,600	2,87	1,480	3,25	2,300	4,63	3,120	10,30
0,620	2,88	1,500	3,26	2,320	4,73	3,140	10,32
0,640	2,88	1,520	3,28	2,340	4,85	3,160	10,34
0,660	2,89	1,540	3,29	2,360	5,03	3,180	10,37
0,680	2,90	1,560	3,31	2,380	5,25	3,200	10,39
0,700	2,90	1,580	3,32	2,400	5,66	3,220	10,42
0,720	2,91	1,600	3,33	2,420	5,99	3,240	10,44
0,740	2,91	1,620	3,35	2,440	6,31	3,260	10,47
0,760	2,92	1,640	3,37	2,460	6,67	3,280	10,48
0,780	2,93	1,660	3,39	2,480	6,96	3,300	10,50
0,800	2,94	1,680	3,40	2,500	7,23		
0,820	2,94	1,700	3,42	2,520	7,45		

Tabla 4. 9 Titulación ácido-base

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L T: 25°C V_a: 2 mL
 pH₀: 2,68 t_c: 2 min

V _{NaOH} , mL	pH						
0,020	2,69	0,800	2,94	1,580	3,42	2,360	8,10
0,040	2,69	0,820	2,95	1,600	3,44	2,380	8,37
0,060	2,70	0,840	2,96	1,620	3,46	2,400	8,56
0,080	2,70	0,860	2,97	1,640	3,49	2,420	8,69
0,100	2,71	0,880	2,98	1,660	3,51	2,440	8,89
0,120	2,71	0,900	2,98	1,680	3,53	2,460	9,07
0,140	2,72	0,920	2,99	1,700	3,56	2,480	9,17
0,160	2,72	0,940	3,00	1,720	3,58	2,500	9,33
0,180	2,73	0,960	3,01	1,740	3,60	2,520	9,46
0,200	2,73	0,980	3,02	1,760	3,63	2,540	9,55
0,220	2,74	1,000	3,03	1,780	3,65	2,560	9,65
0,240	2,75	1,020	3,04	1,800	3,68	2,580	9,73
0,260	2,75	1,040	3,05	1,820	3,72	2,600	9,80
0,280	2,76	1,060	3,06	1,840	3,76	2,620	9,85
0,300	2,76	1,080	3,07	1,860	3,78	2,640	9,90
0,320	2,77	1,100	3,08	1,880	3,82	2,660	9,94
0,340	2,78	1,120	3,09	1,900	3,86	2,680	9,98
0,360	2,78	1,140	3,10	1,920	3,91	2,700	10,02
0,380	2,79	1,160	3,11	1,940	3,94	2,720	10,07
0,400	2,79	1,180	3,12	1,960	3,99	2,740	10,10
0,420	2,80	1,200	3,13	1,980	4,03	2,760	10,13

RESULTADOS EXPERIMENTALES

0,440	2,81	1,220	3,15	2,000	4,09	2,780	10,17
0,460	2,81	1,240	3,16	2,020	4,14	2,800	10,19
0,480	2,82	1,260	3,17	2,040	4,21	2,820	10,20
0,500	2,83	1,280	3,18	2,060	4,27	2,840	10,21
0,520	2,83	1,300	3,20	2,080	4,34	2,860	10,25
0,540	2,84	1,320	3,21	2,100	4,41	2,880	10,28
0,560	2,85	1,340	3,22	2,120	4,49	2,900	10,31
0,580	2,85	1,360	3,23	2,140	4,58	2,920	10,34
0,600	2,86	1,380	3,25	2,160	4,74	2,940	10,36
0,620	2,87	1,400	3,26	2,180	4,91	2,960	10,38
0,640	2,87	1,420	3,28	2,200	5,08	2,980	10,40
0,660	2,88	1,440	3,30	2,220	5,34	3,000	10,42
0,680	2,89	1,460	3,31	2,240	5,68	3,020	10,44
0,700	2,90	1,480	3,33	2,260	6,10	3,040	10,46
0,720	2,90	1,500	3,34	2,280	6,64	3,060	10,47
0,740	2,91	1,520	3,36	2,300	6,98	3,080	10,49
0,760	2,92	1,540	3,38	2,320	7,30	3,100	10,50
0,780	2,93	1,560	3,40	2,340	7,73		

4.2.1.2 Titulaciones redox

Tabla 4.10 Titulación redox

Biosorbente: Ninguno [B]: 0 g/L T: 25°C $V_{K_2Cr_2O_7} = 1 \text{ mL}$ pH₀: 2 t_c: 15 min

$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV	$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV
0,000	-481,8	1,216	-114,9
0,010	-482,2	1,274	-113,3
0,020	-482,5	1,524	-96,3
0,030	-482,8	1,554	-95,2
0,248	-484,4	1,762	-87,5
0,714	-453,0	1,974	-80,8
0,852	-443,3	2,208	-74,8
0,982	-159,7	2,474	-69,4
0,992	-159,3	2,778	-64,6
1,002	-159,0	3,000	-62,1

Tabla 4.11 Titulación redox

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L T: 25°C $V_{K_2Cr_2O_7} = 1$ mL

pH₀: 2 t_c: 15 min

$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV	$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV
0,000	-471,7	0,784	-126,6
0,010	-472,5	0,834	-118,2
0,020	-473,5	0,902	-109,9
0,030	-474,6	0,990	-102,2
0,108	-479,2	1,104	-95,2
0,130	-479,8	1,252	-88,2
0,374	-470,9	1,430	-82,0
0,588	-442,7	1,650	-76,2
0,670	-244,0	1,912	-71
0,680	-183,4	2,220	-66,8
0,690	-167,9	2,590	-62,1
0,700	-158,5	2,972	-58,3
0,720	-146,4	3,000	-58,1
0,748	-135,8		

Tabla 4.12 Titulación redox

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L T: 25°C $V_{K_2Cr_2O_7} = 1$ mL

pH₀: 2 t_c: 15 min

$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV	$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV
0,000	-483,2	0,964	-129,9
0,010	-489,4	1,018	-121,1
0,020	-493,3	1,088	-113,1
0,030	-498	1,180	-105,3
0,044	-502,5	1,296	-98,3
0,056	-504,5	1,446	-91,5
0,124	-508,3	1,630	-85,3
0,282	-508,7	1,856	-79,6
0,862	-173,2	2,126	-74,4
0,890	-153,6	2,440	-69,7
0,902	-147,6	2,796	-65,4
0,912	-143,5	3,000	-63,4
0,926	-138,3		

Tabla 4.13 Titulación redox

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L T: 25°C $V_{K_2Cr_2O_7} = 1$ mL

pH₀: 1 t_c: 15 min

$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV	$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV
0,000	-489,3	0,906	-161,9
0,010	-490,0	0,930	-149,4
0,020	-487,6	0,960	-138,9
0,030	-485,3	1,000	-129,7
0,078	-483,0	1,054	-121,1
0,090	-481,8	1,126	-113,1
0,190	-480,2	1,220	-105,5
0,530	-467,6	1,340	-98,3
0,742	-446,7	1,490	-91,5
0,846	-404,3	1,674	-85,4
0,856	-396,9	1,902	-79,6
0,866	-371,7	2,170	-74,5
0,876	-205,7	2,486	-69,7
0,886	-182,1	2,838	-65,5
0,896	-169,5	3,000	-63,9

Tabla 4.14 Titulación redox

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L T: 25°C $V_{K_2Cr_2O_7} = 1$ mL

pH₀: 1 t_c: 15 min

$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV	$V_{Fe^{++}}$, mL	E, mV
0	-494	0,902	-363,5
0,01	-496,6	0,912	-363,4
0,02	-496,7	1,256	-110,2
0,03	-494,6	1,28	-105,7
0,04	-494	1,29	-105,7
0,182	-489,4	1,302	-105,7
0,412	-481,5	1,828	-85,6
0,634	-471,6	2,036	-81,3
0,82	-443,5	2,338	-76,6
0,834	-448,3	2,622	-72,5
0,844	-451,6	2,984	-68,4
0,882	-357,4	3	-68
0,892	-361,7		

4.3 EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN

4.3.1 Influencia del pH

Tabla 4.15 Influencia del pH

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/LT: 25°C t_c: 48 h

pH _o	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
1,02	21,37	56,55	35,18	43,45	1,28
2,03	32,26	54,29	22,04	45,71	2,29
3,03	84,96	88,94	3,98	11,06	5,31
4,07	91,20	94,25	3,05	5,75	5,71

Tabla 4.16 Influencia del pH

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/LT: 25°C t_c: 48 h

pH _o	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(ot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
1,04	40,71	69,41	28,70	30,59	1,10
1,93	64,52	67,97	3,45	32,03	2,07
2,79	77,26	78,32	1,06	21,68	3,50
4,19	83,37	84,16	0,80	15,84	5,51

Tabla 4.17 Influencia del pH

Biosorbente: SOCL y BBCL [B]: 1 g/L [Cr(III)]₀: 25 mg/L

T: 25°C

t, h	SOCL		BBCL	
	pH	[Cr(III)], mg/L	pH	[Cr(III)], mg/L
0	2	25,00	1	25,00
24	2	21,37	1	21,11
48	2	22,04	1	22,04
96	2	21,11	1	23,36
120	3	21,11	3	18,58
128	3	20,71	3	17,79
144	4	14,60	4	17,66
152	4	14,67	4	16,99
168	5	11,15	5	12,08
176	5	8,63	5	13,67

4.3.2 Influencia del tiempo de biosorción

Tabla 4.18 Influencia del tiempo de biosorción

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L

T: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr (VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr (III)] mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	75,03	81,13	6,11	18,87
0,5	75,38	78,34	2,96	21,66
0,75	74,69	77,50	2,81	22,50
1	62,71	77,13	14,42	22,87
1,5	60,71	75,36	14,65	24,64
2	58,98	74,49	15,52	25,51
4	55,95	73,37	17,42	26,63

6	53,36	72,17	18,82	27,83
8	52,54	70,33	17,80	29,67
10	49,91	70,80	20,89	29,20
24	46,40	61,75	15,35	38,25
30	41,29	57,79	16,51	42,21
34	39,53	56,73	17,20	43,27
48	34,91	53,85	18,94	46,15
72	42,21	63,65	21,44	36,35
96	35,31	57,95	22,63	42,05
120	38,30	55,62	17,32	44,38
144	30,93	54,76	23,83	45,24

Tabla 4.19 Influencia del tiempo de biosorción

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L
 T: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr (VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr (III)] mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	78,05	79,96	1,91	20,04
0,5	76,82	79,60	2,78	20,40
0,75	70,86	74,38	3,52	25,62
1	70,05	74,27	4,23	25,73
1,5	69,01	74,94	5,93	25,06
2	63,92	71,65	7,73	28,35
4	60,60	67,23	6,63	32,77

6	57,15	63,06	5,91	36,94
8	55,57	62,66	7,09	37,34
10	55,16	63,32	8,16	36,68
24	47,39	63,03	15,64	36,97
30	47,06	60,42	13,36	39,58
34	45,60	60,46	14,86	39,54
48	46,40	62,19	15,80	37,81
72	41,90	60,26	18,35	39,74
96	43,05	58,61	15,55	41,39
120	39,57	57,68	18,11	42,32
144	41,30	57,36	16,06	42,64

Tabla 4.20 Influencia del tiempo de biosorción

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L

T: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr (VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	88,33	93,89	5,55	6,11
0,5	84,98	92,05	7,07	7,95
0,75	78,79	91,54	12,75	8,46
1	81,18	92,64	11,46	7,36
1,5	78,61	92,38	13,77	7,62
2	76,66	93,19	16,53	6,81
4	75,80	91,35	15,55	8,65

6	68,50	85,50	17,01	14,50
8	65,91	78,32	12,41	21,68
10	60,66	76,32	15,66	23,69
24	46,80	72,82	26,02	27,18
30	43,69	70,07	26,37	29,93
34	45,22	70,00	24,78	30,00
48	42,94	67,09	24,15	32,91
72	45,93	65,62	19,69	34,38
96	44,21	63,19	18,98	36,81
120	42,02	67,01	24,99	32,99
144	34,65	65,87	31,22	34,13

Tabla 4.21 Influencia del tiempo de biosorción

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L
 T: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr (VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	80,49	85,05	4,56	14,95
0,5	77,92	83,06	5,14	16,94
0,75	78,21	82,48	4,28	17,52
1	76,78	81,22	4,44	18,78
1,5	74,92	80,16	5,24	19,84
2	73,48	79,23	5,75	20,77
4	70,03	77,48	7,46	22,52

6	70,20	77,77	7,57	22,23
8	70,16	78,19	8,03	21,81
10	65,58	75,68	10,10	24,32
24	60,92	74,78	13,87	25,22
30	60,12	73,03	12,90	26,97
34	60,28	75,49	15,21	24,51
48	56,70	74,49	17,80	25,51
72	51,43	73,05	21,62	26,95
96	52,73	73,05	20,32	26,95
120	48,12	72,04	23,92	27,96
144	49,45	71,95	22,51	28,05

4.3.3 Equilibrio de la biosorción

Tabla 4.22 Equilibrio de la biosorción

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L T: 25°C pH₀: 2

[Cr(VI)] ₀ , mg/L	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
25	3,24	15,93	12,69	9,07
35	6,84	18,12	11,28	16,88
45	6,14	23,30	17,16	21,70
55	18,58	30,86	12,28	24,14
65	31,20	39,49	8,30	25,51
75	32,72	45,73	13,01	29,27
85	33,05	51,44	18,39	33,56
100	32,26	54,29	22,04	45,71

Tabla 4.23 Equilibrio de la biosorción

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L T: 25°C pH₀: 2

[Cr(VI)] ₀ , mg/L	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
25	6,11	15,53	9,43	9,47
35	8,53	22,90	14,37	12,10
45	16,79	31,13	14,34	13,87
55	20,68	37,83	17,16	17,17
65	21,04	42,48	21,44	22,52
75	24,62	46,66	22,04	28,34
85	25,22	50,18	24,96	34,82
100	32,92	57,21	24,29	42,79

Tabla 4.24 Equilibrio de la biosorción

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L T: 25°C pH₀: 1

[Cr(VI)] ₀ , mg/L	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
25	2,12	11,62	9,49	13,38
35	4,12	17,39	13,27	17,61
45	8,62	24,82	16,21	20,18
55	18,92	31,59	12,68	23,41
65	29,60	40,36	10,75	24,64
75	35,64	46,99	11,35	28,01
85	36,17	58,94	22,77	26,06
100	39,82	68,76	28,94	31,24

Tabla 4.25 Equilibrio de la biosorción

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L T: 25°C pH₀: 2

[Cr(VI)] ₀ , mg/L	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
25	7,50	14,87	7,37	10,13
35	14,31	22,57	8,26	12,43
45	18,53	29,74	11,20	15,26
55	29,20	38,76	9,56	16,24
65	35,71	49,91	14,20	15,09
75	51,37	61,60	10,22	13,40
85	46,20	60,80	14,60	24,20
100	52,44	71,42	18,98	28,58

4.3.4 Cinética de la biosorción

Tabla 4.26 Cinética de la biosorción

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L
T: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/l	[Cr(III)], mg/l	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	75,03	81,13	6,11	18,87
0,5	75,38	78,34	2,96	21,66
0,75	74,69	77,50	2,81	22,50
1	62,71	77,13	14,42	22,87
1,5	60,71	75,36	14,65	24,64
2	58,98	74,49	15,52	25,51

4	55,95	73,37	17,42	26,63
6	53,36	72,17	18,82	27,83
8	52,54	70,33	17,80	29,67
10	49,91	70,80	20,89	29,20
24	46,40	61,75	15,35	38,25
30	41,29	57,79	16,51	42,21
34	39,53	56,73	17,20	43,27
48	34,91	53,85	18,94	46,15

Tabla 4.27 Cinética de la biosorción

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L

T: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	78,05	79,96	1,91	20,04
0,5	76,82	79,60	2,78	20,40
0,75	70,86	74,38	3,52	25,62
1	70,05	74,27	4,23	25,73
1,5	69,01	74,94	5,93	25,06
2	63,92	71,65	7,73	28,35
4	60,60	67,23	6,63	32,77
6	57,15	63,06	5,91	36,94
8	55,57	62,66	7,09	37,34
10	55,16	63,32	8,16	36,68

24	47,39	63,03	15,64	36,97
30	47,06	60,42	13,36	39,58
34	45,60	60,46	14,86	39,54
48	46,40	62,19	15,80	37,81

Tabla 4.28 Cinética de la biosorción

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L

T: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	88,33	93,89	5,55	6,11
0,5	84,98	92,05	7,07	7,95
0,75	78,79	91,54	12,75	8,46
1	81,18	92,64	11,46	7,36
1,5	78,61	92,38	13,77	7,62
2	76,66	93,19	16,53	6,81
4	75,80	91,35	15,55	8,65
6	68,50	85,50	17,01	14,50
8	65,91	78,32	12,41	21,68
10	60,66	76,32	15,66	23,69
24	46,80	72,82	26,02	27,18
30	43,69	70,07	26,37	29,93
34	45,22	70,00	24,78	30,00
48	42,94	67,09	24,15	32,91

Tabla 4.29 Cinética de la biosorción

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L
 T: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	80,49	85,05	4,56	14,95
0,5	77,92	83,06	5,14	16,94
0,75	78,21	82,48	4,28	17,52
1	76,78	81,22	4,44	18,78
1,5	74,92	80,16	5,24	19,84
2	73,48	79,23	5,75	20,77
4	70,03	77,48	7,46	22,52
6	70,20	77,77	7,57	22,23
8	70,16	78,19	8,03	21,81
10	65,58	75,68	10,10	24,32
24	60,92	74,78	13,87	25,22
30	60,12	73,03	12,90	26,97
34	60,28	75,49	15,21	24,51
48	56,70	74,49	17,80	25,51

4.3.5 Influencia de la concentración del metal

Tabla 4.30 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 25 mg/L

T: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	25,00	25,00	0,00	0,00
0,25	14,74	18,02	3,29	6,98
0,5	14,64	17,54	2,90	7,46
0,75	14,47	17,47	3,00	7,53
1	13,64	16,89	3,25	8,11
1,5	12,88	16,01	3,14	8,99
2	12,78	15,43	2,65	9,57
4	12,31	14,90	2,59	10,10
6	11,57	14,37	2,80	10,63
8	9,48	13,83	4,34	11,17
10	9,47	14,20	4,73	10,80
24	8,81	13,47	4,66	11,53
30	7,47	13,61	6,14	11,39
34	5,69	13,08	7,38	11,92
48	5,17	12,28	7,11	12,72

Tabla 4.31 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 50 mg/LT: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	50,00	50,00	0,00	0,00
0,25	34,75	37,44	2,69	12,56
0,5	30,03	34,95	4,91	15,05
0,75	28,47	34,45	5,97	15,55
1	28,21	33,12	4,91	16,88
1,5	28,71	31,79	3,09	18,21
2	28,61	33,12	4,51	16,88
4	26,02	30,47	4,45	19,53
6	23,76	29,70	5,94	20,30
8	23,66	29,34	5,68	20,66
10	22,00	27,74	5,74	22,26
24	10,82	26,42	15,60	23,58
30	10,50	26,20	15,70	23,80
34	10,23	25,22	14,98	24,78
48	10,13	25,36	15,22	24,64

Tabla 4.32 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 75 mg/LT: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/l	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	75,00	75,00	0,00	0,00
0,25	54,67	56,66	1,99	18,34
0,5	53,10	56,60	3,50	18,40
0,75	53,32	55,58	2,26	19,42
1	51,29	52,48	1,19	22,52
1,5	49,96	53,98	4,03	21,02
2	47,48	51,62	4,14	23,38
4	45,82	46,99	1,17	28,01
6	40,80	44,71	3,92	30,29
8	42,70	47,90	5,20	27,10
10	40,93	45,78	4,85	29,22
24	36,40	42,77	6,37	32,23
30	29,95	40,36	10,41	34,64
34	31,79	41,37	9,58	33,63
48	30,62	42,79	12,17	32,21

Tabla 4.33 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 25 mg/L
 T: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	25,00	25,00	0,00	0,00
0,25	18,88	21,41	2,53	3,59
0,5	18,25	18,92	0,66	6,08
0,75	19,08	20,37	1,29	4,63
1	14,97	16,86	1,89	8,14
1,5	13,65	16,43	2,78	8,57
2	13,35	16,04	2,69	8,96
4	12,35	15,73	3,39	9,27
6	10,89	15,27	4,39	9,73
8	10,56	14,63	4,07	10,37
10	9,82	14,54	4,72	10,46
24	8,24	14,90	6,66	10,10
30	7,82	14,68	6,86	10,32
34	8,20	14,54	6,34	10,46
48	7,22	14,18	6,96	10,82

Tabla 4.34 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 50 mg/L
 T: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	50,00	50,00	0,00	0,00
0,25	38,43	47,39	8,96	2,61
0,5	35,51	43,67	8,16	6,33
0,75	31,88	41,02	9,14	8,98
1	32,26	39,61	7,35	10,39
1,5	30,18	38,13	7,96	11,87
2	28,87	36,64	7,77	13,36
4	27,48	33,12	5,64	16,88
6	23,43	32,42	8,99	17,58
8	22,62	31,33	8,71	18,67
10	22,17	30,72	8,55	19,28
24	19,29	29,34	10,05	20,66
30	17,39	28,28	10,89	21,72
34	16,78	28,31	11,53	21,69
48	16,39	28,96	12,57	21,04

Tabla 4.35 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 75 mg/L
 T: 25°C pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	75,00	75,00	0,00	0,00
0,25	61,99	67,11	5,11	7,89
0,5	57,28	65,71	8,43	9,29
0,75	56,35	61,20	4,85	13,80
1	54,43	59,00	4,57	16,00
1,5	51,77	58,58	6,80	16,42
2	49,28	57,21	7,93	17,79
4	45,67	54,08	8,42	20,92
6	44,66	51,24	6,58	23,76
8	41,92	48,32	6,41	26,68
10	40,14	47,98	7,84	27,02
24	37,17	47,59	10,42	27,41
30	35,38	46,00	10,61	29,00
34	33,74	45,54	11,79	29,46
48	32,48	46,04	13,57	28,96

Tabla 4.36 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 25 mg/LT: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	25,00	25,00	0,00	0,00
0,25	22,29	23,37	1,08	1,63
0,5	22,13	22,96	0,84	2,04
0,75	20,54	23,16	2,62	1,84
1	20,24	21,44	1,19	3,56
1,5	20,06	20,62	0,56	4,38
2	18,89	20,97	2,07	4,04
4	19,18	20,66	1,48	4,34
6	18,29	20,39	2,10	4,61
8	16,07	19,64	3,57	5,36
10	13,15	18,04	4,89	6,96
24	5,60	12,88	7,28	12,12
30	2,92	13,89	10,97	11,11
34	3,03	12,42	9,39	12,58
48	2,09	11,98	9,89	13,02

Tabla 4.37 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 50 mg/LT: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	50,00	50,00	0,00	0,00
0,25	44,71	49,46	4,75	0,54
0,5	41,04	47,47	6,42	2,53
0,75	41,28	46,88	5,60	3,12
1	38,90	46,30	7,40	3,70
1,5	38,49	45,68	7,20	4,32
2	36,31	43,46	7,15	6,54
4	34,69	42,21	7,52	7,79
6	30,78	39,00	8,22	11,00
8	25,73	34,89	9,16	15,11
10	24,36	34,31	9,95	15,69
24	18,82	29,44	10,61	20,56
30	15,65	28,00	12,35	22,00
34	15,20	27,92	12,72	22,08
48	14,20	28,99	14,80	21,01

Tabla 4.38 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 75 mg/LT: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	75,00	75,00	0,00	0,00
0,25	61,43	68,80	7,37	6,20
0,5	62,46	67,81	5,35	7,19
0,75	59,12	66,73	7,60	8,27
1	58,68	65,45	6,77	9,55
1,5	56,85	65,61	8,76	9,39
2	55,02	62,92	7,90	12,08
4	51,64	59,21	7,57	15,79
6	41,79	55,11	13,31	19,89
8	41,73	54,03	12,30	20,97
10	40,55	52,93	12,38	22,07
24	34,53	46,02	11,50	28,98
30	33,41	46,02	12,60	28,98
34	31,51	43,43	11,92	31,57
48	30,75	45,00	14,25	30,00

Tabla 4.39 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 25 mg/L
 T: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	25,00	25,00	0,00	0,00
0,25	21,36	24,72	3,35	0,29
0,5	20,84	24,02	3,18	0,99
0,75	20,27	23,41	3,13	1,59
1	19,98	22,96	2,98	2,04
1,5	19,72	22,45	2,73	2,55
2	19,64	22,24	2,60	2,76
4	18,23	21,67	3,44	3,33
6	17,39	21,77	4,38	3,23
8	17,22	21,10	3,88	3,90
10	15,83	19,86	4,03	5,14
24	7,94	15,79	7,85	9,21
30	8,76	15,22	6,45	9,78
34	8,82	15,31	6,49	9,69
48	7,92	15,22	7,31	9,78

Tabla 4.40 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 50 mg/L
 T: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	50,00	50,00	0,00	0,00
0,25	45,82	48,64	2,82	1,36
0,5	43,97	48,29	4,32	1,71
0,75	42,04	46,39	4,35	3,61
1	40,14	44,04	3,90	5,96
1,5	39,30	44,36	5,06	5,64
2	38,23	43,14	4,91	6,86
4	37,12	41,71	4,59	8,29
6	35,98	40,53	4,55	9,47
8	34,66	38,69	4,03	11,31
10	33,12	37,97	4,85	12,03
24	28,62	35,44	6,83	14,56
30	28,52	37,70	9,18	12,30
34	25,89	37,04	11,15	12,96
48	22,80	36,71	13,91	13,29

Tabla 4.41 Influencia de la concentración del metal

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 75 mg/L
 T: 25°C pH₀: 1

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	75,00	75,00	0,00	0,00
0,25	67,85	73,25	5,40	1,75
0,5	68,16	71,61	3,45	3,39
0,75	67,72	70,62	2,91	4,38
1	64,83	69,35	4,52	5,65
1,5	61,70	69,32	7,62	5,68
2	60,79	68,56	7,76	6,44
4	60,04	65,95	5,91	9,05
6	58,19	65,73	7,54	9,27
8	56,28	64,29	8,01	10,71
10	53,86	63,60	9,74	11,40
24	48,39	59,65	11,27	15,35
30	48,52	54,11	5,59	20,89
34	46,99	54,52	7,53	20,48
48	45,75	55,48	9,73	19,52

4.3.6 Influencia de la concentración de biosorbente

Tabla 4.42 Influencia de la concentración de biosorbente

Biosorbente: SOCL [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C

t_c: 48 h pH₀: 2

[B], g/L	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/l	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
1	37,13	57,30	20,18	42,70	2,9
2	23,23	50,31	27,08	24,90	3,52
3	25,29	52,97	27,68	15,70	3,82
4	31,73	58,81	27,08	10,30	3,95
5	36,37	59,47	23,10	8,10	4,51
6	40,89	61,86	20,97	6,36	4,89
7	47,86	63,99	16,13	5,14	4,98
8	47,72	63,19	15,47	4,60	5,23
9	44,27	61,20	16,93	4,30	5,31
10	41,82	51,77	9,96	4,80	5,52

Tabla 4.43 Influencia de la concentración de biosorbente

Biosorbente: SOSL [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C
 t_c: 48 h pH₀: 2

[B], g/l	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
1	34,38	63,06	28,67	36,94	1,94
2	27,94	59,21	31,26	20,40	2,11
3	14,34	50,98	36,64	16,34	2,18
4	4,89	48,25	43,37	12,94	2,25
5	6,21	48,59	42,37	10,28	2,32
6	1,30	49,52	48,21	8,41	2,44
7	2,54	46,59	44,06	7,63	2,43
8	4,94	33,65	28,71	8,30	2,38
10	4,47	33,45	28,98	6,65	2,5

Tabla 4.44 Influencia de la concentración de biosorbente

Biosorbente: BBCL [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C
 t_c: 48 h pH₀: 1

[B], g/L	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
1	33,19	62,39	29,20	37,61	1,33
2	12,01	51,64	39,63	24,18	1,34
3	0,94	42,75	41,81	19,08	1,19
4	0,90	48,72	47,82	12,82	1,21
5	0,37	42,35	41,98	11,53	1,25
6	0,32	41,15	40,83	9,81	1,28

7	0,33	39,43	39,10	8,65	1,26
8	0,32	41,42	41,10	7,32	1,25
10	0,32	39,43	39,11	6,06	1,28

Tabla 4.45 Influencia de la concentración de biosorbente

Biosorbente: BBSL [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C

t_c: 48 h pH₀: 1

[B], g/l	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
1	54,43	70,62	16,20	29,38	1,17
2	47,13	64,38	17,26	17,81	1,19
3	23,89	55,49	31,59	14,83	1,19
4	11,55	48,32	36,77	12,92	1,21
5	9,80	44,69	34,89	11,06	1,21
6	0,28	41,82	41,54	9,69	1,23
7	1,31	42,08	40,77	8,27	1,22
8	1,31	38,76	37,45	7,66	1,24
10	0,64	36,64	36,00	6,34	1,26

4.3.7 Influencia de la fuerza iónica

Tabla 4.46 Influencia de la fuerza iónica

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C
 t_c: 48 h pH₀: 2 [NaNO₃]: 0 M

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	78,05	79,96	1,91	20,04
0,5	76,82	79,60	2,78	20,40
0,75	70,86	74,38	3,52	25,62
1	70,05	74,27	4,23	25,73
1,5	69,01	74,94	5,93	25,06
2	63,92	71,65	7,73	28,35
4	60,60	67,23	6,63	32,77
6	57,15	63,06	5,91	36,94
8	55,57	62,66	7,09	37,34
10	55,16	63,32	8,16	36,68
24	47,39	63,03	15,64	36,97
30	47,06	60,42	13,36	39,58
34	45,60	60,46	14,86	39,54
48	46,40	62,19	15,80	37,81

Tabla 4.47 Influencia de la fuerza iónica

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C
 t_c: 48 h pH₀: 2 [NaNO₃]: 0,01 M

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
0	100,00	100,00	0,00	0,00	2,00
0,25	70,42	70,56	0,14	29,44	2,30
0,5	59,21	60,27	1,06	39,73	2,36
0,75	57,35	58,14	0,80	41,86	2,39
1	66,24	66,91	0,66	33,09	2,35
1,5	65,84	69,83	3,98	30,17	2,36
2	55,36	59,07	3,72	40,93	2,39
4	45,13	61,60	16,46	38,40	2,36
6	48,98	67,04	18,05	32,96	2,34
8	44,94	61,46	16,53	38,54	2,39
10	44,34	60,14	15,80	39,86	2,38
24	43,56	63,55	19,99	36,45	2,37
30	42,75	64,12	21,37	35,88	2,37
34	41,05	62,54	21,49	37,46	2,32
48	36,51	59,47	22,97	40,53	2,32

Tabla 4.48 Influencia de la fuerza iónica

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C
 t_c: 48 h pH₀: 2 [NaNO₃]: 0,1 M

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
0	100,00	100,00	0,00	0,00	2,00
0,25	86,09	88,15	2,06	11,85	2,31
0,5	87,88	92,39	4,51	7,61	2,29
0,75	86,95	88,94	1,99	11,06	2,30
1	86,75	90,00	3,25	10,00	2,31
1,5	84,49	86,02	1,53	13,98	2,28
2	82,24	83,37	1,13	16,63	2,34
4	80,78	81,24	0,46	18,76	2,37
6	80,18	84,69	4,51	15,31	2,41
8	78,19	79,65	1,46	20,35	2,34
10	73,48	74,68	1,21	25,32	2,54
24	74,23	76,34	2,11	23,66	2,46
30	73,67	79,34	5,67	20,66	2,43
34	75,80	83,37	7,57	16,63	2,44
48	73,01	75,93	2,92	24,07	2,44

Tabla 4.49 Influencia de la fuerza iónica

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C
 t_c: 48 h pH₀: 1 [NaNO₃]: 0 M

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	80,49	85,05	4,56	14,95
0,5	77,92	83,06	5,14	16,94
0,75	78,21	82,48	4,28	17,52
1	76,78	81,22	4,44	18,78
1,5	74,92	80,16	5,24	19,84
2	73,48	79,23	5,75	20,77
4	70,03	77,48	7,46	22,52
6	70,20	77,77	7,57	22,23
8	70,16	78,19	8,03	21,81
10	65,58	75,68	10,10	24,32
24	60,92	74,78	13,87	25,22
30	60,12	73,03	12,90	26,97
34	60,28	75,49	15,21	24,51
48	56,70	74,49	17,80	25,51

Tabla 4.50 Influencia de la fuerza iónica

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C
 t_c: 48 h pH₀: 1 [NaNO₃]: 0,01 M

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
0	100,00	100,00	0,00	0,00	1,00
0,25	89,01	93,72	4,71	6,28	1,06
0,5	87,55	91,86	4,31	8,14	1,13
0,75	81,84	87,35	5,51	12,65	1,07
1	82,44	87,48	5,04	12,52	1,07
1,5	77,39	86,04	8,65	13,96	1,08
2	76,58	87,26	10,68	12,74	1,07
4	81,24	87,88	6,64	12,12	1,16
6	76,73	84,16	7,43	15,84	1,06
8	80,05	85,23	5,18	14,77	1,04
10	75,73	82,30	6,57	17,70	1,03
24	69,30	78,59	9,29	21,41	1,02
30	50,58	79,38	28,81	20,62	1,01
34	50,34	80,34	30,00	19,66	0,99
48	47,59	79,28	31,69	20,72	1,04

Tabla 4.51 Influencia de la fuerza iónica

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 25°C
 t_c: 48 h pH₀: 1 [NaNO₃]: 0,1 M

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g	pH _f
0	100,00	100,00	0,00	0,00	1,00
0,25	89,01	90,80	1,79	9,20	1,00
0,5	85,56	89,21	3,65	10,79	0,99
0,75	82,24	87,88	5,64	12,12	1,01
1	82,11	90,53	8,43	9,47	1,03
1,5	80,25	84,96	4,71	15,04	1,04
2	85,03	86,29	1,26	13,71	1,02
4	79,12	82,84	3,72	17,16	1,04
6	76,26	85,49	9,23	14,51	1,04
8	75,93	83,37	7,43	16,63	1,03
10	74,41	79,92	5,51	20,08	1,05
24	64,58	83,81	19,23	16,19	1,02
30	47,75	70,89	23,14	29,11	1,02
34	48,34	71,01	22,67	28,99	1,00
48	47,86	69,56	21,70	30,44	1,01

4.3.8 Influencia de la temperatura

Tabla 4.52 Influencia de la temperatura. Cinética

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 30°C
 t_c: 48 h pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	68,50	79,12	10,62	20,88
0,5	66,24	74,61	8,36	25,39
0,75	65,98	71,15	5,18	28,85
1	63,72	69,56	5,84	30,44
1,5	63,06	69,56	6,50	30,44
2	61,06	69,03	7,96	30,97
4	59,74	65,31	5,58	34,69
6	56,55	62,66	6,11	37,34
8	51,51	56,42	4,91	48,49
10	50,44	53,10	2,65	49,56
24	42,75	45,67	2,92	54,33
30	35,98	51,77	15,79	48,23
34	34,12	51,77	17,66	48,23
48	38,36	55,49	17,12	44,51

Tabla 4.53 Influencia de la temperatura. Cinética

Biosorbente: SOCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 35°C
 t_c: 48 h pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	85,23	87,35	2,12	12,65
0,5	80,31	81,77	1,46	18,23
0,75	79,92	84,16	4,25	15,84
1	79,65	82,70	3,05	17,30
1,5	67,83	73,54	5,71	26,46
2	66,91	72,61	5,71	27,39
4	63,59	69,16	5,58	30,84
6	60,93	66,51	5,58	33,49
8	58,14	64,78	6,64	35,22
10	47,79	62,26	14,47	37,74
24	47,66	58,28	10,62	41,72
30	41,29	63,06	21,77	36,94
34	45,80	66,37	20,58	33,63
48	42,61	62,13	19,51	37,87

Tabla 4.54 Influencia de la temperatura. Cinética

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 30°C
 t_c: 48 h pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	68,50	75,14	6,64	24,86
0,5	66,24	72,48	6,24	27,52
0,75	65,98	71,82	5,84	28,18
1	63,72	67,70	3,98	32,30
1,5	63,06	67,70	4,65	32,30
2	61,06	67,44	6,37	32,56
4	56,55	61,33	4,78	38,67
6	56,42	63,99	7,57	36,01
8	54,69	62,52	7,83	45,31
10	51,64	53,10	1,46	46,90
24	35,98	62,79	26,82	37,21
30	34,12	60,14	26,02	39,86
34	38,36	55,62	17,26	44,38
48	42,75	61,73	18,98	38,27

Tabla 4.55 Influencia de la temperatura. Cinética

Biosorbente: SOSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 35°C
 t_c: 48 h pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	72,35	75,14	2,79	24,86
0,5	72,48	73,01	0,53	27,52
0,75	71,55	71,82	0,27	28,18
1	67,70	68,23	0,53	32,30
1,5	67,70	67,83	0,13	32,30
2	63,19	67,44	4,25	32,56
4	58,28	61,33	3,05	38,67
6	60,80	63,99	3,19	36,01
8	59,47	62,52	3,05	37,48
10	51,64	53,10	1,46	48,36
24	56,15	62,79	6,64	37,21
30	50,58	60,14	9,56	39,86
34	46,06	55,62	9,56	44,38
48	50,71	61,73	11,02	38,27

Tabla 4.56 Influencia de la temperatura. Cinética

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 30°C
 t_c: 48 h pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100	0,00	0,00
0,25	75,80	84,43	8,63	15,57
0,5	73,94	80,98	7,04	19,02
0,75	71,02	80,98	9,96	19,02
1	70,36	79,12	8,76	20,88
1,5	69,16	78,06	8,89	21,94
2	61,20	75,67	14,47	24,33
4	60,40	70,09	9,69	29,91
6	56,42	66,11	9,69	33,89
8	55,75	63,45	7,70	36,55
10	43,67	55,75	12,08	44,25
24	41,95	57,08	15,13	42,92
30	39,69	58,68	18,98	41,32
34	39,56	52,30	12,74	47,70
48	33,32	59,47	26,15	40,53

Tabla 4.57 Influencia de la temperatura. Cinética

Biosorbente: BBCL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T: 35°C
 t_c: 48 h pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100	0,00	0,00
0,25	84,83	89,34	4,51	10,66
0,5	79,52	85,49	5,97	14,51
0,75	78,85	82,04	3,19	17,96
1	79,12	83,10	3,98	16,90
1,5	76,60	79,65	3,05	20,35
2	68,76	72,35	3,58	27,65
4	68,76	72,48	3,72	27,52
6	65,05	68,90	3,85	31,10
8	59,21	65,71	6,50	34,29
10	45,53	62,39	16,86	37,61
24	41,02	60,80	19,78	39,20
30	40,89	57,35	16,46	42,65
34	35,44	60,14	24,69	39,86
48	33,32	59,07	25,75	40,93

Tabla 4.58 Influencia de la temperatura. Cinética

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T:30°C
 t_c: 48 h pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	69,03	73,54	4,51	26,46
0,5	68,90	69,03	0,13	30,97
0,75	68,23	68,50	0,27	31,50
1	65,45	66,37	0,93	33,63
1,5	60,27	61,99	1,73	38,01
2	58,68	61,86	3,19	38,14
4	55,49	58,68	3,19	41,32
6	48,06	58,14	10,09	41,86
8	50,23	56,35	6,12	43,65
10	52,17	53,10	0,93	46,90
24	46,59	47,79	1,19	52,21
30	42,75	47,52	4,78	52,48
34	43,56	45,67	2,11	54,33
48	38,36	45,67	7,30	54,33

Tabla 4.59 Influencia de la temperatura. Cinética

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L [Cr(VI)]₀: 100 mg/L T:35°C
 t_c: 48 h pH₀: 2

t, h	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
0	100,00	100	0,00	0,00
0,25	76,60	77,13	0,53	22,87
0,5	73,01	73,94	0,93	26,06
0,75	71,55	73,94	2,39	26,06
1	69,96	73,14	3,19	26,86
1,5	65,98	74,07	8,10	25,93
2	65,45	73,68	8,23	26,32
4	60,27	69,16	8,89	30,84
6	59,34	67,04	7,70	32,96
8	57,88	64,91	7,04	35,09
10	56,29	64,78	8,50	35,22
24	50,18	63,59	13,41	36,41
30	45,40	60,80	15,40	39,20
34	45,67	53,76	8,10	46,24
48	40,36	62,79	22,43	37,21

4.4 BIOMASA ENCAPSULADA

Tabla 4.60 Biomasa encapsulada Equilibrio de la biosorción

Biosorbente: BBSL [B]: 1 g/L T: 25°C pH₀: 1
 t_c: 168 h

[Cr(VI)] ₀ , mg/L	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	q, mg/g
25	12,80	13,42	0,62	11,58
35	10,72	17,35	6,63	17,65
45	16,40	25,14	8,74	19,86
55	27,61	34,71	7,10	20,29
65	29,62	41,39	11,77	23,61
75	35,01	47,56	12,55	27,44
85	41,03	55,14	14,11	29,86
100	44,12	59,90	15,78	40,10

Tabla 4.61 Biomasa encapsulada. Cinética de la biosorción – 1° Ciclo

Biosorbente: BBSL $d_p = 3 \text{ mm}$ $[\text{Cr(VI)}]_0: 100 \text{ mg/L}$ T: 25°C
 $\text{pH}_0: 1$

t, h	[B], g/L	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)], mg/L	[Cr(III)], mg/L	[Cr(VI)], mg/g	[Cr(Tot)], mg/g	[Cr(III)], mg/g	q, mg/g
0	1	100,00	100,00	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	1,00	88,69	89,16	0,46	88,69	89,16	0,46	10,84
0,5	1,02	87,92	87,92	0,00	86,16	86,16	0,00	11,84
0,75	1,04	89,46	89,46	0,00	85,89	85,89	0,00	10,11
1	1,06	86,38	86,38	0,00	81,20	81,20	0,00	12,80
1,5	1,09	87,77	88,54	0,77	80,75	81,46	0,71	10,54
2	1,11	89,46	89,46	0,00	80,52	80,52	0,00	9,48
4	1,14	86,23	86,23	0,00	75,88	75,88	0,00	12,12
6	1,16	81,91	81,91	0,00	70,44	70,44	0,00	15,56
8	1,19	83,45	83,45	0,00	70,10	70,10	0,00	13,90
10	1,22	83,29	85,30	2,01	68,30	69,95	1,64	12,05
24	1,25	70,03	71,26	1,23	56,02	57,01	0,99	22,99
30	1,28	72,03	76,51	4,47	56,19	59,68	3,49	18,32
34	1,32	71,11	77,90	6,79	54,04	59,20	5,16	16,80
48	1,35	60,47	68,18	7,71	44,74	50,45	5,71	23,55
72	1,39	59,39	69,88	10,49	42,76	50,31	7,55	21,69
96	1,43	56,92	68,18	11,26	39,84	47,72	7,88	22,28
120	1,47	39,80	62,32	22,52	27,06	42,38	15,31	25,62
144	1,52	35,79	58,46	22,67	23,62	38,58	14,97	27,42
168	1,56	33,93	56,92	22,98	21,72	36,43	14,71	27,57

Tabla 4.62 Biomasa encapsulada. Cinética de la biosorción – 1° Ciclo

Biosorbente: BBSL $d_p = 4\text{mm}$ $[\text{Cr(VI)}]_0: 100\text{ mg/L}$ $T: 25^\circ\text{C}$
 $\text{pH}_0: 1$

t, h	[B], g/L	[Cr(VI)], mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	[Cr(VI)] mg/g	[Cr(Tot)] mg/g	[Cr(III)] mg/g	q, mg/g
0	1	100,00	100,00	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	1,00	92,40	92,40	0,00	92,40	92,40	0,00	7,60
0,5	1,02	91,62	92,24	0,62	89,79	90,40	0,60	7,60
0,75	1,04	89,77	91,16	1,39	86,18	87,52	1,33	8,48
1	1,06	89,31	89,31	0,00	83,95	83,95	0,00	10,05
1,5	1,09	88,54	89,46	0,93	81,46	82,31	0,85	9,69
2	1,11	90,39	91,32	0,93	81,35	82,18	0,83	7,82
4	1,14	86,69	86,69	0,00	76,29	76,29	0,00	11,71
6	1,16	87,00	88,08	1,08	74,82	75,75	0,93	10,25
8	1,19	87,77	87,77	0,00	73,73	73,73	0,00	10,27
10	1,22	85,30	86,07	0,77	69,95	70,58	0,63	11,42
24	1,25	76,97	78,98	2,01	61,58	63,18	1,60	16,82
30	1,28	72,34	79,13	6,79	56,43	61,72	5,29	16,28
34	1,32	71,26	78,36	7,10	54,16	59,55	5,39	16,45
48	1,35	62,93	71,57	8,64	46,57	52,96	6,39	21,04
72	1,39	60,16	70,03	9,87	43,31	50,42	7,11	21,58
96	1,43	58,15	68,49	10,33	40,71	47,94	7,23	22,06
120	1,47	41,18	62,47	21,29	28,01	42,48	14,47	25,52
144	1,52	39,18	58,77	19,59	25,86	38,79	12,93	27,21
168	1,56	39,49	60,31	20,82	25,27	38,60	13,33	25,40

Tabla 4.63 Biomasa encapsulada. Cinética de la biosorción – 1° Ciclo

Biosorbente: BBSL $d_p = 6$ mm $[\text{Cr(VI)}]_0: 100$ mg/L T: 25°CpH₀: 1

t, h	[B] g/L	[Cr(VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	[Cr(VI)] mg/g	[Cr(Tot)] mg/g	[Cr(III)] mg/g	q, mg/g
0	1	100,00	100,00	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	1,00	97,64	97,64	0,00	97,64	97,64	0,00	2,36
0,5	1,02	92,86	92,86	0,00	91,00	91,00	0,00	7,00
0,75	1,04	91,16	91,16	0,00	87,52	87,52	0,00	8,48
1	1,06	89,93	89,93	0,00	84,53	84,53	0,00	9,47
1,5	1,09	88,69	89,62	0,93	81,60	82,45	0,85	9,55
2	1,11	93,17	93,17	0,00	83,85	83,85	0,00	6,15
4	1,14	94,40	94,40	0,00	83,07	83,07	0,00	4,93
6	1,16	88,08	88,85	0,77	75,75	76,41	0,66	9,59
8	1,19	89,00	89,00	0,00	74,76	74,76	0,00	9,24
10	1,22	86,23	86,23	0,00	70,70	70,70	0,00	11,30
24	1,25	88,39	88,39	0,00	70,71	70,71	0,00	9,29
30	1,28	76,35	81,60	5,24	59,56	63,65	4,09	14,35
34	1,32	75,89	78,67	2,78	57,68	59,79	2,11	16,21
48	1,35	63,71	72,65	8,95	47,14	53,76	6,62	20,24
72	1,39	60,62	70,49	9,87	43,65	50,75	7,11	21,25
96	1,43	58,46	71,26	12,80	40,92	49,88	8,96	20,12
120	1,47	46,89	67,87	20,98	31,89	46,15	14,27	21,85
144	1,52	40,72	59,69	18,97	26,88	39,40	12,52	26,60
168	1,56	39,80	60,31	20,52	25,47	38,60	13,13	25,40

Tabla 4.64 Biomasa encapsulada. Cinética de la biosorción – 2° Ciclo

Biosorbente: BBSL $d_p = 3 \text{ mm}$ $[\text{Cr(VI)}]_0: 100 \text{ mg/L}$ T: 25°C

pH₀: 1

t, h	[B] g/L	[Cr(VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	[Cr(VI)] mg/g	[Cr(Tot)] mg/g	[Cr(III)] mg/g	q, mg/g
0	1	100,00	100,00	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	1,00	90,39	91,16	0,77	90,39	91,16	0,77	8,84
0,5	1,02	89,77	91,32	1,54	87,98	89,49	1,51	8,51
0,75	1,04	88,69	91,01	2,31	85,15	87,37	2,22	8,63
1	1,06	86,38	89,31	2,93	81,20	83,95	2,75	10,05
1,5	1,09	85,30	89,46	4,16	78,48	82,31	3,83	9,69
2	1,11	87,00	89,16	2,16	78,30	80,24	1,94	9,76
4	1,14	86,69	88,85	2,16	76,29	78,19	1,90	9,81
6	1,16	85,45	87,92	2,47	73,49	75,61	2,12	10,39
8	1,19	83,45	87,61	4,16	70,10	73,60	3,50	10,40
10	1,22	83,29	86,07	2,78	68,30	70,58	2,28	11,42
24	1,25	70,03	78,67	8,64	56,02	62,93	6,91	17,07
30	1,28	72,34	76,51	4,16	56,43	59,68	3,25	18,32
34	1,32	71,11	75,26	4,15	54,04	57,20	3,16	18,80
48	1,35	63,71	71,57	7,87	47,14	52,96	5,82	21,04
72	1,39	59,39	70,49	11,11	42,76	50,75	8,00	21,25
96	1,43	58,46	68,49	10,03	40,92	47,94	7,02	22,06
120	1,47	39,80	62,47	22,67	27,06	42,48	15,42	25,52
144	1,52	39,18	59,69	20,52	25,86	39,40	13,54	26,60
168	1,56	33,93	56,92	22,98	21,72	36,43	14,71	27,57

Tabla 4.65 Biomasa encapsulada. Cinética de la biosorción – 2º Ciclo

Biosorbente: BBSL $d_p = 4\text{mm}$ $[\text{Cr(VI)}]_0: 100\text{ mg/L}$ $T: 25^\circ\text{C}$
 $\text{pH}_0: 1$

t, h	[B] g/L	[Cr(VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	[Cr(VI)] mg/g	[Cr(Tot)] mg/g	[Cr(III)] mg/g	q, mg/g
0	1	100,00	100	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	1,00	89,93	89,93	0,00	89,93	89,93	0,00	10,07
0,5	1,02	89,46	89,46	0,00	87,68	87,68	0,00	10,32
0,75	1,04	88,69	89,62	0,93	85,15	86,03	0,89	9,97
1	1,06	87,00	87,00	0,00	81,78	81,78	0,00	12,22
1,5	1,09	86,69	86,69	0,00	79,75	79,75	0,00	12,25
2	1,11	85,76	85,76	0,00	77,19	77,19	0,00	12,81
4	1,14	85,61	85,61	0,00	75,34	75,34	0,00	12,66
6	1,16	83,29	83,29	0,00	71,63	71,63	0,00	14,37
8	1,19	82,52	82,52	0,00	69,32	69,32	0,00	14,68
10	1,22	81,75	81,75	0,00	67,04	67,04	0,00	14,96
24	1,25	79,75	79,75	0,00	63,80	63,80	0,00	16,20
30	1,28	76,35	78,60	2,24	59,56	61,31	1,75	16,69
34	1,32	75,89	77,36	1,47	57,68	58,79	1,12	17,21
48	1,35	62,93	72,65	9,72	46,57	53,76	7,19	20,24
72	1,39	60,62	70,03	9,41	43,65	50,42	6,77	21,58
96	1,43	56,92	68,18	11,26	39,84	47,72	7,88	22,28
120	1,47	41,18	62,32	21,13	28,01	42,38	14,37	25,62
144	1,52	35,79	58,46	22,67	23,62	38,58	14,97	27,42
168	1,56	39,49	57,31	17,82	25,27	36,68	11,41	27,32

Tabla 4.66 Biomasa encapsulada. Cinética de la biosorción – 2° Ciclo

Biosorbente: BBSL $d_p = 6 \text{ mm}$ $[\text{Cr(VI)}]_0: 100 \text{ mg/L}$ $T: 25^\circ\text{C}$
 $\text{pH}_0: 1$

$t, \text{ h}$	$[\text{B}]$ g/L	$[\text{Cr(VI)}]$ mg/L	$[\text{Cr(Tot)}]$ mg/L	$[\text{Cr(III)}]$ mg/L	$[\text{Cr(VI)}]$ mg/g	$[\text{Cr(Tot)}]$ mg/g	$[\text{Cr(III)}]$ mg/g	$q, \text{ mg/g}$
0	1	100,00	100	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	1,00	92,40	92,40	0,00	92,40	92,40	0,00	7,60
0,5	1,02	91,62	92,24	0,62	89,79	90,40	0,60	7,60
0,75	1,04	91,16	91,16	0,00	87,52	87,52	0,00	8,48
1	1,06	89,00	89,00	0,00	83,66	83,66	0,00	10,34
1,5	1,09	88,23	88,23	0,00	81,17	81,17	0,00	10,83
2	1,11	87,77	88,54	0,77	78,99	79,69	0,69	10,31
4	1,14	86,23	86,23	0,00	75,88	75,88	0,00	12,12
6	1,16	86,23	86,23	0,00	74,15	74,15	0,00	11,85
8	1,19	84,07	84,07	0,00	70,62	70,62	0,00	13,38
10	1,22	81,91	82,22	0,31	67,16	67,42	0,25	14,58
24	1,25	76,97	78,98	2,01	61,58	63,18	1,60	16,82
30	1,28	72,03	79,13	7,10	56,19	61,72	5,53	16,28
34	1,32	71,26	77,90	6,63	54,16	59,20	5,04	16,80
48	1,35	61,47	75,18	13,71	45,48	55,63	10,15	18,37
72	1,39	60,16	71,88	11,72	43,31	51,75	8,44	20,25
96	1,43	58,15	71,26	13,11	40,71	49,88	9,18	20,12
120	1,47	46,89	67,87	20,98	31,89	46,15	14,27	21,85
144	1,52	39,18	64,77	25,59	25,86	42,75	16,89	23,25
168	1,56	40,72	60,31	19,59	26,06	38,60	12,54	25,40

Tabla 4.67 Biomasa encapsulada. Cinética de la biosorción – 3° Ciclo

Biosorbente: BBSL $d_p = 3 \text{ mm}$ $[\text{Cr(VI)}]_0: 100 \text{ mg/L}$ T: 25°C

pH₀: 1

t, h	[B] g/L	[Cr(VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	[Cr(VI)] mg/g	[Cr(Tot)] mg/g	[Cr(III)] mg/g	q, mg/g
0	1	100,00	100	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	1,00	87,77	87,92	0,15	87,77	87,92	0,15	12,08
0,5	1,02	81,44	86,69	5,24	79,81	84,95	5,14	13,05
0,75	1,04	80,83	86,07	5,24	77,59	82,63	5,03	13,37
1	1,06	79,90	85,76	5,86	75,11	80,62	5,51	13,38
1,5	1,09	79,13	84,22	5,09	72,80	77,48	4,68	14,52
2	1,11	78,36	84,22	5,86	70,52	75,80	5,28	14,20
4	1,14	78,67	83,60	4,94	69,23	73,57	4,34	14,43
6	1,16	77,12	83,76	6,63	66,33	72,03	5,70	13,97
8	1,19	75,43	82,22	6,79	63,36	69,06	5,70	14,94
10	1,22	73,58	82,06	8,48	60,33	67,29	6,96	14,71
24	1,25	72,65	81,75	9,10	58,12	65,40	7,28	14,60
30	1,28	71,57	81,75	10,18	55,83	63,77	7,94	14,23
34	1,32	70,34	81,60	11,26	53,46	62,01	8,56	13,99
48	1,35	70,03	81,29	11,26	51,82	60,15	8,33	13,85
72	1,39	58,92	80,52	21,59	42,42	57,97	15,55	14,03
96	1,43	63,24	78,20	14,96	44,27	54,74	10,47	15,26
120	1,47	62,78	77,28	14,50	42,69	52,55	9,86	15,45
144	1,52	61,85	74,04	12,19	40,82	48,87	8,04	17,13
168	1,56	61,55	74,97	13,42	39,39	47,98	8,59	16,02

Tabla 4.68 Biomasa encapsulada. Cinética de la biosorción – 3º Ciclo

Biosorbente: BBSL $d_p = 4\text{mm}$ $[\text{Cr(VI)}]_0: 100\text{ mg/L}$ T: 25°C
 $\text{pH}_0: 1$

t, h	[B] g/L	[Cr(VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	[Cr(VI)] mg/g	[Cr(Tot)] mg/g	[Cr(III)] mg/g	q_t , mg/g
0	1	100,00	100	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	1,00	87,47	87,92	0,45	87,47	87,92	0,45	12,08
0,5	1,02	86,06	87,77	1,71	84,33	86,01	1,68	11,99
0,75	1,04	79,75	85,76	6,02	76,56	82,33	5,78	13,67
1	1,06	78,67	83,63	4,96	73,95	78,61	4,66	15,39
1,5	1,09	78,36	82,52	4,16	72,09	75,92	3,83	16,08
2	1,11	78,67	82,99	4,32	70,80	74,69	3,89	15,31
4	1,14	77,59	81,14	3,55	68,28	71,40	3,12	16,60
6	1,16	72,81	80,21	7,40	62,61	68,98	6,37	17,02
8	1,19	72,19	80,06	7,87	60,64	67,25	6,61	16,75
10	1,22	71,11	80,54	9,44	58,31	66,05	7,74	15,95
24	1,25	71,26	80,08	8,82	57,01	64,07	7,05	15,93
30	1,28	67,87	79,28	11,41	52,94	61,84	8,90	16,16
34	1,32	63,55	79,28	15,73	48,30	60,26	11,96	15,74
48	1,35	60,16	78,82	18,66	44,52	58,33	13,81	15,67
72	1,39	66,64	78,36	11,72	47,98	56,42	8,44	15,58
96	1,43	66,48	75,27	8,79	46,54	52,69	6,15	17,31
120	1,47	62,78	74,35	11,57	42,69	50,56	7,87	17,44
144	1,52	62,16	71,26	9,10	41,03	47,03	6,01	18,97
168	1,56	64,17	69,64	5,47	41,07	44,57	3,50	19,43

Tabla 4.69 Biomasa encapsulada. Cinética de la biosorción – 3° Ciclo

Biosorbente: BBSL $d_p = 6 \text{ mm}$ $[\text{Cr(VI)}]_0: 100 \text{ mg/L}$ T: 25°CpH₀: 1

t, h	[B] g/L	[Cr(VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	[Cr(VI)] mg/g	[Cr(Tot)] mg/g	[Cr(III)] mg/g	q, mg/g
0	1	100,00	100	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00
0,25	1,00	82,22	85,15	2,93	82,22	85,15	2,93	14,85
0,5	1,02	78,67	83,91	5,24	77,09	82,23	5,14	15,77
0,75	1,04	78,51	82,81	4,29	75,37	79,49	4,12	16,51
1	1,06	77,59	82,83	5,24	72,93	77,86	4,93	16,14
1,5	1,09	77,59	81,91	4,32	71,38	75,35	3,97	16,65
2	1,11	75,58	80,36	4,78	68,02	72,33	4,30	17,67
4	1,14	75,12	80,06	4,94	66,11	70,45	4,34	17,55
6	1,16	74,04	79,90	5,86	63,67	68,72	5,04	17,28
8	1,19	72,65	79,59	6,94	61,03	66,86	5,83	17,14
10	1,22	70,80	79,44	8,64	58,06	65,14	7,08	16,86
24	1,25	69,26	78,67	9,41	55,41	62,93	7,53	17,07
30	1,28	67,72	78,82	11,11	52,82	61,48	8,66	16,52
34	1,32	63,24	78,08	14,83	48,06	59,34	11,27	16,66
48	1,35	62,32	77,59	15,27	46,11	57,41	11,30	16,59
72	1,39	68,49	77,74	9,25	49,31	55,97	6,66	16,03
96	1,43	66,79	76,66	9,87	46,75	53,66	6,91	16,34
120	1,47	62,16	76,51	14,35	42,27	52,03	9,75	15,97
144	1,52	61,70	77,90	16,20	40,72	51,41	10,69	14,59
168	1,56	62,78	73,45	10,66	40,18	47,01	6,83	16,99

Tabla 4.70 Cápsulas de polisulfona Experimento de biosorción control

Biosorbente: Polisulfona $d_p = 3 \text{ mm}$ $[\text{Cr(VI)}]_0: 100 \text{ mg/L}$ T: 25°C

$\text{pH}_0: 1$

t, h	[Pol] g/L	[Cr(VI)] mg/L	[Cr(Tot)] mg/L	[Cr(III)] mg/L	q, mg/g
0	3,34	100,00	100,00	0,00	0,00
24	3,34	87,99	89,93	1,94	3,02
48	3,41	86,06	88,08	2,02	3,50
72	3,48	85,53	87,92	2,39	3,47
96	3,55	82,37	84,60	2,23	4,34
120	3,63	75,04	77,59	2,55	6,18
144	3,71	74,35	76,59	2,23	6,31
168	3,79	74,35	76,05	1,69	6,32

5 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 CRECIMIENTO DE LAS MICROALGAS

En este primer apartado se describe el crecimiento de las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii*, en un medio sintético de cultivo y en aguas residuales urbanas. Se analiza la eliminación de nutrientes N y P por *Scenedesmus* y se calculan previamente los parámetros que permiten determinar la situación de stress hidrodinámico y de limitación por nutrientes del crecimiento.

5.1.1 Parámetros geométricos y operacionales

5.1.1.1 Aireación y agitación

En la Tabla 5.1 se recogen los parámetros geométricos y operacionales del reactor y de los sistemas de aireación y agitación utilizados.

Tabla 5.1 Parámetros geométricos y operacionales

REACTOR			
D_i , m	h_i , m	h_i/D_i	S_i , m ²
$7 \cdot 10^{-2}$	$13 \cdot 10^{-2}$	1,9	$3,8 \cdot 10^{-3}$
BURBUJEADOR		AGITADOR	
D_o , m	S_o , m ²	d_i , m	e_i , m
$5 \cdot 10^{-3}$	$19,6 \cdot 10^{-3}$	$3,9 \cdot 10^{-2}$	$8 \cdot 10^{-3}$
AIREACIÓN			
Q , m ³ /h	v_g , m/s	U_g , m/s	Re_o
$8,33 \cdot 10^{-6}$	0,43	$2,19 \cdot 10^{-3}$	140
AGITACIÓN			
N_i , rpm	Re_i	N_{Fr}	N_a
250	7098	$6,91 \cdot 10^{-2}$	$3,37 \cdot 10^{-2}$

La velocidad de salida del aire a través del burbujeador, v_g , y la velocidad superficial de circulación del aire a través del reactor, U_g , calculadas mediante las ecuaciones [5.1] y [5.2], distan de los valores que originan un stress hidrodinámico importante en las algas con pared celular, caso de las algas *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii*.

$$v_g = \frac{Q}{S_o} \quad [5.1]$$

$$U_g = \frac{Q}{S_i} \quad [5.2]$$

(Barbosa et al., 2003) detectan disminución de la viabilidad celular en cultivos de células mutantes, sin pared celular, de *Chlamydomonas reinhardtii* a $v_g > 17$ m/s. Este valor

se eleva a 66 m/s en cultivos de células no mutantes de la misma alga, lo que pone de manifiesto el importante papel de la pared celular sobre la protección de las microalgas.

La utilización de reactores tipo tanque agitado permite operar a velocidades superficiales de aireación muy inferiores a las utilizadas en reactores neumáticos, del orden de 0,006-0,85 m/s ya que en éstos la aireación debe proporcionar el grado de mezcla deseado en el cultivo.

Los valores de los números de Reynolds referidos a la circulación del aire a través del burbujeador y con respecto a la agitación, Re_o y Re_i , ecuaciones [5.3] y [5.4] permiten caracterizar el régimen de formación de burbujas así como el régimen de flujo del medio de cultivo en el reactor.

$$Re_o = \frac{4 Q \rho_g}{\pi d_o \mu_g} \quad [5.3]$$

$$Re_i = \frac{d_i^2 N_i \rho_L}{\mu_L} \quad [5.4]$$

$Re_o < 200$, origina el régimen de burbuja única, de tamaño constante, función de d_o y frecuencia de burbujeo, f , directamente proporcional al caudal volumétrico de aire Q . Los valores utilizados para las propiedades físicas del aire y medio a 25°C han sido:

$$\rho_g = 1,184 \text{ kg/m}^3; \quad \mu_g = 1,8 \cdot 10^{-5} \text{ Pa.s}; \quad \rho_L = 997,13 \text{ kg/m}^3; \quad \mu_L = 8,91 \cdot 10^{-4} \text{ Pa.s}$$

La condición $10 < Re_i < 10000$ determina el régimen de transición, turbulento en las proximidades del agitador y laminar en los puntos del reactor más alejados del mismo.

Los números de Froude respecto al agitador, N_{Fr} , y el número de aireación N_a , ecuaciones [5.5] y [5.6] determinan la eficiencia del agitador en la dispersión de burbujas y los diferentes regímenes de flujo gas-líquido en el reactor.

$$N_{Fr} = \frac{N_i^2 d_i}{g} \quad [5.5]$$

$$N_a = \frac{Q}{N_i d_i^3} \quad [5.6]$$

Para $N_{Fr} > 4 \cdot 10^{-2}$ y N_a pequeños, el agitador es capaz de dispersar eficientemente el aire por toda la suspensión de células. A valores altos de N_a bien por altos valores de caudal de aire, Q , o por bajos valores de la velocidad de rotación del agitador, N_i , éste es ineficiente en la dispersión del gas. En estas condiciones ocurre el fenómeno denominado inundación (flooding), ascendiendo las burbujas de aire en una estrecha trayectoria helicoidal a lo largo del eje del reactor.

Las ecuaciones [5.7] y [5.8] permiten evaluar para $N_{Fr} > 4 \cdot 10^{-2}$ el máximo valor del número de aireación hasta el que existirá dispersión completa de las burbujas de aire N_{aCD} y el mínimo valor del mismo número N_{aFl} a partir del cual ocurrirá la inundación.

$$N_{aCD} = C_{CD} N_{Fr}^{0,5} \left(\frac{d_i}{D_i} \right)^{0,5} \quad [5.7]$$

$$N_{aFl} = C_{Fl} N_{Fr} \left(\frac{d_i}{D_i} \right)^{3,5} \quad [5.8]$$

Estos valores resultan:

$$N_{aCD} = 3,9 \cdot 10^{-2} \quad \text{y} \quad N_{aFl} = 0,27$$

lo que indica que el aire suministrado está perfectamente disperso. Si bien, estos valores están ligeramente sobredimensionados ya que los coeficientes utilizados $C_{CD} = 0,2$ y $C_{Fl} = 30$ corresponden a un agitador tipo turbina, más eficiente que el utilizado en este trabajo.

5.1.1.2 Medios de cultivo

Considerando para la composición elemental media, de una biomasa balanceada, la fórmula propuesta por (Harrison, 1967)



se pueden obtener las relaciones másicas entre los diferentes elementos que la constituyen, éstas son: H/C 0,14; N/C 0,19; O/C 0,69; P/C 0,014 y N/P 13,4.

Esta última relación, N/P, para los medios de cultivo utilizados, Tablas 3.2 a 3.4, es de

$$RL: 9 \quad Chu-13*4: 5,13 \quad ARUT: 67,44 \quad ARUJ: 2,63$$

lo que evidencia la desproporción existente en cuanto a las necesidades de las células y la composición de los diferentes medios utilizados, deficitarios en N el medio RL, Chu-13*4 y ARUJ y en P el medio ARUT.

5.2 CURVAS DE CRECIMIENTO

De todos los modelos ensayados, solo el de Gompertz modificado, (Li et al., 2005), ecuación [5.9] reproduce aceptablemente las curvas de crecimiento de las microalgas utilizadas con los medios de cultivo ensayados.

$$C = C_m \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m e}{C_m} (t_{lag} - t) + 1 \right] \right\} \quad [5.9]$$

En este modelo de tres parámetros, C_m , representa el valor asintótico o máxima concentración de biomasa alcanzable en la zona estacionaria de crecimiento, μ_m la velocidad específica de crecimiento máxima correspondiente a la zona de crecimiento exponencial, t_{lag} el tiempo de adaptación al comienzo del cultivo, siendo e la base de los logaritmos neperianos.

En la Tabla 5.2 se recogen los valores obtenidos, por ajuste mediante regresión no lineal, de los resultados experimentales a la ecuación [5.9]. Se ha utilizado como herramienta de cálculo “Matlab R2011a” y la Toolbox “Curve Fitting”. Se incluyen también el coeficiente de regresión, el sumatorio del cuadrado de los residuos y el error cuadrático medio, definidos estos últimos por las expresiones:

$$SSE = \sum_{i=1}^n (y_{exp} - y_{cal})^2 \quad ; \quad RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{exp} - y_{cal})^2}{n}}$$

en las que y_{exp} representa el valor experimental de la variable considerada, y_{cal} el obtenido mediante el modelo y n el número de valores experimentales disponibles para el ajuste.

Tabla 5.2 Modelo de crecimiento “Gompertz modificado”

Microalga: <i>Scenedesmus obliquus</i>		Medio: Sintético Chu-13*4
C_m : 0,63 g/L	μ_m : 0,0058 h ⁻¹	t_{lag} : 0,0 h
r^2 : 0,880	SSE : 0,0507	RMSE: 0,0650
Microalga: <i>Scenedesmus obliquus</i>		Medio: ARUT
C_m : 0,96 g/L	μ_m : 0,0014 h ⁻¹	t_{lag} : 3,9 h
r^2 : 0,982	SSE : 0,0123	RMSE: 0,0226
Microalga: <i>Botryococcus braunii</i>		Medio: Sintético Chu-13*4
C_m : 2,02 g/L	μ_m : 0,0014 h ⁻¹	t_{lag} : 179 h
r^2 : 0,996	SSE : 0,0172	RMSE: 0,0225
Microalga: <i>Botryococcus braunii</i>		Medio: ARUJ
C_m : 3,54 g/L	μ_m : 0,0017 h ⁻¹	t_{lag} : 358 h
r^2 : 0,990	SSE : 0,0342	RMSE: 0,0317

La utilización de un modelo que permite la obtención de μ_m ponderadamente, basado en toda la curva de crecimiento proporciona valores, en general, algo inferiores a cuando se calcula solo con los valores correspondientes al comienzo del cultivo.

La mayor velocidad de crecimiento la presenta *Scenedesmus obliquus* en medio sintético, disminuyendo en casi un 76%, como consecuencia de crecer en el agua residual de la ciudad de Tetuán que solo ha sufrido un tratamiento primario.

Para *Botryococcus* no se observa ninguna disminución en μ_m al crecer en el agua residual urbana de la ciudad de Linares, depurada mediante un tratamiento secundario de

lodos activos. El agua residual constituye un medio adecuado de crecimiento comparable al medio sintético.

Velocidades de crecimiento similares en medios sintético y aguas residuales también se observan para *Scenedesmus*, si el agua residual urbana es tratada mediante un procedimiento convencional (Muñoz, L., 1997). Disminuciones significativas ocurren cuando *Scenedesmus* crece en distintas diluciones de aguas residuales industriales procedentes del método de extracción de aceite de oliva (Hodaifa G., 2004).

La producción de hidrocarburos en *Botryococcus* está ligada al crecimiento y las pequeñas velocidades de crecimiento que normalmente esta microalga presenta son debidas a que gran parte del consumo energético es derivado a la síntesis de estos compuestos energéticos y no al crecimiento (Banerjee et al., 2002).

Ambas algas crecen a mayor velocidad si los cultivos son iluminados de forma continua y se aporta aire enriquecido en dióxido de carbono (Orpez, R).

Solo para *Scenedesmus* en medio sintético, el cultivo alcanza la zona estacionaria de crecimiento, en aproximadamente 192 h, siendo la limitación por N la causa probable del cese del crecimiento, Figuras 5.1 y 5.2.

(Kim et al., 2005) utilizando *Scenedesmus sp.* en un medio residual y en el medio sintético basal Bold 10 % determinan velocidades específicas de crecimiento de 0,0017 y 0,005 h⁻¹ muy parecidas a las determinadas en este trabajo.

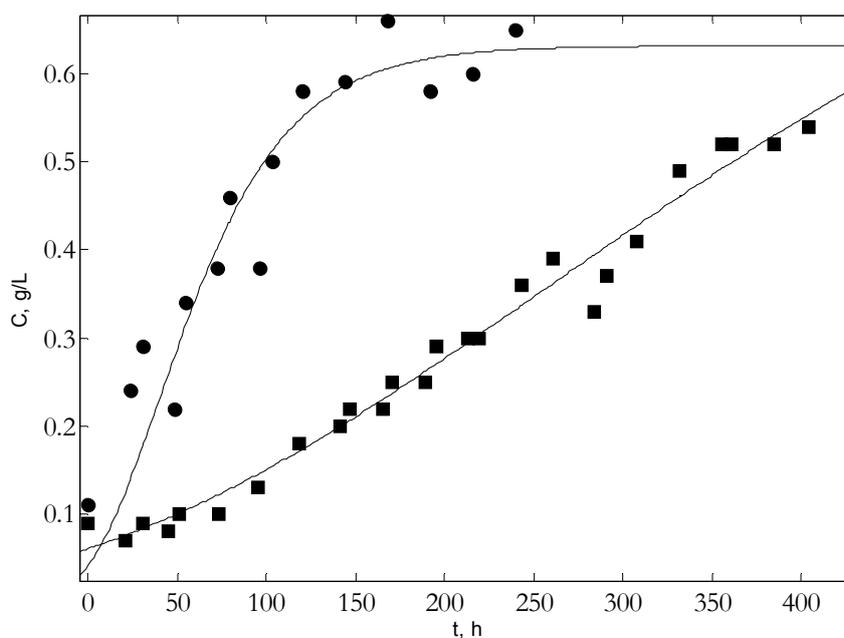


Figura 5.1 Curvas de crecimiento de *Scenedesmus obliquus* ● Medio sintético ■ ARUT

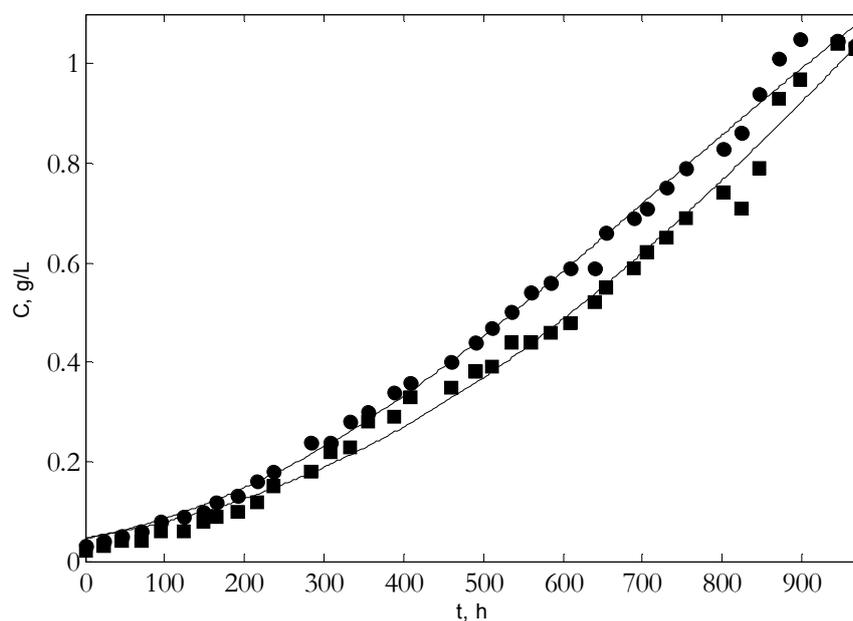


Figura 5.2 Curvas de crecimiento de *Botryococcus braunii* ● Medio sintético ■ ARUJ

Botryococcus braunii (Sawayama et al., 1992) crece perfectamente y en forma similar en medio sintético Chu-13 y en un agua residual urbana tratada. Utiliza nitrato desde concentraciones de 7,67 o 4,48 mg/L hasta valores por debajo del nivel de detección.

El modelo de “Gompertz modificado” para el consumo de nutrientes toma la expresión:

$$S = S_o \left\{ 1 - \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m e}{S_o} (t_{lag} - t) + 1 \right] \right\} \right\} \quad [5.10]$$

En la ecuación anterior R_m representa la velocidad máxima de eliminación del nutriente considerado, expresada en mg/L h.

La Tabla 5.3 recoge los resultados del ajuste a la ecuación [5.10] y los valores experimentales de consumo de N y P se han representado en las Figuras 5.3 y 5.4.

Tabla 5.3 Modelo de Gompertz modificado para el consumo de nutrientes

Microalga: <i>Scenedesmus obliquus</i>		Medio: Sintético Chu-13*4
FÓSFORO		
S_o : 6,2 mg/L r^2 : 0,950	E_p : 0,0655 mg/L h SSE : 2,661	t_{lag} : 0,0 h RMSE: 0,4524
NITRÓGENO		
S_o : 25,48 mg/L r^2 : 0,985	E_N : 0,4424 mg/L h SSE : 10,420	t_{lag} : 0,0 h RMSE: 0,8951
Microalga: <i>Scenedesmus obliquus</i>		Medio: ARUT
FÓSFORO		
S_o : 18,48 mg/L r^2 : 0,812	E_p : 0,0153 mg/L h SSE : 14,33	t_{lag} : 0,0 h RMSE: 0,7894
NITRÓGENO		
S_o : 18,60 mg/L r^2 : 0,909	E_N : 0,0944 mg/L h SSE : 60,18	t_{lag} : 244,4 h RMSE: 1,5830

La velocidad de consumo de N es mayor en ambos casos, como corresponde a una mayor necesidad de este nutriente. La relación entre ambas velocidades de eliminación E_N/E_P es de 6,75 y 6,2 respectivamente y las velocidades de eliminación son superiores en el medio sintético, debido a una mayor velocidad de generación de biomasa en este caso.

Los porcentajes de eliminación de N y P en el medio sintético son del 99,8 ; 99,8 y en el medio residual del 71,1 ; 56,0 % respectivamente. Alcanzándose concentraciones finales de 0,04 ; 0,01 mg/L para N y P en el medio sintético y 5,41 y 10,86 en el agua residual. Considerando que las especies analizadas de N y P fueran las únicas existentes en el medio no se alcanzaría el límite legal de eliminación, recogido en la Tabla 2.2, únicamente para el P en el medio residual.

La eliminación de N y P por las microalgas viene determinada por las variables ambientales tales como la intensidad de iluminación, pH, disponibilidad de CO₂ etc. Así (Kaya et al., 1996) indican que un enriquecimiento intermitente en CO₂ del aire suministrado a cultivos de *Scenedesmus bicellularis* acelera el tratamiento terciario de un agua residual urbana, encontrando una relación directa entre el consumo de ambos nutrientes.

(Shi et al., 2007) observan una pronunciada fase lag en el consumo de N-nitrato, existente en un agua residual sintética. La duración de dicha fase depende del alga considerada, ésta es de aproximadamente dos días para *Chlorella vulgaris* y de 4 para *Scenedesmus rubescens* inmovilizadas ambas en capa-fina.

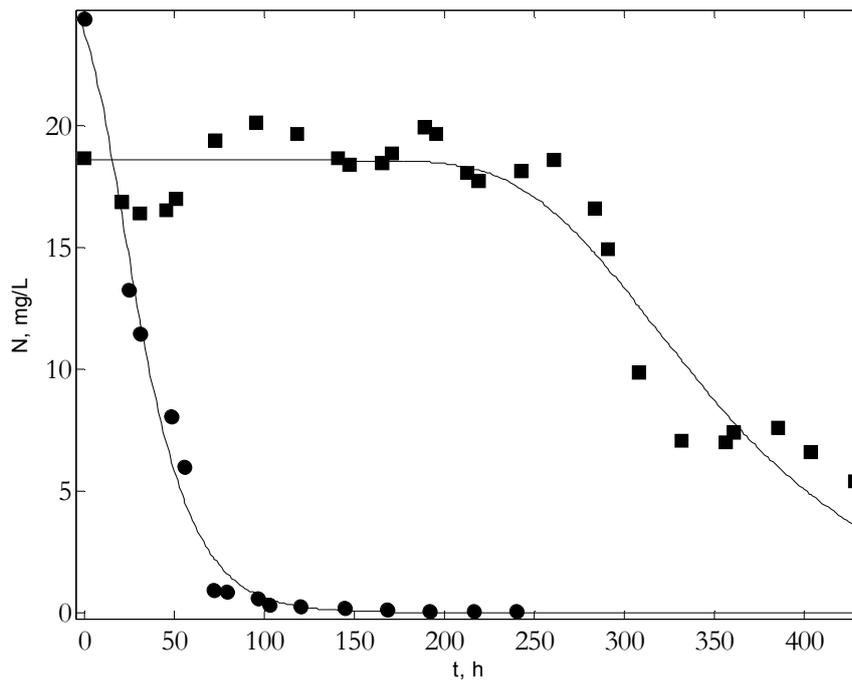


Figura 5.3 Consumo de N por *Scenedesmus obliquus* ● Medio sintético ■ ARUT

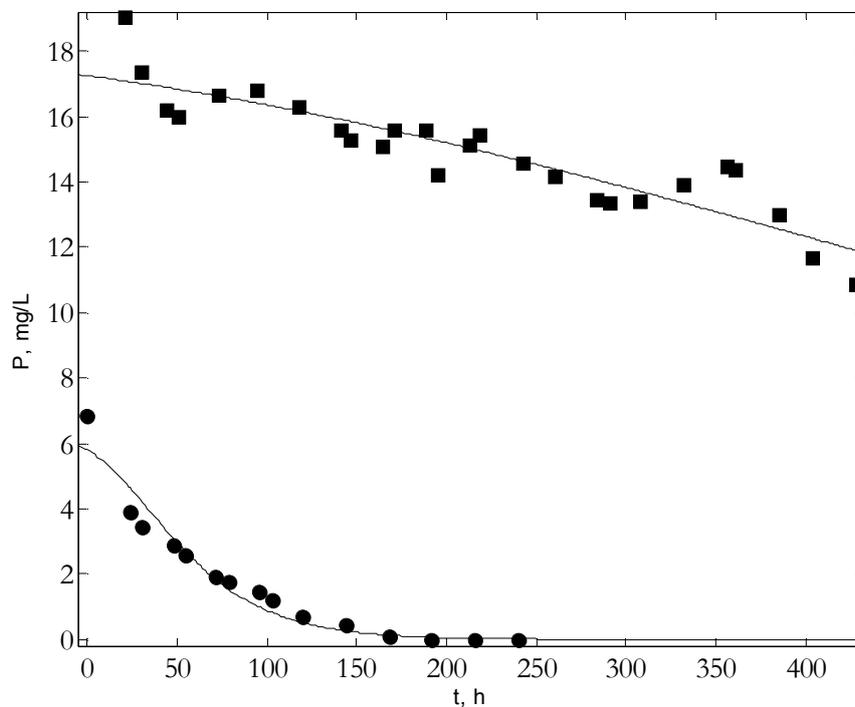


Figura 5.4 Consumo de P por *Scenedesmus obliquus* ● Medio sintético ■ ARUT

5.3 CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL BIOSORBENTE

5.3.1 Titulaciones potenciométricas

5.3.1.1 Titulaciones ácido-base

Estas titulaciones tienen por objeto la caracterización y la cuantificación de los grupos funcionales ácido-base eventualmente involucrados en el proceso de biosorción/biorreducción de Cr(VI).

A partir de la información que proporciona esta técnica y mediante el uso de los modelos adecuados, es posible la determinación de los valores del pKa y la concentración de cada grupo ácido-base de la biomasa. (Ramrakhiani et al., 2011) (Yun et al., 2001) (Pagnanelli et al., 2004).

Sobre la valoración influyen tanto el tiempo entre las adiciones de titulante como la fuerza iónica del medio. El tiempo esperado entre adiciones permite alcanzar el equilibrio ácido-base y puede variar desde 1 a 10 min. En ocasiones se observa la deriva del pH obteniéndose curvas de valoración distintas según el tiempo utilizado (Martín-Lara., 2008). A tiempos muy pequeños no se alcanza el equilibrio y a tiempos muy grandes pueden ocurrir reacciones secundarias entre la biomasa y el agente valorante. En este trabajo se ha seleccionado un tiempo de 2 min y se mantuvo la fuerza iónica del medio constante mediante una solución 0,1 N de NaCl. (Kapetas et al., 2011) (Yun et al., 2004) (Andrade et al., 2005) (Martín-Lara., 2008). Estos parámetros se mantuvieron también en los controles, valorados en la misma forma, en ausencia de biomasa.

La forma de la curva de valoración depende de la naturaleza y concentración de los grupos funcionales de los biosorbentes. En las Figuras 5.5 y 5.6 se indican las curvas de valoración de las 4 biomosas utilizadas, junto con las de los respectivos controles.

Para *Scenedesmus* se observa un fuerte carácter básico que se manifiesta a todos los valores de pH en el caso de SOSL. Para SOCL a pH <8,5 la curva de valoración exhibe un carácter menos ácido que la del control y para pH >8,5 ocurre lo contrario.

La Figura 5.6 pone de manifiesto un comportamiento básico de *Botryococcus* muy poco acusado, tanto para la biomasa con lípidos como para la biomasa sin lípidos, siendo a pH inferiores a 4,5 las curvas de valoración, prácticamente coincidentes con las del control. A valores superiores a pH 4,5 el comportamiento ácido de las suspensiones es

mayor que el del control. Este menor comportamiento básico de *Botryococcus* ya se pone de manifiesto en la preparación inicial de las muestras ya que solo es necesario la adición de 2 ml del HCl utilizado, para bajar el pH hasta el valor inicial de la valoración. En el caso de *Scenedesmus* para el mismo fin se necesitan 5 ml.

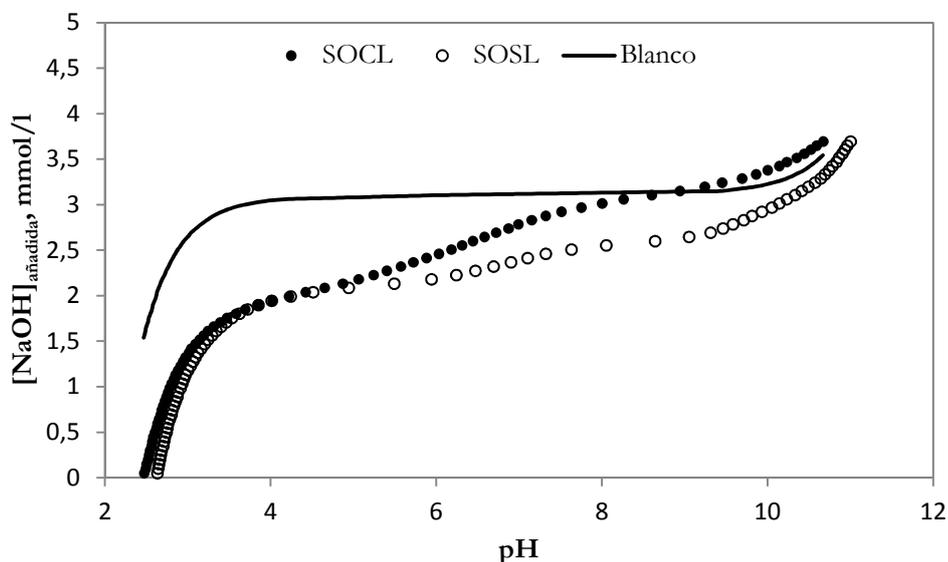


Figura 5.5 Titulación potenciométrica para SOCL y SOSL

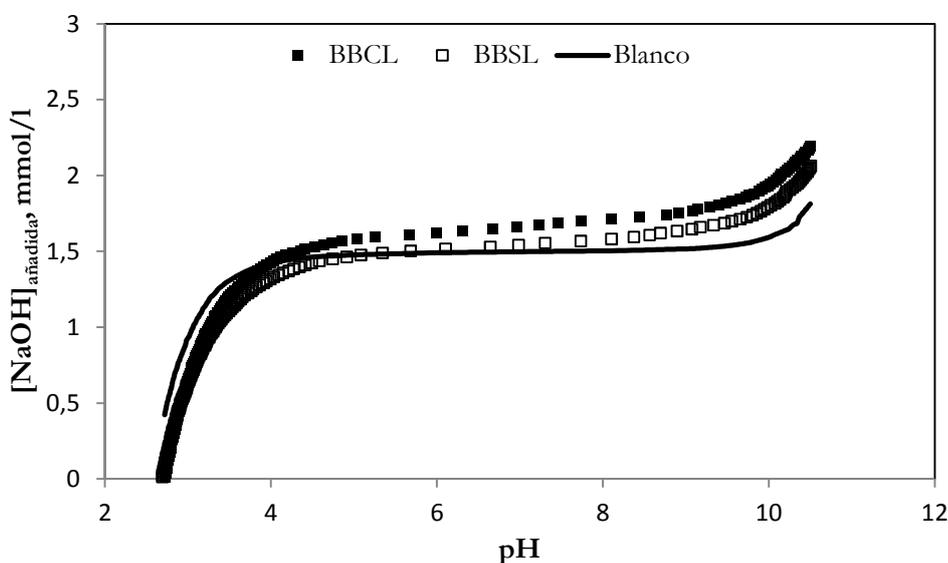


Figura 5.6 Titulación potenciométrica para BBCL y BBSL

Una primera estimación de la concentración total de los grupos funcionales ácido-base de la biomasa se ha realizado utilizando el Método de Gran. (Gran., 1958) (Naja et al., 1999) (Naja et al., 2005).

La modelización de los datos experimentales para determinar la concentración y pKa de cada grupo se ha efectuado utilizando los denominados modelos discontinuo y continuo.

A) Método de Gran

Este método aplicado a superficies heterogéneas, como es el caso, permite determinar con precisión los volúmenes de equivalencia y la distribución de los grupos funcionales (Gran., 1958).

Para visualizar el método es conveniente la representación gráfica de las funciones de Gran G1 y G2 frente a V_t , ecuaciones [5.11] y [5.12].

$$G1 = (V_i + V_t)10^{-pH} \quad \text{para } pH < 7 \quad [5.11]$$

$$G2 = (V_i + V_t)10^{-pOH} \quad \text{para } pH > 7 \quad [5.12]$$

en estas ecuaciones V_i es el volumen al inicio de la valoración y V_t el volumen acumulado de titulante. La representación que se obtiene, consiste en un conjunto de valores que se alinean formando dos rectas, ramas ácida y básica respectivamente cuya intersección con el eje de abscisas permite la determinación de los volúmenes de equivalencia V_{ea} y V_{eb} .

Las Figuras 5.7 a 5.10 recogen los gráficos de Gran para las 4 biomásas utilizadas.

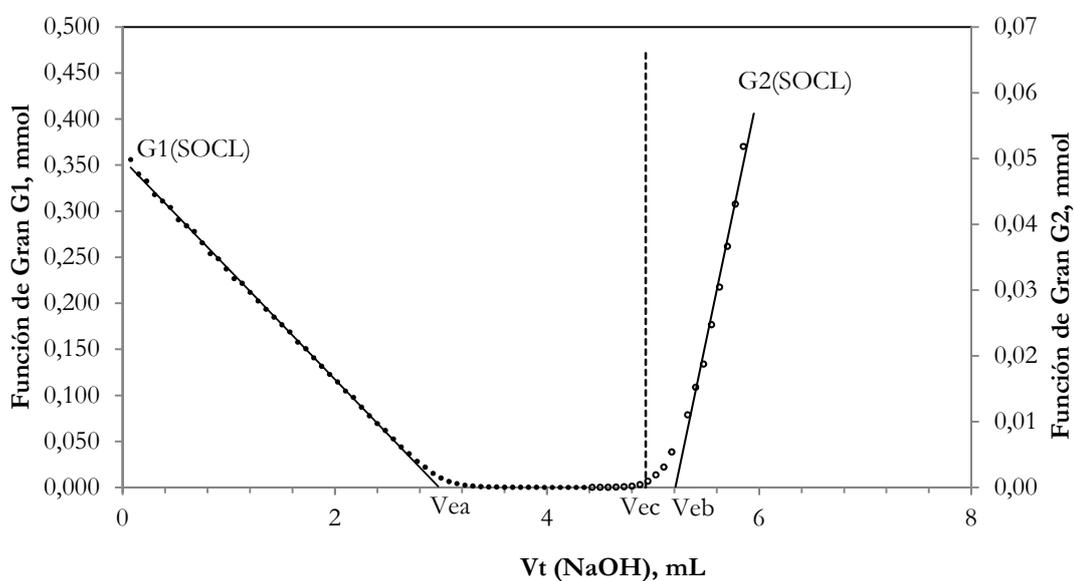


Figura 5.7 Gráfico de Gran para SOCL

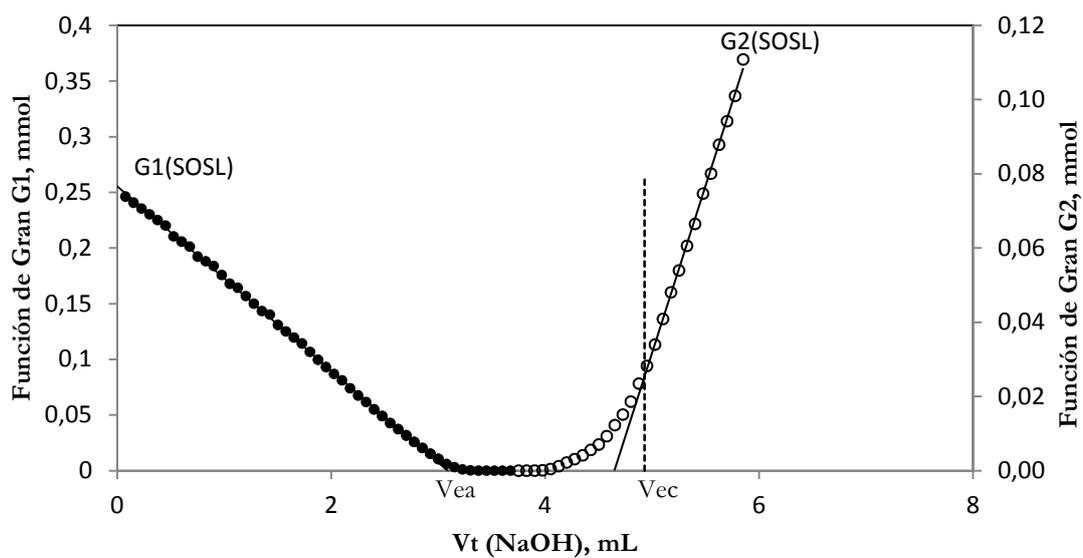


Figura 5.8 Gráfico de Gran para SOSL

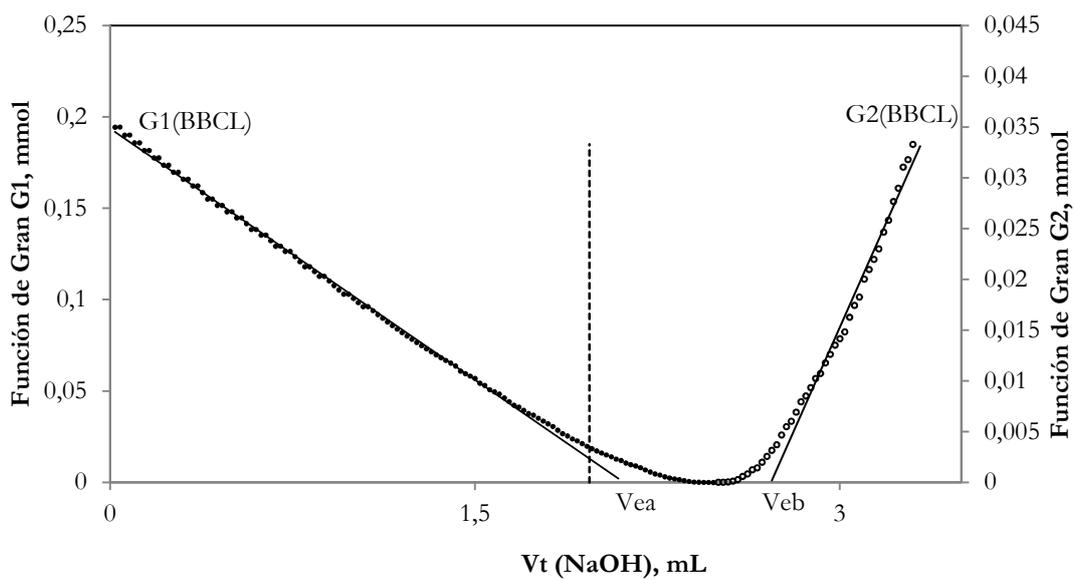


Figura 5.9 Gráfico de Gran para BBCL

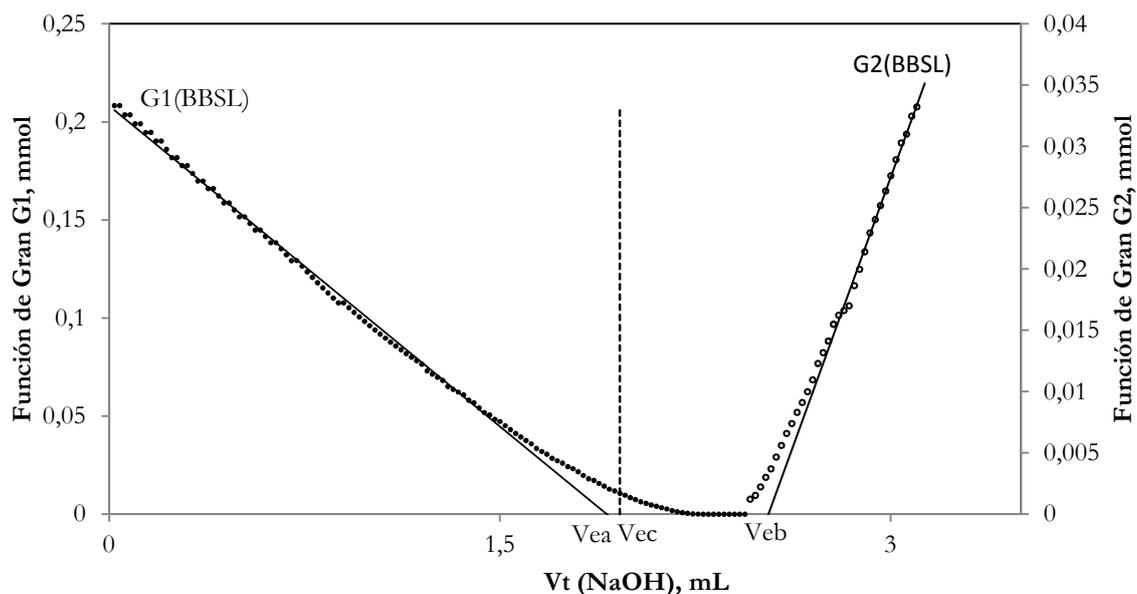


Figura 5.10 Gráfico de Gran para BBSL

En todas estas gráficas la línea vertical de puntos representa el volumen de equivalencia correspondiente a la valoración del control, V_{ec} .

La diferencia entre los gráficos de Gran pone de manifiesto la diferencia entre las biomazas nativas y sin lípidos y entre las dos microalgas utilizadas. La concentración total de centros ácidos y básicos puede calcularse mediante las ecuaciones:

Centros ácidos

$$[SA] = \frac{(V_{eb} - V_{ec}) C_{NaOH}}{m} \quad [5.13]$$

Centros básicos

$$[SB] = \frac{(V_{ec} - V_{ea}) C_{NaOH}}{m} \quad [5.14]$$

En las que $(V_{eb}-V_{ec})$ representa el exceso de titulante respecto al control, utilizado en la valoración de los centros ácidos y $(V_{ec}-V_{ea})$ el defecto de titulante respecto al control, como consecuencia de la existencia de grupos básicos en la biomasa que han retirado protones del medio. C_{NaOH} es la concentración de la disolución de hidróxido sódico utilizado en la valoración y m la cantidad de biomasa presente en la suspensión.

La Figura 5.11 representa una de las titulaciones de control a título de ejemplo. El gráfico de Gran en este caso solo presenta un único volumen de equivalencia.

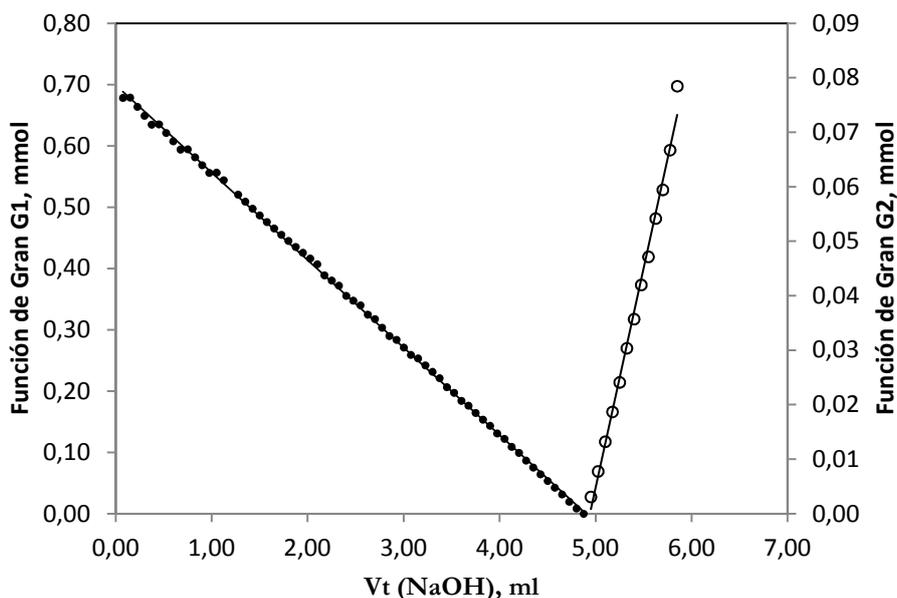


Figura 5.11 Gráfico de Gran para un control

La Tabla 5.4 recoge los resultados obtenidos para el ajuste mediante regresión lineal de las dos líneas rectas de cada gráfico y las correspondientes concentraciones de centros con carácter ácido, básico y totales.

Tabla 5.4 Parámetros del Método de Gran

SOCL					
Vec, mL	Vea, mL	Veb, mL	[SA], mmol/g	[SB], mmol/g	[ST], mmol/g
4,90	2,98	5,21	0,216	1,359	1,575
Rama ácida			Rama básica		
r ²	SSE	RMSE	r ²	SSE	RMSE
0,999	19,14.10 ⁻⁵	233,90.10 ⁻⁵	0,986	1,99.10 ⁻⁵	182,2.10 ⁻⁵
SOSL					
Vec, mL	Vea, mL	Veb, mL	[SA], mmol/g	[SB], mmol/g	[ST], mmol/g
4,90	3,08	4,65	---	1,274	1,274
Rama ácida			Rama básica		
r ²	SSE	RMSE	r ²	SSE	RMSE
0,999	8,66.10 ⁻⁵	151,00.10 ⁻⁵	0,999	1,18.10 ⁻⁵	103,40.10 ⁻⁵

BBCL					
Vec, mL	Vea, mL	Veb, mL	[SA], mmol/g	[SB], mmol/g	[ST], mmol/g
1,96	2,11	2,72	0,532	---	0,532
Rama ácida			Rama básica		
r ²	SSE	RMSE	r ²	SSE	RMSE
0,999	25,28.10 ⁻⁵	167,60.10 ⁻⁵	0,984	2,76.10 ⁻⁵	107,50.10 ⁻⁵
BBSL					
Vec, mL	Vea, mL	Veb, mL	[SA], mmol/g	[SB], mmol/g	[ST], mmol/g
1,96	1,96	2,53	0,399	---	0,399
Rama ácida			Rama básica		
r ²	SSE	RMSE	r ²	SSE	RMSE
0,999	37,03.10 ⁻⁵	219,30.10 ⁻⁵	0,996	1,00.10 ⁻⁵	64,69.10 ⁻⁵

Los resultados confirman lo observado en las curvas de valoración, *Scenedesmus* presenta una concentración total de centros activos superior a *Botryococcus* y mayoritariamente de carácter básico. Los centros activos de *Botryococcus* tienen carácter ácido. El tratamiento de extracción de lípidos disminuye dicha concentración total y hace desaparecer los centros de carácter ácido de *Scenedesmus*.

No se dispone en bibliografía apenas de datos cuantitativos de centros de carácter ácido-base en biomasa de microalgas. Los valores obtenidos para *Scenedesmus* son similares a los determinados en biomasa nativa de *Chlorella miniata* de 1,28 mmol/g. Para la bacteria *Artrhobacter sp* se ha publicado el valor de 0,41 mmol/g parecido al total de *Botryococcus*. Las macroalgas marinas se caracterizan por poseer una mayor concentración total de este tipo de centros, así para *Ecklonia* se ha determinado un total de 5 mmol/g. (Han et al., 2006) (Pagnanelli et al., 2000) (Yun et al., 2001).

B) Modelo discontinuo

Este método se basa en considerar que el sólido biosorbente presenta una distribución discontinua de grupos funcionales ácido-base que actúan como centros activos.

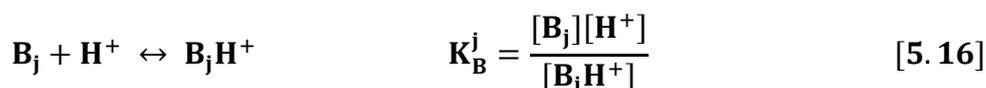
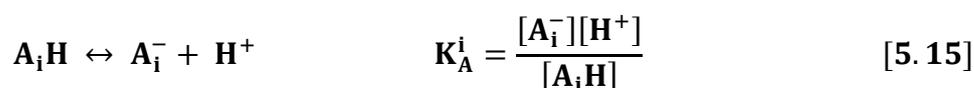
Los centros activos podrán ser ácidos y/o básicos que se considerarán de tipo monoprótico, el método de Gran aplicado previamente orienta sobre la existencia de los dos o un único tipo de grupos en cada una de las biomásas a modelizar.

Se plantean las posibles reacciones entre los centros activos y los protones y se hace uso de los balances de materia y de carga. Las ecuaciones del modelo se obtienen de forma general para un número indeterminado de centros y se aplica aumentando

progresivamente este número hasta obtener una buena representación de los datos experimentales.

Las constantes de equilibrio de disociación y la concentración total de cada centro pueden utilizarse como parámetros ajustables aplicando un método de regresión no lineal. (Pagnanelli et al., 2004) (Pagnanelli et al., 2008) (Martín-Lara et al., 2008) (Vilar et al., 2009) (Ramrakhiani et al., 2011).

De forma general se van a considerar grupos funcionales superficiales ácidos (A_iH) y básicos (B_j). Las reacciones de disociación de estos grupos y sus correspondientes constantes de equilibrio se pueden expresar mediante las ecuaciones:



donde A_i y B_j representan, respectivamente, los grupos ácidos y básicos genéricos.

En la disociación de los grupos ácidos A_iH se forman las especies de carga negativa A_i^- y en la reacción de los grupos básicos con los protones se forman las especies positivamente cargadas B_jH^+ .

Denominando a la concentración total de los grupos ácidos $[A_i]_T$ y a la de los grupos básicos $[B_j]_T$, éstas serán la suma de las dos especies posibles, para cada uno de ellos. Aplicando un balance de materia a los dos tipos de grupos se obtiene:

$$[A_i]_T = [A_iH] + [A_i^-] \quad [5.17]$$

$$[B_j]_T = [B_j] + [B_jH^+] \quad [5.18]$$

A partir de las constantes de disociación ácida, [5.15] y [5.16] se pueden expresar las concentraciones de las especies $[A_iH]$ y $[B_j]$:

$$[A_iH] = \frac{[A_i^-][H^+]}{K_A^i} \quad [5.19]$$

$$[B_j] = \frac{K_B^j [B_jH^+]}{[H^+]} \quad [5.20]$$

Sustituyendo las ecuaciones [5.19] y [5.20] en [5.17] y [5.18] respectivamente, se pueden expresar las concentraciones de las especies cargadas en función de los parámetros utilizados:

$$[A_i^-] = \frac{[A_i]_T}{1 + \frac{[H^+]}{K_A^i}} \quad [5.21]$$

$$[B_j H^+] = \frac{[B_j]_T}{1 + \frac{K_B^j}{[H^+]}} \quad [5.22]$$

El sistema debe satisfacer la condición de electroneutralidad. Por lo cual, durante la titulación y tras cada adición del titulante, la suma de las concentraciones de las especies cargadas positivamente debe ser igual a la suma de las concentraciones de las especies negativas:

$$\sum_{i=1}^n [A_i^-] + [Cl^-] + [OH^-] = \sum_{j=1}^m [B_j H^+] + [Na^+] + [H^+] \quad [5.23]$$

Donde n y m representan el número de los centros activos ácidos y básicos respectivamente.

Las concentraciones de Cl⁻ y Na⁺ en la suspensión pueden expresarse en función de las concentraciones de ácido y base añadidos:

$$[Cl^-] = \frac{C_{HCl} V_a}{V_T} = C_a \quad [5.24]$$

$$[Na^+] = \frac{C_{NaOH} V_t}{V_T} = C_b \quad [5.25]$$

donde V_T representa el volumen de suspensión en cada momento, suma del volumen inicial V_i más el volumen de titulante añadido V_t. La concentración de protones puede evaluarse a partir del valor de pH y la de oxhidrilos haciendo uso de la constante de ionización del agua K_w.

El balance de cargas puede expresarse como carga neta positiva en la biomasa y para referirla a la unidad de peso de biomasa es preciso introducir m, la cantidad de biomasa utilizada en la valoración, en los dos miembros del balance.

La ecuación [5.26] es la ecuación representativa del modelo discontinuo que permite determinar el número, concentración en mol/g y la constante de disociación ácida de los centros activos con carácter ácido-base presentes en la biomasa.

$$Q(\text{mol /g}) = \frac{(C_a - C_b - [H^+] + [OH^-]) V_T}{m} = \sum_{j=1}^m [B_j H^+] - \sum_{i=1}^n [A_i^-] \quad [5.26]$$

sustituyendo las ecuaciones [5.21] y [5.22] se obtiene:

$$Q(\text{mol /g}) = \sum_{j=1}^m \frac{[B_j]_T}{1 + \frac{K_B^j}{[H^+]}} - \sum_{i=1}^n \frac{[A_i]_T}{1 + \frac{[H^+]}{K_A^i}} \quad [5.27]$$

C) Modelo continuo

Para el planteamiento del modelo continuo se considera que el sólido biosorbente es heterogéneo y está constituido por una distribución continua de un conjunto de grupos funcionales.

Localmente la fracción protonada de un determinado centro activo, i , sea de tipo ácido o básico, puede expresarse mediante un equilibrio de adsorción de protones utilizando una isoterma de adsorción, denominada isoterma local.

$$\theta_{i,H} = \frac{K_{i,H} [H^+]}{1 + K_{i,H} [H^+]} \quad [5.28]$$

La fracción total de centros protonados puede calcularse mediante la integral

$$\theta_{i,T} = \int_{\Delta \log K_{i,H}} \theta_{i,H} f(\log K_{i,H}) d(\log K_{i,H}) \quad [5.29]$$

en la que $f(\log K_{i,H})$ es una función de distribución de la constante de equilibrio de protonación, en un intervalo $\Delta \text{Log}K_{i,H}$.

La función mayoritariamente utilizada para representar esta distribución es una quasi-Gausiana propuesta por Sips (Sips., 1948):

$$f(\log K_{i,H}) = \frac{\ln(10) \text{sen}(m_{i,H}\pi)}{\pi \left[\left(\frac{K_{i,H}}{K'_{i,H}}\right)^{-m_{i,H}} + 2 \cos(m_{i,H}\pi) + \left(\frac{K_{i,H}}{K'_{i,H}}\right)^{m_{i,H}} \right]} \quad [5.30]$$

donde $K'_{i,H}$ es el valor medio de la distribución de las constantes de equilibrio para los grupos funcionales y $m_{i,H}$ ($0 < m_{i,H} < 1$) es un parámetro relativo a la forma de la función de distribución que define el grado de homogeneidad del biosorbente.

Una distribución ancha corresponde a valores bajos de $m_{i,H}$ y caracteriza los centros activos heterogéneos. Para valores altos de $m_{i,H}$, la homogeneidad de los centros activos es mayor y la distribución correspondiente es muy estrecha, Figura 5.12 .

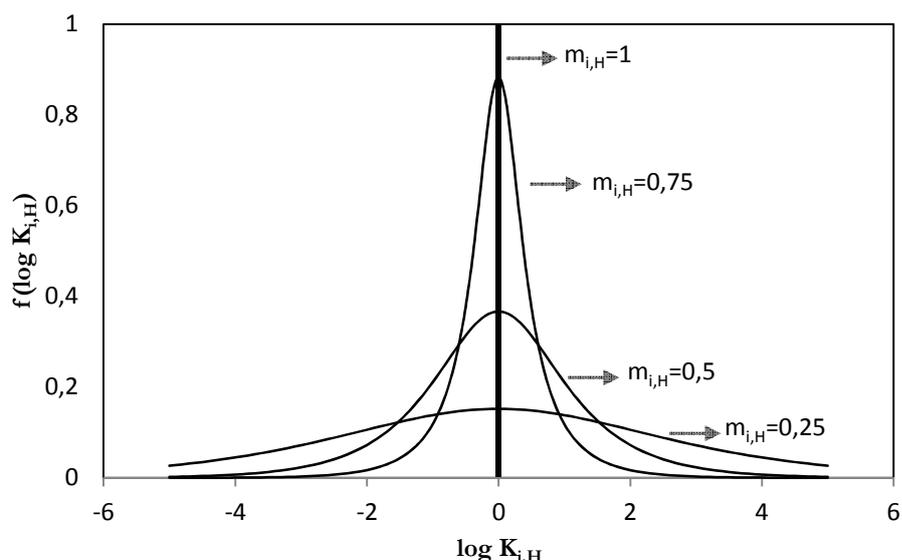


Figura 5.12 Distribución de Sips para $m_{i,H}$ 1; 0,75; 0,5 y 0,25

Con la isoterma local y la función de distribución consideradas, ecuaciones [5.28] y [5.30] la solución a la integral [5.29] es la isoterma de Langmuir-Freundlich:

$$\theta_{i,T} = \frac{(K'_{i,H}[H^+])^{m_{i,H}}}{1 + (K'_{i,H}[H^+])^{m_{i,H}}} \quad [5.31]$$

Considerando como en el modelo discontinuo que la biomasa está constituida por m grupos ácidos $[AH_i]$ y n grupos básicos $[B_j]$ todos monopróticos, las concentraciones de las especies cargadas pueden expresarse en función de las fracciones protonadas ácidas y básicas en la forma:

$$\sum_{j=1}^m [A_i^-] = (1 - \theta_{A_i,T}) \cdot [A_i]_T \quad [5.32]$$

$$\sum_{j=1}^m [BH_j^+] = \theta_{B_j,T} \cdot [B_j]_T \quad [5.33]$$

Por lo que el balance total de carga resulta:

$$Q \text{ (mol/ g)} = \sum_{j=1}^m \frac{[B_j]_T}{1 + \left(\frac{1}{K'_{B_j}} [H^+]\right)^{m_{B_j}}} - \sum_{i=1}^n \frac{[A_i]_T}{1 + (K'_{A_i}[H^+])^{m_{A_i}}} \quad [5.34]$$

y para equiparar este modelo continuo, al modelo discontinuo anteriormente utilizado, en el que se consideraron las constantes del equilibrio de desprotonación, la ecuación resultante es:

$$Q \text{ (mol/ g)} = \sum_{j=1}^m \frac{[B_j]_T}{1 + \left(\frac{K_{Bj}^{j'}}{[H^+]} \right)^{m_{Bj}}} - \sum_{i=1}^n \frac{[A_i]_T}{1 + \left(\frac{[H^+]}{K_A^{i'}} \right)^{m_{Ai}}} \quad [5.35]$$

En las Figuras 5.13 a 5.16 se representan conjuntamente los resultados experimentales junto a las curvas teóricas proporcionadas por los dos modelos, discreto y continuo, habiendo utilizado para el ajuste (mediante regresión no lineal con el programa de cálculo Scientist) 3 centros activos en todas las biomazas excepto para SOSL que se utilizaron solo dos. Estos fueron uno ácido y dos básicos para SOCL, solo básicos para SOSL y solo ácidos para BBCL y BBSL.

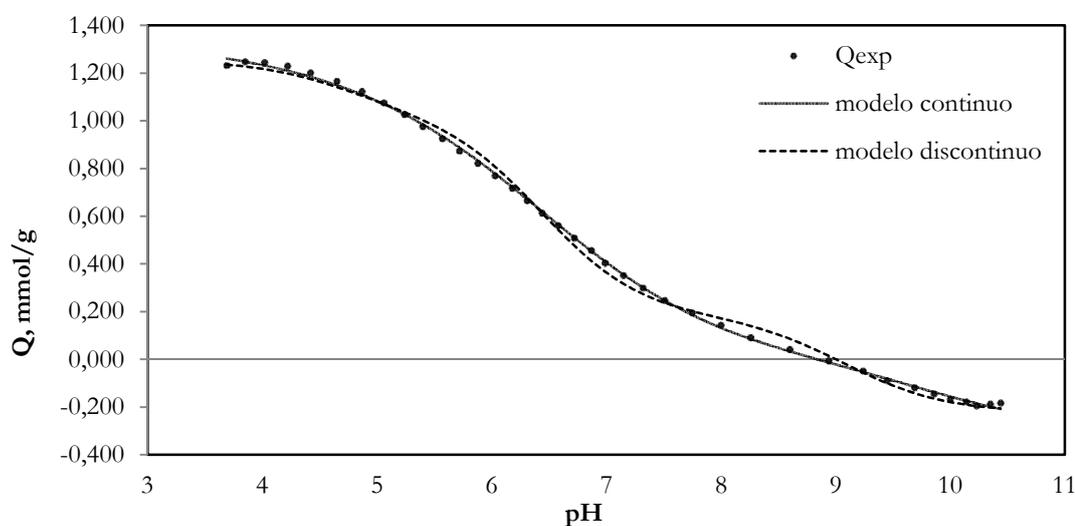


Figura 5.13 Modelización de los datos experimentales Q-pH para SOCL

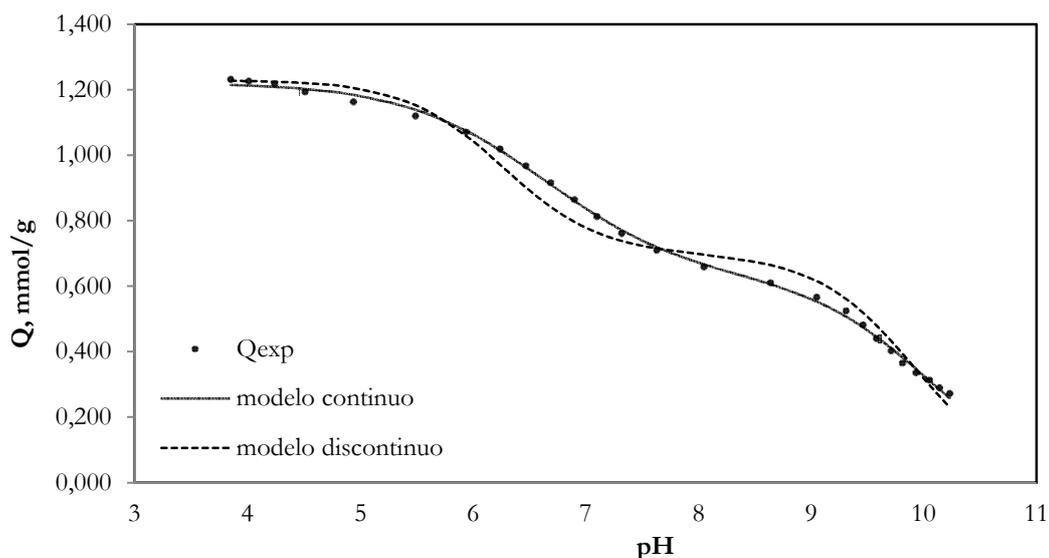


Figura 5.14 Modelización de los datos experimentales Q-pH para SOSL

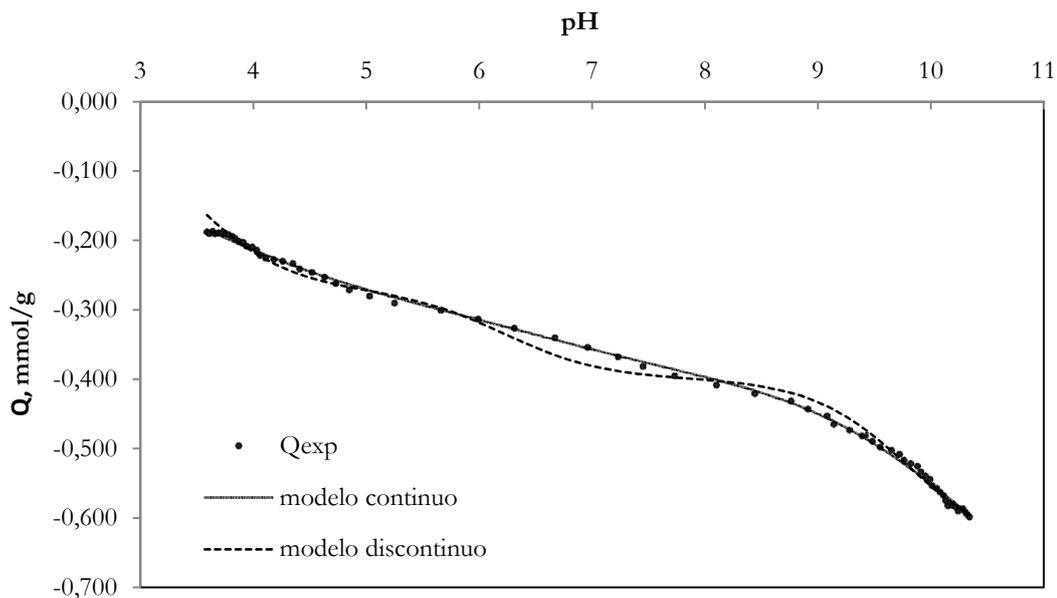


Figura 5.15 Modelización de los datos experimentales Q-pH para BBCL

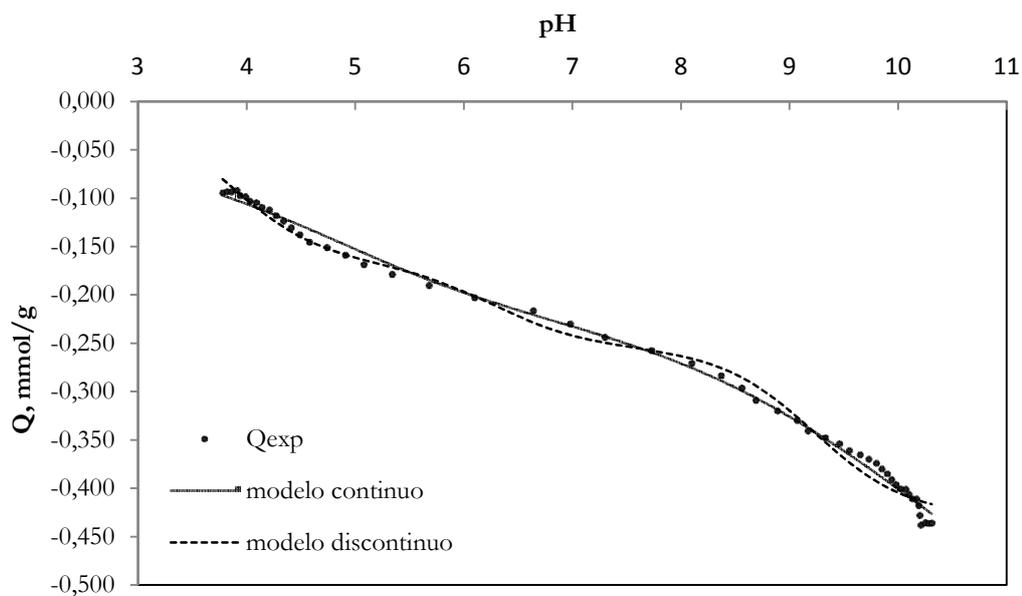


Figura 5.16 Modelización de los datos experimentales Q-pH para BBSL

En estas gráficas se observa la variación neta de carga positiva en la biomasa frente a pH, en el intervalo de valoración utilizado.

Las dos microalgas se comportan de forma diferente, con carga neta positiva en un amplio intervalo de pH para *Scenedesmus* y puntos de carga cero a pH básicos.

Botryococcus por el contrario, presenta carga neta negativa en todo el intervalo de valoración, observándose que el punto de carga cero se presentará a valores de pH muy

ácidos. El punto de carga cero pH_{pzc} es una medida de la total basicidad o acidez de la superficie del adsorbente (Naja et al., 2005).

Los dos modelos ajustan los resultados aceptablemente. En las Tablas 5.5 a 5.8 se indican los parámetros para las cuatro biomásas utilizadas.

Tabla 5.5 Parámetros de los modelos discontinuo y continuo SOCL

Modelo discontinuo SOCL				
Centros activos	[S], mmol/g	Ka	pKa	
S1	0,223	$1,84 \cdot 10^{-5}$	4,74	
S2	0,845	$3,54 \cdot 10^{-7}$	6,45	
S3	0,402	$8,12 \cdot 10^{-10}$	9,09	
	$r^2 = 0,999$	$SSE = 2,63 \cdot 10^{-8}$		
Modelo continuo SOCL				
Centros activos	[S], mmol/g	Ka	pKa	m
S1	0,308	$5,55 \cdot 10^{-6}$	5,26	0,39
S2	1,051	$3,00 \cdot 10^{-7}$	6,52	0,56
S3	0,297	$1,27 \cdot 10^{-10}$	9,89	0,66
	$r^2 = 0,999$	$SSE = 4,46 \cdot 10^{-9}$		

Tabla 5. 6 Parámetros de los modelos discontinuo y continuo SOSL

Modelo discontinuo SOSL				
Centros activos	[S], mmol/g	Ka	pKa	
S1	0,532	$5,41 \cdot 10^{-7}$	6,27	
S2	0,796	$1,19 \cdot 10^{-10}$	9,93	
	$r^2 = 0,999$	$SSE = 3,91 \cdot 10^{-8}$		
Modelo continuo SOSL				
Centros activos	[S], mmol/g	Ka	pKa	m
S1	0,599	$2,25 \cdot 10^{-7}$	6,27	0,69
S2	0,621	$9,05 \cdot 10^{-11}$	9,93	0,83
	$r^2 = 0,999$	$SSE = 3,14 \cdot 10^{-9}$		

Tabla 5. 7 Parámetros de los modelos discontinuo y continuo BBCL

Modelo discontinuo BBCL				
Centros activos	[S], mmol/g	Ka	pKa	
S1	0,272	$3,86 \cdot 10^{-4}$	3,41	
S2	0,127	$5,90 \cdot 10^{-7}$	6,23	
S3	0,255	$1,55 \cdot 10^{-10}$	9,81	
$r^2 = 0,999$		$SSE = 6,92 \cdot 10^{-9}$		
Modelo continuo BBCL				
Centros activos	[S], mmol/g	Ka	pKa	m
S1	0,301	$7,00 \cdot 10^{-4}$	3,15	0,43
S2	0,098	$2,01 \cdot 10^{-7}$	6,70	0,53
S3	0,387	$4,93 \cdot 10^{-11}$	10,31	0,56
$r^2 = 0,999$		$SSE = 1,58 \cdot 10^{-9}$		

Tabla 5.8 Parámetros de los modelos discontinuo y continuo BBSL

Modelo discontinuo BBSL				
Centros activos	[S], mmol/g	Ka	pKa	
S1	0,167	$1,52 \cdot 10^{-4}$	3,82	
S2	0,088	$5,20 \cdot 10^{-7}$	6,28	
S3	0,175	$5,86 \cdot 10^{-10}$	9,23	
$r^2 = 0,999$		$SSE = 5,57 \cdot 10^{-9}$		
Modelo continuo BBSL				
Centros activos	[S], mmol/g	Ka	pKa	m
S1	0,154	$3,63 \cdot 10^{-4}$	3,44	0,29
S2	0,065	$9,54 \cdot 10^{-6}$	5,02	0,65
S3	0,425	$4,40 \cdot 10^{-11}$	10,36	0,83
$r^2 = 0,999$		$SSE = 2,75 \cdot 10^{-9}$		

Los dos modelos proporcionan buenos coeficientes de regresión. La hipotética variación de las constantes del equilibrio de protonación acordes al modelo de Sips representa adecuadamente el gráfico de la primera derivada dQ/dpH . En la Figura 5.17 se indica este gráfico para SOCL a título de ejemplo.

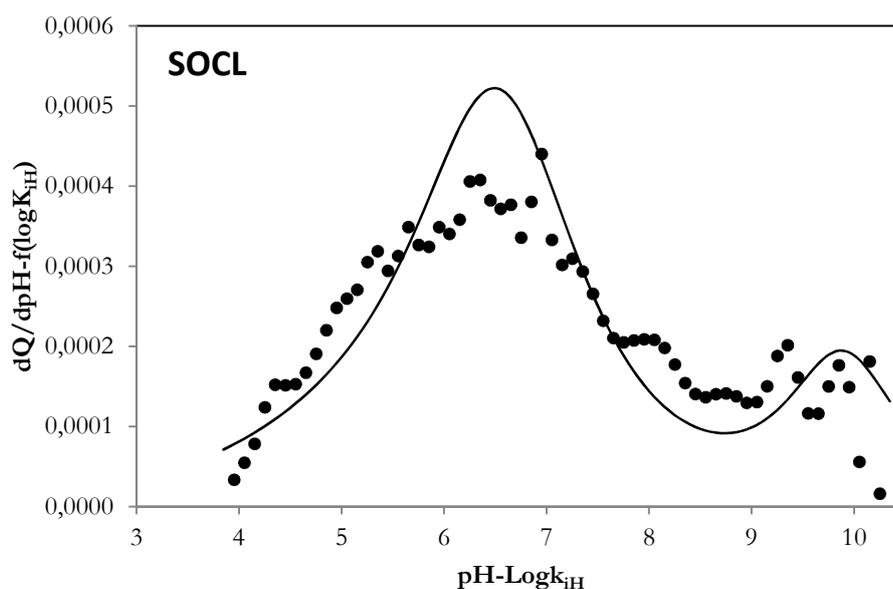


Figura 5.17 Primera derivada de la carga neta en la biomasa y función de distribución de Sips

Para evaluar cual de los dos métodos es más preciso se ha aplicado un contraste F de una cola. El estadístico F calculado, se determina mediante la ecuación [5.36] en la que SSE_d y SSE_c representan el sumatorio del cuadrado de los residuos del modelo discontinuo y continuo respectivamente, n el número de valores experimentales y k y g el número de parámetros de cada modelo.

$$F_{cal} = \frac{\frac{SSE_d}{(n-k)}}{\frac{SSE_c}{(n-g)}} \quad [5.36]$$

En todos los casos el valor de F_{cal} supera el valor de F crítico determinado a partir de las tablas del estadístico, para un nivel de significación de $P=0,05$ y con las coordenadas de F (n-g, n-k). Este resultado implica que el modelo continuo es más preciso que el modelo discontinuo.

Los valores de la Tabla 5.9 indican la concentración total de centros con carácter ácido-base, en mmol/g proporcionados por el método de Gran y los dos modelos ensayados.

Tabla 5.9 Concentración total de centros activos de carácter ácido-base mmol/g

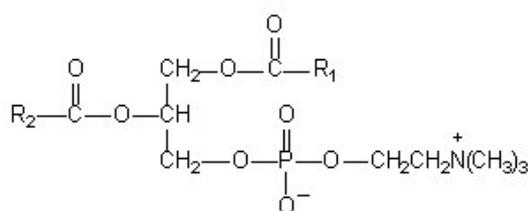
BIOMASA	Gran	Discontinuo	Continuo
SOCL	1,575	1,470	1,656
SOSL	1,274	1,328	1,220
BBCL	0,532	0,654	0,786
BBSL	0,399	0,430	0,644

Los valores de pKa recogidos en las Tablas 5.5 a 5.8 pueden proporcionar información sobre el tipo de grupo funcional del centro activo.

Así, valores entre 3-5 pueden corresponder a la presencia de grupos carboxílicos, los valores próximos al límite superior indicarían carboxilo unido a una cadena alifática y los próximos al límite inferior carboxilo unido a un grupo aromático (Naja et al., 2005). La proximidad de otro grupo carboxílico podría también ser responsable de una elevada ionización y por tanto bajos valores del pKa (Martín-Lara., 2008).

Por lo general el grupo carboxílico está presente en la mayor parte de los biosorbentes y específicamente en los de origen microbiano. Forma parte de ácidos grasos del material lipídico de reserva, de fosfolípidos estructurales, y del material proteico.

El pKa en torno a 6,5 puede estar asociado a la existencia de grupos fosfato, éstos se encuentran formando parte de la cabeza polar de los fosfolípidos estructurales de la membrana celular, en los que normalmente va unido a los alcoholes aminados colina y colamina, por ejemplo fosfatidilcolina.



Fosfatidilcolina

Los grupos amino poseen pKa en el intervalo 8,95-10,78 forman parte de las proteínas que en las paredes celulares suelen estar unidas a polisacáridos formando glucoproteínas (Burczyk et al., 1999) (Cho et al., 2011).

Para tratar de confirmar la existencia de estos grupos funcionales en la biomasa, se han obtenido los espectros de infrarrojo de las mismas.

5.3.2 Análisis de los espectros de infrarrojo

Una molécula absorbe radiación infrarroja cuando la energía incidente es igual a la necesaria para que ocurra vibración en la misma y ésta puede ser de tensión (stretching) o de flexión (bending). El requerimiento fundamental, para que se detecte absorción de la radiación infrarroja, es que se produzca un cambio neto en el momento dipolar durante la vibración de la molécula o grupo funcional investigado.

La espectrometría de infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) permite determinar la naturaleza de los grupos superficiales de la biomasa, lo que posibilita profundizar en los mecanismos por los que la biosorción ocurre.

Se han realizado los espectros, de las cuatro biomásas utilizadas, para analizar las biomásas nativas y los efectos que originan la extracción lipídica, la protonación y la biosorción de Cr(VI).

5.3.2.1 Biomásas nativas SOCL y BBCL

Los espectros de IR de las biomásas nativas de *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii* SOCL y BBCL, expresados como absorbancia (A), de las bandas registradas, frente a la frecuencia de la radiación infrarroja utilizada (ν ; cm^{-1}) se indican en la Figura 5.18

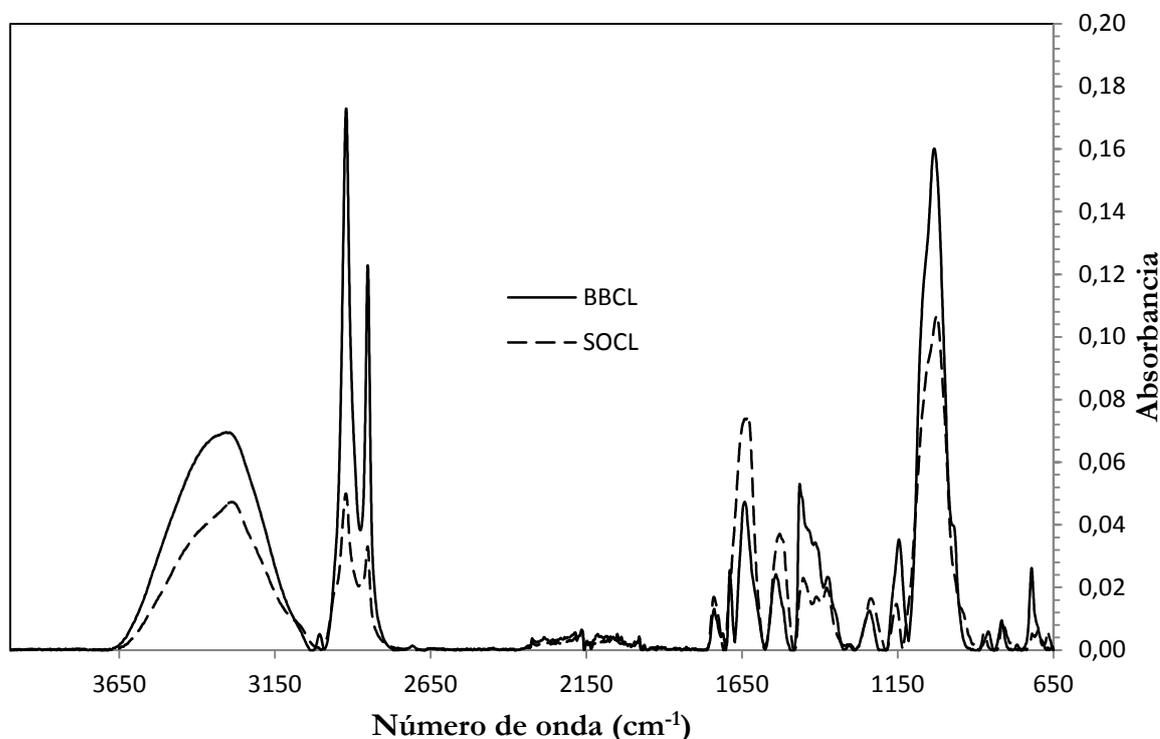


Figura 5.18 Espectros de infrarrojo de las biomásas nativas, SOCL y BBCL

Estos espectros presentan numerosas bandas, de intensidad y localización diferentes, lo que demuestra la existencia de distintos grupos funcionales superficiales que dan una naturaleza compleja y heterogénea a estas biomesas. Sin embargo presentan muchas similitudes.

Por lo general cada enlace químico presenta una única banda de absorción que es posible identificar mediante la ayuda de las tablas de interpretación de espectros (Coates., 2000). Los espectros se han interpretado desde la zona izquierda a derecha, de mayor a menor energía de la radiación y dividiéndolos en cuatro regiones:

- La región de tensión de hidrógeno, X---H ($4000 - 2500 \text{ cm}^{-1}$)
- La región de triple enlace, ($2500 - 2000 \text{ cm}^{-1}$)
- La región de doble enlace, ($2000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$)
- La región de huella digital, ($1500 - 600 \text{ cm}^{-1}$)

En las Tablas 5.10 y 5.11 se recogen las frecuencias y las absorbancias (A) de las bandas registradas, en los espectros de infrarrojo, junto a los grupos funcionales correspondientes, para las biomesas SOCL y BBCL.

La región de vibración por tensión del hidrógeno corresponde a vibraciones por tensión (stretching) entre un átomo de H y otro átomo. La aparición de una banda media sobre 3300 cm^{-1} (3292 cm^{-1} para SOCL; 3305 cm^{-1} para BBCL) es el resultado de las vibraciones de los grupos O-H y N-H. Indican la existencia de aminas y de grupos O-H asociados a un ácido carboxílico y/o a un alcohol (Coates., 2000) (Laurent et al., 2011).

Las bandas a 2922 y 2852 cm^{-1} para SOCL; 3007 , 2921 y 2852 cm^{-1} para BBCL corresponden a las vibraciones de tensión del enlace C-H alifático de los grupos metilén y metilo -CH₂- y -CH₃ (Naja et al. 1999). Están asociadas a compuestos de tipo lipídico. La banda casi indetectable a 3007 cm^{-1} en BBCL corresponde a tensión C-H en enlaces cis CH=CH en lípidos insaturados, lo que identifica a los hidrocarburos de *Botryococcus* (Pistorius et al., 2009).

En la región de triple enlace no se detecta ningún pico medible si bien se observa un cierto ruido de fondo.

La banda a 1741 cm^{-1} para SOCL; 1740 cm^{-1} para BBCL es achacable a la vibración del grupo C=O, de un ácido carboxílico, de un aminoácido, de un ácido graso o de un éster (Naja et al., 2005). Esta banda junto con las de metilén y metilo es también identificativa de lípidos (Pistorius et al., 2009).

La banda a 1689 cm^{-1} en el espectro IR de BBCL se puede corresponder al grupo C=C, de un alqueno y en el espectro de SOCL esta banda no aparece.

A 1631 cm^{-1} para SOCL; 1641 cm^{-1} para BBCL se asigna el grupo C=O, tensión, de la amida primaria y a 1529 cm^{-1} para SOCL; 1541 cm^{-1} para BBCL se encuentra la banda de los grupos CN y NH, de la amida secundaria, características de proteínas (Park et al., 2005c) (Tian et al., 2011). La forma de estas bandas depende de la estructura secundaria de las proteínas presentes en la biomasa.

La región de huella digital se caracteriza por la complejidad de interpretación ya que pequeñas diferencias estructurales en una molécula originan grandes modificaciones en las bandas de absorción y es esta dificultad la que determina también su singularidad. Las bandas a 1453 y 1378 cm^{-1} para SOCL; 1465 y 1376 cm^{-1} para BBCL corresponden a la vibración por flexión (bending) de los grupos CH_2 y CH_3 y tensión de metilo (Coates.,2000). La banda a 1411 cm^{-1} para SOCL; 1415 cm^{-1} para BBCL se asigna a la flexión del enlace C-H del grupo vinilo ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$) (Coates., 2000).

La banda a 1237 cm^{-1} para SOCL; 1241 cm^{-1} para BBCL puede pertenecer al grupo C-O de un éster (Chergui et al., 2009) (Chen et al., 2011).

Los grupos funcionales fosfato P=O, P-OH y P-O-C se encuentran respectivamente a las bandas 1154 cm^{-1} , 1040-910 cm^{-1} y 1050-970 cm^{-1} para SOCL; 1146 cm^{-1} , 1040-910 cm^{-1} y 1050-970 cm^{-1} para BBCL (Pagnanelli et al., 2000) (Yun et al., 2001).

Las bandas de la vibración del grupo C-N en aminas pueden aparecer entre 1350-1000 cm^{-1} (Mungasavalli et al. 2007), por lo que pueden interferir con las bandas de C-O probablemente de hidratos de carbono, P=O, P-OH y P-O-C. Las bandas a 870, 813, 700 y 669 cm^{-1} para SOCL; 859, 817 cm^{-1} para BBCL probablemente corresponden a tensión en el enlace C-H.

La banda a 719 cm^{-1} para SOCL; 720 cm^{-1} para BBCL puede ser atribuida a la vibración del grupo $(\text{CH}_2)_{n \geq 4}$. (Blokker et al., 1998).

La comparación de ambos espectros pone de manifiesto la existencia de grupos funcionales similares en ambos biosorbentes.

La intensidad de la absorción de radiación infrarroja es superior en *Botryococcus* excepto en la banda de 1641 cm^{-1} correspondiente a la tensión del enlace C=O de la amida I ya que el contenido proteico es por lo general mayor en *Scenedesmus* (Andrade L, 2008) (Muñoz L., 1997).

Tabla 5.10 Espectro de infrarrojo de *Scenedesmus obliquus*, biomasa nativa

SOCL				
Banda	ν cm ⁻¹	A	Intensidad	Grupo funcional
Región de tensión de hidrógeno				
1	3292	0,047	M	N-H (amina) O-H (ácido carboxílico y/o alcohol)
2	2922	0,050	M	Tensión C-H (CH ₂)
3	2852	0,033	M	Tensión C-H (CH ₃)
Región de doble enlace				
4	1741	0,017	D	C=O (ácido carboxílico, aminoácido, ácido graso, éster)
5	1631	0,075	F	Tensión C=O (amida I)
6	1529	0,037	M	C-N, Flexión N-H (amida II)
Región de huella digital				
7	1453	0,023	D	Flexión del C-H (CH ₂ y CH ₃)
8	1411	0,017	D	Flexión C-H (vinilo)
9	1378	0,020	D	Tensión del C-H (-CH ₃)
10	1237	0,016	D	C-N C-O (ácido carboxílico, éster)
11	1154	0,015	D	C-N Tensión P=O (fosfato) Tensión P-O-C; P-OH (fosfato)
12	1024	0,107	MF	C-O C-C
13	870	0,005	MD	Tensión C-H (vinilo)
14	813	0,010	MD	Tensión C-H O=CH
15	719	0,005	MD	Tensión C-H (-(CH ₂) _n - (n>4))
16	700	0,006	MD	Tensión C-H
17	669	0,006	MD	Tensión C-H

MF: muy fuerte; M: media; D: débil; MD: muy débil

Tabla 5.11 Espectro de infrarrojo de *Botryococcus braunii*, biomasa nativa

BBCL				
Banda	ν cm ⁻¹	A	Intensidad	Grupo funcional
Región de tensión de hidrógeno				
1	3305	0,070	M	N-H (amina) O-H (ácido carboxílico y/o alcohol)
2	3007	0,005	MD	Tensión C-H (CH ₂)
3	2921	0,173	MF	Tensión C-H (CH ₃)
4	2852	0,123	F	C-H
Región de doble enlace				
5	1740	0,013	MD	C=O (ácido carboxílico , aminoácido, ácido graso, éster)
6	1689	0,025	D	C=C (alqueno)
7	1641	0,047	D	Tensión C=O (amida I)
8	1541	0,024	D	C-N, Flexión N-H (amida II)
Región de huella digital				
9	1465	0,053	M	Flexión del C-H (CH ₂ y CH ₃)
10	1415	0,034	D	Flexión C-H (vinilo)
11	1376	0,023	D	Tensión del C-H (-CH ₃)
12	1241	0,013	MD	C-N C-O (ácido carboxílico, éster)
13	1146	0,035	D	C-N Tensión P=O (fosfato) Tensión P-O-C; P-OH (fosfato)
14	1033	0,160	MF	C-O C-C
15	859	0,006	MD	Tensión C-H
16	817	0,009	MD	Tensión C-H
17	720	0,026	D	Tensión C-H (-(CH ₂) _n - (n>4))

MF: muy fuerte; M: media; D: débil; MD: muy débil

5.3.2.2 Biomásas extraídas los lípidos SOSL y BBSL

En las Figuras 5.19 y 5.20 se comparan los espectros IR de las biomásas nativas SOCL y BBCL y las biomásas después del proceso de extracción de los lípidos SOSL y BBSL. En las Tablas 5.12 y 5.13 se indican los datos cuantitativos de los espectros correspondientes a las biomásas sin lípidos.

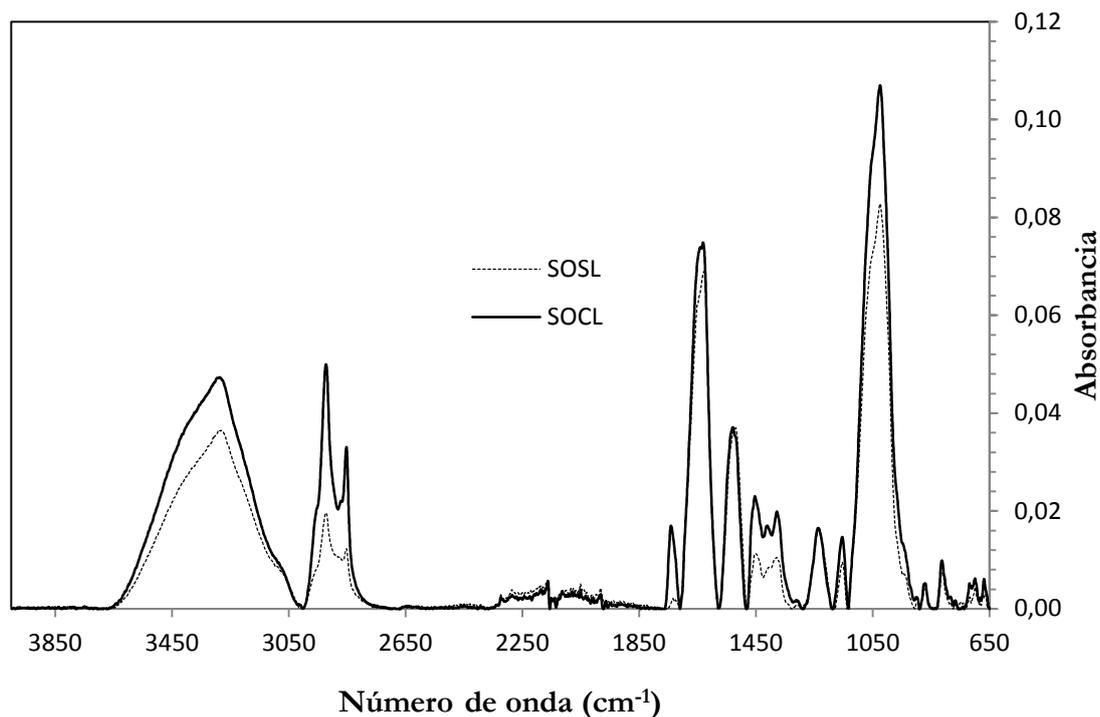


Figura 5.19 Espectro de infrarrojo de las biomazas de *Scenedesmus obliquus*, SOCL y SOSL

Para SOSL se observa una pequeña disminución de la intensidad de las bandas a 3292 cm⁻¹ y 1154; 1024 cm⁻¹ correspondientes a los grupos OH; NH y P=O; P-OH; P-O-C respectivamente, y una disminución importante de la intensidad de las bandas del grupo CH a 2922; 2852; 1453; 1378cm⁻¹, del grupo C=O a 1732cm⁻¹ y del grupo (CH₂)_{n≥4} a 719 cm⁻¹.

Tabla 5.12 Espectro de infrarrojo de *Scenedesmus obliquus*, biomasa sin lípidos

SOSL				
Banda	ν cm⁻¹	A	Intensidad	Grupos funcionales
Región de tensión de hidrógeno				
1	3281	0,036	M	N-H (amina) O-H (ácido carboxílico y/o alcohol)
2	2922	0,020	D	Tensión C-H (CH ₂)
3	2852	0,012	D	Tensión C-H (CH ₃)
Región de doble enlace				
4	1734	0,002	MD	C=O (ácido carboxílico, aminoácido, ácido graso, éster)
5	1628	0,069	F	Tensión C=O (amida I)
6	1520	0,037	M	C-N, Flexión N-H (amida II)
Región de huella digital				
7	1450	0,011	D	Flexión del C-H (CH ₂ y CH ₃)
8	1402	0,009	D	Flexión C-H (vinilo)
9	1379	0,011	D	Tensión del C-H (-CH ₃)
10	1235	0,016	D	C-N C-O (ácido carboxílico, éster)
11	1154	0,009	D	C-N Tensión P=O (fosfato) Tensión P-O-C; P-OH
12	1025	0,083	MF	(fosfato) C-O C-C
13	872	0,004	MD	Tensión C-H (vinilo)
14	813	0,007	MD	Tensión C-H O=CH
15	718	0,002	MD	Tensión C-H (-(CH ₂) _n - (n>4))
16	699	0,004	MD	Tensión C-H
17	663	0,004	MD	Tensión C-H

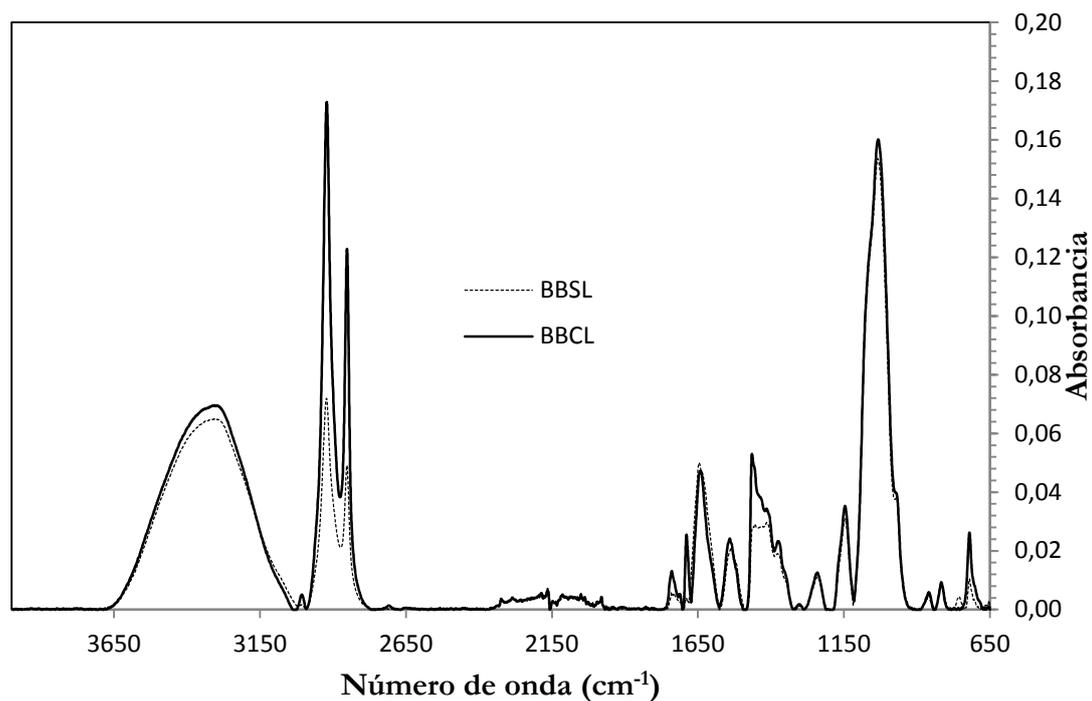


Figura 5.20 Espectro de infrarrojo de las biomazas de *Botryococcus braunii*, BBCL y BBSL

Para BBSL puede observarse una ligera disminución de la intensidad de la banda a 3295 cm⁻¹ correspondiente a los grupos OH; NH, desaparición de la banda a 3007cm⁻¹ y disminución importante de las intensidades de las bandas a 2921 y 2852 cm⁻¹ de los grupos CH₂ y CH₃ y del grupo (CH₂)_{n≥4} a 720 cm⁻¹.

Tabla 5.13 Espectro de infrarrojos de *Botryococcus braunii*, biomasa sin lípidos

BBSL				
Banda	ν cm ⁻¹	A	Intensidad	Grupo funcional
Región de tensión de hidrógeno				
1	3295	0,065	M	N-H (amina) O-H (ácido carboxílico y/o alcohol)
2	-	-	-	Tensión C-H (CH ₂)
3	2922	0,072	M	Tensión C-H (CH ₃)
4	2852	0,049	M	C-H
Región de doble enlace				
5	1734	0,006	MD	C=O (ácido carboxílico, aminoácido, ácido graso, ester)
6	-	-	-	C=C (alqueno)
7	1646	0,050	M	Tensión C=O (amida I)
8	1535	0,021	D	C-N, Flexión N-H (amida II)
Región de huella digital				
9	1455	0,029	D	Flexión del C-H (CH ₂ y CH ₃)
10	1414	0,030	D	Flexión C-H (vinilo)
11	1373	0,019	D	Tensión del C-H (-CH ₃) C-N
12	1241	0,011	MD	C-O (ácido carboxílico, ester) C-N
13	1146	0,031	D	Tensión P=O (fosfato) Tensión P-O-C; P-OH (fosfato)
14	1034	0,154	MF	C-O C-C
15	861	0,005	MD	Tensión C-H
16	816	0,009	MD	Tensión C-H
17	720	0,010	MD	Tensión C-H (-(CH ₂) _n - (n>4))

Un análisis cuantitativo de las modificaciones en los espectros tras la extracción de los lípidos se recoge en la Tabla 5.14 en la que se expresa el desplazamiento en la frecuencia de vibración y el porcentaje de modificación de la absorbancia para las distintas bandas, ecuaciones [5.37] y [5.38] .

$$\Delta v = v \text{ (SOSL)} - v \text{ (SOCL)} \quad [5.37]$$

$$\Delta A = \frac{A \text{ (SOSL)} - A \text{ (SOCL)}}{A \text{ (SOCL)}} \times 100 \quad [5.38]$$

Tabla 5.14 Modificaciones en los espectros de infrarrojo

SOCL y SOSL			BBCL y BBSL		
Banda	$\Delta v, \text{ cm}^{-1}$	$\Delta A, \%$	Banda	$\Delta v, \text{ cm}^{-1}$	$\Delta A, \%$
1	-11	-23	1	10	-7
2	0	-60	2	Desaparece	Desaparece
3	0	-64	3	-1	-58
4	-7	-88	4	0	-60
5	-3	-8	5	6	-54
6	-9	0	6	Desaparece	Desaparece
7	-3	-52	7	-5	6
8	-11	-47	8	6	-13
9	1	-45	9	10	-45
10	-2	0	10	1	-12
11	0	-40	11	3	-17
12	1	-22	12	0	-15
13	2	-20	13	0	-11
14	0	-30	14	-1	-4
15	-1	-60	15	-2	-17
16	-1	-33	16	1	0
17	-6	-33	17	0	-62

El método utilizado de extracción permite la retirada de la biomasa tanto de lípidos polares como no polares. En general, la variación en los espectros indica disminución de grupos OH de ácidos carboxílicos por esterificación de los mismos con el metanol utilizado. Disminución de grupos fosfato asociados a fosfoglicéridos, de grupos metilén y metilo de cadenas hidrocarbonadas, por ejemplo de los ácidos grasos constituyentes de los lípidos saponificables, de grupos C=O de los ácidos grasos y de largas cadenas hidrocarbonadas de biopolímeros e hidrocarburos superficiales.

La disminución más importante para *Scenedesmus* se origina en la banda 4, que corresponde en parte al grupo carboxílico de los ácidos grasos. En la caracterización de la biomasa utilizando el método de la titulación potenciométrica se encontró la desaparición del grupo carboxilo para SOSL. Va seguida de la correspondiente a los grupos C-H

alifáticas bandas 2,3,7,8,9, y de las cadenas alifáticas con número de átomos de C superior a 4.

Si bien los desplazamientos en frecuencia no son muy significativos, la extracción origina una distorsión importante en la biomasa, afectando a todas las bandas, salvo a 6 y 10 que corresponden a enlaces C-N y N-H en compuestos proteicos y a una unión C-O de un éster.

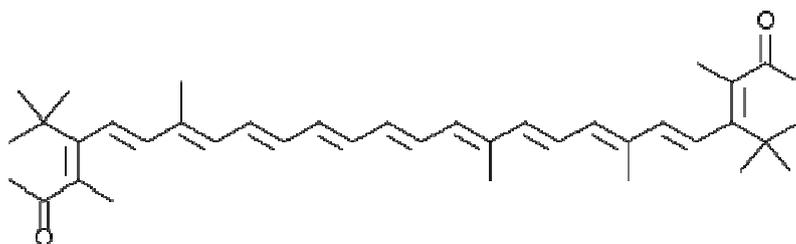
Para *Botryococcus* desaparecen las bandas 2 y 6 correspondientes a enlaces C-H y C=C. La disminución más importante es la de la banda 17 que corresponde a largas cadenas alifáticas y el grupo carboxílico banda 5. Mediante el modelo continuo se ha determinado para BBSL una disminución para este grupo del 51 %, valor próximo al 54 % de disminución de la absorbancia de esta banda.

Los espectros de infrarrojo confirman la existencia en la biomasa de los grupos funcionales, carboxilo, fosfato y amina. Los valores de la absorbancia de las bandas que los identifican varían en forma similar a como lo hace la concentración de cada centro después de la extracción lipídica. Tablas 5.5 a 5.8.

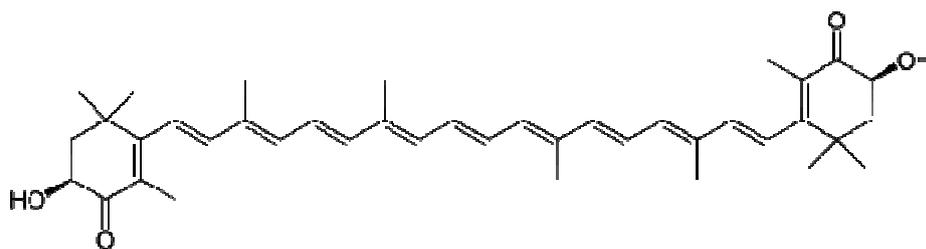
Las diferencias entre ambas algas estriba en la diferente naturaleza de los compuestos lipídicos. Para *Botryococcus* son mayoritariamente insaponificables, tipo hidrocarburo dieno y trieno, tal y como se recoge en la Tabla 2.5. Si bien esta alga también presenta fosfolípidos en la membrana celular (Chisti et al., 2002)

En *Scenedesmus*, algunos cetocarotenoides como canthaxantina, astaxantina, y luteína, Figura 5.21 se encuentran formando parte de componentes de la pared celular. Estos pigmentos secundarios se encuentran unidos a la capa externa trilaminar de la misma. Ésta también contiene un polímero que deriva de la polimerización oxidativa de los carotenoides, muy resistente a la degradación química y biológica, denominada esporopolenina (Burczyk et al., 1981) (Allard et al., 2001).

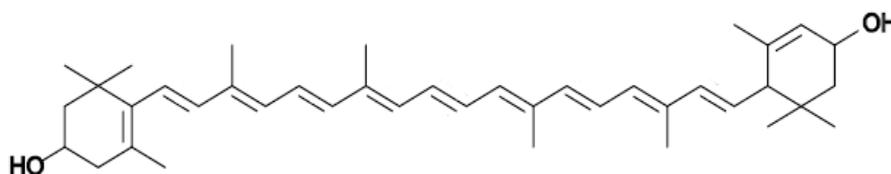
La raza A de *Botryococcus* posee un contenido en carotenoides mucho menor que las razas B y L (Banerjee et al., 2002).



Cantaxantina



Astaxantina



Luteína

Figura 5.21 Pigmentos de la pared celular

La extracción de pigmentos de las biomásas, de tipo lipídico, es evidente por la diferencia de color que presentan las mismas, como se observa en la Figura 3.7. La extracción también retira clorofila de la biomasa estando este pigmento situado en los cloroplastos de las células.

La parte externa de la pared celular de *Botryococcus* está compuesta también por un polímero muy resistente, que a diferencia de *Scenedesmus* no deriva de cetocarotenoides, denominado PRB-A, para la raza A, compuesto por largas cadenas hidrocarbonadas unidas vía puentes éter. Actualmente estos polímeros celulares reciben el nombre de algaenan (Allard et al., 2000) (Nguyen et al., 2003).

5.3.2.3 Biomásas con Cr adsorbido

Se han realizado los espectros IR de los biosorbentes después de la biosorción/bioreducción del Cr(VI) y se han comparado con los de los biosorbentes sin cromo.

Los espectros, presentan una forma similar antes y después del proceso de biosorción/bioreducción del Cr (VI) Figuras 5.22 a Figura 5.25 con una variación mínima de las posiciones de las bandas y un cambio apreciable en las absorbancias, Tablas 5.15 a 5.18.

La naturaleza heterogénea de los biosorbentes utilizados y la complejidad del mecanismo implicado en la biosorción del Cr(VI) impide una determinación exacta de los grupos funcionales involucrados.

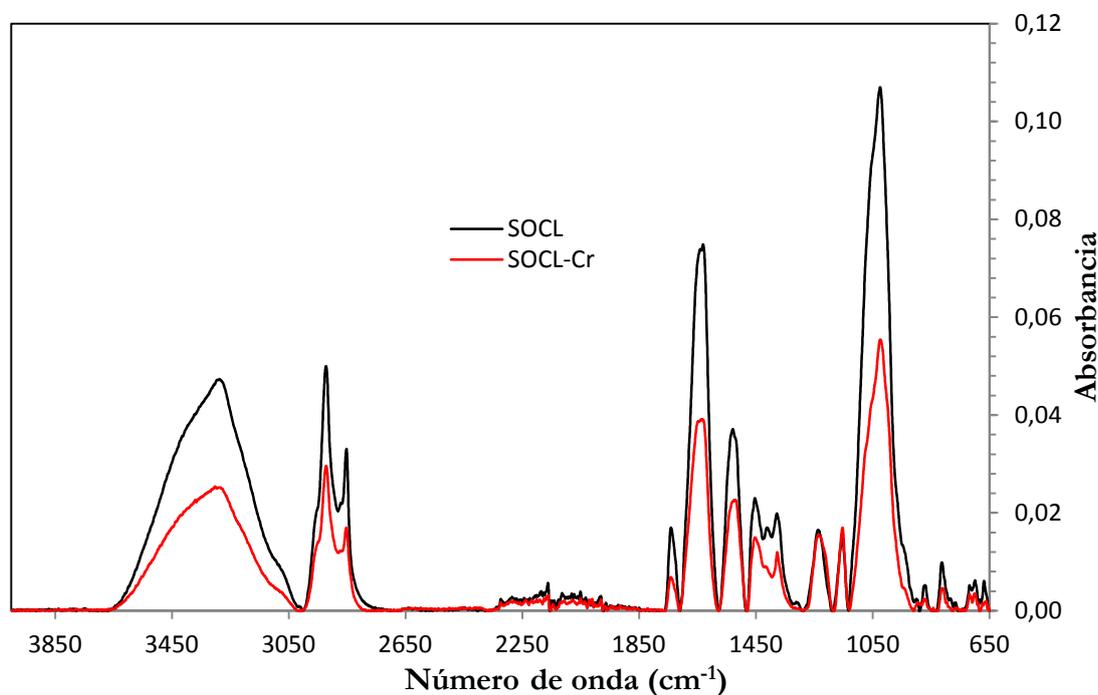


Figura 5.22 Espectros IR de SOCL antes y después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI)

Tabla 5.15 Comparación de los espectros IR de SOCL antes y después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI)

Banda	SOCL-Cr		Intensidad	Comparación con SOCL	
	ν cm ⁻¹	A		$\Delta\nu$, cm ⁻¹	ΔA , %
1	3296	0,025	M	4	-47
2	2921	0,030	M	-1	-40
3	2852	0,018	M	0	-45
4	1741	0,007	D	0	-59
5	1636	0,039	F	5	-48
6	1524	0,023	M	-5	-38
7	1453	0,015	D	0	-35
8	1418	0,008	D	7	-53
9	1377	0,011	D	-1	-45
10	1235	0,016	D	-2	0
11	1153	0,017	M	-1	13
12	1024	0,055	MF	0	-49
13	875	0,002	MD	5	-60
14	813	0,005	MD	0	-50

15	719	0,003	MD	0	-40
16	701	0,004	MD	1	-33
17	666	0,002	MD	-3	-67

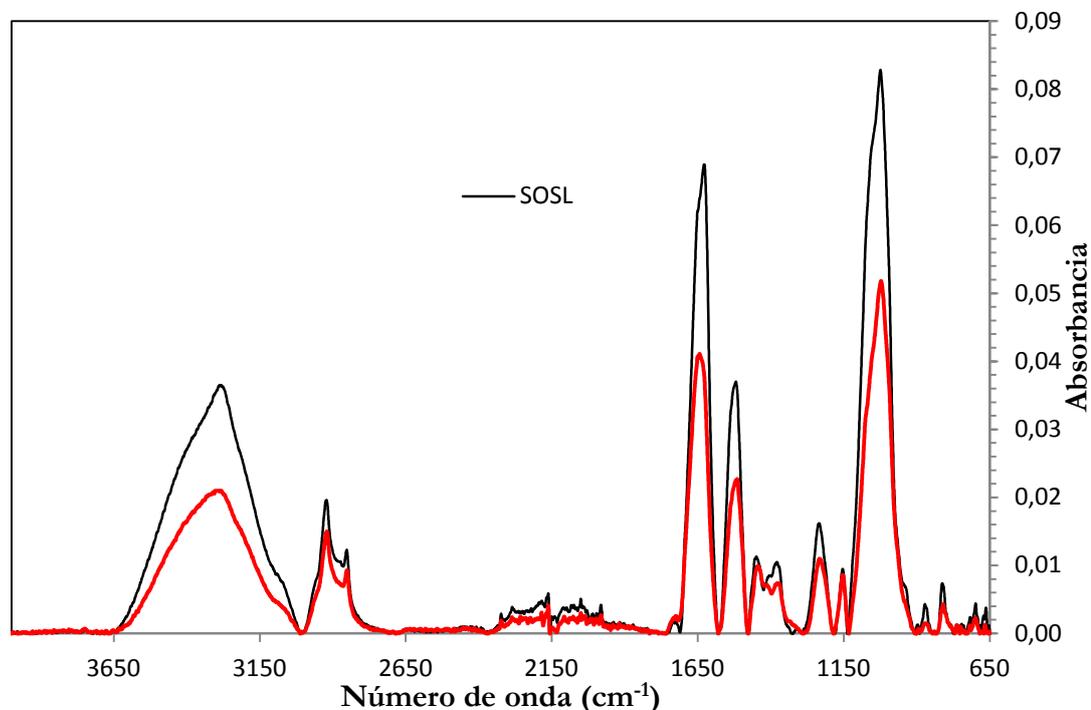


Figura 5.23 Espectros IR de SOSL antes y después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI)

Tabla 5.16 Comparación de los espectros IR de SOSL antes y después de la biosorción/bioreducción del Cr(VI)

Banda	SOSL-Cr		Intensidad	Comparación con SOSL	
	ν cm ⁻¹	A		$\Delta\nu$, cm ⁻¹	ΔA , %
1	3295	0,021	M	14	-42
2	2921	0,015	D	-1	-25
3	2852	0,009	D	0	-25
4	1730	0,002	MD	-4	0
5	1644	0,041	F	16	-41
6	1516	0,022	M	-4	-41
7	1445	0,009	D	-5	-18
8	1421	0,006	D	19	-33
9	1377	0,006	D	-2	-45
10	1233	0,011	D	-2	-31
11	1153	0,008	D	-1	-11
12	1023	0,051	MF	-2	-39

13	871	0,002	MD	-1	-50
14	810	0,004	MD	-3	-43
15	718	0,001	MD	0	-50
16	699	0,002	MD	0	-50
17	667	0,001	MD	4	-75

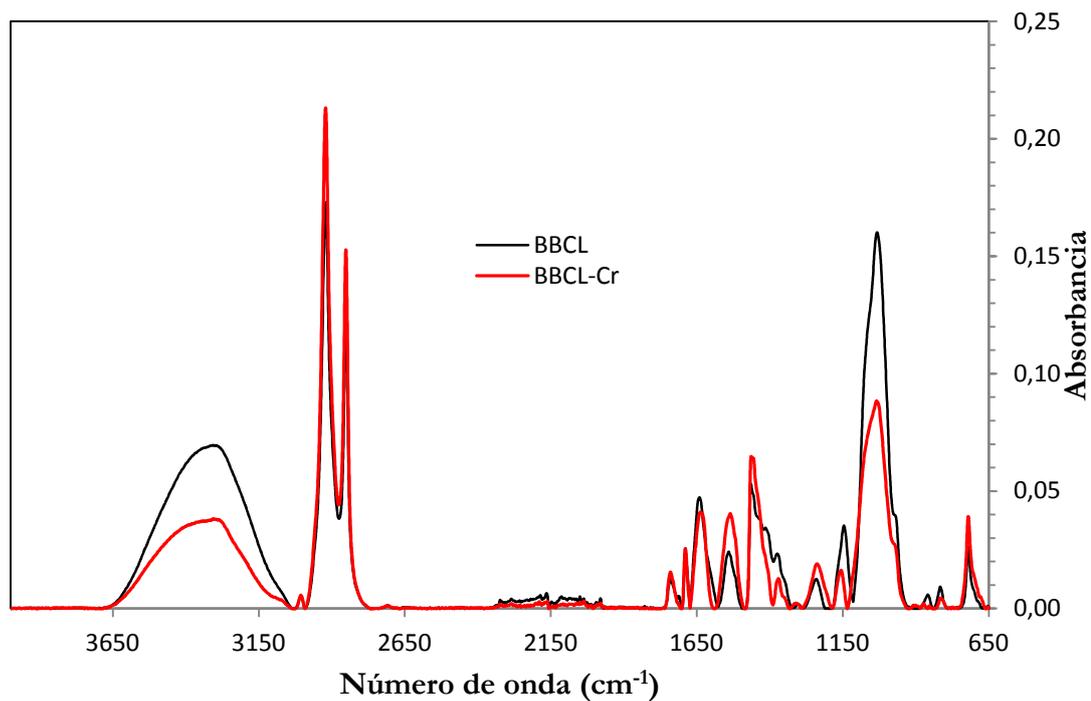


Figura 5.24 Espectros IR de BBCL antes y después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI)

Tabla 5.17 Comparación de los espectros IR de BBCL antes y después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI)

Banda	BBCL-Cr			Comparación con BBCL	
	ν cm ⁻¹	A	Intensidad	$\Delta\nu$, cm ⁻¹	ΔA , %
1	3313	0,042	D	8	-40
2	3005	0,003	MD	-2	-40
3	2921	0,145	MF	0	-16
4	2852	0,104	F	0	-15
5	1741	0,020	D	1	54
6	1690	0,012	MD	1	-52
7	1643	0,042	D	2	-11
8	1536	0,033	D	-5	38

9	1464	0,040	D	-1	-25
10	1406	0,003	MD	-9	-91
11	1371	0,010	MD	-5	-57
12	1239	0,016	D	-2	23
13	1154	0,016	D	8	-54
14	1032	0,093	F	-1	-42
15	873	0,002	MD	14	-67
16	815	0,006	MD	-2	-33
17	720	0,026	D	0	0

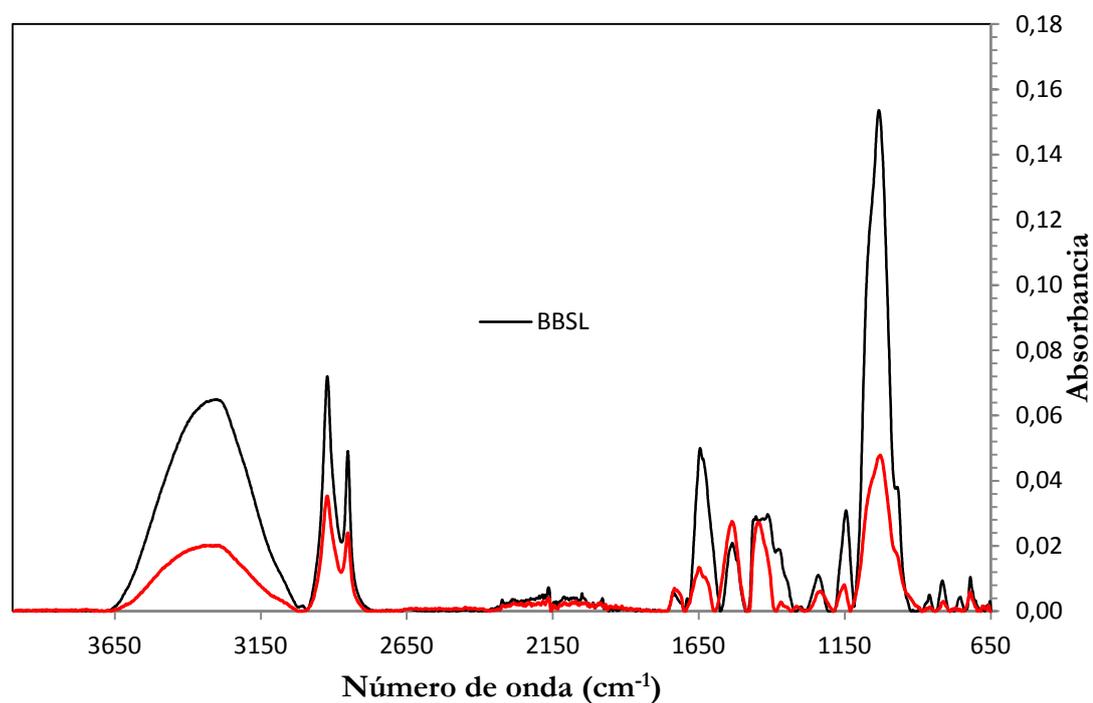


Figura 5.25 Espectros IR de BBSL antes y después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI)

Tabla 5.18 Comparación de los espectros IR de BBSL antes y después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI)

Banda	BBSL-Cr			Comparación con BBSL	
	ν cm ⁻¹	A	Intensidad	$\Delta\nu$, cm ⁻¹	ΔA , %
1	3331	0,020	M	36	-69
2	2923	0,037	F	1	-49
3	2852	0,026	M	0	-47
4	1725	0,008	D	-9	33
5	1650	0,014	M	4	-72
6	1537	0,027	M	2	29

7	1445	0,029	F	-10	0
8	1370	0,003	MD	-3	-84
9	1233	0,006	D	-8	-45
10	1152	0,009	D	6	-71
11	1028	0,047	MF	-6	-69
12	859	0,001	MD	-2	-80
13	814	0,003	MD	-2	-67
15	722	0,006	D	2	-40

A) Grupos amino, carboxilo y fosfato

En los espectros realizados se puede observar:

1. Una disminución de la absorbancia del 47% para SOCL, 42% para SOSL, 40% para BBCL y 69% para BBSL de la banda correspondiente a los grupos NH de la amina y OH del ácido carboxílico o/y del alcohol.
2. Un descenso del 59% para SOCL y un aumento del 54% y 33% para BBCL y BBSL respectivamente en la absorbancia de la banda del grupo C=O del ácido carboxílico
3. Una disminución del 49% para SOCL, 39% para SOSL, 42% para BBCL y 69% para BBSL en la absorbancia de la banda que puede pertenecer al grupo P-OH de los fosfatos.

Numerosos investigadores han indicado que el cambio en las bandas de los grupos amino, carboxilo y fosfato es debido a la participación de estos grupos en el mecanismo de biosorción/bioreducción del Cr(VI) (Murphy et al., 2008) (Murphy et al., 2009).

En el caso de BBCL y BBSL, el aumento de la absorbancia del grupo C=O indica que existen mecanismos de generación de grupos carboxílicos durante el proceso de biosorción/bioreducción del Cr(VI). La amida o/y el éster en un medio ácido, medio utilizado para la biosorción, pueden generar ácidos carboxílicos por hidrólisis. El pH utilizado en la biosorción por *Botryococcus* es de 1, menor que el utilizado con *Scenedesmus* de 2. También (Yang et al., 2008) han señalado que los alcoholes secundarios pueden ser los dadores de e⁻ que reducen al Cr(VI) convirtiéndose en ácidos carboxílicos.

(Bai et al., 2003) indican que los grupos amino son los responsables de la unión del Cr(VI) a la biomasa fúngica de *Rhizopus nigricans* mediante un mecanismo de atracción electrostática de la amina protonada y el anión cromato.

En este trabajo se demuestra, mediante el análisis XPS, que el cromo adsorbido en la biomasa está en forma de Cr(III), apartado 5.4.3. Este cromo es generado por reducción del Cr(VI), y esta reducción constituye una etapa fundamental en el mecanismo

de biosorción. La atracción electrostática entre los grupos funcionales protonados y el anión cromato constituye la primera etapa del mecanismo de biosorción, pero no justifica la retención del Cr(III) en la biomasa una vez se genera el Cr en este estado de oxidación.

Los investigadores que han trabajado sobre la biosorción de Cr(III) indican que el pH óptimo para el proceso está entre 3 y 5. (Tan et al., 2003) utilizando biomasa del hongo *Penicillium chrysogenum* concuerdan con el intervalo anterior y sugieren que el Cr(III) es retenido en la biomasa mediante intercambio iónico con los grupos amino.

Para valores de pH entre 1 y 2 se ha demostrado en este trabajo que el Cr(III) no se adsorbe en los cuatro biosorbentes utilizados, apartado 5.4.1 lo que descarta el intercambio iónico. Probablemente el Cr(III) es retenido en la biomasa mediante un proceso de complejación con algún grupo funcional del biosorbente.

(Park et al., 2005c) han propuesto un mecanismo de biosorción del Cr(VI) con la biomasa de la macroalga *Ecklonia sp.* en donde el Cr(VI) se reduce por grupos que tienen un potencial de reducción inferior a (+1,3 V) y el Cr(III) generado se compleja con otros grupos superficiales. Los autores no especifican la naturaleza de ambos tipos de grupos, sin embargo demuestran que los grupos amino y carboxilo juegan un papel importante en el proceso de biosorción/bioreducción.

Estos resultados coinciden con los de (Ramrakhiani et al., 2011) y (Parvathi et al., 2008) que al modificar los grupos amino, carboxilo o fosfato de la biomasa fúngica de *Termitomyces chypeatus* y de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, mediante tratamiento químico, obtienen eficiencias de eliminación del Cr(VI) menores. Para (Zhitkovich et al., 1996) los grupos aminoácidos pueden complejar al Cr(III).

B) Grupos amida

La banda correspondiente a los grupos carbonilo, C=O de la amida primaria presenta una disminución de la absorbancia del 48% para SOCL, 41% para SOSL, 11% para BBCL y 72% para BBSL.

En la banda de los grupos C-N y N-H de la amida secundaria para *Scenedesmus* se observa una disminución de la absorbancia del 38% y 41% para SOCL y SOSL respectivamente y para BBCL y BBSL esta absorbancia aumenta un 38% y 29% respectivamente.

Es muy difícil asegurar las causas del cambio registrado en las bandas de estos grupos. En un medio ácido la amida se convierte por hidrólisis en un ácido carboxílico. Sin embargo, varios investigadores involucran a los grupos amida en la biosorción/bioreducción del Cr(VI). (Li et al., 2010) han indicado que los compuestos nitrogenados de la biomasa de *Leersia hexandra* Swartz son los responsables de la

reducción del Cr(VI). El nitrógeno tiene una tendencia obvia a perder los electrones que son necesarios para la reacción de reducción. Por otra parte, los grupos oxigenados no son capaces de reducir al Cr(VI) pero son fácilmente protonados y pueden adsorber al Cr(VI) en su forma aniónica para reducirse por los compuestos nitrogenados. El Cr(III) formado se enlaza con los grupos amida.

En este trabajo se ha observado un desplazamiento y cambio en la absorbancia de la banda correspondiente a los grupos amida por lo que es probable estén involucrados en el proceso de biosorción /bio-reducción del Cr(VI).

5.3.3 Análisis de los espectros XPS

Para realizar los espectros XPS, las superficies a analizar se irradian con fotones de RX. Cuando un fotón de energía $h\nu$ interacciona con un electrón en un nivel con una energía de enlace EB, la energía del fotón se transfiere completamente al electrón, con el resultado de la emisión de un fotoelectrón con una energía cinética dada por la ecuación:

$$E_{\text{cin}} = h\nu - EB - W \quad [5.39]$$

en la que el último término engloba a la función de trabajo del equipo utilizado.

Obviamente $h\nu$ debe ser mayor que EB. El electrón emitido puede proceder de un nivel interno, o de una parte ocupada de la banda de valencia. En XPS la mayor atención se centra en los electrones de los niveles internos.

Como no existen dos elementos que compartan el mismo conjunto de energías de enlace, la medida de las energías cinéticas suministra de forma indirecta un análisis elemental de la muestra.

Además la ecuación [5.39] indica, que cualquier cambio en EB se reflejará en E_{cin} , lo que significa que cambios en el ambiente químico de un átomo pueden evaluarse estudiando los cambios en las energías fotoelectrónicas.

Es por ello, que se han realizado los espectros XPS, locales de alta resolución, en la zona de energías de enlace entre 570-590 eV correspondiente a la región central Cr2p, de los cuatro biosorbentes después de la biosorción/bio-reducción de Cr(VI), de los biosorbentes con Cr(III) adsorbido y de las sales de Cr(III) y Cr(VI); $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ y $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ recogidos en las Figuras 5.26 a 5.29 Siendo el objetivo de los mismos verificar el estado de oxidación del Cr enlazado a la biomasa.

Las sales de cromo y la biomasa con Cr(III) adsorbido, constituyen la referencia para la comparación de los espectros. Las sales de Cr(III) y Cr(VI) proporcionan información sobre los dos estados de oxidación en un ambiente químico simple y las biomazas con Cr(III) adsorbido proporcionan información en un entorno químico más complejo y similar al de las muestras.

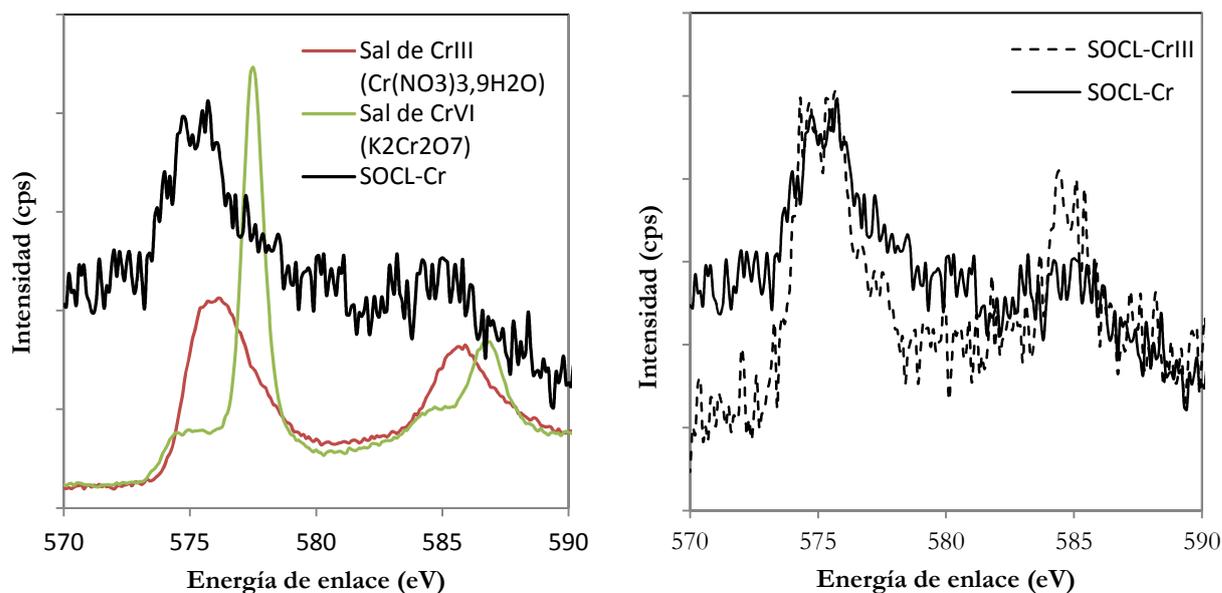


Figura 5.26 Espectros XPS de SOCL después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI) (SOCL-Cr), de SOCL con Cr(III) (SOCL-CrIII) y de sales de Cr(III) y Cr(VI)

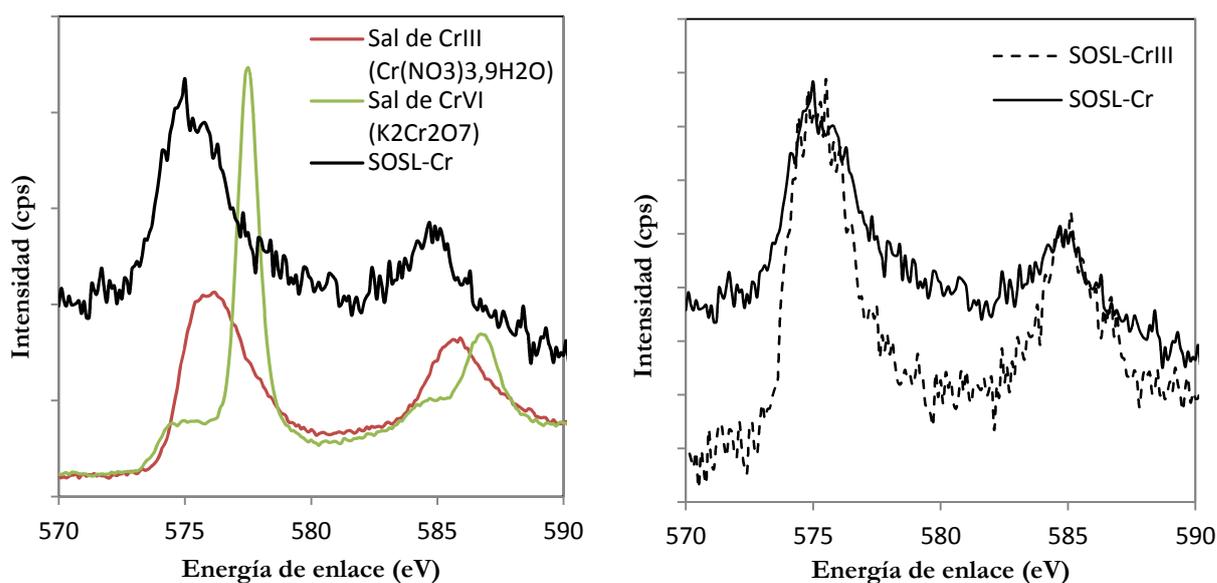


Figura 5.27 Espectros XPS de SOSL después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI) (SOSL-Cr), de SOSL con Cr(III) (SOSL-CrIII) y de sales de Cr(III) y Cr(VI)

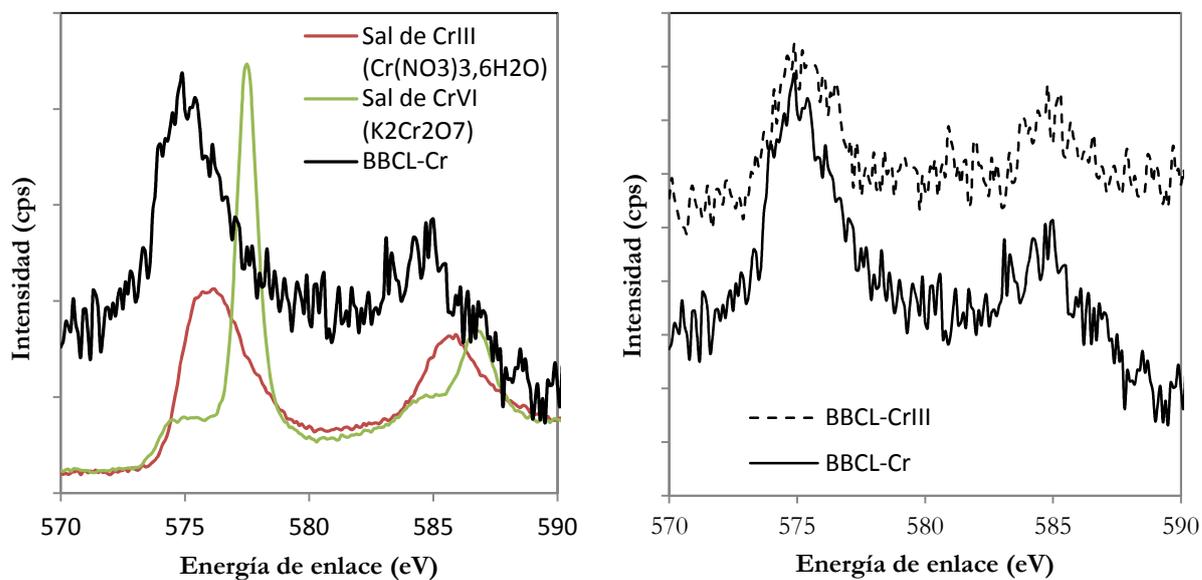


Figura 5.28 Espectros XPS de BBCL después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI) (BBCL-Cr), de BBCL con Cr(III) (BBCL-CrIII) y de sales de Cr(III) y Cr(VI)

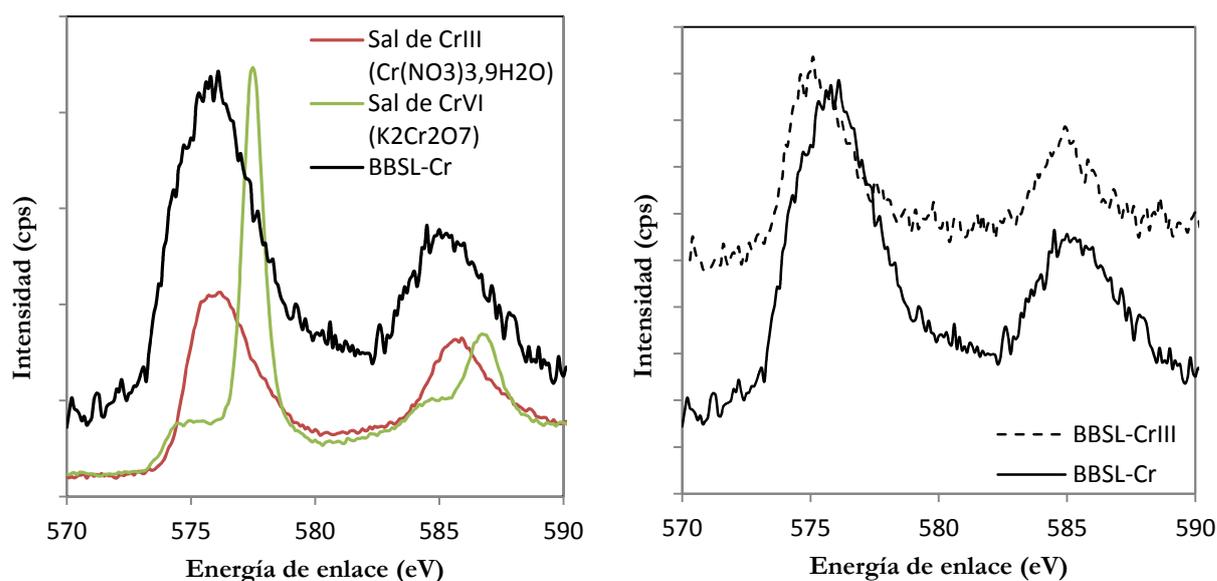


Figura 5.29 Espectros XPS de BBSL después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI) (BBSL-Cr), de BBSL con Cr(III) (BBSL-CrIII) y de sales de Cr(III) y Cr(VI)

El espectro XPS del cromo se caracteriza por dos bandas que aparecen a energías de enlace entre 574-580 y 583-588 eV y corresponden a los orbitales Cr2p_{3/2} y Cr2p_{1/2} respectivamente.

En la Tabla 5.19 se recogen las posiciones de las bandas correspondientes a los cuatro biosorbentes después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI), de las sales de Cr(III) y Cr(VI) y de los biosorbentes con Cr(III).

Tabla 5.19 Posición de las bandas correspondientes a los orbitales Cr2p_{3/2} y Cr2p_{1/2} de los biosorbentes después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI), de las sales de Cr(III) y Cr(VI) y de los biosorbentes con Cr(III)

Orbital	SOCL		SOSL		BBCL		BBSL	
	Energía de enlace, eV							
	Cr2p _{3/2}	Cr2p _{1/2}						
Después de la biosorción/bioreducción de Cr(VI)	575,1	584,7	575,2	585,2	575,4	585,1	575,9	585,6
Sal de Cr(III) Cr(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O	576,3	585,6	576,3	585,6	576,3	585,6	575,4	585,3
Sal de Cr(VI) K ₂ Cr ₂ O ₇	577,5	586,8	577,5	586,8	577,5	586,8	577,5	586,8
Biosorbente con Cr(III)	575,2	584,7	575,2	585,2	575,4	585,1	575,4	584,9

Para los cuatro biosorbentes utilizados, las posiciones de las bandas del espectro XPS después de la biosorción/bioreducción del Cr(VI) coinciden con las posiciones de las bandas características del espectro de la sal de Cr(III). Este resultado sugiere que la forma del cromo adsorbido en los cuatro biosorbentes es el cromo trivalente.

Para visualizar el efecto del entorno químico del cromo retenido, sobre la posición de los picos, se han comparado los espectros con los de los biosorbentes con Cr(III) adsorbido. Las posiciones de las bandas son muy similares lo que confirma que la forma del cromo retenido por la biomasa en los experimentos de biosorción de Cr(VI), por los cuatro biosorbentes, es el cromo trivalente.

Este resultado coincide con el obtenido por diferentes autores, utilizando material muy diverso, desde hierba de pasto *Leersia hexandra*, hojas de pino, cáscaras de plátano, de piña, residuos de operaciones de fermentación industriales y la macroalga *Ecklonia* (Li et al., 2010) (Park et al., 2008a) (Park et al., 2008b) (Park et al., 2007a) (Park et al., 2007b).

La forma del cromo adsorbido depende del poder reductor del biosorbente. Cuando la cantidad de los grupos reductores no es suficiente para reducir la totalidad del Cr(VI) adsorbido, se puede encontrar el cromo en la dos formas hexavalente y trivalente. Esta es la situación que observan (Murphy et al., 2009) cuando utilizan como biosorbentes biomasa de las macroalgas *F. vesiculosus*, *Ulva sp.* y *P. palmata*.

5.3.4 Imágenes FIB-FESEM

En las Figuras 5.30 a 5.37 se recogen las imágenes de la superficie de los aglomerados celulares que constituyen los diferentes biosorbentes.

Esta microscopía permite la observación micromorfológica de los materiales. Se han seleccionado las imágenes correspondientes a un aumento x 10000.

Las fotografías muestran considerables diferencias en la morfología superficial de las biomásas, potencialmente originadas por las diferentes composiciones de las superficies celulares. En Bibliografía, se dispone de algunas imágenes FIB-FESEM de macroalgas tales como *Fucus vesiculosus*, *Ulva sp.*, *Palmaria palmata* pero no de microalgas (Murphy et al., 2009).

Los aglomerados celulares tienen una superficie uniforme, con poros de menor tamaño en el caso de *Scenedesmus*, siendo la superficie para *Botryococcus* considerablemente más irregular.

La extracción lipídica, en general, favorece la compactación de los aglomerados observándose estructuras con menor porosidad.

La biosorción de Cr origina un alisamiento de la superficie para los cuatro biosorbentes. Este efecto, es también observado y comentado por (Murphy et al., 2009) en las macroalgas anteriormente mencionadas y para la adsorción de Cr(III). Lo que concuerda con que el cromo retenido en las biomásas utilizadas en este trabajo esté en dicha forma.

Estos autores consideran que en la formación de cualquier complejo superficial el Cr (III) de radio iónico $0,69\text{\AA}$, presenta una esfera de coordinación menor que por ejemplo la de calcio, metal habitualmente presente en la superficie celular. Por tanto el complejo de Cr(III) presenta un número menor de grupos hidroxilo y carboxilo lo que conduce a una relajación superficial y a un aparente alisamiento.

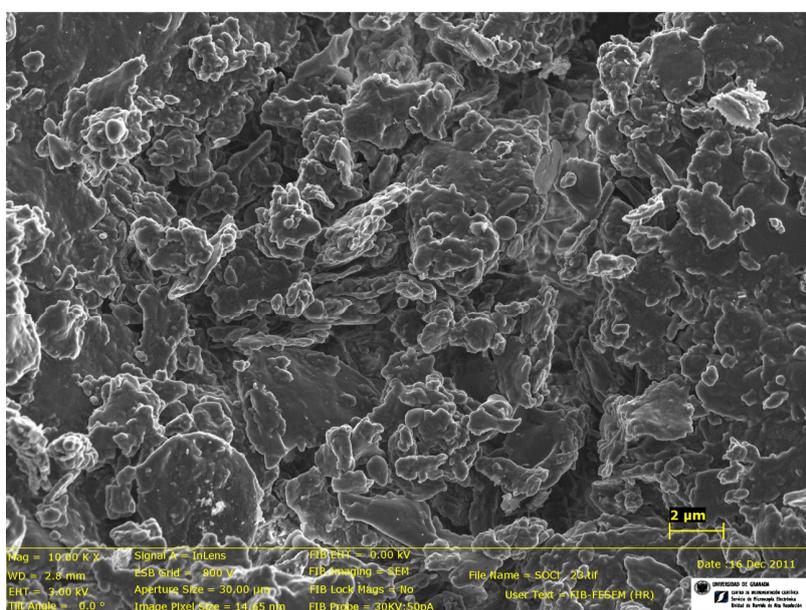


Figura 5.30 Imagen FIB-FESEM de SOCL

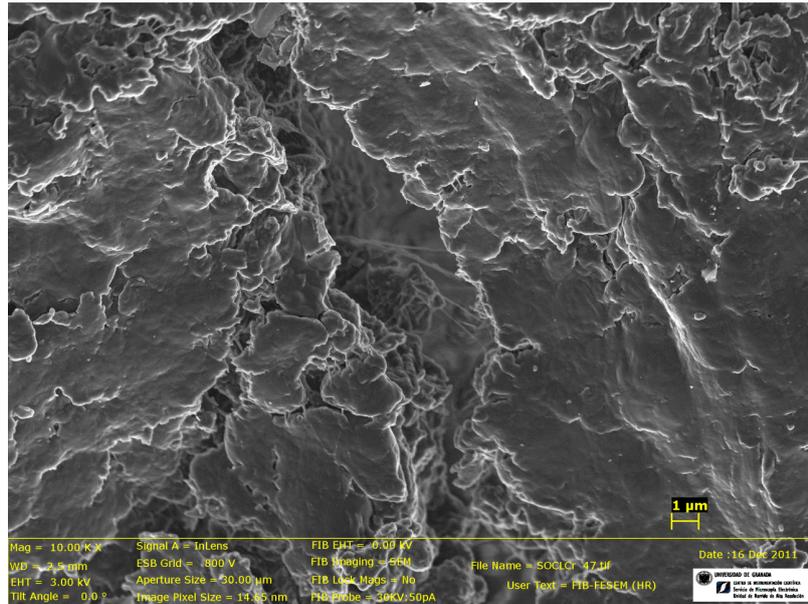


Figura 5.31 Imagen FIB-FESEM de SOCL-Cr

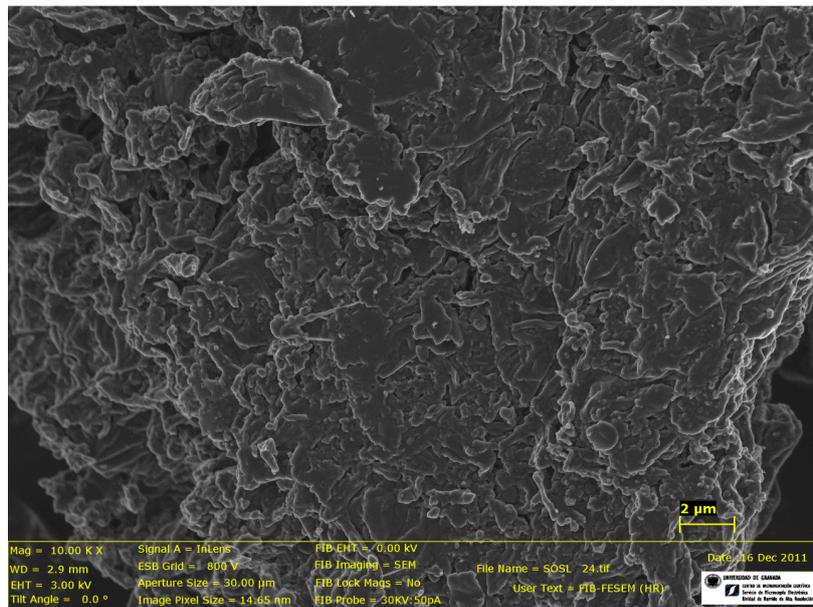


Figura 5.32 Imagen FIB-FESEM de SOSL

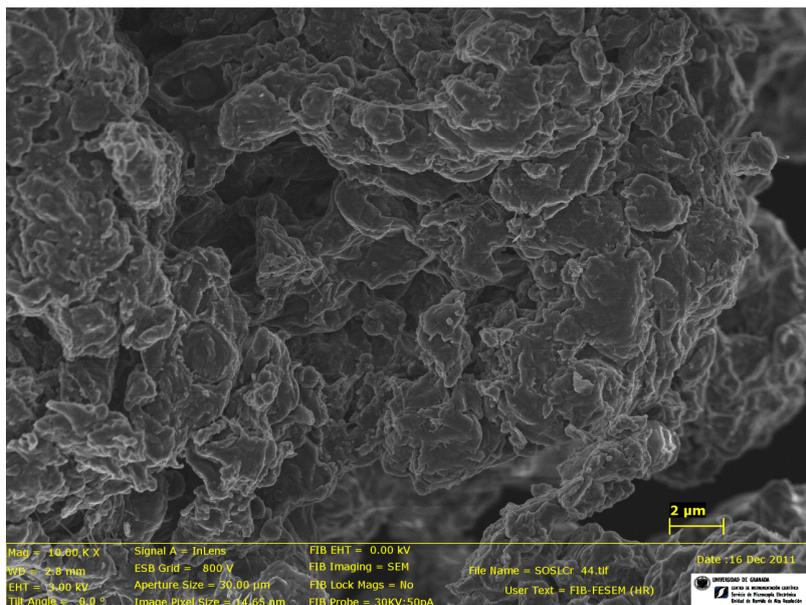


Figura 5.33 Imagen FIB-SESEM de SOSL-Cr

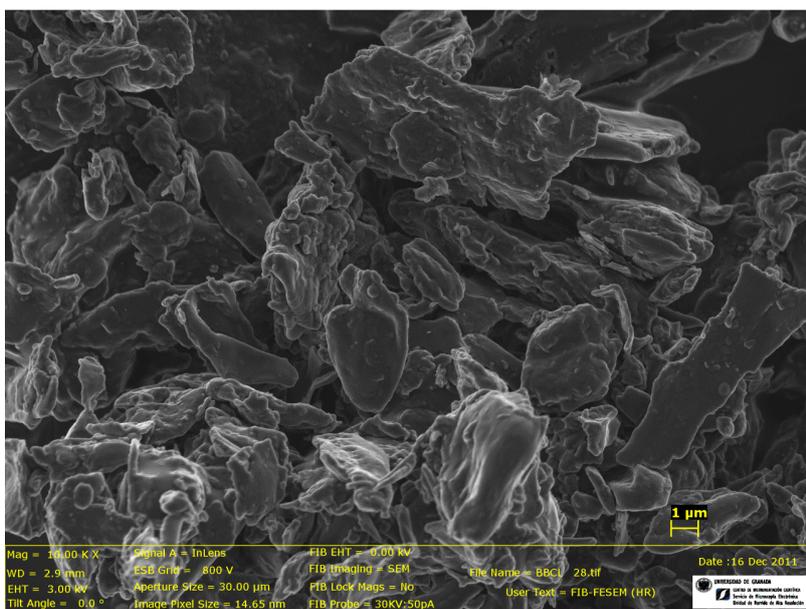


Figura 5.34 Imagen FIB-SESEM de BBCL

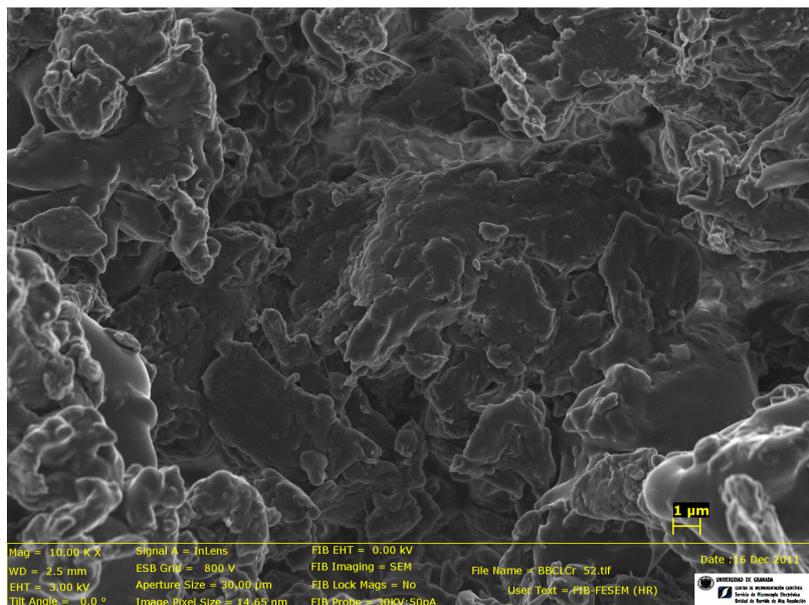


Figura 5.35 Imagen FIB-FESEM de BBCL-Cr

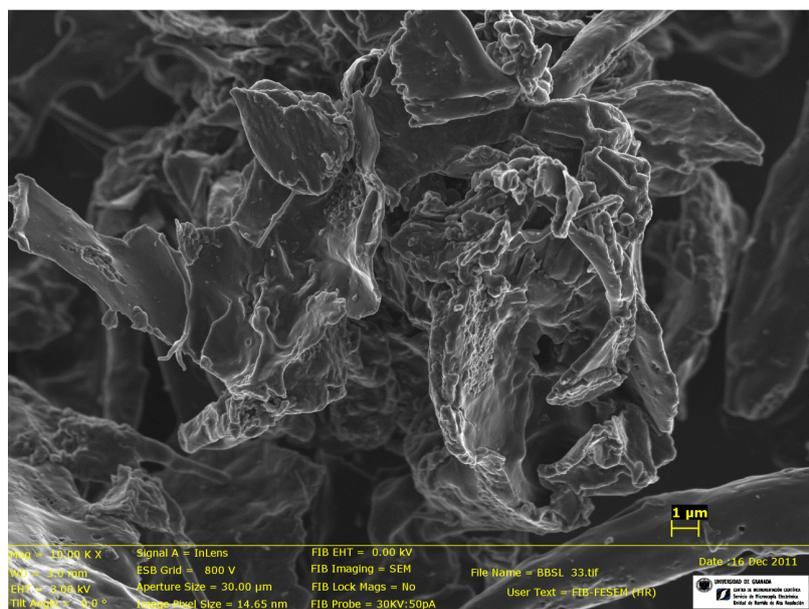


Figura 5.36 Imagen FIB-FESEM de BBSL

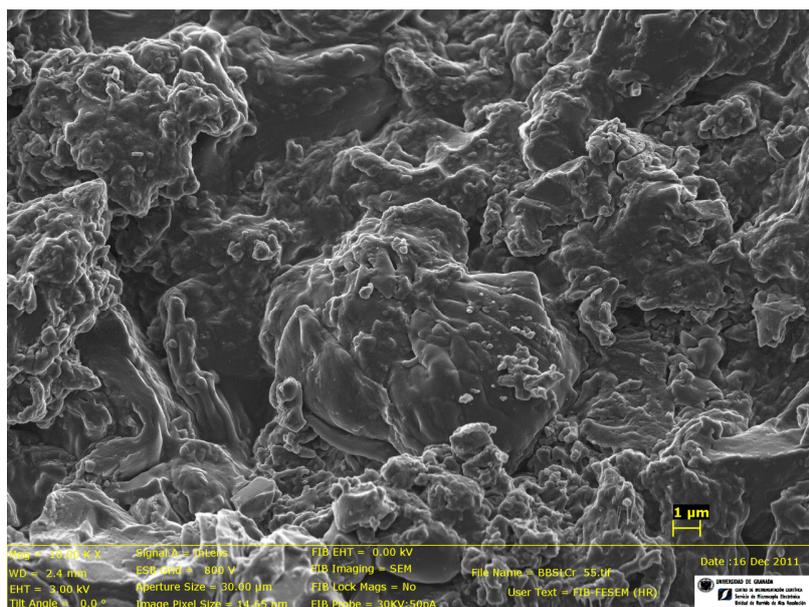


Figura 5.37 Imagen FIB-FESEM de BBSL-Cr

5.3.5 Análisis elemental de los biosorbentes

En la Tabla 5.20 se recogen los resultados del análisis elemental de los cuatro biosorbentes utilizados. Éstos corresponden a las biomazas de las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii* crecidas en aguas residuales urbanas ARUT y ARUJ respectivamente, tanto en sus formas nativas, como extraídos los lípidos de las mismas.

Tabla 5.20 Análisis elemental de los biosorbentes utilizados

Biosorbente	% N	% C	% H	% S	% O
SOCL	6,69	48,69	8,23	0,78	35,61
SOSL	6,96	42,25	7,07	1,04	42,67
BBCL	2,80	49,23	8,15	2,77	37,05
BBSL	4,84	44,32	7,38	1,26	42,20

El elemento mayoritario es el C estando el contenido de las biomazas nativas próximo al valor habitual del 50 %. *Botryococcus* presenta un contenido ligeramente superior al de *Scenedesmus* y éste disminuye en ambos casos tras la extracción lipídica, un 13,2 % para SOSL y un 10,0 % para BBSL.

El contenido en N próximo al 7% en SOCL y SOSL indica una biomasa que ha crecido en un medio con exceso de este elemento, tal como se indicó en el apartado 5.1.1.2. Esa es la situación del medio ARUT en el que existe un gran exceso de N en relación al P. La situación es la contraria en el caso de ARUJ.

Los altos contenidos en N de *Scenedesmus* son confirmados mediante el análisis de XPS, que proporcionó un valor para el mismo de 7,15 y 6,86% para SOCL y SOSL respectivamente.

El contenido en N o no varía o incluso experimenta un aumento tras la extracción lipídica lo que evidencia que este elemento fundamentalmente forma parte de la dotación proteica de la biomasa y ésta permanece en la misma.

En ambas biomasas disminuye el contenido en H lo que se justifica por la extracción de las cadenas hidrocarbonadas constituyentes de los lípidos. Los descensos del contenido en H de un 14 y 9,44% son similares a los de C.

5.3.6 Contenido lipídico y perfil en ácidos grasos de los biosorbentes

Para las biomasas crecidas repetitivamente en aguas residuales ARUT y ARUJ, y que constituyen los biosorbentes utilizados, sus contenidos medios en lípidos totales y sus perfiles de ácidos grasos se recogen en las Tablas 5.21 a 5.23.

Tabla 5.21 Lípidos totales, % en peso sobre biomasa seca

BIOMASA	Lípidos, %
<i>Scenedesmus Obliquus</i>	26,43 (5,45)*
<i>Botryococcus braunii</i>	29,97 (4,49)

*entre paréntesis la desviación estándar

Tabla 5.22 Perfil de ácidos grasos para *Scenedesmus obliquus*

SOCL			
Ácido graso	%	Ácido graso	%
9:0	0,89	18:0	4,66
12:0	0,33	20:1	0,11
14:0	1,57	20:0	0,25
15:0	0,85	22:0	0,28
16:1	0,86	24:0	0,12
16:0	79,02	26:0	0,05
17:0	0,20	28:0	0,36
17:0	0,43	30:0	0,05

18:1	5,99		96,02
Saturados	89,06	Monoinsaturados	6,96
SOSL			
Ácido graso	%	Ácido graso	%
9:0	0,56	18:2	0,31
12:0	0,88	22:0	0,31
16:1	0,26	24:0	0,27
16:0	84,73	26:0	0,23
18:1	3,24	28:0	1,20
18:0	4,40	30:0	0,25
			96,64
Saturados	92,83	Monoinsaturados	3,81

Resto a 100, ácidos grasos no identificados

Tabla 5.23 Perfil de ácidos grasos para *Botryococcus braunii*

BBCL			
Ácido graso	%	Ácido graso	%
14:0	1,34	18:1	5,37
16:0	65,09	18:0	17,75
17:0	1,47	20:0	0,61
			87,81
Saturados	86,26	Monoinsaturados	5,37
BBSL			
Ácido graso	%	Ácido graso	%
9:0	0,64	17:0	0,90
12:0	0,77	18:1	2,16
14:0	0,96	18:0	6,99
16:1	trazas	22:4	0,92
16:0	75,97		89,29
Saturados	86,23	Monoinsaturados	2,16
Poliinsaturados	0,92		

Resto a 100, ácidos grasos no identificados

Los contenidos lipídicos, están dentro de los límites habituales para ambas algas si bien para *Botryococcus* se han obtenido valores del 40 % cuando crece en aguas residuales urbanas ARUJ y se enriquece el aire aportado, con un 0,5 % en CO₂ (Orpez, R). *Scenedesmus obliquus* creciendo en un medio constituido por agua residual de la industria oleícola OMW al 5%, produjo lípidos al 36 % de la biomasa seca. Este alto contenido es indicativo de crecimiento en un medio con bajo contenido en N (Hodaifa et al., 2008) (Hodaifa et al., 2009a).

Entre los ácidos grasos saturados, el más abundante es el palmítico (16:0) seguido del esteárico (18:0). Destaca el alto contenido en este último ácido en la biomasa de BBCL de casi un 18 %. De los monoinsaturados el oleico (18:1n9) está presente a valores de hasta un 5,99 % en SOCL y un 5,37 % en BBCL, las biomásas extraídas los lípidos presentan un porcentaje menor de este ácido graso. No se detectan ácidos grasos poliinsaturados tales como linoleico 18:2n6, α -linolénico 18:3n3, octadecatetraenoico 18:4n3, DHA 22:6n3, EPA 20:5n3 presentes en estas algas en otras circunstancias. (Hodaifa et al., 2009b). Solo en las muestras de BBSL se ha identificado a 22:4n3 docosatetraenoico. Los ácidos no identificados de *Botryococcus* representan un % mayor que en *Scenedesmus* ya que esta alga posee lípidos muy particulares característicos de la especie y de la raza.

Para la aplicación de los lípidos de microalgas a la elaboración de biodiesel, es interesante un bajo contenido en ácidos grasos poliinsaturados. Este contenido viene regulado en la norma europea EN14214 que limita en los ésteres metílicos un 12 % máximo procedentes del linolénico y un 1 % de poliinsaturados en general.

5.4 EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN

El proceso de biosorción implica la utilización de una fase sólida “sorbente” en contacto con una fase líquida “solvente” que contiene la especie o especies que van a ser adsorbidas “sorbato”. Estas especies son atraídas y retenidas por el sólido y el proceso, cuando se realiza en discontinuo, evoluciona en el tiempo hasta que se alcanza un equilibrio entre el sorbato disuelto y el sorbato enlazado al sólido.

En el estudio de un proceso de biosorción, los principales objetivos son aclarar el mecanismo por el que el proceso transcurre, obtener la afinidad del sorbente por el sorbato y analizar como las condiciones medioambientales y de operación afectan al proceso.

5.4.1 Influencia del pH

El pH es una de las variables medioambientales del medio líquido que más afecta a la biosorción de los metales pesados, ya que determina la hidrólisis del metal y la carga neta superficial del adsorbente (Rivera et al., 2003).

El cromo hexavalente, a diferencia de otros muchos metales pesados, se caracteriza porque en disolución acuosa se presenta en forma aniónica. La Figura 5.38 muestra para una concentración de 100 mg/L: 1,92 mM el diagrama de especiación del mismo. Se observa la existencia de cuatro especies CrO_4^{2-} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, HCrO_4^- y H_2CrO_4 .

Constituyendo a pH muy ácidos el anión monohidrógeno cromato, HCrO_4^- , la especie mayoritaria (90%) y a pH muy básicos el anión cromato la única especie.

A la concentración de Cr utilizada para realizar el diagrama (programa Medusa), la mayor utilizada en este trabajo, todas las especies se encuentran en forma soluble en la disolución acuosa.

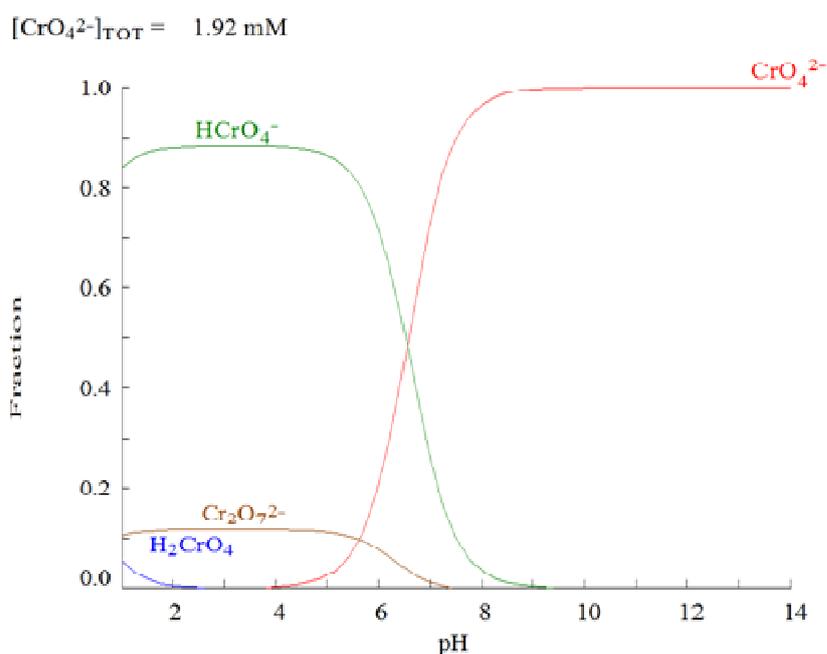


Figura 5.38 Diagrama de especiación del Cr(VI)

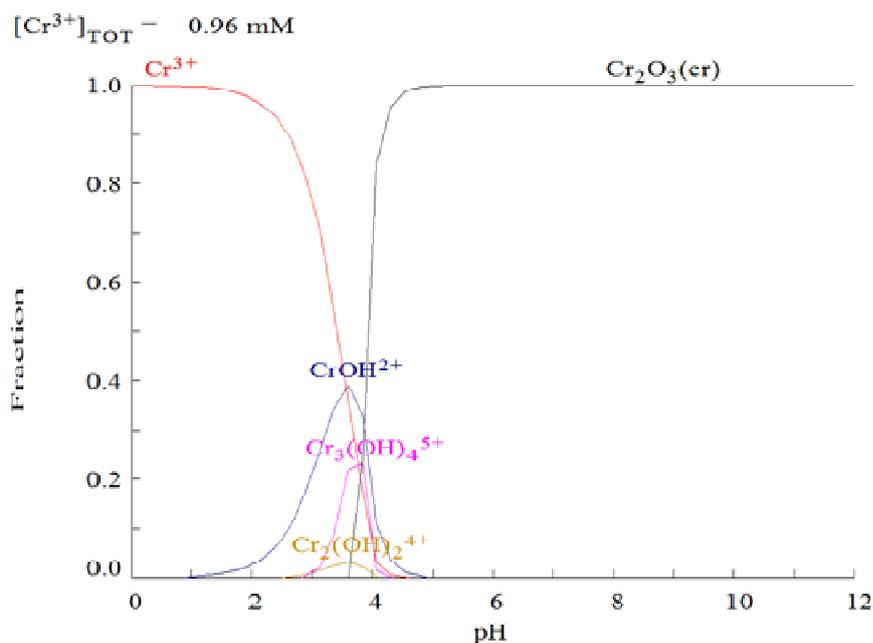


Figura 5.39 Diagrama de especiación del Cr(III)

Esta característica es función del estado de oxidación, ya que las especies de Cr(III) indicadas en la Figura 5.39 para una concentración de 50 mg/L \therefore 0,96 mM son catiónicas. A valores de pH mayores a 5 el Cr(III) aparece en forma de una fase sólida constituida al 100% por Cr_2O_3 . La diferencia en solubilidad origina la mayor movilidad del Cr(VI).

La naturaleza aniónica del Cr(VI) determina la idoneidad de bajos valores de pH de trabajo ya que éste debe ser inferior al valor correspondiente al punto de carga cero, de forma que la biomasa presente una carga neta positiva.

Diferentes autores recomiendan la utilización de pH ácidos estando el valor más utilizado en el intervalo 1-3 (Kratochvil et al., 1998) (Park et al., 2004a) (Zheng et al., 2011). A estos valores de pH los centros activos estarán protonados por lo que existirá una fuerte atracción por los aniones de cromo en disolución.

Por otra parte, dado el carácter oxidante del Cr(VI), en medios ácidos se favorece la reducción del mismo, mediante alguna de las reacciones siguientes:





El Cr(VI) en medio ácido y en presencia de muchos sólidos biosorbentes, que poseen en superficie compuestos dadores de electrones, es reducido a Cr(III) (Park et al., 2004) (Park et al., 2005c) (Han et al., 2007). Por lo que la eliminación de Cr(VI) del medio líquido implica una adsorción y reducción del mismo.

Considerando la especie HCrO_4^- la mayoritaria, a bajos valores de pH, la adsorción en la biomasa puede representarse por:



y la reacción [5.42] de reducción del Cr(VI) ocurrirá simultáneamente con:



En base a la ecuación de Nernst, el potencial redox para el sistema $\text{HCrO}_4^-/\text{Cr(III)}$ puede expresarse:

$$E \left(\frac{\text{HCrO}_4^-}{\text{Cr(III)}} \right) = E^0 + \Delta E_{\left(\frac{\text{HCrO}_4^-}{\text{Cr(III)}} \right)} + \Delta E_{\text{pH}} \quad [5.46]$$

o más detalladamente:

$$E \left(\frac{\text{HCrO}_4^-}{\text{Cr(III)}} \right) = E^0 \left(\frac{\text{HCrO}_4^-}{\text{Cr(III)}} \right) + \frac{0,059}{3} \log \left(\frac{\text{HCrO}_4^-}{\text{Cr(III)}} \right) - \frac{7 \cdot 0,059}{3} \text{pH} \quad [5.47]$$

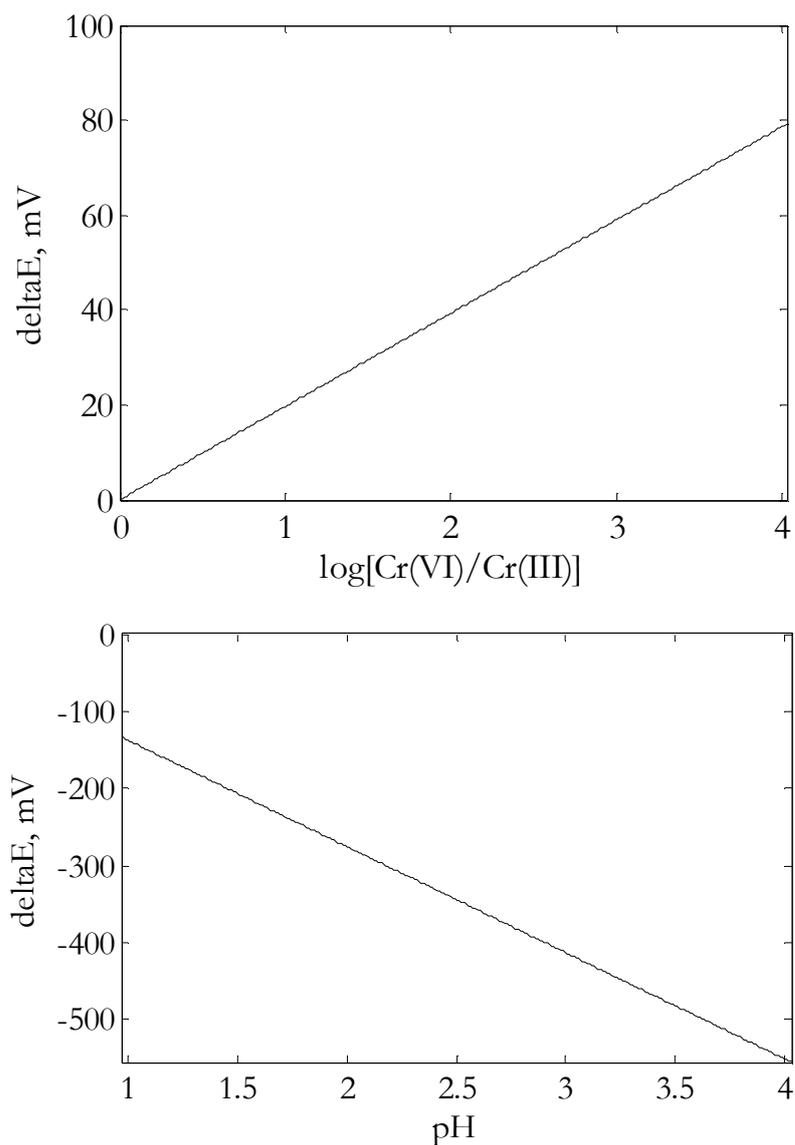


Figura 5.40 Influencia sobre el potencial de reducción de la concentración de Cr y pH

En la Figura 5.40 se indican las contribuciones al potencial de reducción de la razón de concentraciones $\text{Cr(VI)}/(\text{Cr(III)})$, $\Delta E_{\left(\frac{\text{HCrO}_4^-}{\text{Cr(III)}}\right)}$, y del pH, ΔE_{pH} , obtenidas a partir de la ecuación [5.47]. Conforme mayor es la razón de concentraciones y menor es el pH mayor es el valor del potencial y por tanto mayor es la capacidad de que el Cr(VI) oxide a la biomasa. El efecto de una modificación del pH sobre el potencial de reducción es significativamente mucho mayor que el efecto de la concentración.

Como consecuencia, a bajos valores de pH y siempre y cuando $E\left(\frac{\text{HCrO}_4^-}{\text{Cr(III)}}\right) > E\left(\frac{\text{B-red}}{\text{B-ox}}\right)$ se producirá la oxidación de algunos compuestos de la biomasa, por lo que el proceso a analizar debe considerarse como de biosorción-bioreducción.

Muchos autores, tratan de clarificar el mecanismo por el que este proceso transcurre, siendo los mecanismos I y II de reducción directa e indirecta los más comúnmente aceptados (Kratochvil et al., 1998) (Yun et al., 2001). Si bien estos mecanismos están descritos en el apartado 2.5.3, conviene recordar las etapas constituyentes.

El Mecanismo I o de reducción directa implica que el Cr(VI) es reducido a Cr(III) en la fase acuosa, por contacto con los grupos dadores de e^- de la biomasa.

El mecanismo II o de reducción indirecta consta de tres etapas:

1. Unión de los aniones de Cr(VI) a los grupos positivamente cargados de la biomasa.
2. Reducción del Cr(VI) a Cr(III) por grupos adyacentes dadores de e^- .
3. Liberación de iones Cr(III) en la solución acuosa debido a la repulsión electrónica entre los grupos positivamente cargados y Cr^{3+} . Simultáneamente también puede ocurrir la complejación del Cr(III) con grupos adyacentes capaces de enlazar a este ión.

Que la reacción proceda por uno u otro mecanismo o por ambos simultáneamente, dependerá de las características del sistema de biosorción; pH, temperatura, especies en la biomasa y concentraciones de biomasa y Cr(VI) respectivamente (Park et al., 2004) (Park et al., 2005a) (Park et al., 2005b) (Park et al., 2005c). (Park et al., 2005d).

Para analizar el efecto del pH se han realizado los experimentos con las biomásas nativas que se recogen en las Tablas 4.15 y 4.16 En los que a una concentración inicial de Cr(VI) de 100 mg/L y 1 g/L de biosorbente se analiza el efecto sobre el equilibrio de los valores de pH inicial desde 1 a 4.

Dada la reducción del Cr(VI), para el seguimiento del Cr presente en la disolución se ha analizado Cr(VI), Cr(Total) tras oxidación de las muestras por el procedimiento operatorio descrito en 3.10.3 y 3.10.4 y el Cr(III) determinado por diferencia. En todos los casos la duración de los experimentos ha sido de 48 h establecida en unos experimentos previos.

La aparición en el medio líquido de Cr(III) procedente de la reducción de la forma hexavalente lleva a considerar al proceso en sus dos vertientes. Una, denominada detoxificación que considera la desaparición del Cr(VI) del medio líquido por adsorción y reducción y otra, denominada eliminación considera la desaparición del Cr(Total) del mismo, por retención en la biomasa.

Los porcentajes de detoxificación y eliminación en el equilibrio se definen según:

$$\% \text{ detoxificación} = \frac{[\text{Cr(VI)}]_o - [\text{Cr(VI)}]_e}{[\text{Cr(VI)}]_o} \cdot 100 \quad [5.48]$$

$$\% \text{ eliminación} = \frac{[\text{Cr(VI)}]_o - [\text{Cr(Total)}]_e}{[\text{Cr(VI)}]_o} \cdot 100 \quad [5.49]$$

el subíndice o representa la condición inicial y e la condición de equilibrio. La concentración de Cr(Total) es la suma de las concentraciones de las formas hexavalente más trivalente. Estos porcentajes se indican en la Tabla 5.24 y se han representado en las Figuras 5.41 y 5.42 frente al pH inicial.

Tabla 5.24 Porcentajes de detoxificación y eliminación de Cr

	% Detoxificación	% Eliminación	[Cr(VI)] eliminado, mM	[H ⁺] consumidos, mM
SOCL	78,63	43,45	1,51	43,1
	67,74	45,71	1,29	4,2
	15,04	11,06	0,29	0,93
	8,80	5,75	0,17	0,08
BBCL	59,29	30,59	1,14	11,8
	35,48	32,08	0,68	3,19
	22,74	21,68	0,44	1,30
	16,63	15,84	0,32	0,06

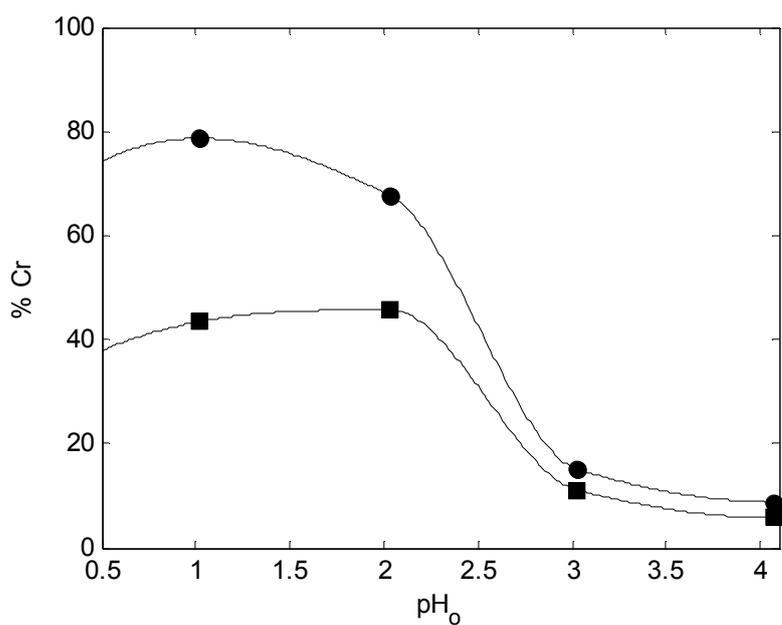


Figura 5.41 Porcentajes de detoxificación ● eliminación ■ para SOCL

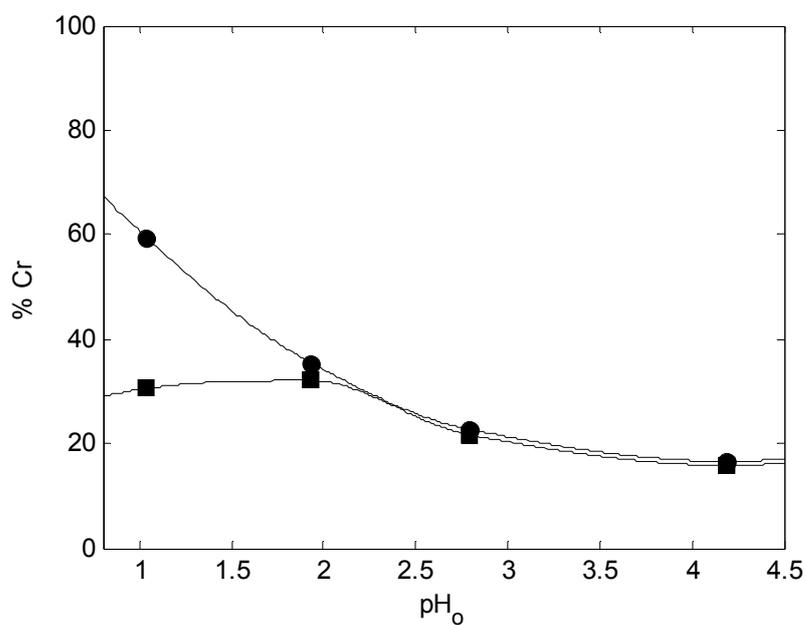


Figura 5.42 Porcentajes de detoxificación ● eliminación ■ para BBCL

Ambos porcentajes dependen acusadamente del pH, variando en un intervalo de 4 unidades desde un valor del 78,63% a 8,80 % para la detoxificación por SOCL. A pH 1 en ambas microalgas, aproximadamente el Cr es retirado del medio, un 50% por adsorción y un 50% por reducción.

Conforme el pH aumenta ambos porcentajes tienden a igualarse, lo que pone de manifiesto que la reacción de reducción ocurre en menor extensión y cuando ambos porcentajes se igualen es que ha dejado de producirse. Ocurriendo entonces que $E\left(\frac{\text{HCrO}_4^-}{\text{Cr(III)}}\right) = E\left(\frac{\text{B-red}}{\text{B-ox}}\right)$ y siendo entonces el Cr retenido solo por adsorción.

Este efecto tan acusado del pH es debido a la influencia sobre el potencial de reducción ya comentada y al alto consumo de H^+ que precisa la reacción de reducción [5.42] para producirse en el sentido indicado.

A pH 3 y 4 la reducción sigue produciéndose con ambos biosorbentes, ya que se detecta Cr(III) en el medio como puede visualizarse en los perfiles de concentración frente a pH recogidos en la Figura 5.43, estando para *Botryococcus* prácticamente al límite de detección.

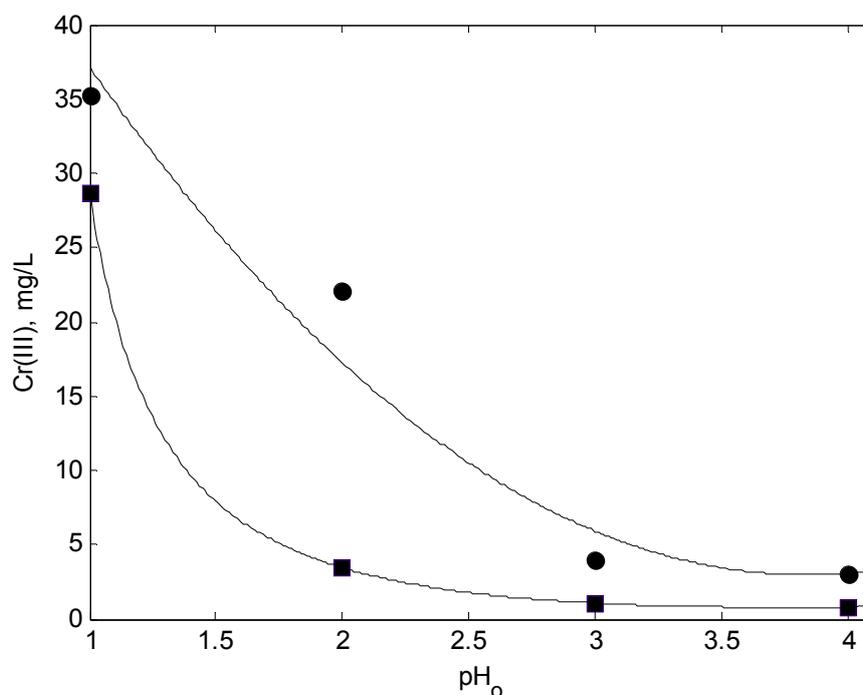


Figura 5.43 Perfil Cr(III) frente al pH inicial □ *Scenedesmus* ■ *Botryococcus*

La capacidad de reducción de *Botryococcus* es menor que la de *Scenedesmus* ya que la concentración de centros reductores determinados según el procedimiento descrito en el apartado 5.4.2 es de 2,40 mmol/g frente a 7,00 mmol/g para *Scenedesmus*.

El consumo de protones que la adsorción y reducción implican determina una variación del pH durante el transcurso del proceso. En la Figura 5.44 se ha representado el pH final frente al inicial.

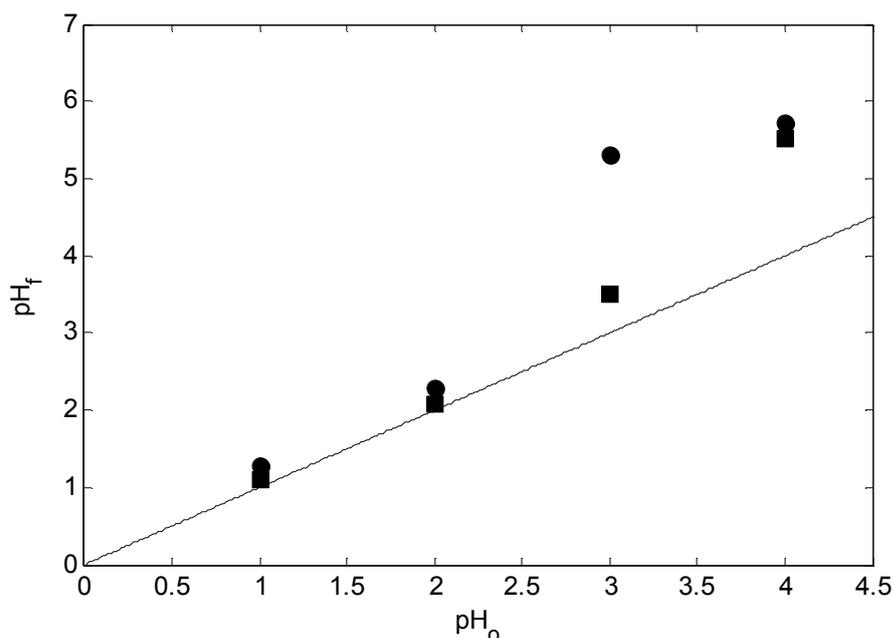


Figura 5.44 pH final frente a pH inicial ● SOCL ■ BBCL

El consumo de H^+ , Tabla 5.24 es mucho mayor a bajos valores de pH ya que la retirada de protones del medio es debido a la adsorción y la reducción, sin embargo a pH inferiores a 2 dada la alta concentración de protones existente, el consumo indicado no modifica significativamente el pH. A pH iniciales de 3 y 4 el consumo de H^+ debido ahora mayoritariamente a la adsorción si modifica el pH alcanzándose valores finales del orden de 5.

En la Figura 5.45 se ha representado la concentración de Cr(VI) detoxificado, expresado por el numerador de la ecuación [5.48] frente a la concentración de protones consumidos. Ambas magnitudes se ajustan a una curva de saturación. (Park et al., 2005b) obtienen esta relación en base a datos de un único experimento en el que miden la variación de pH en el tiempo y consideran que la relación es lineal, pero estos autores analizan unos intervalos de eliminación de Cr(VI) entre 0 y 1 mM y de consumo de protones de 0 a 4 mM. En esos intervalos, la relación encontrada en este trabajo también es lineal, el ajuste de los valores proporciona a partir de la inversa de la pendiente las relaciones de 3,43 mol H^+ /mol Cr(VI) para *Scenedesmus* y 5,99 mol H^+ /mol Cr(VI) para *Botryococcus*.

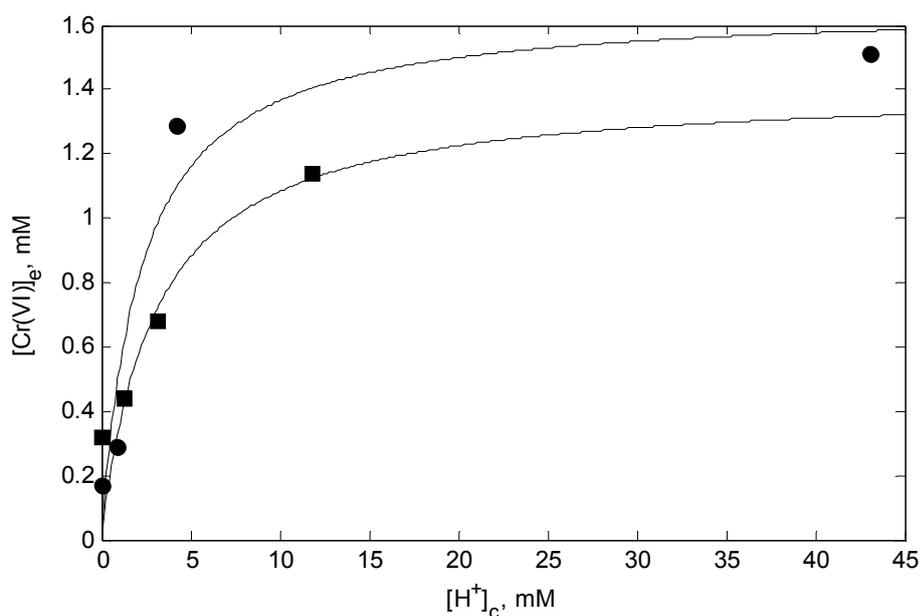


Figura 5.45 Cr(VI) eliminado frente al consumo de protones SOCL ● BBCL ■

Estos valores para *Rhizopus oryzae* y *Aspergillus niger* son 3,99 y 2,7 mol H⁺/mol Cr(VI) respectivamente (Park et al., 2005b).

En relación a la eliminación de Cr, en las Figuras 5.41 y 5.42 se evidencia un pH óptimo que determina un % de eliminación máximo. Estas figuras apenas sufren modificación en la posición del óptimo si en vez de representarlas frente al pH inicial, pH₀, se representan frente al pH de equilibrio pH_f.

Este óptimo es poco acusado ya que para SOCL y BBCL el valor del % de eliminación de Cr a pH 1 es un 95% y un 95,5% del porcentaje óptimo. Es por ello que no todos los investigadores lo detectan. Si bien, la existencia de un óptimo viene justificada por la existencia de etapas de dependencia contraria del pH. Así, la adsorción y la reducción se favorecen a pH bajos, pero si el Cr(III) se genera en la biomasa acorde al mecanismo II de reducción indirecta, esos pH favorecen la desorción por repulsión electrostática entre el Cr(III) catiónico y la biomasa con carga neta positiva.

Tratando de maximizar tanto la detoxificación, como la eliminación por adsorción, se ha optado por una solución de compromiso seleccionando el pH de trabajo de 2 para los experimentos con *Scenedesmus* y 1 para *Botryococcus*, una biomasa ácida cuyo punto de carga cero ocurre a bajos valores de pH.

El estudio de los espectros XPS ha demostrado la existencia de Cr en la biomasa en su estado de oxidación Cr(III). Si la biosorción-reducción transcurre por el mecanismo de reducción directa esto implicaría que una vez generado el Cr(III) en el medio líquido se

adsorbiera sobre la biomasa. Para analizar este supuesto se realizó un experimento, Tabla 4.17 de adsorción de Cr(III) a diferentes pH de trabajo. En las Figuras 5.46 y 5.47 se han representado los resultados.

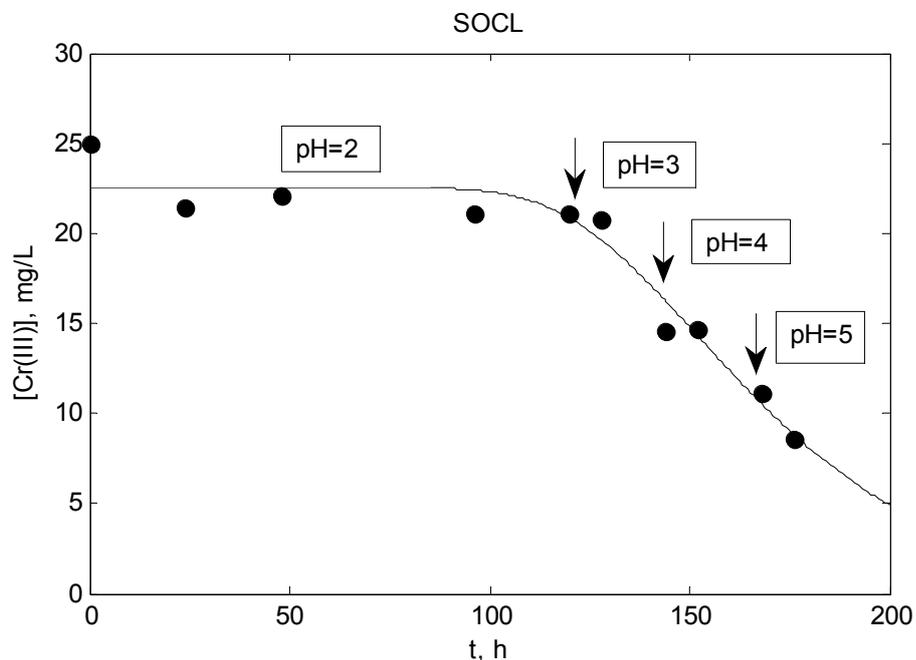


Figura 5.46 Adsorción de Cr(III) a distintos pH por SOCL

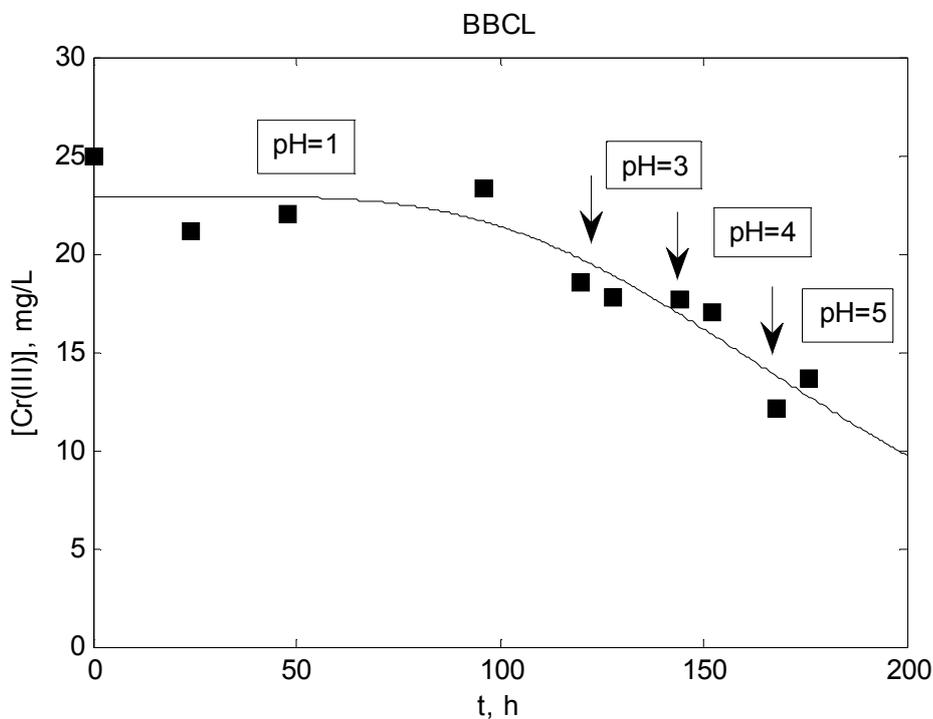


Figura 5.47 Adsorción de Cr(III) a distintos pH por BBCL

Los valores experimentales se han ajustado a una función similar a la ecuación [5.10], utilizada para reproducir el consumo de nutrientes. Los tiempos lag calculados del ajuste son de 118,4 y 99,5 h a pH 2 y pH 1 para SOCL y BBCL respectivamente.

El Cr(III) no se adsorbe en la biomasa a los valores de pH y tiempo utilizados en los experimentos de biosorción-bioreducción, por tanto el Cr(III) que se detecta en la biomasa es consecuencia del transcurso del proceso mediante el mecanismo II de reducción indirecta. Sin embargo, esta observación no excluye que ambos mecanismos puedan proceder simultáneamente. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores que consideran que el Cr(III) se adsorbe a pH 3, 4 estando el pH óptimo en torno a 5 (Han et al., 2006) (Onyancha et al., 2008).

5.4.2 Capacidad reductora de la biomasa

Se han utilizado dos métodos diferentes para evaluar la capacidad de reducción de las biomasas utilizadas.

En primer lugar, se han realizado titulaciones redox de suspensiones de las mismas según lo indicado en el apartado 3.9.1.2 y que tienen por objeto determinar la capacidad reductora de la biomasa, expresada en mmol/g de Cr(VI) que es capaz de reducir.

Al igual que sobre la valoración ácido-base, es un factor determinante el tiempo entre las adiciones de titulante. El tiempo esperado entre adiciones permite alcanzar el equilibrio redox y debe ser superior al utilizado en valoraciones ácido-base. Sin embargo ha sido difícil operar en condiciones satisfactorias.

En modo automático, el tiempo entre adiciones disminuye de forma continuada, posiblemente por la existencia de dos reacciones de reducción que transcurren a diferente velocidad, la que ocurre entre la sal de Fe^{2+} y el dicromato y la que ocurre entre los centros reductores de la biomasa y el dicromato.

A tiempos grandes se observa inestabilidad, inestabilidad del biosorbente sometido a un estrés, ácido y oxidante durante un tiempo muy elevado y la inestabilidad propia de la sal de ferroso utilizada. Por todo ello se optó por un tiempo de compromiso de 15 min.

En las Figuras 5.48 y 5.49 se indican las curvas de valoración del control y las de las suspensiones de las 4 biomasas utilizadas, que responden a las reacciones:

Para el control:



Para la suspensión del biosorbente:

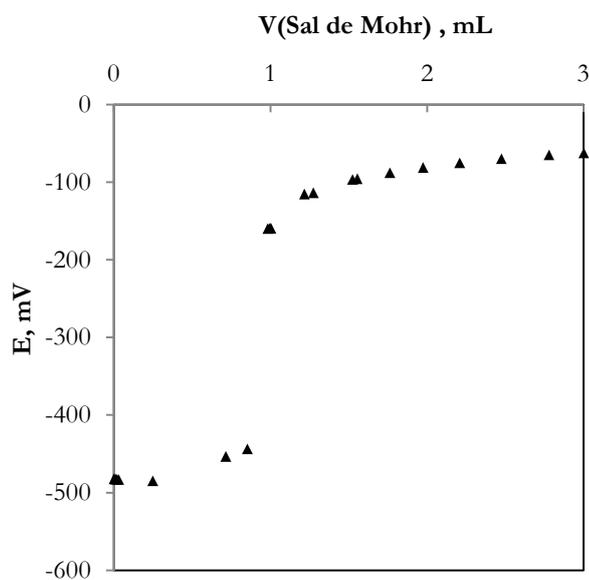
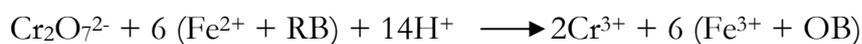


Figura 5.48 Titulación redox de la disolución de dicromato potásico, control

En todos los casos se observa un único punto de inflexión, lo que parece indicar la participación de un único grupo funcional de la biomasa en la reacción de reducción.

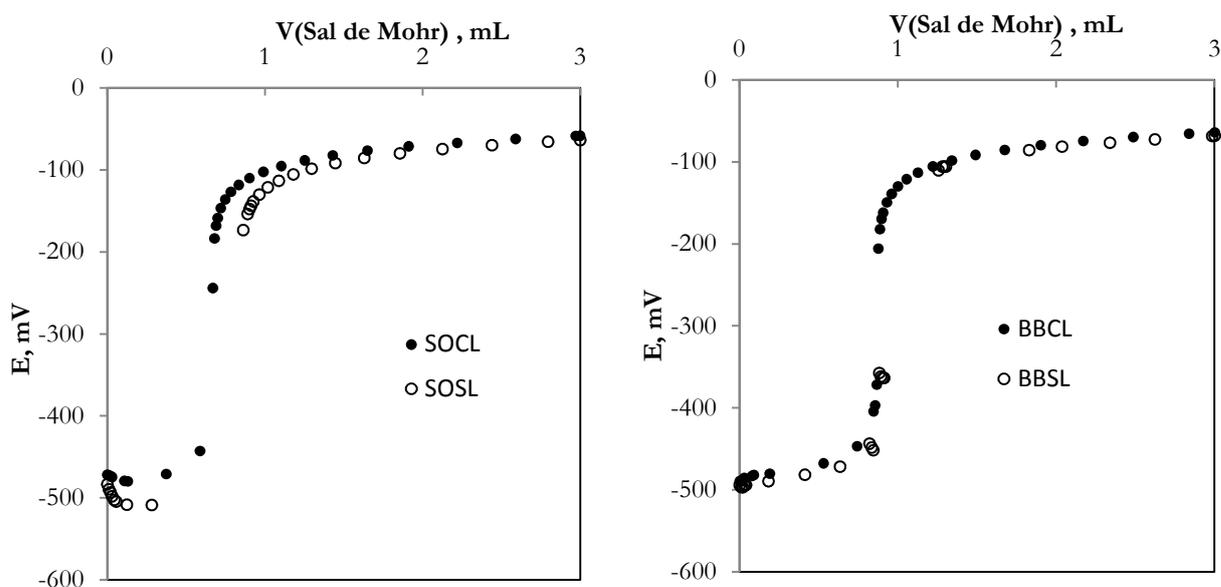


Figura 5.49 Titulaciones redox de la disolución de dicromato potásico en presencia de las biomásas utilizadas

El dicromato potásico es un patrón primario y el factor de la disolución de la sal de Mohr, $f=1,06$, se determina a partir de la valoración del control.

La concentración de reductores en la biomasa, en meq/g, puede determinarse mediante:

$$[RB] = \frac{(V_{ec} - V_{es})}{m} N_t \quad [5.50]$$

ecuación en la que V_{ec} representa el volumen de equivalencia en el control, V_{es} el volumen de equivalencia en las valoraciones con suspensión, en mL. N_t la normalidad real de la disolución de ferroso y m la cantidad de biomasa utilizada, 0,01 g en todos los casos. En la Tabla 5.25 se indican los resultados así como la capacidad reductora expresada en mg de Cr(VI) que la biomasa es capaz de reducir por g de la misma.

Tabla 5.25 Resultados de las valoraciones redox

Biosorbente	V_{es} , mL	V_{ec} , mL	[RB], meq/g	C^* , mg Cr/g
SOCL	0,6770	0,9429	2,8185	48,85
SOSL	0,8913	0,9429	0,5470	9,48
BBCL	0,8709	0,9429	0,7632	13,23
BBSL	0,8643	0,9429	0,8332	14,44

Dicha capacidad varía según el orden:

SOCL>BBSL>BBCL>SOSL

Dadas las dificultades del procedimiento, se ha optado por utilizar también el Método propuesto por (Park et al., 2004) de “Biomasa limitante” que consiste en realizar un experimento de biosorción con una concentración de biomasa muy pequeña en relación a la concentración de Cr(VI) utilizada y durante un tiempo muy grande, de forma que se agote la capacidad reductora de la biomasa.

Se ha utilizado una concentración de biomasa [B] de 0,05 g/L, temperatura de 25°C y la duración de los experimentos hasta concentración de [Cr(VI)]_f invariable en el tiempo de 20 días.

La capacidad de reducción, C*, evaluada en base a la ecuación:

$$C^* = \frac{[Cr(VI)]_0 - [Cr(VI)]_f}{[B]} \quad [5.51]$$

se indica en la Tabla 5.26 para las cuatro biomasa utilizadas.

Tabla 5.26 Determinación de la capacidad reductora de la biomasa

Biosorbente	[Cr(VI)] ₀ , mg/L	[Cr(VI)] _f , mg/L	[B], g/L	C*, mg/g	C*, mmol/g
SOCL	85,76	67,57	0,05	363,81	7,00
SOSL	85,76	82,44	0,05	66,45	1,28
BBCL	83,76	77,53	0,05	124,78	2,40
BBSL	83,76	77,26	0,05	130,09	2,50

Este método determina capacidades de reducción considerablemente mayores, pero en consonancia con las obtenidas para otras biomasa utilizadas como biosorbentes tal y como se recoge en la Tabla 5.27

Tabla 5.27 Capacidad de reducción de diferentes biosorbentes

Biosorbente	C*, mmol/g	Referencia
<i>Ecklonia</i>	4,49	(Park et al., 2004) (Park et al., 2005d)
Piñas	1,11	
Hojas de te	0,86	
<i>Sargassum</i>	0,96	(Park et al., 2007b)
Cáscara de nuez	1,09	
Piel de naranja	1,10	
<i>Rhizopus oryzae</i>	0,76	(Park et al., 2005b)
Corteza de pino	10,50	(Park et al., 2008a)

Hojas de pino	7,14	(Park et al., 2008)
Piel de plátano	4,80	(Park et al., 2008c)
Hojas de helechos	4,86	(López-García et al., 2010)

El orden en las capacidades reductoras se mantiene en la forma determinada anteriormente:



5.4.3 Influencia del tiempo de biosorción

Se ha estudiado el efecto del tiempo de biosorción analizando el proceso hasta 144 h. Las condiciones utilizadas han sido, una concentración inicial de Cr de 100 mg/L, biomasa a 1 g/L, temperatura de 25 °C y pH iniciales de 2 y 1 para *Scenedesmus* y *Botryococcus* respectivamente, Tablas 4.18 a 4.21.

En las Figuras 5.50 a 5.53 se ha representado la variación en el tiempo de las formas de cromo, hexavalente, trivalente y total.

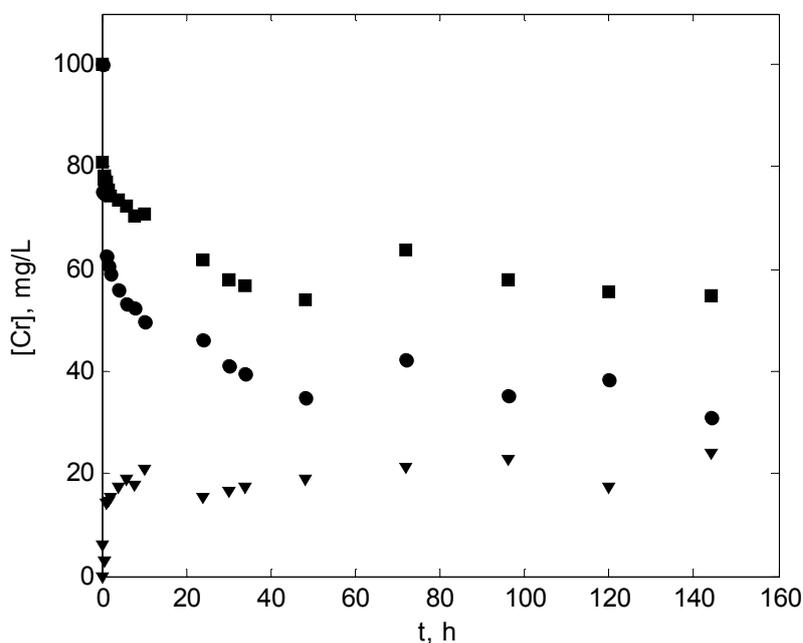


Figura 5.50 Biosorción en el tiempo SOCL ● Cr(VI) ■ Cr(Total) ▼ Cr(III)

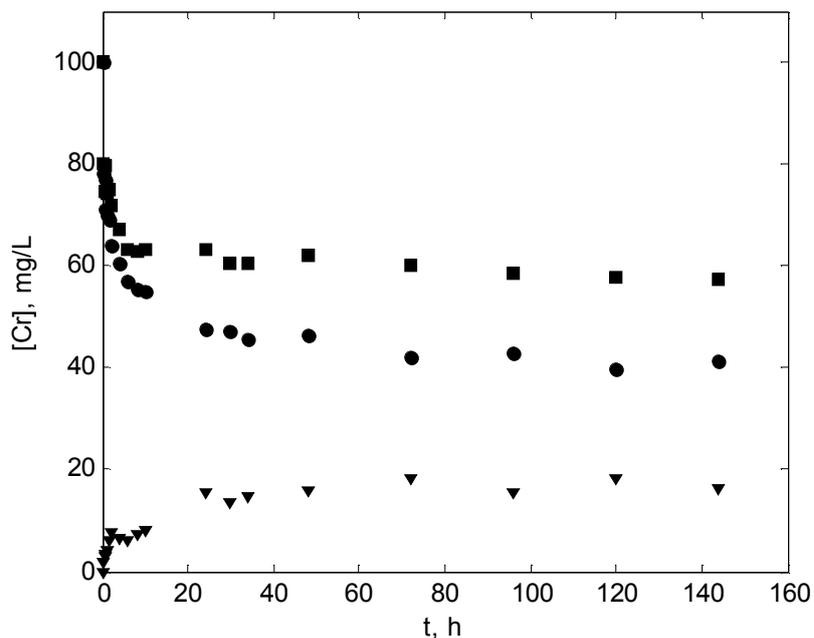


Figura 5.51 Biosorción en el tiempo SOSL ● Cr(VI) ■ Cr(Total) ▼ Cr(III)

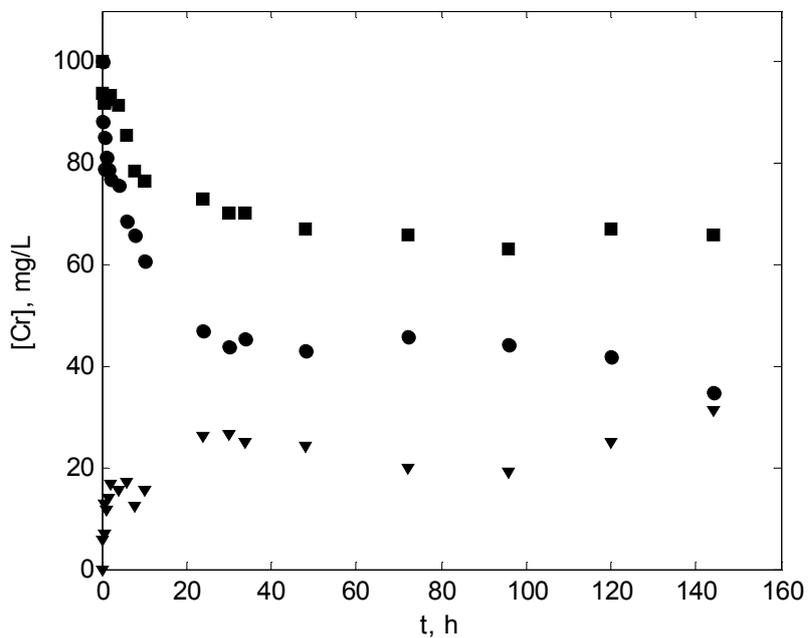


Figura 5.52 Biosorción en el tiempo BBCL ● Cr(VI) ■ Cr(Total) ▼ Cr(III)

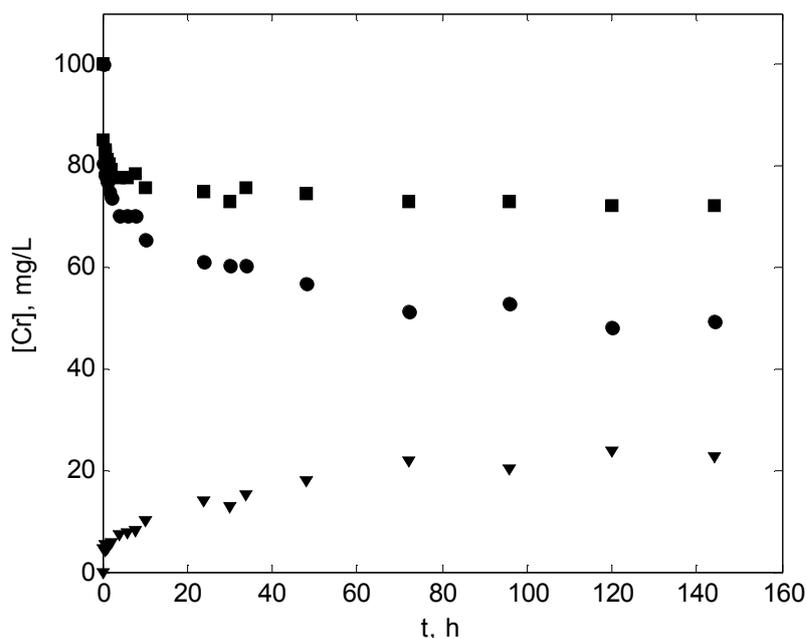


Figura 5.53 Biosorción en el tiempo BBSL ● Cr(VI) ■ Cr(Total) ▼ Cr(III)

El Cr(VI) desaparece del medio por retención en la biomasa y por reducción. La existencia de Cr(III) en el medio se detecta desde el inicio del proceso y la concentración del mismo va aumentando progresivamente, procediendo de la reducción directa, de la indirecta tras desorción o de ambas (Han et al., 2007).

La velocidad de desaparición de Cr(VI) es alta a tiempos próximos a 0 , para a continuación descender. Algo similar ocurre para el Cr(Total).

Mediante ajuste por spline y haciendo uso del cálculo de la primera derivada Matlab 7.12.0 (R2011a) se han determinado las velocidades iniciales, que se indican en la Tabla 5.28

Tabla 5.28 Velocidades iniciales de desaparición del Cr(VI) y aparición de Cr(III)

r_0 , mg/L h	SOCL	SOSL	BBCL	BBSL
Cr(VI)	27,23	24,07	16,84	18,36
Cr(III)	8,89	4,17	10,84	3,61

Estas son del mismo orden de magnitud para cada especie, mayores para *Scenedesmus*. Las velocidades de aparición de Cr(III) son inferiores en las biomasas sin lípidos, biomasas con una concentración menor de centros activos.

La cantidad de Cr(VI) eliminado del medio líquido es superior a la de Cr(III) existente en el mismo, lo que demuestra la retención de Cr por la biomasa. La Figura 5.54 indica esta representación para la biomasa de SOSL.

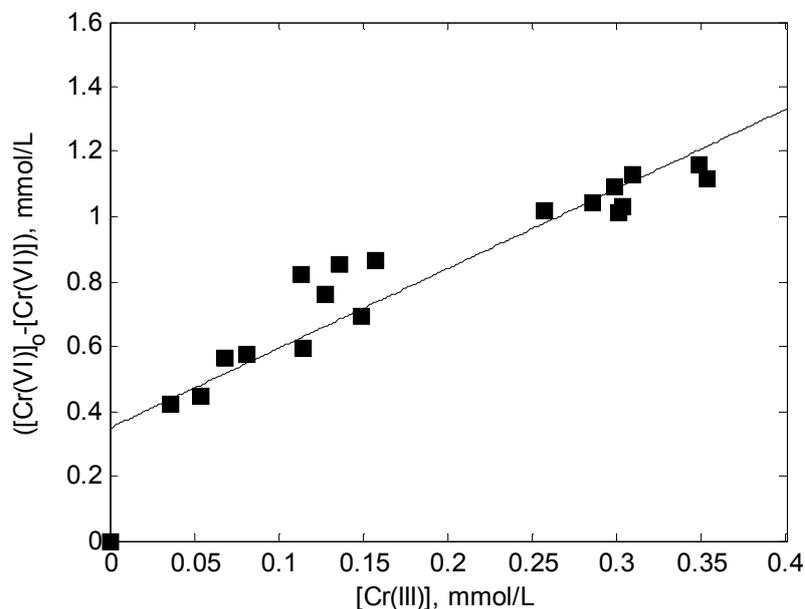


Figura 5.54 Cr(VI) eliminado del líquido frente a Cr(III) en el mismo para SOSL

En condiciones de operación similares a las utilizadas en este trabajo y con la macroalga *Ecklonia* (Park et al., 2004a) encuentran que la reacción de reducción es irreversible. Para ello, adicionan diferentes concentraciones de Cr(III) desde 0 a 100 mg/L desde el comienzo de la biosorción comprobando que la presencia de Cr(III) no altera la velocidad de reducción del Cr(VI).

Por tanto, si la reducción del Cr(VI) es irreversible esta reacción continua durante todo el tiempo considerado, siempre y cuando la biomasa no haya agotado su capacidad de reducción, no alcanzándose un equilibrio ni para la forma hexavalente ni para la trivalente. No ocurre así para el Cr(Total) que se observa deja de variar en el tiempo aproximadamente a partir de las 20 horas de biosorción. La velocidad de modificación del Cr(total) se anula a partir de dicho tiempo, Figura 5.55. A conclusiones similares llegan (Yan et al., 2008) utilizando la macroalga *Sargassum sp*, estos autores el equilibrio lo consideran respecto a la totalidad de los iones metálicos en solución (Cr(VI)+Cr(III)) y la desaparición en sus experimentos del Cr(VI) es solo cuestión de tiempo. Así y dada la gran capacidad reductora de las macroalga ocurre en solo 20 h de proceso.

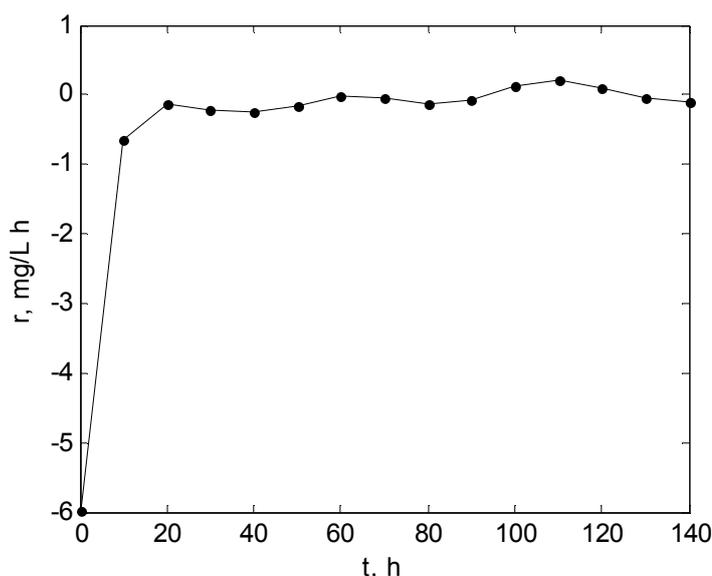


Figura 5.55 Velocidad de modificación del Cr(total) para BBCL

En general la biosorción de Cr(VI) es un proceso más lento que para otros metales pesados y la escala de tiempos investigada varía según los biosorbentes, así se investiga durante 24 h para *Sargassum sp.* (Yang et al., 2008), 50 h para *Acinetobacter haemolyticus* (Zakaria et al., 2007) y 400 h para *Chlorella miniata* (Han et al., 2007).

Los porcentajes de detoxificación y eliminación de Cr del medio líquido aumentan con el tiempo de contacto. La naturaleza del adsorbente y su concentración de centros activos disponibles para la sorción afectan al tiempo necesario para alcanzar el equilibrio. Este se observa para el Cr(total) y no para el Cr(VI) en la Figura 5.56 para BBCL.

Para todas las biomásas se va a considerar un tiempo suficiente de contacto de 48 h. En las Figuras 5.57 y 5.58 se compara la variación en el tiempo de los porcentajes de detoxificación y eliminación de Cr. Los mayores porcentajes se consiguen con *Scenedesmus* en su forma nativa y los menores con *Botryococcus* sin lípidos. La detoxificación continua más allá de las 140 h consideradas ya que a todas las biomásas les queda después de este tiempo, capacidad reductora. Considerando que todo el Cr adsorbido estuviera en forma de Cr(III), en la Tabla 5.29 se indican los remanentes de capacidad de reducción.

Tabla 5.29 Capacidad reductora remanente

t=144 h	SOCL	SOSL	BBCL	BBSL
[Cr(III)], mmol/g	0,458	0,309	0,600	0,460
[Cr(adsorbido)], mmol/g	0,870	0,820	0,656	0,538
[Cr(reducido)], mmol/g	1,328	1,129	1,256	0,998
Capacidad reductora remanente, %	81,03	11,79	47,66	60,08

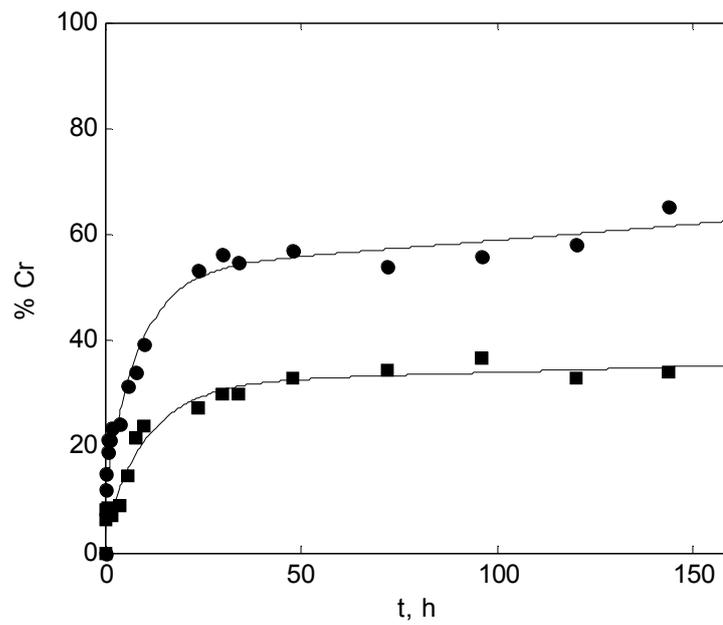


Figura 5.56 Porcentajes de detoxificación ● eliminación ■ para BBCL

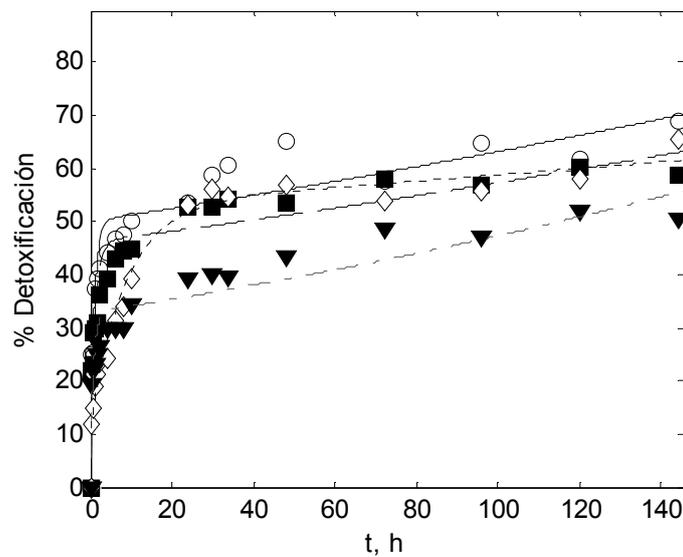


Figura 5.57 Porcentajes de detoxificación SOCL ◻ -, SOSL ■ --, BBCL ◊ ---, BBSL ▼ -.-.

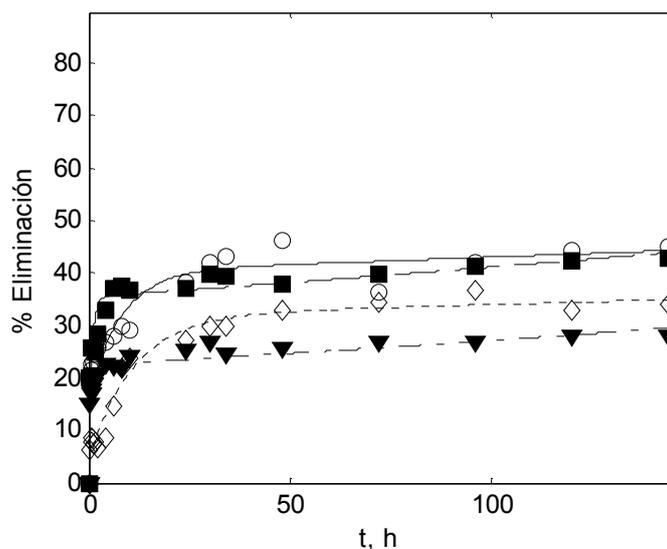


Figura 5.58 Porcentajes de eliminación SOCL \square —, SOSL \blacksquare —, BBCL \diamond ---, BBSL \blacktriangledown -.-

En la Figura 5.59 se muestran los máximos porcentajes de detoxificación y eliminación conseguidos. En ambos casos los valores mayores se consiguen con SOCL, biomasa que posee la mayor capacidad reductora y la mayor concentración de centros de carácter ácido-base.

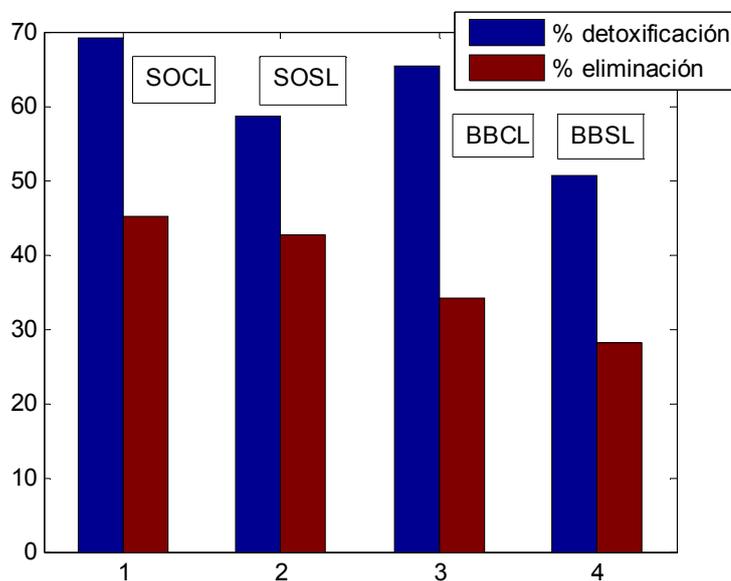


Figura 5.59 Máximos porcentajes de detoxificación y eliminación.

Los porcentajes de eliminación, dependientes solo de la adsorción, varían acordes al contenido en centros activos de las correspondientes biomazas, es decir

SOCL>SOSL>BBCL>BBSL

Los porcentajes de detoxificación, dependientes de la adsorción y de la capacidad de reducción de la biomasa presentan ya una tendencia mezclada variando acorde a,

SOCL>BBCL>SOSL>BBSL

siendo la biomasa más eficiente la de *Scenedesmus* nativa, biomasa con mayor concentración de centros activos y mayor capacidad de reducción.

5.4.4 Equilibrio de biosorción

Una de las etapas en el estudio de un proceso de biosorción, consiste en determinar la capacidad de una biomasa dada, para retirar, en este trabajo, el metal pesado Cr en su estado de oxidación +6 de una disolución acuosa. Habitualmente esto se realiza caracterizando el estado de equilibrio una vez que se ponen en contacto sorbente y sorbato y la cantidad de sorbato remanente en la solución permanece invariante en el tiempo.

El modelo que se use para describir el equilibrio, isoterma de adsorción, debe ser capaz de predecir el estado de equilibrio tanto a bajas como a altas concentraciones de sorbato y debe no ser únicamente una función matemática con fines predictivos sino también acorde al posible mecanismo de la biosorción (Davis et al., 2003).

Para el estudio del equilibrio de biosorción se realizaron los experimentos cuyos resultados se indican en las Tablas 4.22 a 4.25 a la temperatura de 25°C, a ocho concentraciones iniciales de Cr(VI), con una concentración de biomasa de 1 g/L y para los cuatro biosorbentes utilizados.

La capacidad de sorción de la biomasa en el equilibrio se determina mediante un balance de materia aplicado al Cr total, en la forma:

$$[\text{Cr(VI)}]_o = [\text{Cr(Total)}]_e + q_e [\text{B}] \quad [5.52]$$

Donde cada uno de los términos representa:

$[\text{Cr(VI)}]_o$: la concentración inicial de Cr en la solución mM

$[\text{Cr(Total)}]_e$: la concentración de Cr(Total) en la solución, en el equilibrio mM

q_e : la capacidad de sorción de la biomasa, en el equilibrio mmol/g

[B], la concentración de biomasa utilizada en el experimento

y q_e se determina:

$$q_e = \frac{([\text{Cr(VI)}]_o - [\text{Cr(Total)}]_e)}{[\text{B}]} \quad [5.53]$$

Como se ha recogido en el apartado 2.6.1 de esta Memoria son numerosos los modelos matemáticos utilizados para describir el equilibrio de biosorción. Antes de proceder a la utilización de cualquiera de ellos es preciso observar la forma experimental de la isoterma de adsorción. Están descritas diversas isotermas cuyas formas se recogen en la Figura 5.60.

Aunque todas las isotermas de la Figura anterior se han observado en la práctica, las más habituales son las de tipo I, II y IV.

En las isotermas tipo I la adsorción está limitada a la formación de una monocapa de sorbato sobre la superficie de adsorbente, y ocurre normalmente en sólidos microporosos. Las isotermas tipo II no exhiben un límite de saturación, el primer punto de inflexión indica que la monocapa está completada, continuando la adsorción en multicapa. Sólidos no porosos o macroporosos con una amplia distribución de tamaño de poros forman este tipo de isotermas.

Las isotermas tipo III se observan raramente en la práctica son convexas respecto al eje de abscisas, muestran un aumento continuado de la adsorción y ocurren para interacciones débiles adsorbente-sorbato. Las isotermas tipo IV son similares a la II son característica de sólidos mesoporosos con formación de multicapas. Las tipo V son similares a las tipo III a bajas concentraciones de sorbato en el equilibrio, a valores mayores se observa un punto de inflexión y saturación.

En la Figura 5.61 se han representado conjuntamente los valores experimentales capacidad de sorción en el equilibrio, q_e mmol/g frente a la concentración de Cr total en el equilibrio, a efectos de simplicidad C_e , mM.

La variación q_e - C_e parece responder a una isoterma tipo II característica de sólidos macroporosos y con una amplia distribución de tamaños, como son los aglomerados celulares constitutivos de los diferentes biosorbentes utilizados, tal y como se observó en las diferentes fotografías FESEM. La heterogeneidad también puede proceder de que distintos grupos funcionales sean responsables de la captación del metal (Kiran et al., 2007).

El modelo matemático que justifica una variación con forma de S es el modelo de Brunauer- Emmett-Teller que considera adsorción en multicapa y supone una energía de adsorción uniforme.

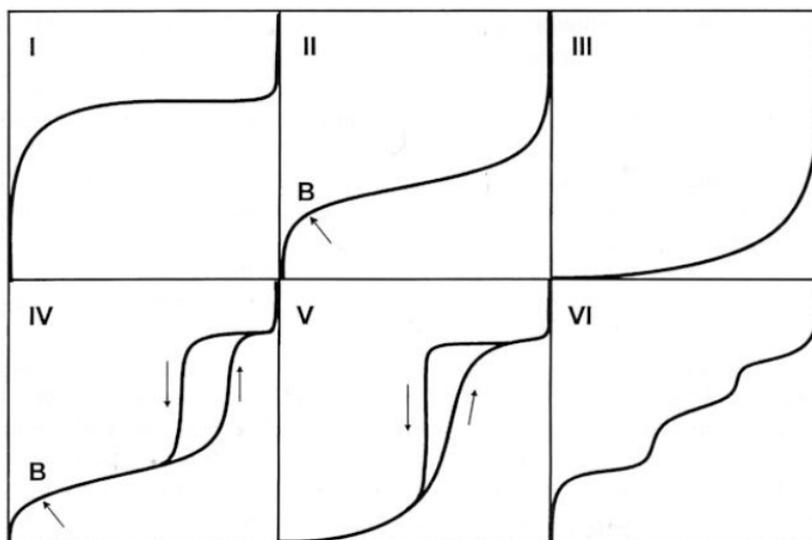


Figura 5.60 Tipos de isothermas de adsorción

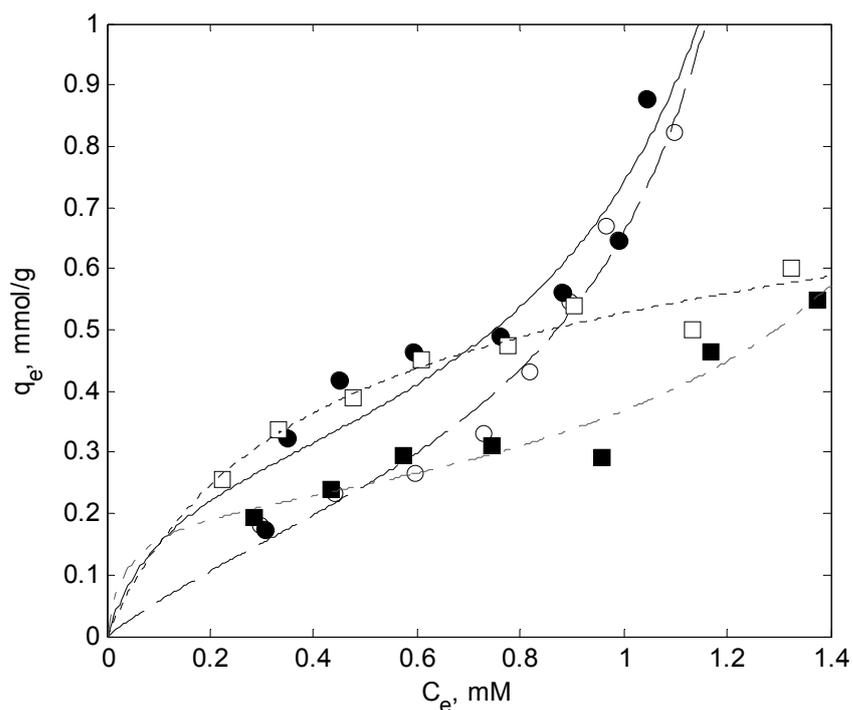


Figura 5.61 Equilibrio de sorción ● SOCL ◻ SOSL ◻ BBCL ■ BBSL

Para concentraciones de equilibrio $C_e < 0,6$ hay bastante similitud entre los valores de equilibrio para las microalgas con lípidos SOCL-BBCL y sin lípidos SOSL-BBSL. Para $C_e > 0,6$ los valores de *Scenedesmus* tienden hacia una asíntota más rápidamente que los de *Botryococcus*.

(Brunauer et al., 1938) desarrollan una isoterma para justificar la adsorción en multicapa mediante un método que es una generalización de la formación de una capa monomolecular de Langmuir. El modelo supone que las interacciones entre sorbente y sorbato son de tipo físico y los autores aplican la Teoría de polarización de Deboer y Zwicker.

A cada capa es aplicable la ecuación de Langmuir y puede ocurrir que comience a formarse una capa de moléculas antes de que la anterior esté necesariamente completa. En el equilibrio, éste se establece para cada capa y para la concentración de saturación se supone que pueden haberse establecido infinitas capas de sorción.

La isoterma se desarrolla para la adsorción de gases en sólidos pero demuestra posteriormente su utilidad para sistemas líquidos (Volesky., 2003). A bajas concentraciones de sorbato la isoterma es cóncava hacia el eje de abscisas, a altas concentraciones de sorbato es convexa y a concentraciones intermedias es aproximadamente lineal. La isoterma para BBCL solo manifiesta la primera parte y se asemeja más a una isoterma tipo Langmuir en el intervalo de concentraciones utilizado.

La ecuación [5.54] presenta la ecuación BET general, aplicable a sistemas líquidos, en la que q_m es la capacidad de sorción de la biomasa para la formación de la monocapa en mmol/g, C_s el valor asintótico de saturación mM y K_B es una constante adimensional relacionada con el valor de la entalpia de adsorción.

$$q_e = \frac{q_m K_B C_e}{(C_s - C_e) \left[1 + (K_B - 1) \frac{C_e}{C_s} \right]} \quad [5.54]$$

El punto B marcado en la Figura 5.60 indica el primer punto de inflexión de la isoterma y corresponde con la formación de la monocapa. En las Figuras 5.62 y 5.63 se indican por separado las isotermas BET para *Scenedesmus* y *Botryococcus* recogiendo en la Tabla 5.29 los resultados del ajuste realizado mediante Scientist.

El modelo de BET reproduce aceptablemente los resultados experimentales. Los valores de q_m obtenidos se corresponden de forma aproximada con el valor de q_e correspondiente al primer punto de inflexión. En general, estos valores y los de C_s son similares para SOCL, SOSL y BBSL, resaltando los de BBCL diferentes al resto de las biomasas.

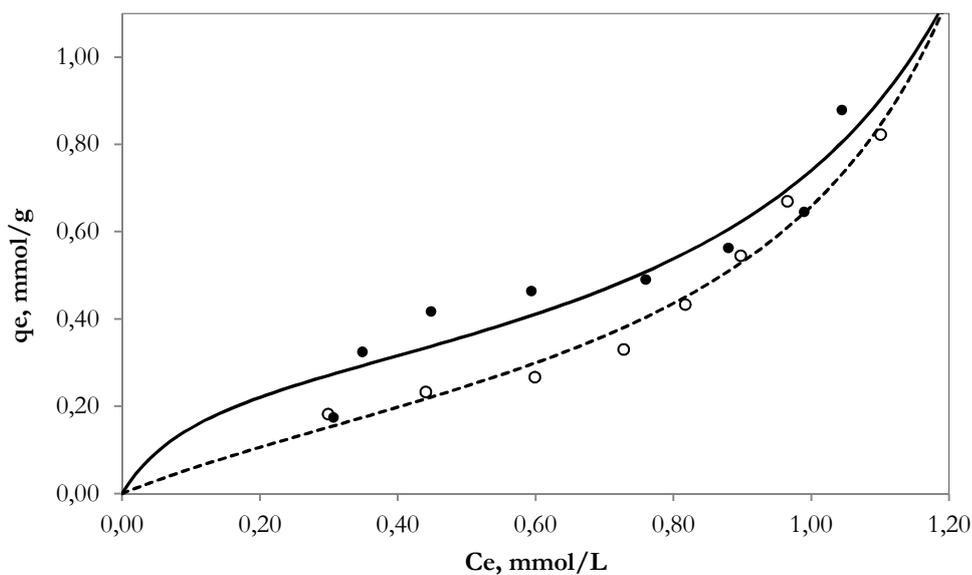


Figura 5.62 Isothermas BET para *Scenedesmus* ● SOCL ◻ SOSL

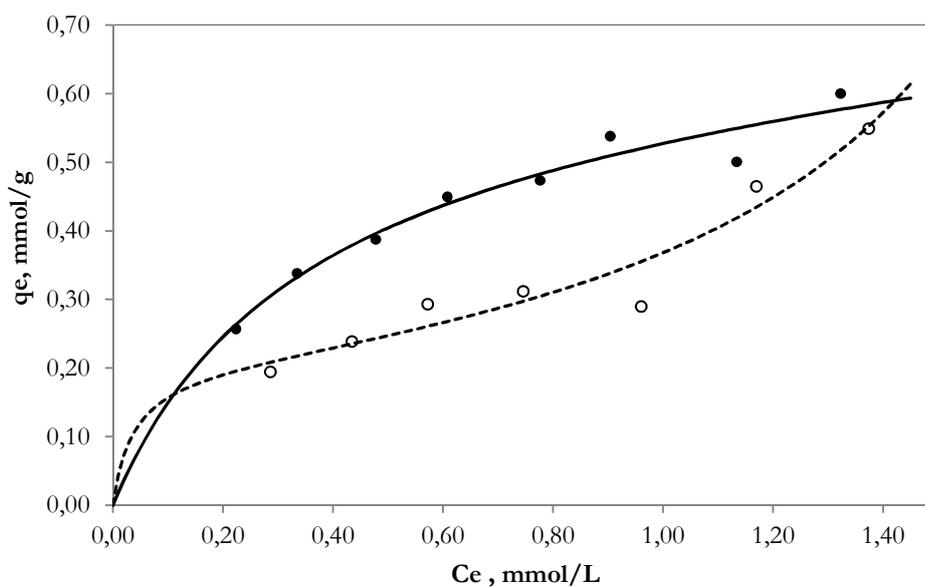


Figura 5.63 Isothermas BET para *Botryococcus* ● BBCL ◻ BBSL

Tabla 5.29 Parámetros de las isothermas BET

	SOCL	SOSL	BBCL	BBSL
q_m , mmol/g	0,2841	0,2565	0,6409	0,1999
C_s , mmol/l	1,5846	1,5183	13,7659	2,1407
K_B	14,5281	3,6732	41,1192	59,9836
r^2	0,985	0,995	0,992	0,997
SSE	$3,46 \cdot 10^{-2}$	$9,46 \cdot 10^{-3}$	$6,67 \cdot 10^{-3}$	$4,07 \cdot 10^{-3}$

Los valores de q_m obtenidos, como corresponden a la formación de la monocapa, son comparables a los obtenidos por otros autores, que utilizan el modelo de Langmuir. En relación a la Bibliografía, existe el inconveniente de que se publican muchos trabajos en los que no se tiene en cuenta el Cr(III), que aparece en la solución, y por tanto se sobrevalora el proceso de adsorción.

Pocos autores utilizan esta isoterma para describir sus resultados de equilibrio, si lo hace (Oguz, E., 2005) en la adsorción de Cr(VI) por *Thuja orientalis* encontrando para la monocapa un valor de q_m de 23,3 mg/g. (Razmovski et al., 2008) utilizan BET para describir sus resultados de biosorción de Cr(VI) y Cu(II) por biomasa fúngica residual. En la Tabla 5.30 se comparan capacidades de sorción de micro y macroalgas.

Tabla 5.30 Capacidades de sorción de algas

Biomasa	q_m , mg/g	Referencia
SOCL	14,77	Este trabajo
SOSL	13,34	
BBCL	33,33	
BBSL	10,39	
<i>Chlorella miniata</i>	23,19	(Lau et al., 1999)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>		
Nativa	24,9	(Anca et al., 2005)
Tratada térmicamente	25,6	
Protonada	21,2	
<i>Sargassum</i>	31,25	(Yang et al., 2008)
<i>Fucus spiralis</i>	35,36	(Murphy et al., 2008)
<i>Ulva lactuca</i>	27,56	
<i>Phormidium sp.</i>	24,3	(Aksu et al., 2009)
<i>Nannochloris oculata</i>	37,7	(Kim et al., 2011)

Como para BBCL, la isoterma parece ser más una función de tipo hiperbólico que una sigmoideal, se han ajustado los resultados del equilibrio con este biosorbente a las isotermas de Langmuir y Freundlich

$$q_e = \frac{q_m b C_e}{1 + b C_e} \quad [5.55]$$

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad [5.56]$$

En la Tabla 5.31 se indican los parámetros de estos ajuste y en la Figura 5.64 se representan conjuntamente los resultados experimentales junto con las líneas teóricas predichas por las tres isotermas consideradas.

Tabla 5.31 Parámetros de las isotermas de Langmuir y Freundlich para BBCL

BBCL			
	LANGMUIR		FREUNDLICH
q_m , mmol/g	0,7577	K_f	0,526
b , mM ⁻¹	2,314	n	2,35
r^2	0,967	r^2	0,954
SSE	0,0042	SSE	0,0052

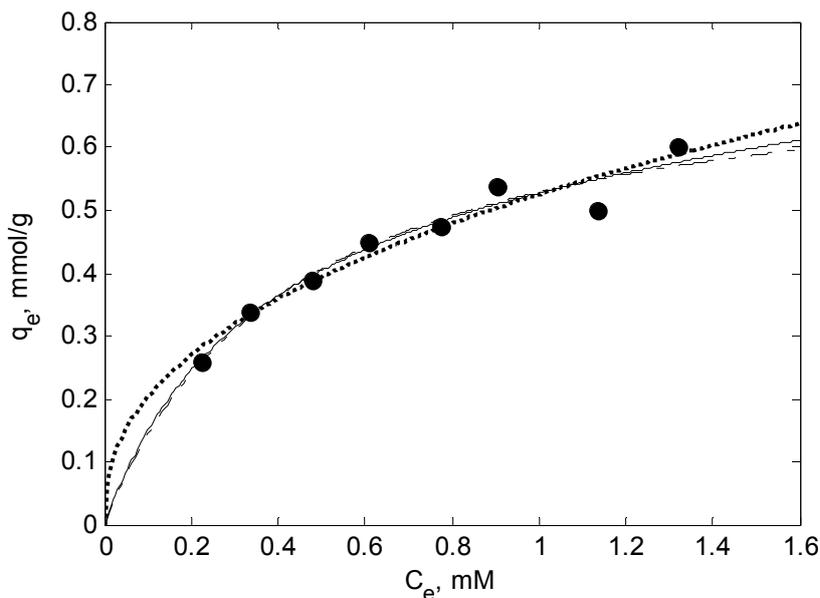


Figura 5.64 Isotermas de BET – Langmuir --- Freundlich para BBCL

En la Tabla 5.32 se recogen parámetros de las isotermas anteriores para diversos biosorbentes. La afinidad Cr(VI)-BBCL, medida por el valor del parámetro b es similar a la de la microalga *Chlamydomonas reinhardtii*.

Tabla 5.32 Parámetros de las isotermas de Langmuir y Freundlich

Biosorbente	LANGMUIR		FREUNDLICH		Referencias
<i>Nannochloris oculata</i>	$q_m=0,725$	$b=0,530$	$K_f=0,794$	$n=1,49$	(Kim et al., 2011)
<i>Phormidium sp.</i>	$q_m=0,467$	$b=1,076$	$K_f=0,960$	$n=1,55$	(Aksu et al., 2009)
Lignina activada	$q_m=1,500$	$b=6,240$	$K_f=9,660$	$n=0,68$	(Albadarin et al., 2011)
Hueso de aceituna	$q_m=0,0417$	$b=5,824$	$K_f=0,182$	$n=2,16$	(Tenorio., 2006)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	$q_m=0,4788$	$b=2,270$	$K_f=0,800$	$n=1,79$	(Anca et al., 2005)

Salvo para BBCL la capacidad de sorción para la formación de la monocapa guarda una relación lineal, Figura 5.65 con la concentración total de centros activos de carácter ácido-base obtenidos por el método de Gran.

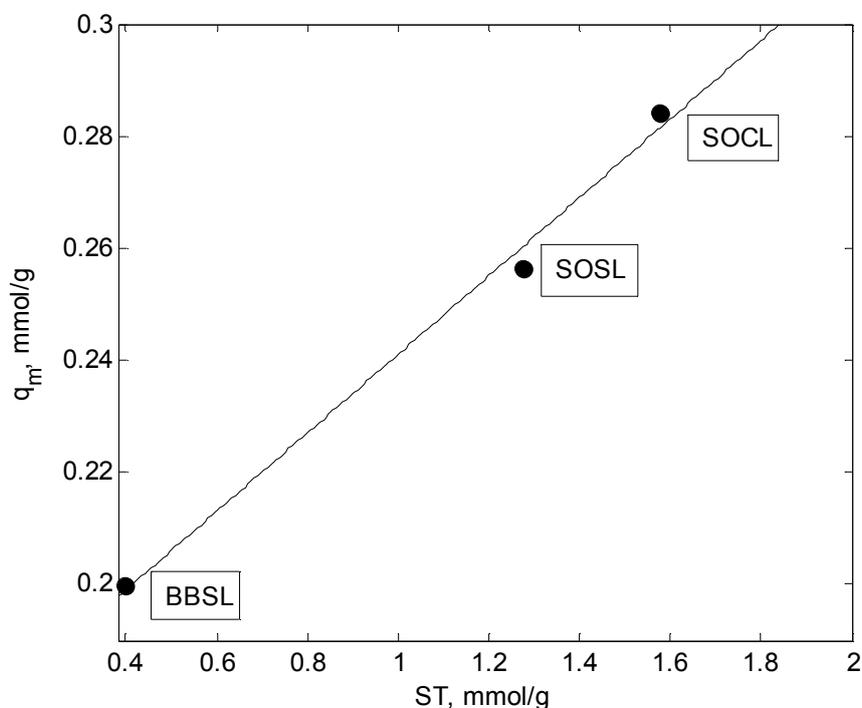


Figura 5.65 Relación lineal entre q_m para la formación de la monocapa y la concentración total de centros activos ácido-base obtenidos por el método de Gran

Una relación lineal similar encuentran (Rivera et al., 2003) para la adsorción de Cr(III) en diferentes tipos de C activo tratados mediante ozonización. La relación entre la capacidad de adsorción y la concentración total de grupos ácidos determina una ordenada en el origen de 0,14 mmol/g lo que según estos autores indica que la adsorción no solo se produce en los grupos considerados.

Para este trabajo una ordenada de 0,171 mmol/g y que BBCL no siga la tendencia parece indicar que otros grupos funcionales, distintos de los determinados con carácter ácido-base, estén implicados en la retención del Cr por las biomásas

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la existencia de una relación lineal entre la concentración de cromo en el equilibrio, C_e y la concentración inicial de cromo en la disolución, $[Cr(VI)]_o$. Las Figura 5.66 y 5.67 muestran esta relación para las biomásas de las microalgas utilizadas. Estas rectas tienen pendientes similares para las biomásas con y sin lípidos y algo superiores en el caso de *Botryococcus*. Las ordenadas en el origen son próximas a cero.

Esta relación permite, introducida en la isoterma, predecir los valores de adsorción en el equilibrio, q_e , en función de la concentración inicial de $[\text{Cr(VI)}]_0$ utilizada.

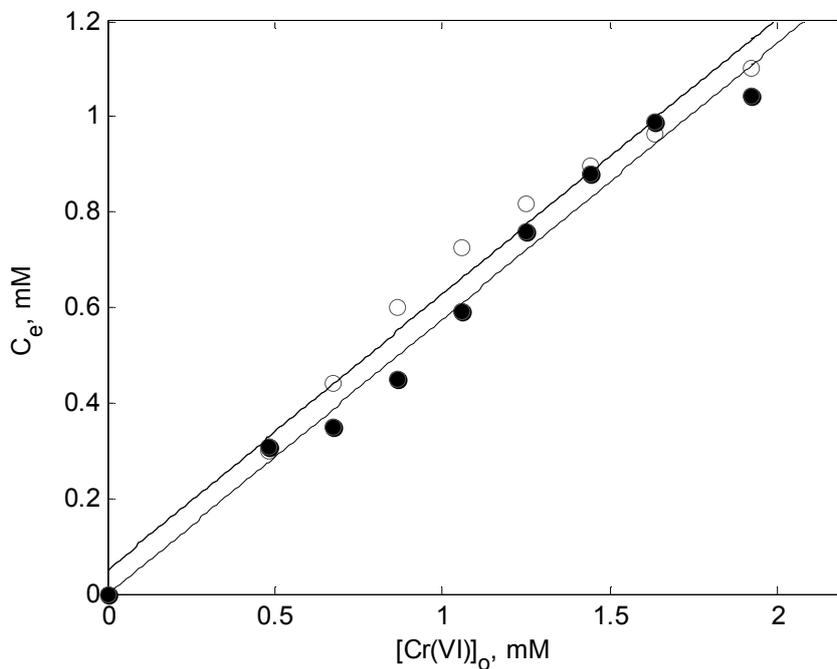


Figura 5.66 Relación lineal Cromo total en el equilibrio-Cromo inicial ● SOCL ◻ SOSL

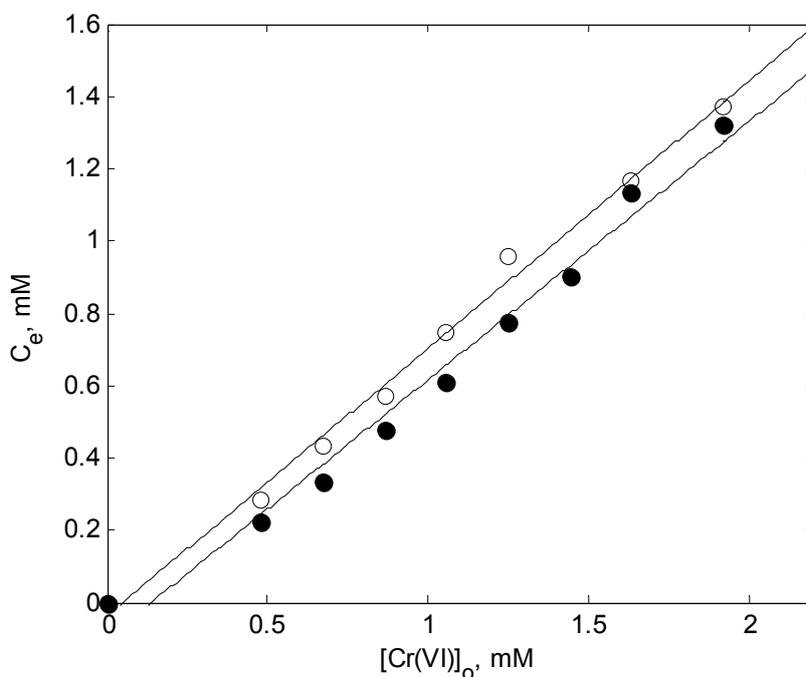


Figura 5.67 Relación lineal Cromo total en el equilibrio-Cromo inicial ● BBCL ◻ BBSL

$$q_e = \frac{q_m K_B \alpha [\text{Cr(VI)}]_o}{(C_S - \alpha [\text{Cr(VI)}]_o) \left[1 + (K_B - 1) \frac{\alpha [\text{Cr(VI)}]_o}{C_S} \right]} \quad [5.57]$$

La Figura 5.68 muestra el gráfico de dispersión para los valores de q_e calculados a partir de la ecuación [5.56], para valores medios de α de $0,580$ ($6,36 \cdot 10^{-4}$) y $0,726$ ($1,728 \cdot 10^{-2}$) para *Scenedesmus* y *Botryococcus* respectivamente.

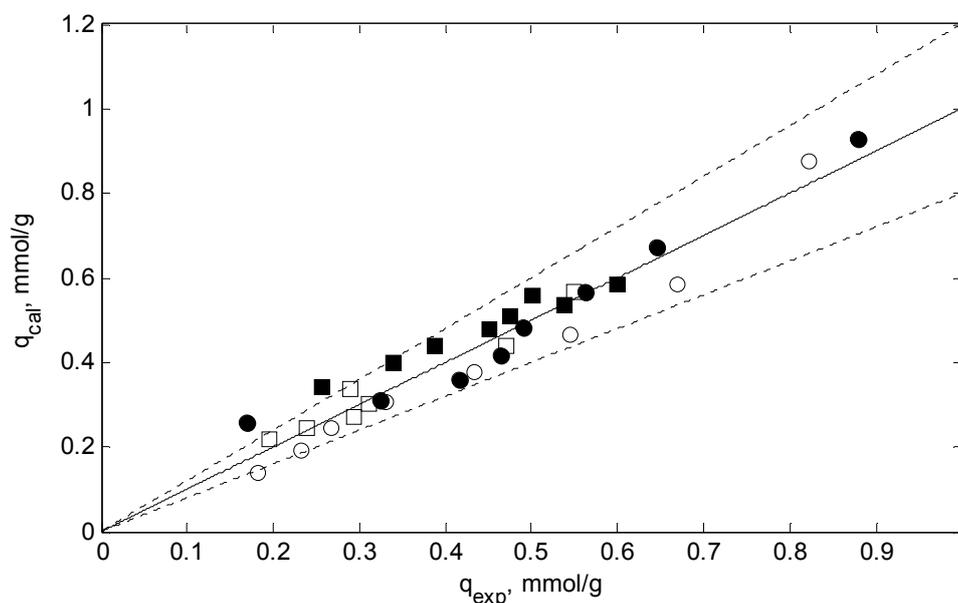


Figura 5.68 Gráfico de dispersión $\pm 20\%$ ● SOCL ○ SOSL ■ BBCL □ BBSL

Los porcentajes de detoxificación y eliminación de Cr disminuyen conforme aumenta la concentración inicial de Cr(VI) en el medio líquido, Figura 5.69 para BBSL. Esta disminución es observada por diferentes autores (Kumar et al., 2012) (Venugopal et al., 2011). Este efecto se justifica por la forma de expresión del resultado, ya que en todos los casos un aumento de la concentración inicial de Cr origina un aumento en la cantidad absoluta de Cr detoxificado, eliminado, y de la sorción en el equilibrio.

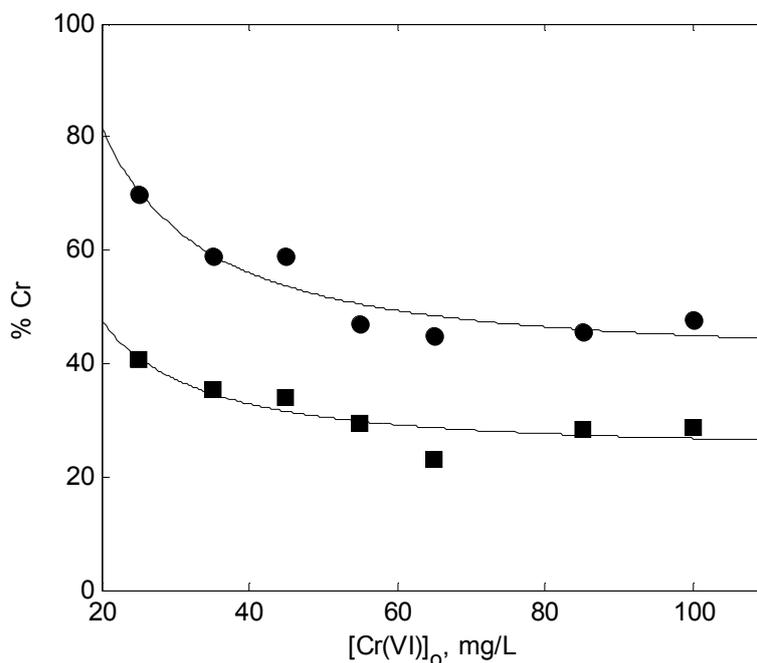


Figura 5.69 Porcentajes de detoxificación ● eliminación ■ para BBSL

5.4.5 Cinética de la biosorción-bioreducción

El estudio cinético del proceso de biosorción-bioreducción requiere obtener el modelo matemático que permita describir y simular la velocidad de retirada de sorbato del medio líquido que lo contiene. Estos modelos cinéticos son imprescindibles para el diseño y la selección de las condiciones de operación de los reactores que se utilicen para el tratamiento de efluentes líquidos que contengan Cr.

Para el estudio de la cinética del proceso se han realizado experimentos con las cuatro biomasas y a cuatro concentraciones iniciales de sorbato distintas, 25; 50; 75 y 100 mg/L. En todos los casos el pH inicial ha sido 2 para *Scenedesmus* y 1 para *Botryococcus*, una concentración de biomasa de 1g/L y temperatura constante de 25 °C. Estos resultados se encuentran en las Tablas 4.26 a 4.41.

Se ha analizado la idoneidad o no, de modelos cinéticos disponibles en Bibliografía y usados por diferentes autores tanto para la biosorción de metales pesados en general, como para el caso concreto de Cr(VI).

A continuación se describen dichos modelos:

5.4.5.1 Modelos basados en la adsorción

A) Modelo de pseudo-primer orden

Este modelo denominado ecuación de Lagergren tiene la formulación siguiente:

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q) \quad [5.58]$$

donde q y q_e son las capacidades de adsorción de la biomasa a un tiempo t y en el equilibrio, en mmol/g y k_1 la constante cinética, en h^{-1} . Está basado en la capacidad de sorción del sólido y considera como fuerza impulsora, lineal, a la diferencia $(q_e - q)$.

En esta ecuación separando variables,

$$\int_0^q \frac{dq}{q_e - q} = k_1 \int_0^t dt \quad [5.59]$$

e integrando entre los límites indicados conduce a:

$$q = q_e(1 - \exp(-k_1 t)) \quad [5.60]$$

También es interesante en este modelo cinético, a efectos de comparación, determinar la velocidad inicial, r_0 , y el tiempo necesario para alcanzar una sorción mitad de la de equilibrio, $t_{1/2}$:

$$r_0 = k_1 q_e \quad , \text{mmol g}^{-1} \text{h}^{-1} \quad t_{1/2} = \frac{0,693}{k_1} \quad , \text{h} \quad [5.61]$$

B) Modelo de pseudo-segundo orden

El modelo de pseudo-segundo orden se basa en la capacidad de sorción del biosorbente y utiliza una fuerza impulsora de segundo orden,

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \quad [5.62]$$

Separando variables e integrando:

$$\int_0^q \frac{dq}{(q_e - q)^2} = k_2 \int_0^t dt \quad [5.63]$$

se obtiene

$$\frac{1}{q_e - q} - \frac{1}{q_e} = k_2 t \quad [5.64]$$

que reorganizada ,

$$q = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t} \quad [5.65]$$

permite obtener la ecuación del modelo en su forma no linealizada, la constante cinética en este caso tiene unidades de $\text{g mmol}^{-1} \text{h}^{-1}$. La velocidad inicial y el tiempo (1/2) para este modelo son:

$$r_o = k_2 q_e^2, \text{ mmol g}^{-1} \text{h}^{-1} \quad t_{1/2} = \frac{1}{k_e q_e}, \text{ h} \quad [5.66]$$

C) Modelo de pseudo-n orden

Al igual que en la cinética química homogénea se pueden desarrollar modelos generales que no presuponen de antemano un valor numérico del orden de reacción, así el modelo de orden n se plantea sobre las mismas bases que los dos modelos anteriores, para orden de reacción n.

$$\frac{dq}{dt} = k_n (q_e - q)^n \quad [5.67]$$

Cuya integración entre los mismos límites conduce a:

$$\frac{q_e^{(1-n)}}{(1-n)} - \frac{(q_e - q)^{(1-n)}}{(1-n)} = k_n t \quad [5.68]$$

reordenando

$$q = q_e - [q_e^{(1-n)} - (1-n)k_n t]^{\frac{1}{1-n}} \quad [5.69]$$

siendo las unidades de la constante cinética, $\text{mmol}^{1-n} \text{g}^{n-1} \text{h}^{-1}$ y la velocidad inicial

$$r_o = k_n q_e^n, \text{ mmol g}^{-1} \text{h}^{-1} \quad [5.70]$$

Como en la formulación de estos modelos aparece la capacidad de sorción en el equilibrio, estos modelos se han aplicado a los resultados experimentales para el Cr(total), calculando la capacidad de sorción de la biomasa a cada tiempo, mediante un balance de materia, en la forma:

$$[\text{Cr(VI)}]_o = [\text{Cr(Total)}] + q [\text{B}] \quad [5.71]$$

Donde cada uno de los términos representa:

$[\text{Cr(VI)}]_o$: la concentración inicial de Cr en la solución mM

$[\text{Cr(Total)}]$: la concentración de Cr(Total) en la solución a cada tiempo, mM

q: la capacidad de sorción de la biomasa a cada tiempo, mmol/g

[B], la concentración de biomasa utilizada en el experimento

y q se determina:

$$q = \frac{([\text{Cr(VI)}]_o - [\text{Cr(Total)}])}{[B]} \quad [5.72]$$

En las Tablas 5.33 a 5.35 se recogen los resultados del ajuste, mediante regresión no lineal, a los modelos considerados y en las Figuras 5.70 a 5.72 están representados los valores experimentales y las líneas correspondientes a los diferentes modelos.

Basada la comparación en los parámetros utilizados, sumatorio del cuadrado de los errores, coeficiente de regresión lineal y error cuadrático medio, el modelo que mejor ajusta los resultados es el de pseudo-n orden, si bien el modelo de pseudo-segundo proporciona también un ajuste aceptable. A título de ejemplo en la Figura 5.73 se presentan los tres modelos para SOSL.

Las capacidades de sorción aumentan en el tiempo, variando rápidamente al inicio del proceso para a continuación acercarse lentamente al equilibrio, en todos los casos se ha utilizado un tiempo final de 48 h. En general, las capacidades máximas de sorción, q_e , aumentan al aumentar la concentración inicial de cromo, siendo el valor más pequeño de 0,200 mmol/g \cdot 10,4 mg/g para SOSL a 25 mg/L y el mayor de 0,730 mmol/g \cdot 37,96 mg/g para la misma biomasa a 100 mg/L.

En la Figura 5.74 se indica el gráfico de dispersión para los valores de q_e experimentales (experimentos cinéticos) recogidos en la Tabla 5.36 y los proporcionados por el modelo de orden n. Salvo para SOCL a una concentración inicial de 1,923 mmol/L \cdot 100 mg/L las máximas capacidades de sorción están comprendidas entre los márgenes del $\pm 10\%$.

Tabla 5.36 Capacidades máximas de adsorción

[Cr(VI)] _o , mg/L	q _e , mmol/g experimentales			
	25	50	75	100
SOCL	0,245	0,474	0,619	0,887
SOSL	0,208	0,405	0,557	0,727
BBCL	0,250	0,404	0,577	0,632
BBSL	0,188	0,256	0,375	0,491

Tabla 5.33 Modelo de pseudo-primer orden

SOCL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,210	0,415	0,574	0,661
k₁, h⁻¹	2,036	2,068	1,604	1,389
ro, mmol/g h	0,428	0,858	0,921	0,920
SSE	0,007	0,031	0,075	0,231
r²	0,860	0,852	0,814	0,664
RMSE	0,023	0,048	0,076	0,133
SOSL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,195	0,386	0,518	0,695
k₁, h⁻¹	1,327	0,622	0,722	1,469
ro, mmol/g h	0,259	0,240	0,374	1,020
SSE	0,003	0,007	0,028	0,079
r²	0,947	0,971	0,933	0,866
RMSE	0,014	0,024	0,047	0,078
BBCL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,244	0,418	0,554	0,588
k₁, h⁻¹	0,096	0,135	0,222	0,136
ro, mmol/g h	0,023	0,056	0,123	0,080
SSE	0,009	0,003	0,040	0,054
r²	0,900	0,989	0,925	0,912
RMSE	0,027	0,017	0,055	0,064
BBSL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,198	0,246	0,369	0,447
k₁, h⁻¹	0,081	0,343	0,128	2,517
ro, mmol/g h	0,016	0,084	0,047	1,125
SSE	0,003	0,006	0,022	0,026
r²	0,951	0,954	0,905	0,881
RMSE	0,016	0,021	0,042	0,045

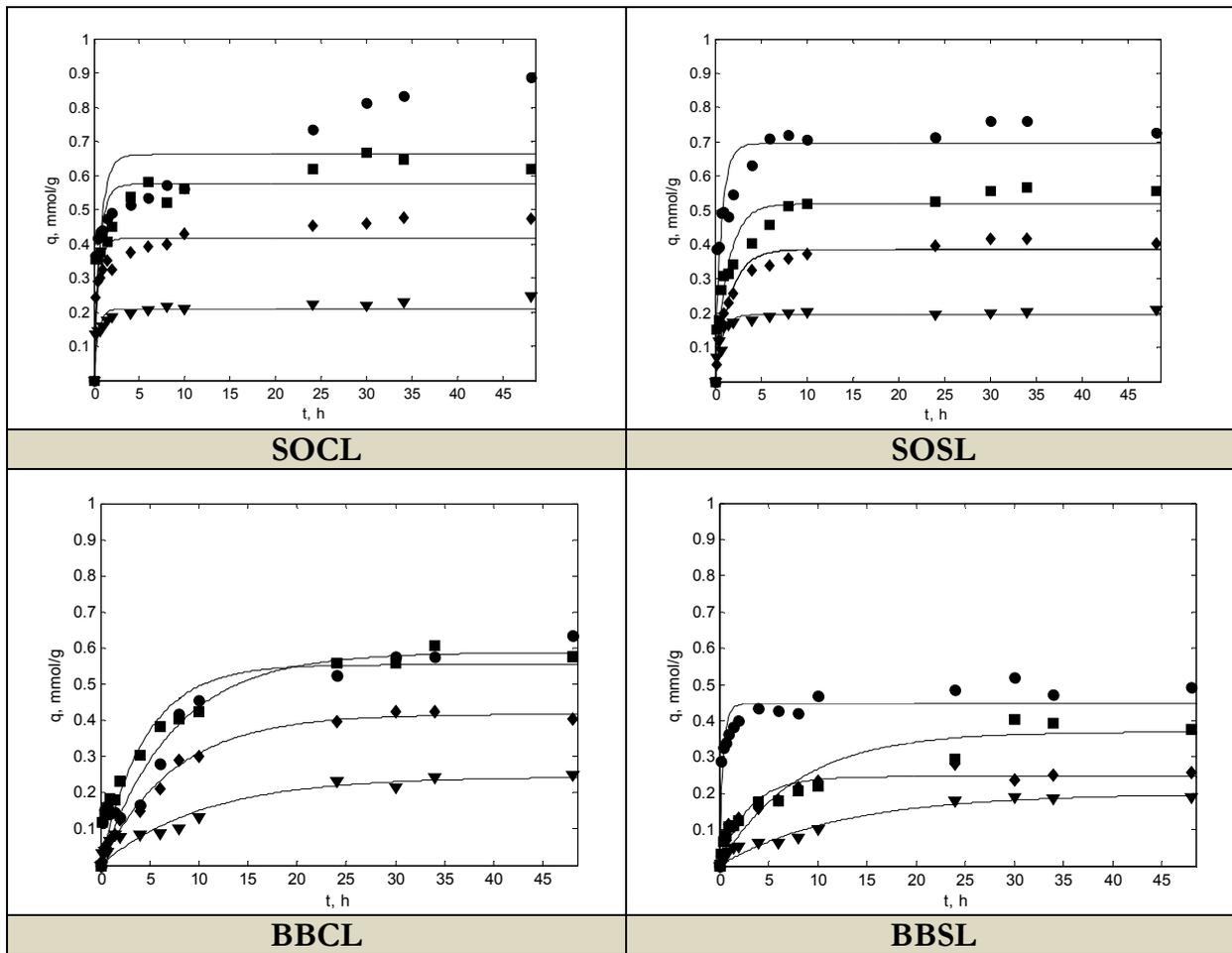


Figura 5.70 Ajuste al modelo de pseudo-primer orden ● 0,48 (25) ■ 0,96 (50) ◆ 1,44 (75)
▼ 1,92 (100) mmol/L (mg/L)

Tabla 5.34 Modelo de pseudo-segundo orden

SOCL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,220	0,439	0,605	0,718
k₂, g/mmol h	15,81	7,32	4,34	2,493
r₀, mmol/g h	0,765	1,411	1,589	1,285
SSE	0,003	0,012	0,035	0,147
r²	0,947	0,940	0,913	0,786
RMSE	0,014	0,031	0,052	0,106
SOSL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,206	0,421	0,561	0,731
k₂, g/mmol h	10,13	1,92	1,77	3,32
r₀, mmol/g h	0,430	0,340	0,557	1,774
SSE	0,002	0,001	0,008	0,030
r²	0,960	0,995	0,980	0,948
RMSE	0,013	0,009	0,025	0,048
BBCL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,295	0,498	0,614	0,695
k₂, g/mmol h	0,360	0,293	0,504	0,220
r₀, mmol/g h	0,031	0,073	0,190	0,110
SSE	0,008	0,004	0,019	0,047
r²	0,914	0,988	0,964	0,923
RMSE	0,025	0,018	0,038	0,060
BBSL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,252	0,271	0,425	0,469
k₂, g/mmol h	0,310	1,683	0,380	9,055
r₀, mmol/g h	0,020	0,124	0,070	1,992
SSE	0,003	0,003	0,016	0,009
r²	0,954	0,974	0,933	0,956
RMSE	0,015	0,015	0,035	0,028

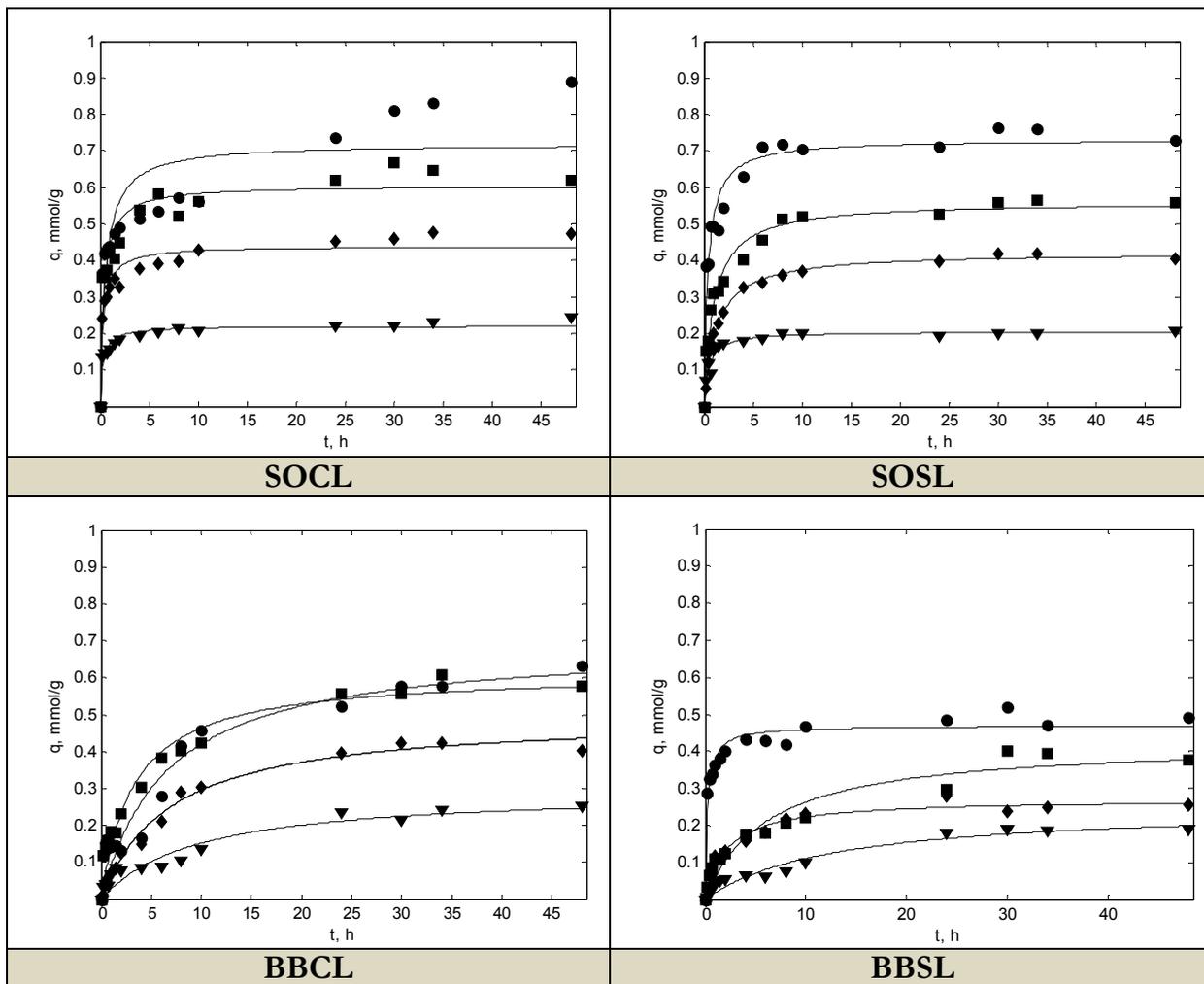


Figura 5.71 Ajuste al modelo de pseudo-segundo orden ● 0,48 (25) ■ 0,96 (50) ◆ 1,44 (75) ▼ 1,92 (100) mmol/L (mg/L)

Tabla 5.35 Modelo general de pseudo-n orden

SOCL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,220	0,440	0,610	0,720
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	54,840	17,890	9,605	6,163
N	2,528	2,561	2,659	2,874
ro, mmol/g h	1,192	2,185	2,580	2,400
SSE	0,002	0,009	0,028	0,123
r²	0,959	0,954	0,932	0,821
RMSE	0,013	0,027	0,046	0,097
SOSL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,200	0,420	0,560	0,730
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	5,400	1,973	2,194	5,139
n	1,665	2,010	2,182	2,401
ro, mmol/g h	0,370	0,345	0,619	2,414
SSE	0,002	0,001	0,008	0,026
r²	0,960	0,995	0,982	0,956
RMSE	0,013	0,010	0,024	0,045
BBCL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,300	0,427	0,620	0,700
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	0,580	0,1626	0,653	0,240
n	2,313	1,170	2,886	2,129
ro, mmol/g h	0,036	0,060	0,164	0,112
SSE	0,008	0,003	0,018	0,047
r²	0,912	0,990	0,967	0,923
RMSE	0,025	0,017	0,037	0,060
BBSL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
q_e, mmol/g	0,220	0,270	0,430	0,470
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	0,174	1,681	0,596	19,9
n	1,484	1,990	2,353	2,492
ro, mmol/g h	0,018	0,124	0,081	3,032
SSE	0,003	0,003	0,015	0,008
r²	0,953	0,974	0,936	0,966
RMSE	0,016	0,016	0,034	0,024

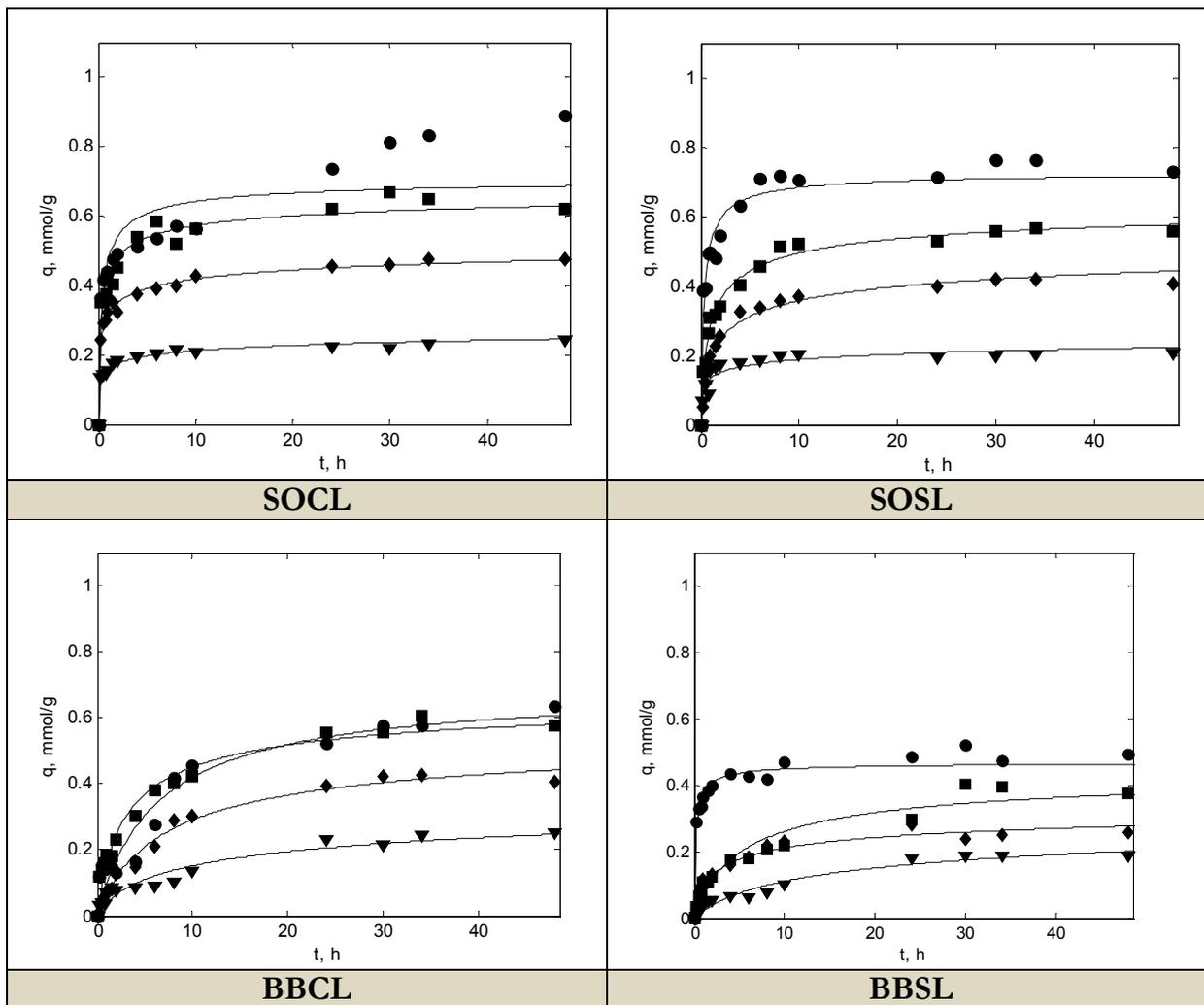


Figura 5.72 Ajuste al modelo de pseudo-n orden ● 0,48 (25) ■ 0,96 (50) ◆ 1,44 (75) ▼ 1,92 (100) mmol/L (mg/L)

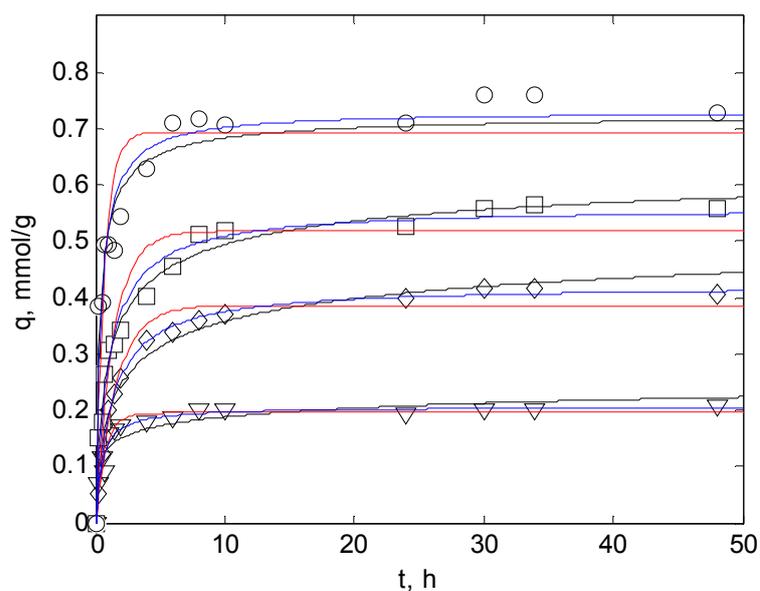


Figura 5.73 Modelos de pseudo-primer orden (rojo), pseudo-segundo (azul) y pseudo-n (negro) para SOCL \circ 100 \square 75 \diamond 50 Δ 25 mg/L

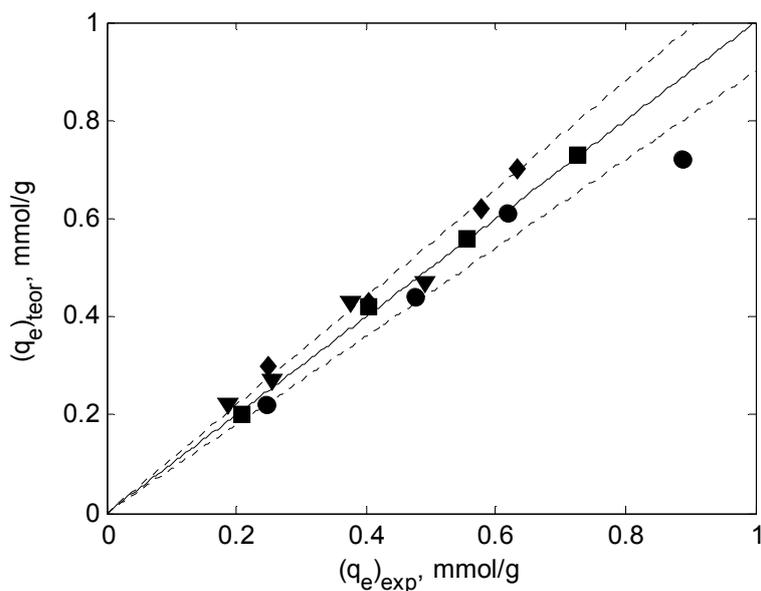


Figura 5.74 Gráfico de dispersión al $\pm 10\%$ para los valores de q_e experimentales y proporcionados por el modelo de pseudo-n orden. SOCL \bullet SOSL \blacksquare BBCL \blacklozenge BBSL \blacktriangledown

Por lo general, son más los autores que encuentran que el modelo de pseudo-segundo orden es el que mejor ajusta sus resultados cinéticos en la adsorción de Cr(VI), tales como (Khambhaty et al., 2009) (Aksu et al., 2009) (Yavuz et al., 2011) (Albaradin et al., 2011) (Mona et al., 2011) (Cho et al., 2011), otros como (Gasser et al., 2007) y (Baral et al., 2008) utilizan el modelo de primer orden reversible similar en su formulación final al

de pseudo-primer orden y solo se ha encontrado una referencia en cuanto a la utilidad de usar un modelo general de orden n (Kumar et al., 2011).

Las capacidades de sorción en el equilibrio aumentan en forma aproximadamente lineal con la concentración inicial de Cr en el medio líquido y son menores para BBSL. Este aumento debe originarse como consecuencia de una mayor interacción, por incremento en las colisiones entre las partículas de biosorbente y los iones metálicos. Para *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris* a una concentración inicial de Cr de 100 mg/L (Gokhale et al., 2008) obtienen unas capacidades de adsorción de 73,64 y 78,18 mg/g equivalentes a 1,42 y 1,50 mmol/g respectivamente.

Las constantes cinéticas para todos los modelos utilizados varían con la concentración inicial de Cr. Aunque hay excepciones, la tendencia es a disminuir al aumentar la misma, por lo que deben considerarse pseudo-constantes cinéticas y la utilidad de estos modelos no es tanto mecanicística sino más bien de ajuste, para la simulación de los resultados experimentales.

Lo mismo ocurre para el orden de reacción n que depende de $[\text{Cr(VI)}]_0$ y que varía en el intervalo de 1,170 a 50 mg/L hasta 2,886 a 75 mg/L para BBCL. La media de los órdenes para las 4 biomazas es de 2,655; 2,065; 2,125; 2,080 para SOCL; SOSL; BBCL; BBSL. Estos valores medios por su proximidad a 2 justifican que también el modelo de pseudo-segundo orden sea adecuado para reproducir los experimentos.

Las velocidades iniciales de adsorción aumentan al aumentar $[\text{Cr(VI)}]_0$ y son mayores para SOCL, seguidas de SOSL, BBCL y BBSL. Por lo general son también mayores las calculadas mediante el modelo de orden n , intermedias las de orden 2 y menores las de orden 1.

En la Figura 5.75 se comparan los valores de equilibrio obtenidos en los experimentos cinéticos, modelo pseudo- n orden, con el modelo teórico de BET obtenido a partir de los experimentos de equilibrio, apartado 5.4.4., encontrándose, a título de ejemplo para SOCL una concordancia aceptable entre los dos métodos.

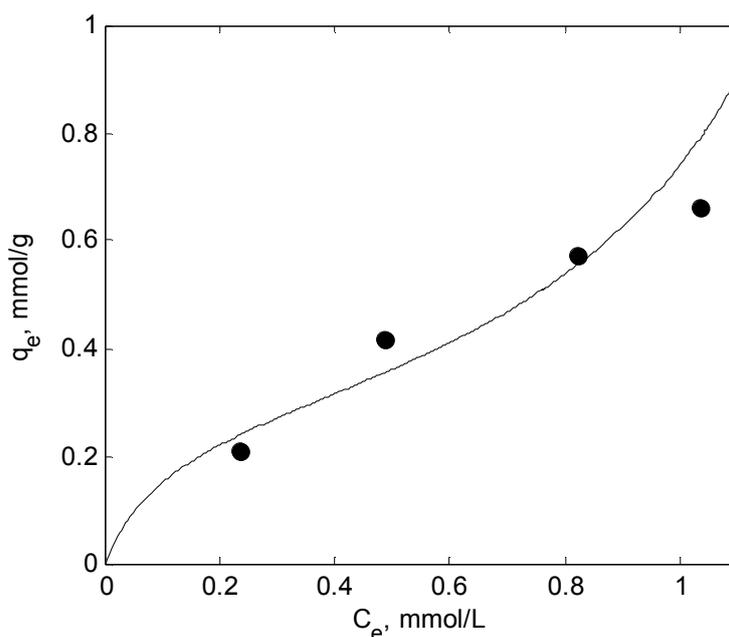


Figura 5.75 Valores de equilibrio para SOCL por el método pseudo-n orden

También se ha utilizado el modelo de pseudo-n orden para reproducir los resultados experimentales de variación en el tiempo, tanto de la capacidad de adsorción q , como de la concentración total del ión metálico en la solución acuosa.

En la Figura 5.76 se han incluido dichas curvas a una concentración inicial del metal, para cada una de las biomasas. A efectos de simulación este modelo reproduce perfectamente los resultados experimentales considerados.

En las Figuras 5.77 y 5.78 para ver el periodo inicial de los experimentos se han considerado solo las 10 primeras horas de los mismos. En la Figura 5.77 se observa para SOSL como al disminuir la concentración inicial de Cr(VI) disminuye la velocidad inicial de adsorción dada por la pendiente de las líneas a tiempo cero.

En la siguiente figura se comparan todas las biomasas a 25 mg/L de Cr inicial, para observar como, las velocidades iniciales de adsorción, son mayores para *Scenedemus* con y sin lípidos seguidas de las de *Botryococcus* también en el mismo orden, con y sin lípidos, acorde a los valores numéricos recogidos en la Tabla 5.35 y acorde a la concentración total de centros activos determinada mediante la titulación potenciométrica.

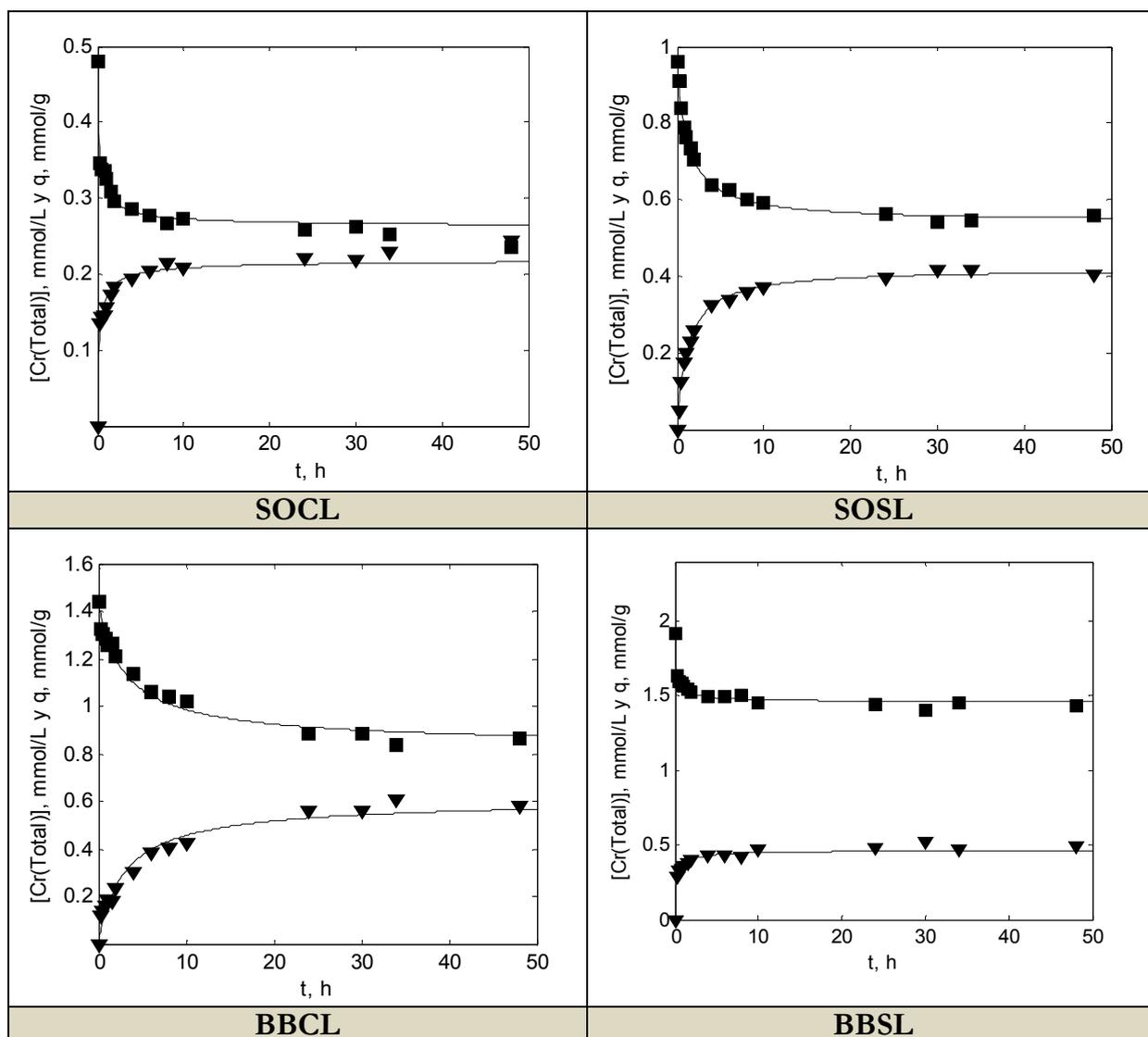


Figura 5.76 Líneas teóricas proporcionadas por el modelo de p-n orden, ■ $[Cr(Total)]$ ▼ q , a $[Cr(VI)]_0$ 0,48 (25) SOCL 0,96 (50) SOSL 1,44 (75) BBCL 1,92 (100) BBSL mmol/L (mg/L)

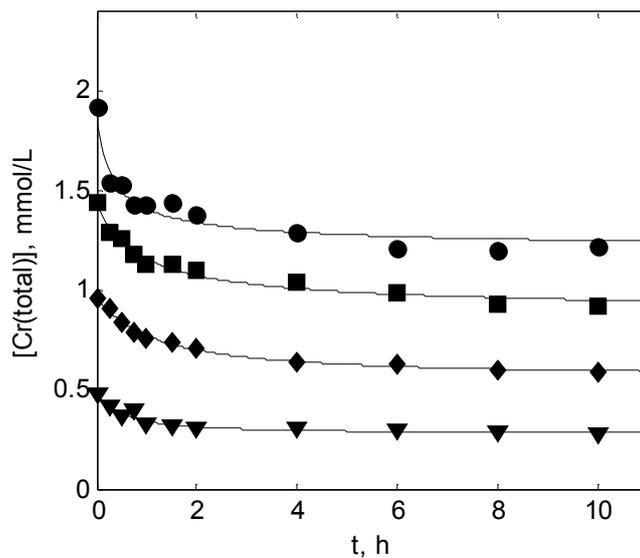


Figura 5.77 Líneas teóricas proporcionadas por el modelo de p-n orden, SOSL a $[Cr(VI)]_0$ ● 1,92 (100); ■ 1,44 (75); ◆ 0,96 (50); ▼ 0,48 (25); BBSL mmol/L (mg/L)

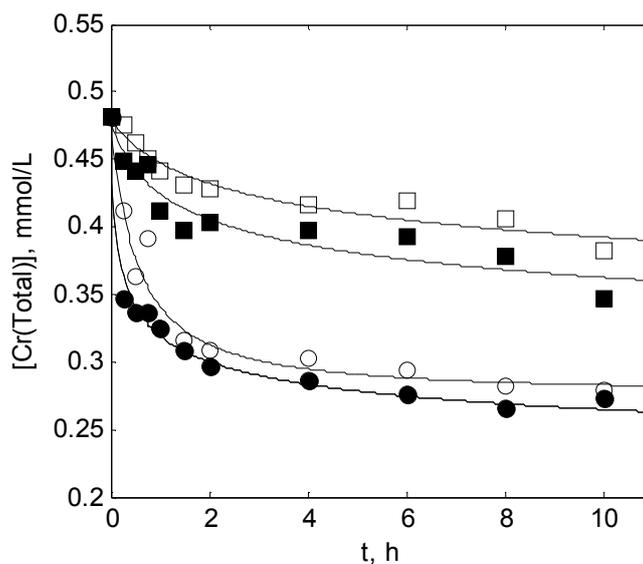


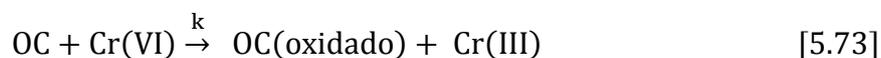
Figura 5.78 Líneas teóricas proporcionadas por el modelo de p-n orden, SOCL ● SOSL □ BBCL ■ BBSL □ a $[Cr(VI)]_0$ 0,48 (25) mmol/L (mg/L)

5.4.5.2 Modelo basado en la reacción de reducción

A) Modelo de Park

(Park et al., 2008) proponen un modelo homogéneo basado únicamente en la reacción de reducción que experimenta el Cr(VI). Esta reacción ocurre como consecuencia de la existencia de compuestos reductores en la biomasa y las condiciones experimentales utilizadas en los experimentos de biosorción.

La reducción de un único compuesto orgánico puede expresarse por una reacción irreversible:



representando OC un compuesto orgánico dador de e⁻ y k la constante cinética de la reacción propuesta. A pH y temperatura constantes estos autores consideran que la velocidad de desaparición de Cr(VI) es de primer orden en ambos, el Cr(VI) y el compuesto orgánico, así:

$$\frac{d[\text{Cr(VI)}]}{dt} = -k [\text{OC}][\text{Cr(VI)}], \text{ mM h}^{-1} \quad [5.74]$$

A un tiempo dado, la concentración del componente reductor puede expresarse en función de la conversión, y considerando una estequiometría 1:1, ésta toma la expresión

$$x_{\text{ox}} = \frac{[\text{OC}]_o - [\text{OC}]}{[\text{OC}]_o} = \frac{[\text{Cr(VI)}]_o - [\text{Cr(VI)}]}{[\text{OC}]_o} \quad [5.75]$$

La concentración inicial del compuesto orgánico en función de la concentración del biosorbente y del contenido de éste en el mismo,

$$[\text{OC}]_o = C_{\text{OC}}^* [\text{B}], \text{ mM} \quad [5.76]$$

ya que la concentración de sorbente puede expresarse en g/L y el contenido en componente reductor en mmol/g. Combinando las ecuaciones [5.75] y [5.76] se obtiene,

$$[\text{OC}] = [\text{Cr(VI)}] + C_{\text{OC}}^* [\text{B}] - [\text{Cr(VI)}]_o \quad [5.77]$$

de forma que la ecuación [5.74] puede expresarse,

$$\frac{d[\text{Cr(VI)}]}{dt} = -k [\text{Cr(VI)}]([\text{Cr(VI)}] + C_{\text{OC}}^* [\text{B}] - [\text{Cr(VI)}]_o) \quad [5.78]$$

separando variables

$$\left(\frac{1}{[\text{Cr(VI)}]} - \frac{1}{[\text{Cr(VI)}] + C_{\text{OC}}^*[\text{B}] - [\text{Cr(VI)}]_0} \right) d[\text{Cr(VI)}] = -k(C_{\text{OC}}^*[\text{B}] - [\text{Cr(VI)}]_0)dt \quad [5.79]$$

e integrando con la condición inicial a $t=0$ $[\text{Cr(VI)}]=[\text{Cr(VI)}]_0$ se obtiene,

$$[\text{Cr(VI)}] = \frac{C_{\text{OC}}^*[\text{B}][\text{Cr(VI)}]_0 - [\text{Cr(VI)}]_0^2}{C_{\text{OC}}^*[\text{B}] \exp(k(C_{\text{OC}}^*[\text{B}] - [\text{Cr(VI)}]_0)t) - [\text{Cr(VI)}]_0} \quad [5.80]$$

expresión que permite ajustar la variación de la concentración del cromo hexavalente en el medio líquido frente al tiempo.

La ecuación anterior puede reorganizarse en la forma,

$$y = kt \quad , \quad \frac{L}{\text{mmol}} \quad [5.81]$$

donde

$$y = \frac{\ln \left(\frac{[\text{Cr(VI)}]_0(C_{\text{OC}}^*[\text{B}] - [\text{Cr(VI)}]_0 + [\text{Cr(VI)}])}{C_{\text{OC}}^*[\text{B}][\text{Cr(VI)}]} \right)}{C_{\text{OC}}^*[\text{B}] - [\text{Cr(VI)}]_0} \quad [5.82]$$

conocida la capacidad reductora de la biomasa esta ecuación lineal permite comprobar la bondad del modelo y determinar la constante cinética.

En la Figura 5.79 se representan las líneas proporcionadas por el modelo de Park para el ajuste de los datos experimentales para BBCL y BBSL a las ecuaciones [5.80] y [5.81]. El ajuste es aceptable, si bien, la representación lineal indica sobre todo en el caso de BBSL ordenadas en el origen finitas, no previstas por el modelo.

Posiblemente la no constancia del pH, es el factor que determina que este modelo sea inaplicable a *Scenedesmus*, biomasa con la que se opera a pH inicial de 2 y la variación del pH es mayor que en *Botryococcus* que se opera a pH 1.

Por otra parte, este modelo, también proporciona constantes cinéticas, Tabla 5.37, que varían con la concentración inicial del metal en solución, disminuyendo al aumentar ésta.

Tabla 5.37 Ajustes al modelo de reducción en forma lineal

BBCL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
k, L mmol⁻¹ h⁻¹	0,027	0,014	0,009	0,003
SSE	0,065	0,059	0,061	0,002
r²	0,973	0,911	0,820	0,902
RMSE	0,071	0,067	0,064	0,013
BBSL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
k, L mmol⁻¹ h⁻¹	0,011	0,076	0,004	0,001
SSE	0,044	0,014	0,012	0,002
r²	0,900	0,902	0,850	0,750
RMSE	0,058	0,032	0,034	0,011

Los valores para k son del orden de magnitud de los obtenidos utilizando biomasa inerte del hongo *Rhizopus oryzae*, (Park et al., 2005b) de 0,036 L/mmol h pero inferiores a cáscara de plátano 0,5263 L/mmol h a pH 2, (5 mg/L de biomasa y 50 mg/L de Cr) y *Corynebacterium glutamicum* 2,272 L/mmol h obtenido a pH 2, (50 mg/L de Cr(VI) y 10 g/L para la concentración de biomasa) (Park et al., 2008c).

Si bien Park, desarrolla su modelo en 2005, (Park et al., 2005d) y lo aplica y mejora a lo largo de los años, incluyendo el efecto de la temperatura y pH (Park et al., 2007)(Park et al., 2008) solo se ha encontrado una referencia de su utilización por otros autores, (López-García M et al, 2010) que lo aplican a la adsorción de Cr(VI) por hojas de helecho.

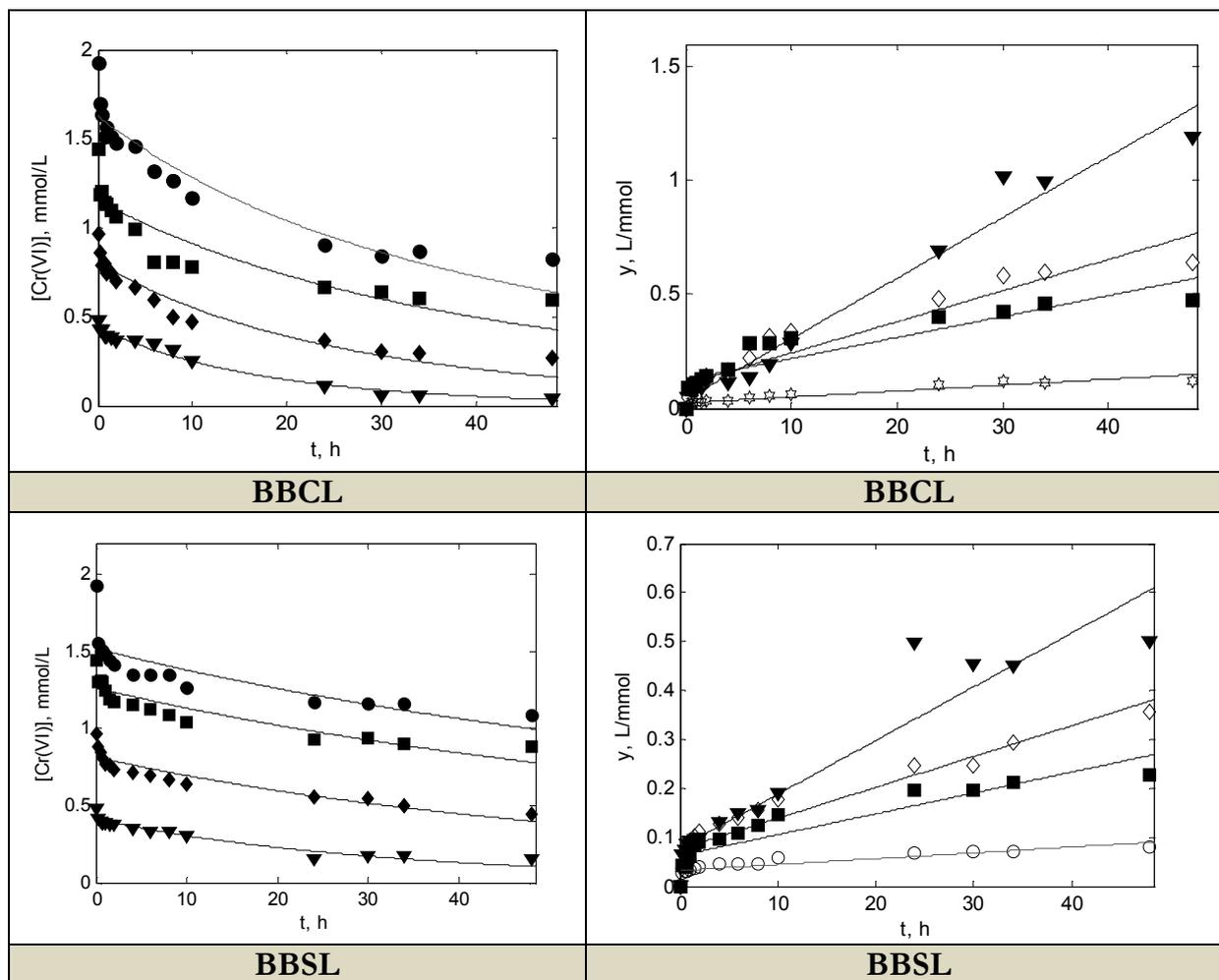


Figura 5.79 Ajuste al modelo de reducción para BBCL y BBSL ● 1,92 (100) ■ 1,44 (75) ◆ 0,96 (50) ▼ 0,48 (25) mmol/L (mg/L) y para la forma lineal ○ 1,92 (100) ■ 1,44 (75) ◇ 0,96 (50) ▼ 0,48 (25) mmol/L (mg/L)

5.4.5.3 Modelo basado en la transferencia de materia

A) Modelo de difusión intrapartícula

La adsorción de cualquier sorbato en el sólido implica necesariamente las etapas de transferencia de materia externa, a través de la película líquida que rodea a las partículas y la adsorción sobre los centros activos de la superficie de la misma. En partículas porosas ocurre también, la difusión intrapartícula y la adsorción en los centros activos situados en la superficie interna. La importancia relativa de las distintas etapas depende de la naturaleza del sorbente y sorbato y de las condiciones experimentales de la biosorción.

En el caso del Cr(VI), la reducción, puede ocurrir en cualquier momento ya que puede proceder según el mecanismo II, una vez adsorbido el metal o en fase líquida acorde al mecanismo I.

El tratamiento teórico de la difusión intrapartícula está basado en las leyes de difusión de Fick. En estado no estacionario, en ausencia de reacción química y considerando las partículas de adsorbente de tipo esférico, la ecuación básica representativa del proceso es:

$$\frac{\partial q}{\partial t} = \frac{D_s}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial q}{\partial r} \right) \quad [5.83]$$

simplificada en cuanto a que se considera la difusión ocurre solo en la dirección del radio. D_s representa el coeficiente de difusión intrapartícula, r la posición radial y q la cantidad de soluto adsorbido, función de r y t .

Crank (1956) integró analíticamente la ecuación anterior sobre la base de partículas exentas de sorbato a $t=0$ y perfil plano de concentraciones en la película líquida, (Qiu et al., 2009)

$$\frac{q}{q_s} = 1 + \frac{2R}{\pi r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \operatorname{sen} \frac{n\pi r}{R} \exp\left(\frac{-D_s n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad [5.84]$$

Ecuación en la que R representa el radio de la partícula y n el número de términos de la serie.

El valor medio de q en una partícula esférica a cualquier tiempo q_μ , puede evaluarse como,

$$q_\mu = \frac{3}{R^3} \int_0^R q(r) r^2 dr \quad [5.85]$$

donde $q(r)$ representa la concentración de sorbato en el sólido, en la posición radial r . Tras insertar la ecuación [5.84] en [5.85] e integrar se obtiene:

$$\frac{q_\mu}{q_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(\frac{-D_s n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad [5.86]$$

donde q_∞ representa la concentración media en el sólido a tiempo infinito equivalente a la de equilibrio q_e .

En los inicios del proceso de adsorción a tiempos pequeños la ecuación anterior puede simplificarse a:

$$q_{\mu} = \frac{6 q_{\infty} D_s^{0,5}}{\pi^{0,5} R} t^{0,5} \quad [5.87]$$

que conduce a la expresión

$$q = k_d t^{0,5} \quad [5.88]$$

conocida como modelo de Weber-Morris.

De acuerdo con esta ecuación una representación de los valores de q frente a $t^{0,5}$ en los inicios del proceso debe ser una línea recta con ordenada en el origen nula, si la difusión intrapartícula es la etapa limitante (Cheung et al., 2007). Cualquier otra situación puede implicar el control de la transferencia de materia externa o limitación por varias etapas de forma simultánea (Choy et al., 2004a,b). Este modelo de difusión intrapartícula considera que la adsorción sea de tipo físico o químico es siempre una etapa rápida en el proceso global (Cheung et al., 2007).

Mckay ha ampliado la aplicabilidad del modelo a tiempos de adsorción superiores a 24 h y la existencia de multilinealidad, la justifica en base a diferentes velocidades de difusión en poros de diferente tamaño (Choy and Mckay., 2004) (Sze and Mackay., 2010). La difusión intrapartícula generalmente predomina entre el 10 y 60% del periodo de adsorción pudiendo originarse a continuación una porción curvada o un plateau de equilibrio.

La representación gráfica de los resultados experimentales acorde al modelo de Weber, indica la existencia de multilinealidad para los experimentos considerados en este apartado. En las Figuras 5.80 a 5.83 a título de ejemplo se presenta la multilinealidad observada para las cuatro biomásas a concentraciones iniciales de C_r de 50 y 75 mg/L.

En la Tabla 5.38 se recogen las pendientes correspondientes a la primera y segunda zona lineal, constantes de velocidad de difusión k_{d1} y k_{d2} , así como las ordenadas en el origen denominadas C_1 y C_2 .

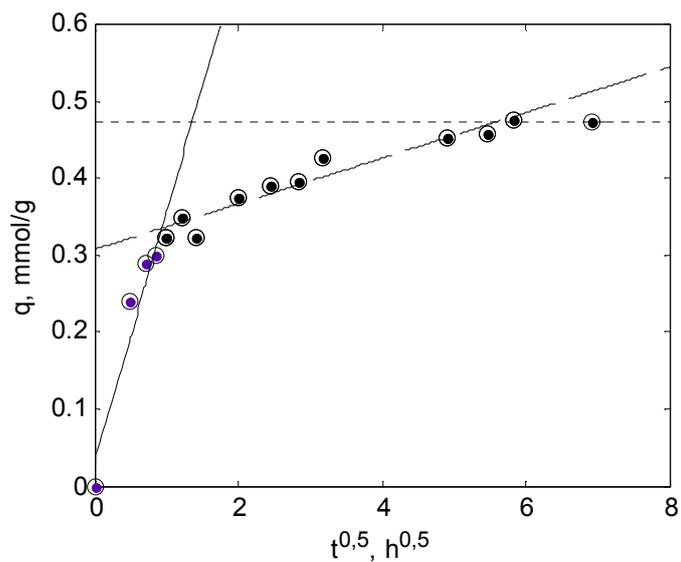


Figura 5.80 Gráfico de Weber para SOCL a una concentración inicial de Cr de 50 mg/L

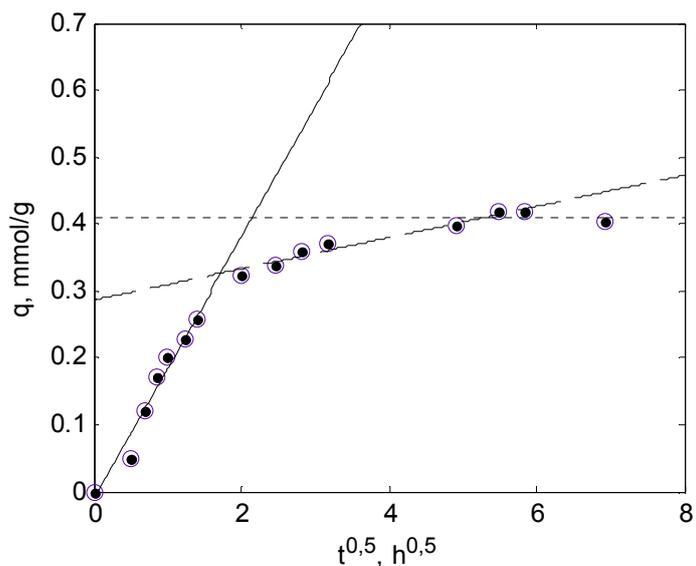


Figura 5.81 Gráfico de Weber para SOSL a una concentración inicial de Cr de 50 mg/L

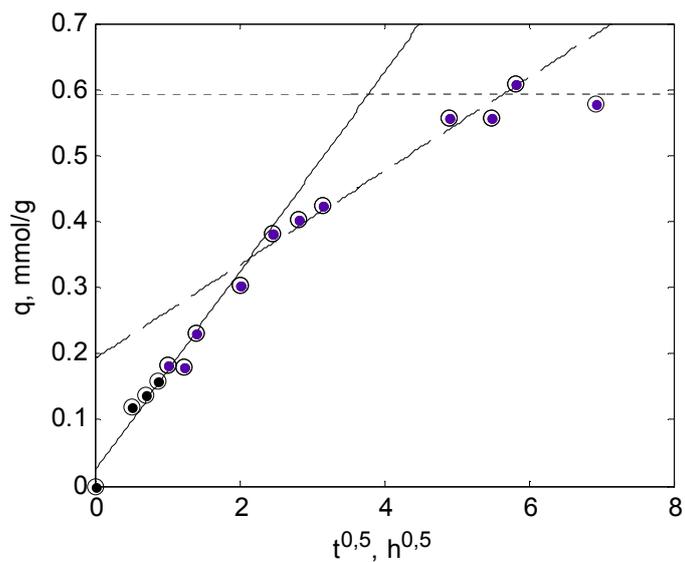


Figura 5.82 Gráfico de Weber para BBCL a una concentración inicial de Cr de 75 mg/L

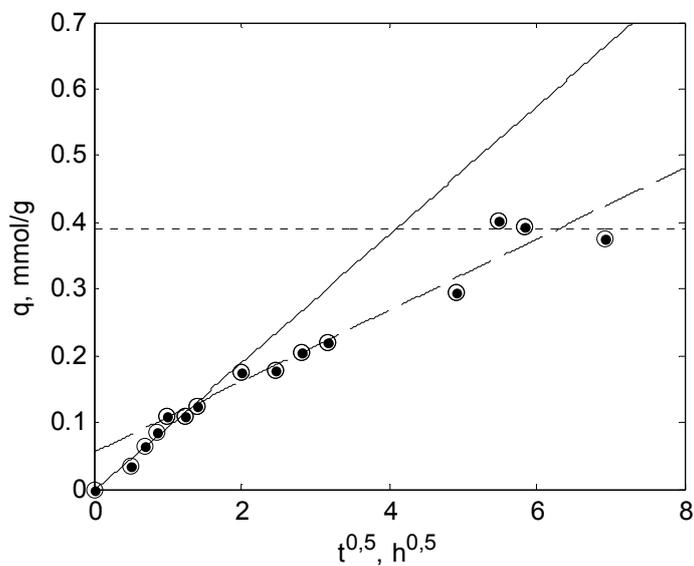


Figura 5.83 Gráfico de Weber para BBSL a una concentración inicial de Cr de 75 mg/L

Tabla 5.38 Parámetros del modelo de difusión intrapartícula

SOCL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
k_{d1}, mmol/g h^{0,5}	0,1544	0,3262	0,4141	0,4503
k_{d2}, mmol/g h^{0,5}	0,0122	0,0304	0,0511	0,0771
C₁, mmol/g	0,0208	0,0305	0,0481	0,0536
C₂, mmol/g	0,1640	0,3064	0,3920	0,3606
r₁	0,971	0,984	0,976	0,976
r₂	0,997	0,999	0,996	0,999
SSE₁	0,0024	0,0053	0,0139	0,0161
SSE₂	0,0010	0,0019	0,0099	0,0038
SOSL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
k_{d1}, mmol/g h^{0,5}	0,1401	0,2061	0,3018	0,5017
k_{d2}, mmol/g h^{0,5}	0,0083	0,0387	0,0520	0,0560
C₁, mmol/g	0,0002	-0,0178	-0,0047	0,0447
C₂, mmol/g	0,1611	0,2230	0,3020	0,4875
r₁	0,968	0,979	0,995	0,984
r₂	0,997	0,995	0,992	0,993
SSE₁	0,0016	0,0019	0,0011	0,0130
SSE₂	0,0008	0,0051	0,0130	0,0272
BBCL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
k_{d1}, mmol/g h^{0,5}	0,0450	0,0703	0,1862	0,1958
k_{d2}, mmol/g h^{0,5}	0,0382	0,0823	0,0913	0,1040
C₁, mmol/g	0,0032	-0,0066	0,0076	0,0068
C₂, mmol/g	0,0155	0,0030	0,1073	0,0365
r₁	0,972	0,928	0,992	0,993
r₂	0,982	0,989	0,993	0,976
SSE₁	0,0001	0,0004	0,0005	0,0005
SSE₂	0,0029	0,0068	0,0101	0,0277
BBSL				
[Cr(VI)]_o, mg/L	25	50	75	100
k_{d1}, mmol/g h^{0,5}	0,0392	0,0751	0,0989	0,3056
k_{d2}, mmol/g h^{0,5}	0,0342	0,0760	0,0710	0,0298
C₁, mmol/g	-0,0052	-0,0081	-0,0040	0,0632
C₂, mmol/g	-0,0033	0,1464	0,4076	0,3512
r₁	0,947	0,958	0,989	0,975
r₂	0,988	0,998	0,999	0,844
SSE₁	0,0002	0,0005	0,0004	0,0462
SSE₂	0,0011	0,9960	0,0030	0,0012

Las constantes de velocidad de difusión aumentan, al aumentar la concentración inicial del ión metálico y son mayores en el primer tramo lineal de difusión (Hu et al., 2011). Con respecto a las biomasas, las constantes varían en la forma:

$$\text{SOCL} > \text{SOSL} > \text{BBCL} > \text{BBSL}$$

(Sag et al., 2000) encuentran valores para k_{d1} en el intervalo de 0,027 a 0,1974 mmol/g h^{0,5} para la difusión de Cr en partículas de quitina, al aumentar la concentración inicial desde 0,521 a 1,868 mmol/L. En C activo granular, nativo y modificado con un polímero catiónico a concentración de Cr de 43,2 mg/L (Cho et al., 2011) determinan valores de 0,0107 y 0,0268 mmol/g h^{0,5}. Con la macroalga *Salvinia cucullata* (Baral et al., 2008) a 2 g/L de sorbente y 400 mg/L de Cr el valor obtenido para la constante de difusión intrapartícula es de 0,4172 mmol/g h^{0,5}.

La ordenada en el origen correspondiente al primer tramo C_1 en general, aumenta al aumentar la concentración inicial de cromo $[\text{Cr(VI)}]_0$. Esta forma de variación es justificada por un aumento de la fuerza impulsora para la transferencia de materia, que depende del gradiente de concentración y por tanto la adsorción, se aleja de una situación de control de la etapa de difusión interna, identificada por la nulidad de la ordenada en el origen.

Este aumento de C_1 es claro en SOCL y su valor significativamente distinto de cero, parece indicar que la difusión interna no es en ningún caso la etapa controlante. Por lo general, para las otras biomasas si, se observan, valores de la ordenada en el origen próximas a cero y que adquieren signo tanto positivo como negativo. El valor más pequeño es de 0,0002 obtenido para SOSL a 25 mg/L.

Cuando la ordenada en el origen es positiva, hay autores que consideran que la magnitud de la misma es proporcional al espesor de la película líquida, otros relacionan la magnitud de la ordenada en el origen con la adsorción superficial inicial. (Wu et al., 2009) (Sag et al 2000).

En la Figura 5.84 se comprueba la relación lineal existente entre C_1 y la adsorción a 0,25 h de iniciado el proceso expresada en mmol/g, para las cuatro biomasas y a una concentración inicial de Cr(VI) de 25 mg/L. A las otras concentraciones las líneas son prácticamente paralelas.

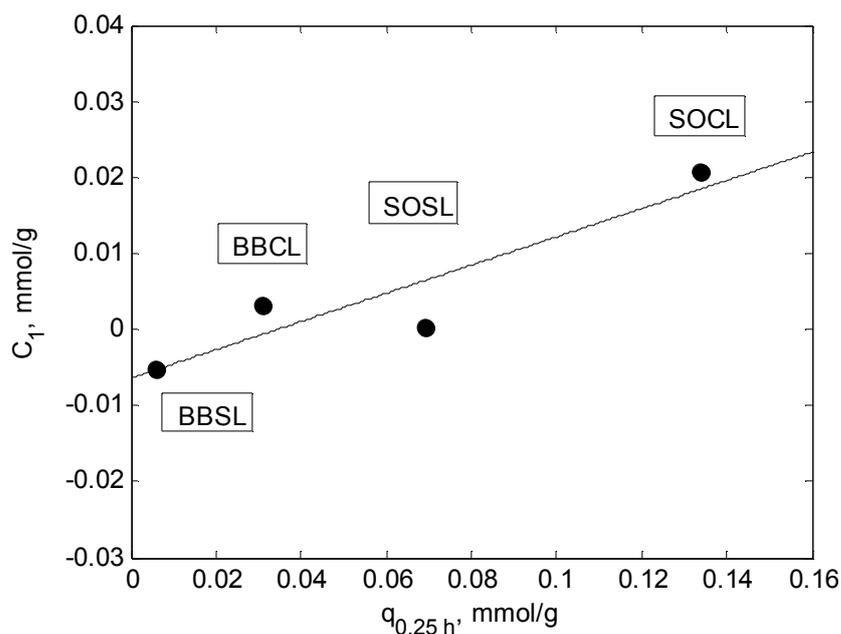


Figura 5.84 Relación lineal existente entre la ordenada en el origen C_1 y la adsorción inicial, para las cuatro biomazas a $[\text{Cr(VI)}]_o$ de 25 mg/L

Las biomazas utilizadas, no se corresponden con un biosorbente, estructurado, cuya distribución de poros sea una magnitud medible y reproducible. Los dos tramos lineales iniciales que se observan pueden ser achacables a la existencia de dos tamaños de poro mayoritarios, representando la primera etapa la difusión en los de mayor tamaño seguida de una segunda difusión en los de menor. La tercera porción lineal indica el establecimiento del equilibrio (Kumar et al. 2011).

Los valores de los parámetros de la difusión interna pueden relacionarse mediante una ecuación de tipo potencial,

$$k_{d1} = \alpha [\text{Cr(VI)}]_o^\beta \quad [5.89]$$

Las ecuaciones obtenidas se recogen en la Tabla 5.39 y en la Figura 5.85 se han representado las formas linealizadas.

Tabla 5. 39 Ajustes de las constantes de difusión intrapartícula

$k_{d1} = 0,296 [\text{Cr(VI)}]_o^{0,791}, r^2 = 0,953$	$k_{d1} = 0,243 [\text{Cr(VI)}]_o^{0,875}, r^2 = 0,934$
SOCL	SOSL
$k_{d1} = 0,096 [\text{Cr(VI)}]_o^{1,159}, r^2 = 0,914$	$k_{d1} = 0,089 [\text{Cr(VI)}]_o^{1,320}, r^2 = 0,860$
BBCL	BBSL

Los parámetros del ajuste son similares para las biomazas con y sin lípidos, disminuyendo α y aumentando β en las biomazas sin lípidos. Para sistemas de un único sorbato, en el que la adsorción esté limitada por la difusión intrapartícula se considera que el valor de β ideal es de 0,5 (Choy et al., 2005). Este valor es difícil de encontrar en la práctica y las desviaciones son debidas a la heterogeneidad de los adsorbentes.

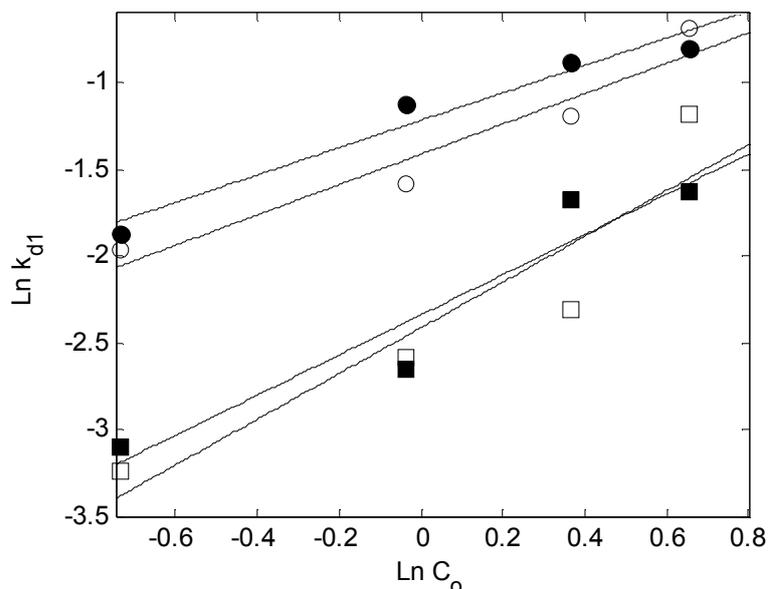


Figura 5.85 Variación de las constantes de difusión intrapartícula con la concentración inicial de cromo, SOCL ● SOSL ◻ BBCL ■ BBSL ◻

A partir de la ecuación [5.87] y considerando como tamaño de partícula 100 μm se pueden determinar los coeficientes de difusión intrapartícula, para los dos tramos lineales considerados,

$$D_s = \frac{\pi k_d^2}{36 q_\infty^2} R^2 \quad [5.90]$$

que se recogen en la Tabla 5.40, siendo q_∞ la capacidad de adsorción correspondiente al equilibrio.

Tabla 5.40 Coeficientes de difusión intrapartícula

[Cr(VI)] _o , mg/L	SOCL	SOSL	BBCL	BBSL
	D _{s1} , cm ² /s · 10 ¹⁰			
25	9,627	10,997	0,785	1,054
50	11,410	6,277	0,734	2,086
75	10,848	7,116	2,522	1,686
100	6,390	11,544	2,323	9,391

	SOCL	SOSL	BBCL	BBSL
[Cr(VI)] _o , mg/L	D _{s2} , cm ² /s · 10 ¹¹			
25	0,601	0,386	5,660	8,022
50	0,997	2,213	10,010	21,360
75	1,652	2,113	6,069	8,689
100	1,8315	1,438	65,64	0,893

Valores para el coeficiente de difusión intrapartícula del orden de magnitud 10⁻¹¹ – 10⁻¹³ determinan el control de la difusión interna (Debnath et al., 2008).

Estos valores están sobredimensionados porque se han determinado para el mayor tamaño de partícula posible, cuando las observaciones experimentales son valores promedio para tamaño de partícula ≤100 μm.

Por lo que es probable que la difusión intrapartícula desempeñe un papel importante en el proceso global, sobre todo durante la segunda etapa de difusión. Es preciso también indicar que aunque el equipo de adsorción utilizado es de tipo tanque agitado se ha operado a una baja velocidad de agitación de aproximadamente 100 rpm para no dañar excesivamente la débil estructura mecánica del aglomerado.

En la Figura 5.86 se recogen los porcentajes de detoxificación y eliminación a 25 mg/L para *Scenedesmus* y a 100 mg/L para *Botryococcus* y en la Tabla 5.41 las condiciones finales en los experimentos, a las 48 h de proceso.

Los porcentajes de detoxificación continúan aumentando en el tiempo ya que a la biomasa le queda capacidad de reducción y son superiores a los de eliminación ya que engloban la desaparición del Cr(VI) por adsorción y por reducción. A la misma concentración inicial de Cr en el medio se observa como las biomasas nativas son más eficientes.

Los porcentajes de eliminación y detoxificación finales, Tabla 5.41 disminuyen al aumentar la concentración inicial de Cr. En general los mayores valores se consiguen con SOCL. La extracción de los lípidos disminuye la efectividad y las biomasas de SOSL y BBCL se comportan en forma similar.

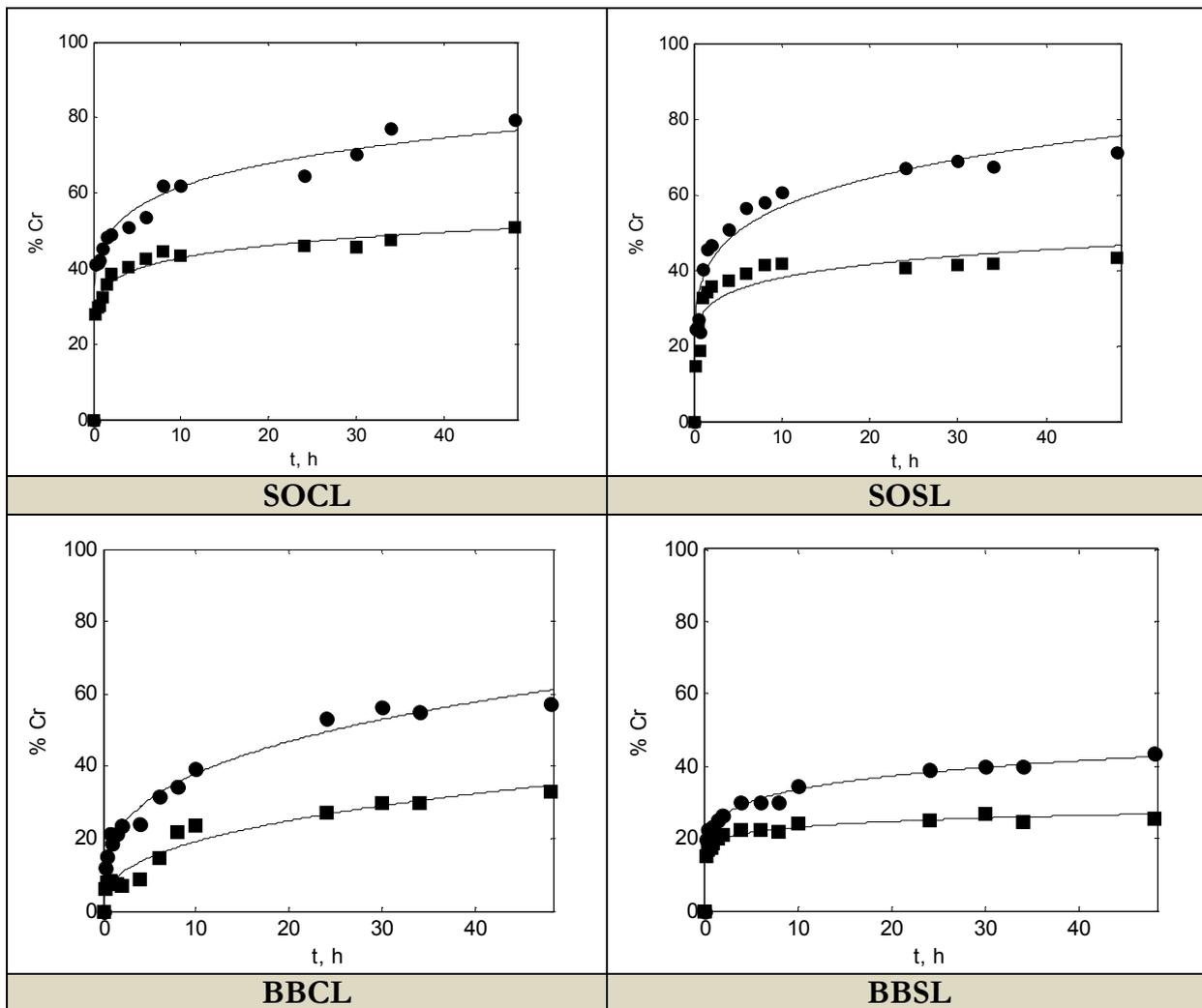


Figura 5.86 Porcentajes de detoxificación ● eliminación ■ de Cr a concentración inicial de 25 mg/L para *Scenedesmus* y 100 mg/L para *Botryococcus*

Tabla 5.41 Condiciones finales a 48 h de biosorción

SOCL				
[Cr(VI)] _o , mg/L	[Cr(VI)] _f , mg/L	[Cr(III)] _f , mg/L	% eliminación	% detoxificación
25	5,17	7,11	50,88	79,32
50	10,13	15,22	49,33	79,74
75	30,62	12,17	42,90	59,17
100	34,91	18,94	46,15	65,09
SOSL				
[Cr(VI)] _o , mg/L	[Cr(VI)] _f , mg/L	[Cr(III)] _f , mg/L	% eliminación	% detoxificación
25	7,22	6,96	43,28	71,12
50	16,39	12,57	42,08	67,22
75	32,48	13,57	38,60	56,69
100	46,40	15,80	37,80	53,60
BBCL				
[Cr(VI)] _o , mg/L	[Cr(VI)] _f , mg/L	[Cr(III)] _f , mg/L	% eliminación	% detoxificación
25	2,09	9,89	52,08	91,64
50	14,20	14,80	42,00	71,60
75	30,75	14,25	40,00	59,00
100	42,94	24,15	32,91	57,06
BBSL				
[Cr(VI)] _o , mg/L	[Cr(VI)] _f , mg/L	[Cr(III)] _f , mg/L	% eliminación	% detoxificación
25	7,92	7,31	39,08	68,32
50	22,80	13,91	26,58	54,40
75	45,75	9,73	26,02	39,00
100	56,70	17,80	25,50	43,30

5.4.6 Influencia de la concentración de biosorbente

Para el análisis de la influencia de la concentración de biosorbente, se han realizado los experimentos cuyos resultados se recogen en la Tablas 4.42 a 4.45. Las condiciones experimentales han sido temperatura de 25°C y constante, concentración inicial de Cr(VI) de 100 mg/L, pH inicial de 2 y 1 para *Scenedesmus* y *Botryococcus* respectivamente y libre y concentración de biosorbente de 1 a 10 g/L para las cuatro biomásas utilizadas.

En la Figura 5.87 se recogen de forma conjunta a efectos de comparación, los perfiles concentración de Cr total en el equilibrio, hexavalente y trivalente frente a la concentración de biomasa utilizada.

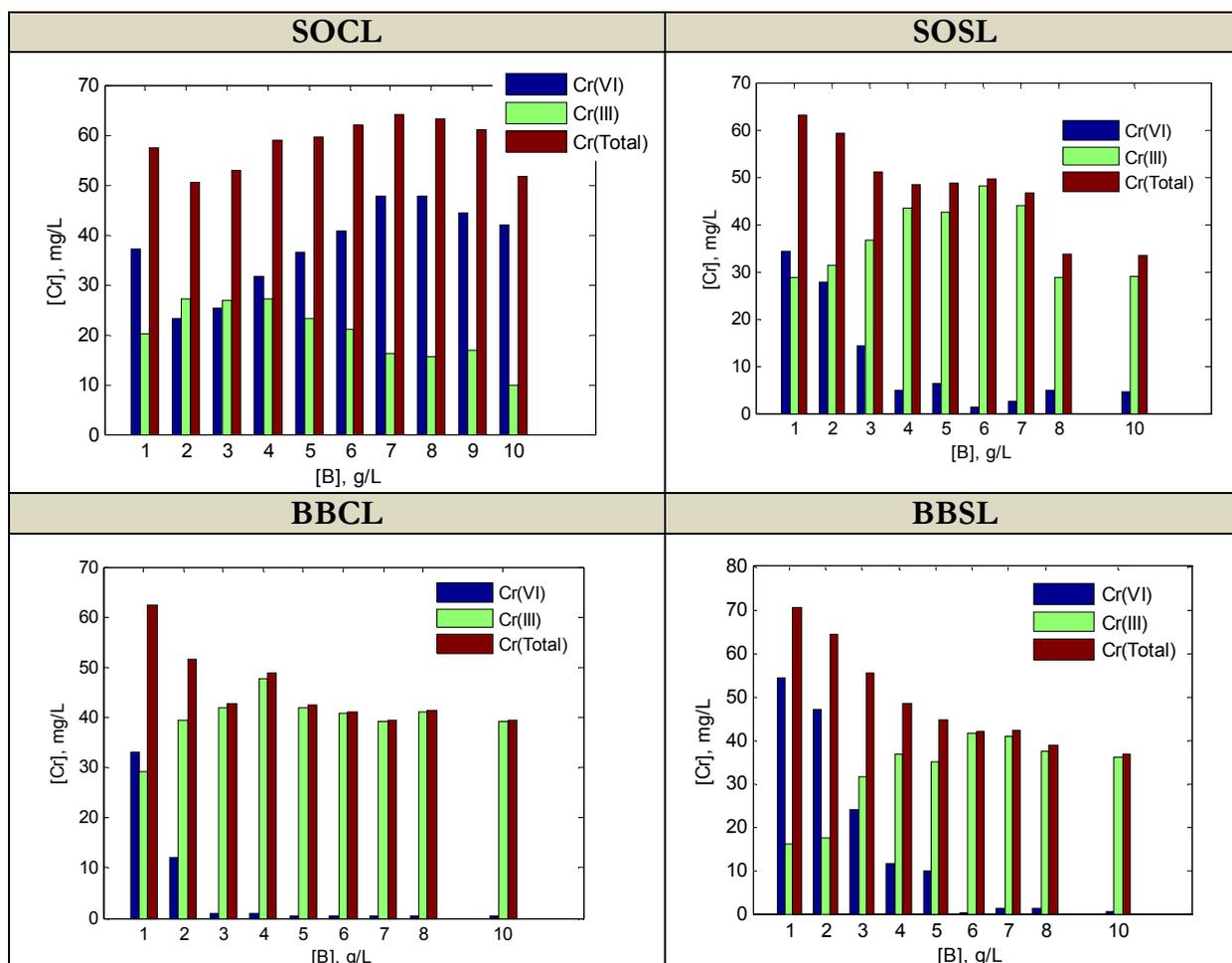


Figura 5.87 Variación de las concentraciones de Cr con la concentración de biosorbente

Los perfiles para SOSL, BBCL y BBSL son similares, se observa un descenso en las concentraciones de Cr(VI) y Cr(Total) al aumentar la concentración del biosorbente mientras que para SOCL no se detecta una tendencia clara.

Solo utilizando *Botryococcus braunii*, a partir de 2 g/L para la biomasa con lípidos y de 6 g/L para la biomasa sin lípidos, la concentración residual de Cr(VI) es del orden de 1 mg/L. En estos casos, la concentración de Cr(Total) en disolución es debida a la presencia del Cr reducido, Cr(III). Para *Scenedesmus* la concentración residual de Cr(VI) menor, se consigue con la biomasa sin lípidos y es de 5 mg/L. Para SOCL no se observa ningún efecto beneficioso en la biosorción por el hecho de aumentar la concentración de biosorbente.

Los porcentajes de detoxificación y eliminación de cromo calculados mediante la ecuaciones [5.48] y [5.49] se recogen en las Tablas 5.42 y 5.43.

Tabla 5.42 Porcentajes de detoxificación y eliminación de cromo mediante *Scenedesmus*

[B], g/L	SOCL, % Detox	SOCL, % Elim	SOSL, % Detox	SOSL, % Elim
1	62,87	42,70	65,62	36,94
2	76,67	49,69	72,06	40,79
3	74,71	47,03	85,66	49,02
4	68,27	41,19	91,11	51,75
5	63,63	40,53	93,79	51,41
6	59,11	38,14	98,7	50,48
7	52,14	36,01	97,46	53,41
8	52,28	36,81	95,06	66,35
9	55,73	38,80		
10	58,18	48,23	95,53	66,55

Tabla 5.43 Porcentajes de detoxificación y eliminación de cromo mediante *Botryococcus*

[B], g/L	BBCL, % Detox	BBCL, % Elim	BBSL, % Detox	BBSL, % Elim
1	66,81	37,61	45,57	29,38
2	87,99	48,36	52,87	35,62
3	99,06	57,25	76,11	44,51
4	99,10	51,28	88,45	51,68
5	99,63	57,65	90,20	55,31
6	99,68	58,85	99,72	58,18
7	99,67	60,57	98,69	57,92
8	99,68	58,58	98,69	61,24
10	99,68	60,57	99,36	63,36

Al representar gráficamente estos resultados en las Figuras 5.88 a 5.91 se observa que para SOCL ambos porcentajes aumentan hasta una concentración del biosorbente de 2 g/L para a continuación descender. Sin embargo, para el resto de las biomasas los porcentajes aumentan según una curva de saturación alcanzándose en todos los casos porcentajes de detoxificación prácticamente del 100 % y de eliminación superiores al 60%.

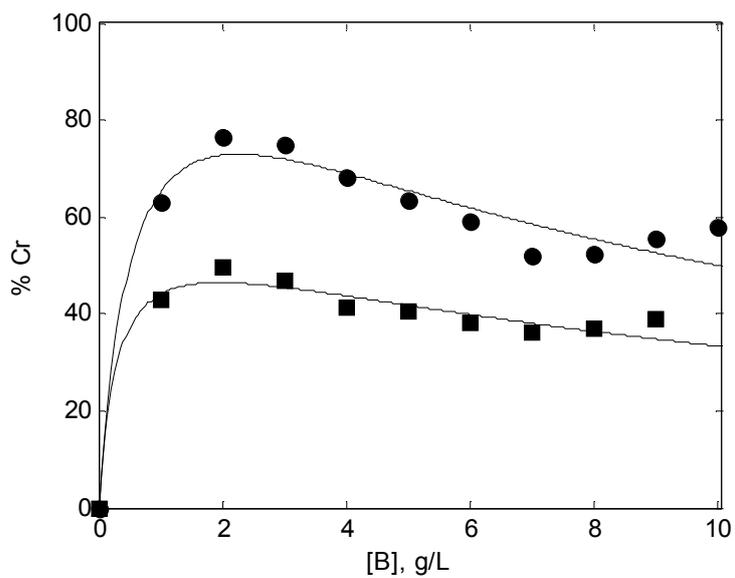


Figura 5.88 Porcentajes de detoxificación ● eliminación ■ por SOCL

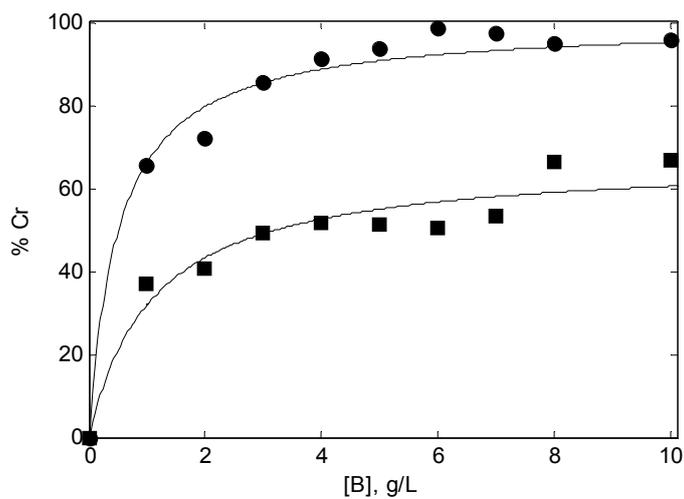


Figura 5.89 Porcentajes de detoxificación ● eliminación ■ por SOSL

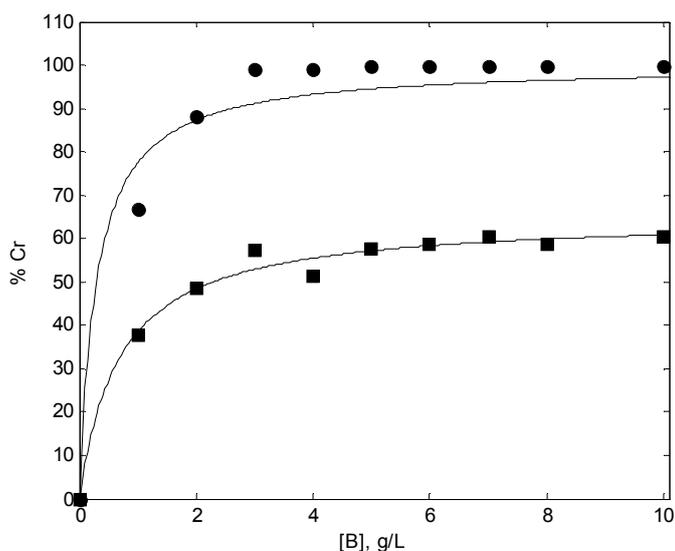


Figura 5.90 Porcentajes de detoxificación ● eliminación ■ por BBCL

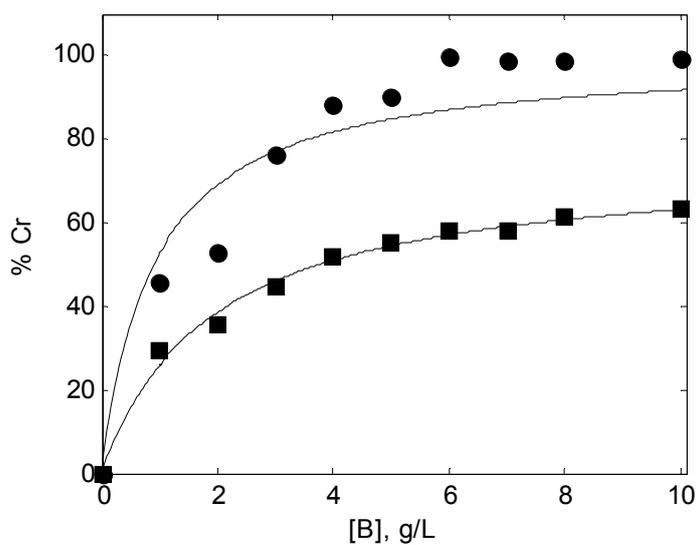


Figura 5.91 Porcentajes de detoxificación ● eliminación ■ por BBSL

El comportamiento distinto de SOCL es achacable a las modificaciones de pH observadas en el transcurso de la biosorción. En la Figura 5.92 se observa la variación lineal existente entre el pH final del experimento y la concentración de biomasa. Evidentemente en las dos biomosas de *Scenedesmus* con carácter básico va a haber una mayor retirada de protones del medio y mayor en SOCL que tiene una mayor concentración total de centros activos de esta naturaleza.

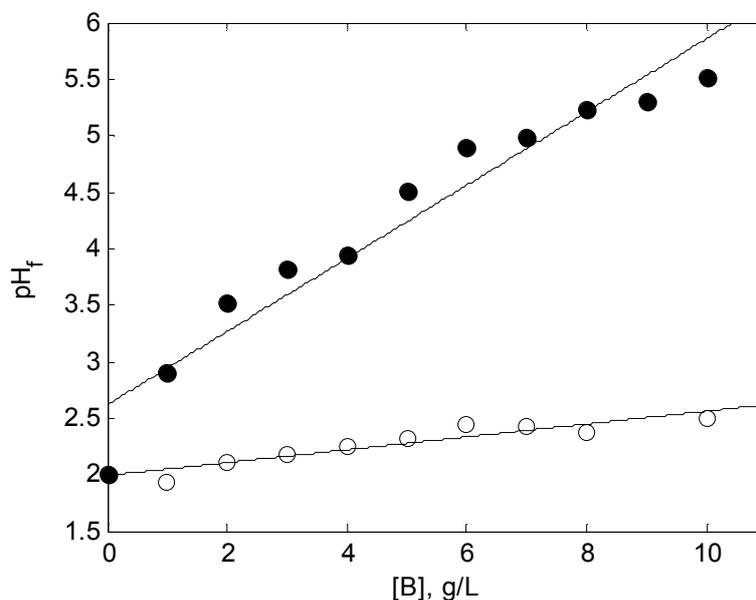


Figura 5.92 pH final frente a la concentración de biosorbente ● SOCL ○ SOSL

Para *Botryococcus* si bien hay en todos los casos un aumento del pH, el carácter ácido de la biomasa y el operar a pH 1 origina una modificación no significativa. La máxima variación ha sido de 0,33 unidades.

Dada la forma de las curvas de porcentajes de detoxificación y eliminación se han ajustado los resultados experimentales a un modelo de inhibición y saturación, similares a los utilizados en cinética enzimática, ecuaciones [5.91] y [5.92].

$$\% Cr = \frac{\% Cr_{max} \cdot [B]}{K_s + [B] + \frac{1}{K_i} [B]^2} \quad [5.91]$$

$$\% Cr = \frac{\% Cr_{max} \cdot [B]}{K_s + [B]} \quad [5.92]$$

Los parámetros del ajuste se recogen en la Tabla 5.44. La concentración de biomasa que determina la aparición del máximo puede determinarse a partir de:

$$[B]_{max} = \sqrt{K_s K_i} \quad [5.93]$$

Tabla 5.44 Parámetros de las ecuaciones [5.91] y [5.92]

Modelo	% Cr	Biomasa	Parámetros	
[5.91]	Detoxificación	SOCL	% $C_{r_{max}} = 100$ $K_s = 0,419$ g/L $K_i = 10,6$ g/L	$r^2 = 0,959$ SSE = 173 RMSE= 4,388
[5.91]	Eliminación	SOCL	% $C_{r_{max}} = 61$ $K_s = 0,306$ g/L $K_i = 12,5$ g/L	$r^2 = 0,973$ SSE = 45,7 RMSE= 2,555
[5.92]	Detoxificación	SOSL	% $C_{r_{max}} = 100$ $K_s = 0,511$ g/L	$r^2 = 0,983$ SSE = 136 RMSE= 3,828
[5.92]	Eliminación	SOSL	% $C_{r_{max}} = 67$ $K_s = 1,105$ g/L	$r^2 = 0,939$ SSE = 196 RMSE= 4,948
[5.92]	Detoxificación	BBCL	% $C_{r_{max}} = 100$ $K_s = 0,291$ g/L	$r^2 = 0,968$ SSE = 286 RMSE= 5,634
[5.92]	Eliminación	BBCL	% $C_{r_{max}} = 65$ $K_s = 0,688$ g/L	$r^2 = 0,987$ SSE = 42 RMSE= 2,280
[5.92]	Detoxificación	BBSL	% $C_{r_{max}} = 100$ $K_s = 0,892$ g/L	$r^2 = 0,919$ SSE = 786 RMSE= 9,343
[5.92]	Eliminación	BBSL	% $C_{r_{max}} = 75$ $K_s = 1,883$ g/L	$r^2 = 0,992$ SSE = 27 RMSE= 1,834

Las coordenadas del máximo a partir del modelo [5.91] son (2,11 , 71,6) y (1,96 , 46,5) para los porcentajes de detoxificación y eliminación respectivamente por SOCL y que coinciden aceptablemente con las observaciones experimentales.

En la Figura 5.93 se ha representado la capacidad de sorción en el equilibrio frente a las concentraciones de biomasa utilizadas. En todos los casos esta capacidad de sorción disminuye conforme la concentración de biomasa aumenta. Esta variación no es de extrañar ya que como se ha observado la cantidad de Cr que se adsorbe no depende linealmente de la dosis de sorbente sino que varía según una curva de inhibición o de saturación. Esto no significa una menor capacidad de adsorción por la biomasa sino una desproporción entre sorbente y sorbato. Observaciones similares hacen todos los investigadores que operan con diferentes concentraciones de sorbente. (Gokkale et al., 2008) para *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris* observan que la capacidad de sorción disminuye desde 129,55 a 41,47 mg/g y de 102,27 a 41,57 mg/g para ambas microalgas cuando la biomasa aumenta desde 0,2 a 2,4 g/L.

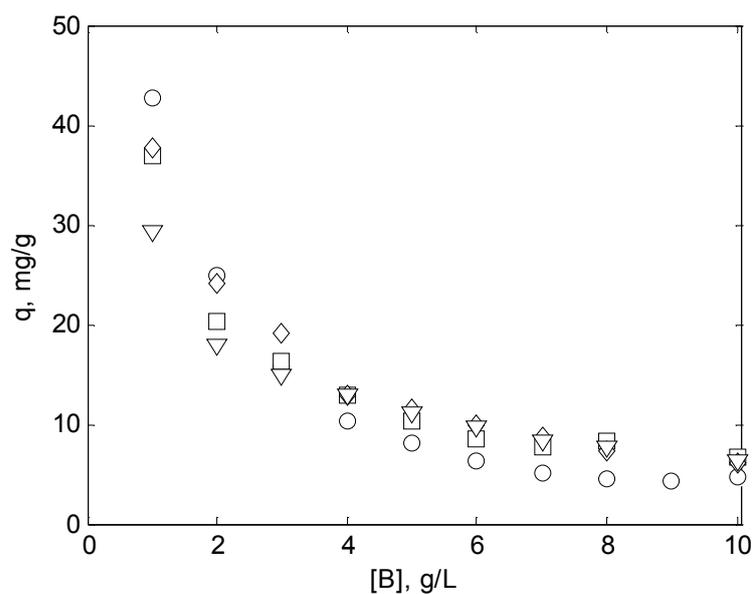


Figura 5.93 Variación de la capacidad de sorción con la concentración de biosorbente
 □ SOCL □ SOSL ◇ BBCL Δ BBSL

La comparación de las capacidades de sorción de las biomásas con y sin lípidos Figura 5.94 pone de manifiesto la influencia de la biomasa a través de la modificación del pH. Las mayores capacidades de adsorción de Cr se obtienen en las biomásas nativas, esta tendencia se invierte en SOCL a bajos valores de q debido a la existencia del máximo ya comentado. Para *Botryococcus* el que los valores de q se sitúen sobre la diagonal no significa que las biomásas nativa y extraída tengan la misma eficiencia sino que ya se ha conseguido la retirada al 100 % del Cr.

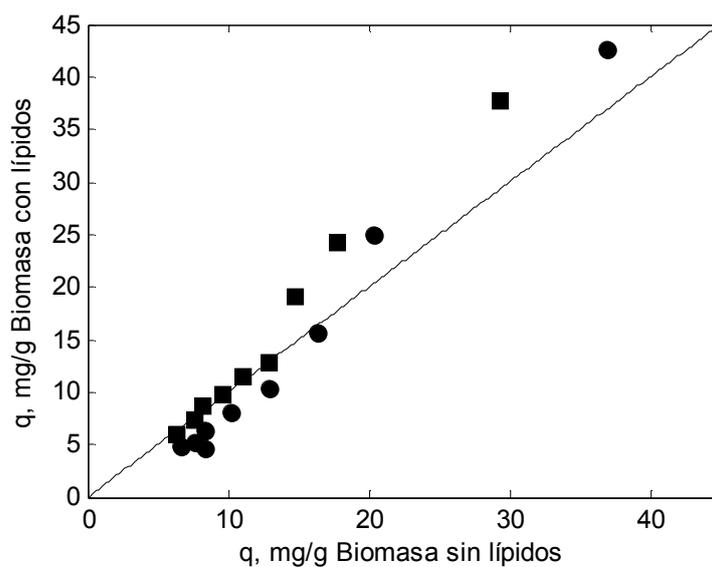


Figura 5.94 Comparación entre las capacidades de sorción con y sin lípidos *Scenedesmus* ●
Botryococcus ■

5.4.7 Influencia de la fuerza iónica

La presencia en el medio líquido de otras especies químicas, de tipo aniónico y catiónico afecta en mayor o menor extensión a la biosorción del metal pesado. Este efecto, puede ser debido a una competición por los centros activos, a una modificación de la actividad del metal o de los grupos funcionales del sorbente.

Para analizar este efecto se han realizado con las biomásas extraídas, los experimentos cuyos resultados se recogen en las Tablas 4.46 a 4.51. Se ha operado a 25 °C, con concentración inicial de Cr(VI) de 100 mg/L, biomasa a 1 g/L y en ausencia y presencia de NaNO₃ a concentraciones de 0,01 y 0,1 M.

Los datos experimentales, representados como variación de la capacidad de adsorción en el tiempo se recogen en la Figuras 5.95 y 5.96 para las tres concentraciones de nitrato sódico utilizadas. Y se han ajustado a los modelos cinéticos basados en la adsorción, de pseudo-primer, pseudo-segundo y pseudo-n orden. Los resultados del ajuste se recogen en las Tablas 5.45 a 5.47 siendo también, en este caso, el modelo de pseudo-n orden el que mejor reproduce los resultados.

Tabla 5.45 Modelo de pseudo-primer orden

SOSL			
Nitrato, M	0	0,01	0,1
q_e, mmol/g	0,695	0,721	0,393
k₁, h⁻¹	1,469	6,146	0,924
r₀, mmol/g h	1,020	4,431	0,363
SSE	0,079	0,015	0,043
r²	0,866	0,969	0,793
RMSE	0,078	0,044	0,063
BBSL			
Nitrato, M	0	0,01	0,1
q_e, mmol/g	0,447	0,340	0,312
k₁, h⁻¹	2,517	1,224	1,795
r₀, mmol/g h	1,125	0,416	0,560
SSE	0,026	0,035	0,019
r²	0,881	0,805	0,826
RMSE	0,045	0,052	0,044

Tabla 5.46 Modelo de pseudo-segundo orden

SOSL			
Nitrato, M	0	0,01	0,1
q_e, mmol/g	0,731	0,726	0,424
k₂, g/mmol h	3,320	19,360	3,098
r₀, mmol/g h	1,774	10,204	0,557
SSE	0,030	0,015	0,029
r²	0,948	0,969	0,860
RMSE	0,048	0,043	0,052
BBSL			
Nitrato, M	0	0,01	0,1
q_e, mmol/g	0,469	0,369	0,333
k₂, g/mmol h	9,055	4,184	8,973
r₀, mmol/g h	1,992	0,570	0,995
SSE	0,009	0,021	0,013
r²	0,956	0,897	0,885
RMSE	0,028	0,040	0,036

Tabla 5.47 Modelo de pseudo-n orden

SOSL			
Nitrato, M	0	0,01	0,1
q_e, mmol/g	0,730	0,730	0,420
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	5,139	27,170	6,470
n	2,401	2,284	2,455
r₀, mmol/g h	2,414	13,241	0,769
SSE	0,026	0,015	0,028
r²	0,956	0,970	0,867
RMSE	0,045	0,043	0,050
BBSL			
Nitrato, M	0	0,01	0,1
q_e, mmol/g	0,470	0,370	0,340
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	19,90	9,206	17,95
n	2,492	2,496	2,439
r₀, mmol/g h	3,032	0,770	1,292
SSE	0,008	0,018	0,012
r²	0,966	0,900	0,900
RMSE	0,024	0,038	0,035

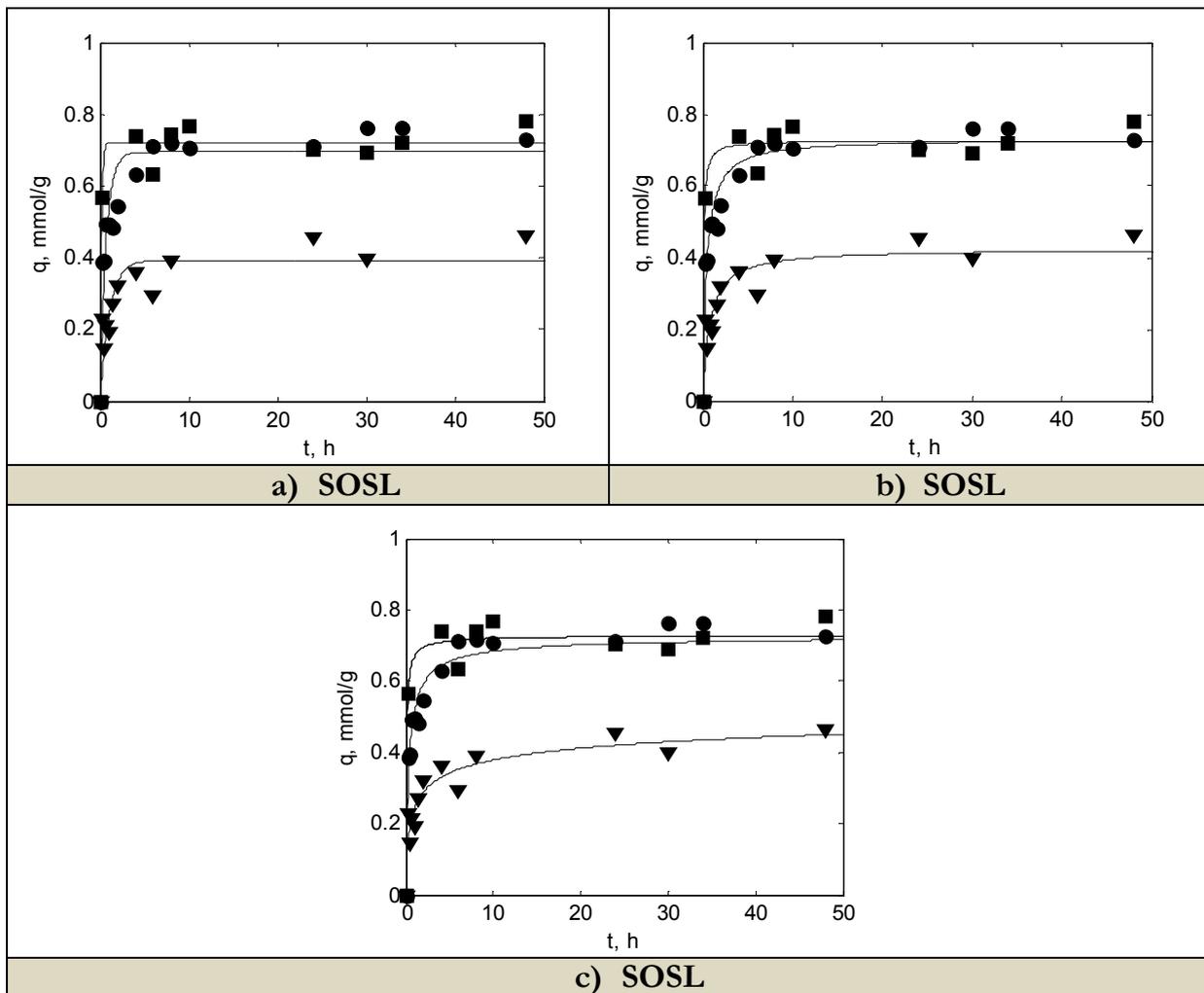


Figura 5.95 a) pseudo-primer orden b) pseudo-segundo orden c) pseudo-n orden ● 0 M
 ■ 0,01 M ▼ 0,1 M NaNO_3

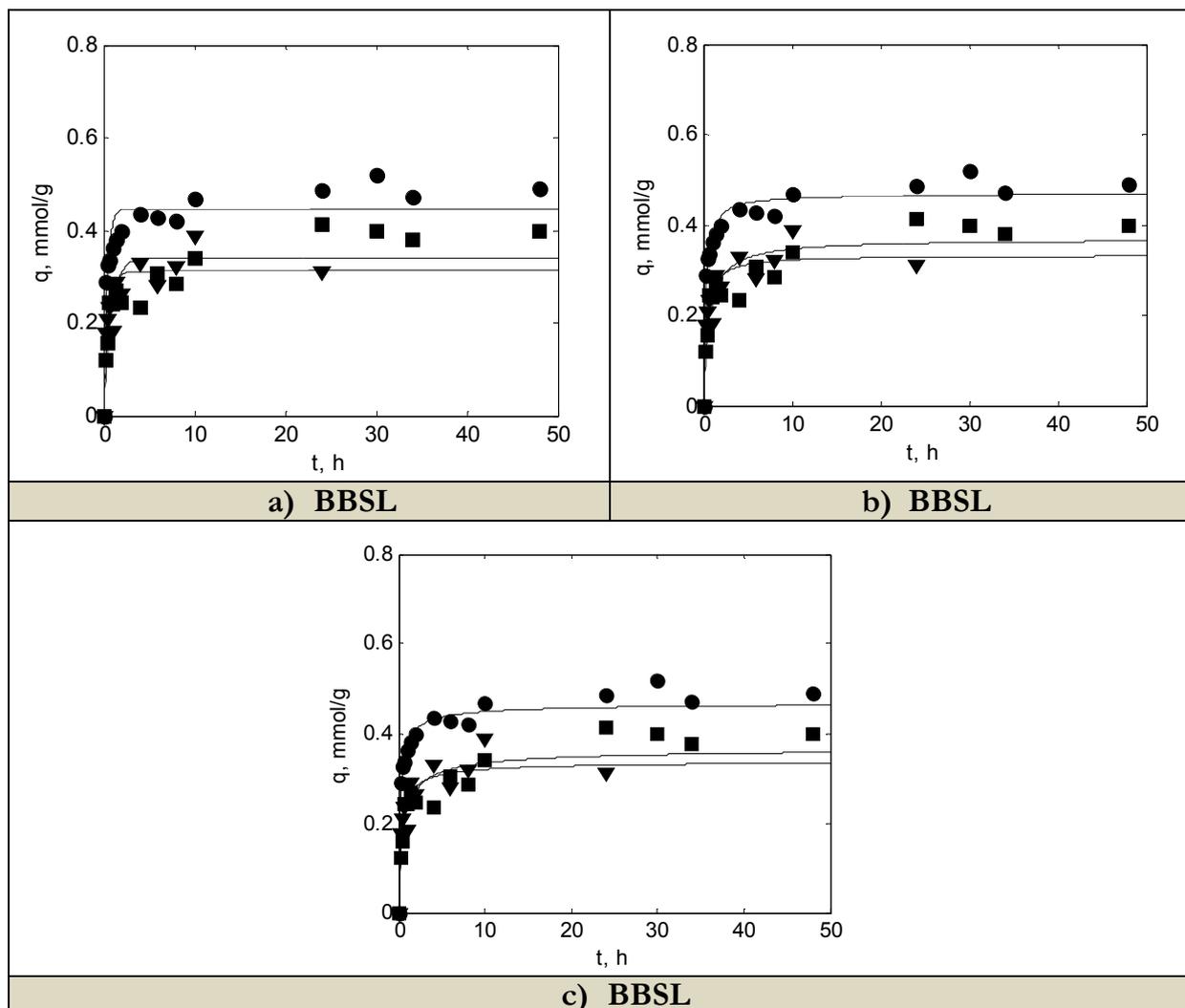


Figura 5.96 a) pseudo-primer orden b) pseudo-segundo orden c) pseudo-n orden ● 0 M
 ■ 0,01 M ▼ 0,1 M NaNO₃

La variación q-t en presencia de nitrato es de la misma forma que en ausencia, una zona inicial de adsorción rápida, una zona de disminución continuada de la velocidad de adsorción y finalmente el establecimiento del equilibrio.

La biosorción del Cr(VI) requiere la protonación del biosorbente para la posterior adsorción del metal sobre el sólido protonado. Simultáneamente ocurre la reducción del Cr(VI) a Cr(III). Las Figuras 5.95 y 5.96 ponen de manifiesto un comportamiento diferente de ambas biomasas. Se observa una influencia mínima en la capacidad de adsorción, al aumentar la concentración de nitrato de 0 a 0,01M, y una disminución considerable a 0,1 M, para SOSL. Para BBSL a 0,01 M la capacidad de adsorción de Cr se ve reducida considerablemente, no modificándose apenas al aumentar a 0,1 M.

El nitrato sódico puede afectar a la biosorción:

- Reduciendo la protonación de las biomazas por competición de los protones y el Na^+ (Borrok et al., 2005).
- Modificando la actividad del anión HCrO_4^- , especie mayoritaria a los pH de trabajo, por modificación de la fuerza iónica del medio.
- Compitiendo con el anión HCrO_4^- por los centros activos cargados positivamente a los pH de trabajo (Han et al., 2008).
- Afectando a la accesibilidad de los centros activos del biosorbente al modificar la conformación de los grupos funcionales (Park et al., 2005d).

Estos efectos pueden ser más o menos importantes, dependiendo del resto de las condiciones experimentales en la biosorción. La presencia de nitrato sódico en el medio no modifica la especiación del Cr, según se comprueba con el programa medusa, siendo a los pH de trabajo, la especie mayoritaria el anión monohidrógeno cromato. No ocurre así con otros iones como por ejemplo el SO_4^{2-} que forma el complejo $\text{CrO}_3\text{SO}_4^{2-}$ con dos cargas negativas, de más fácil interacción con la biomasa que HCrO_4^- (Han et al., 2008) .

La Figura 5.97 muestra la relación inversamente proporcional entre la capacidad de sorción para SOSL y la concentración de nitrato en la solución.

En el histograma de la Figura 5.98 se recogen los porcentajes finales de eliminación a las 48 h de proceso, utilizando los valores del modelo de pseudo-segundo orden. La concentración de los centros activos de SOSL (1,274 mmol/g) es tres veces mayor que la de BBSL (0,399 mmol/g). Este hecho justifica, que a una concentración baja de NaNO_3^- , 0,01 M, el efecto sobre la capacidad de adsorción para BBSL sea más importante que para SOSL.

En la Tabla 5.48 se compara, operando a concentración inicial de 100 mg/L, el efecto de la fuerza iónica sobre los porcentajes de eliminación de Cr(VI) para un hongo y la microalga *Dunaliella*, que se caracteriza por tolerar en su crecimiento medios hipersalinos. En todos los casos, el aumento de la fuerza iónica por aumento de la concentración salina, NaCl , origina una disminución de la retirada de Cr del medio.

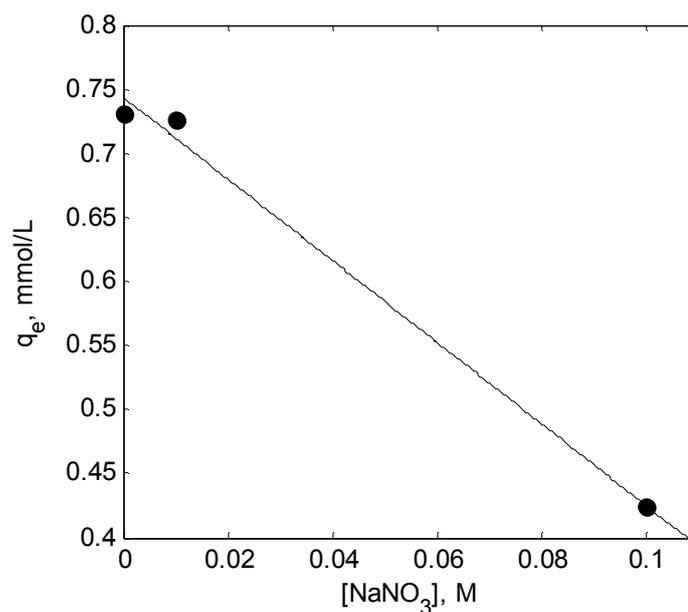


Figura 5.97 Influencia de la fuerza iónica en la capacidad de sorción SOSL●

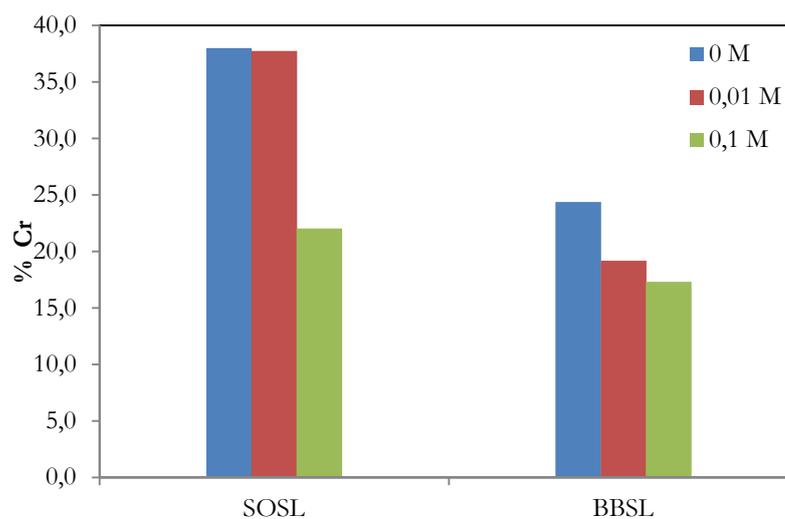


Figura 5.98 Influencia de la fuerza iónica en % eliminación de Cr

Tabla 5.48 % de eliminación de Cr(VI) en medios con diferentes fuerza iónica

Electrolito	% Cr adsorbido	Biosorbente	Referencia
0 M NaNO ₃ ⁻	38,0	SOSL	Este trabajo
0,01M NaNO ₃ ⁻	37,8		
0,1M NaNO ₃ ⁻	22,0		
0M NaNO ₃ ⁻	24,4	BBSL	
0,01M NaNO ₃ ⁻	19,2		
0,1M NaNO ₃ ⁻	17,3		

NaCl 0g/L	77,8		
NaCl 10g/L	74,9	<i>Rhizopus arrhizus</i>	(Aksu et al., 2007)
NaCl 20g/L	71,4		
NaCl 50g/L	63,2		
NaCL 0%	53,6		
NaCL 5%	32,8	<i>Dunaliella sp1</i>	(Donmez et al., 2006)
NaCL 15%	23,8		
NaCL 20%	18,4		
NaCL 0%	45,0		
NaCL 5%	19,9	<i>Dunaliella sp2</i>	
NaCL 15%	15,0		
NaCL 20%	11,2		

(Park et al., 2005d) observan una disminución de la constante de velocidad de la reacción de reducción por la presencia en el medio de diferentes sales sódicas tales como cloruro, nitrato, carbonato, sulfato, monohidrógeno fosfato todas a una concentración 0,1 M. Según estos autores la presencia de los aniones, inhibe competitivamente la formación del intermediario Cr(VI)-biomasa preciso en la reacción de reducción. La inhibición es proporcional a la fuerza electrostática del anión.

En este trabajo, los porcentajes de detoxificación y concentraciones finales de Cr(III) y Cr(VI) obtenidas a la concentración de nitrato de 0,1 M son de :

% detoxificación	26,7 para SOSL	30,5 para BBSL
[Cr(III)]	4,3 mg/L para SOSL	12,37 mg/L para BBSL
[Cr(VI)]	73,34 mg/L para SOSL	69,5 mg/L para BBSL

que ponen de manifiesto, que el aumento de la fuerza iónica no solo disminuye la adsorción, sino también la reducción del Cr(VI). La inhibición de la reducción es más marcada en SOSL biomasa que posee una menor capacidad de reducción de 1,28 mmol/g frente a 2,50 mmol/g para BBSL. Para SOSL la diferencia entre el porcentaje de detoxificación y de eliminación es de solo un 4,7 %, que corresponde al Cr que se reduce.

(Han et al., 2008) estudian el efecto de sales sódicas de SO_4^{2-} , Cl^- y NO_3^- sobre la biosorción de Cr(VI) por *Chlorella miniata* de 0 a 1 M. Aunque la fuerza iónica de la disolución conteniendo sulfato era tres veces la de cloruro o nitrato, la biosorción más rápida se dio en dicho medio y la menor en el conteniendo nitrato. Estos resultados indican que la influencia salina en el proceso se ejerce a través de las interferencias causadas por los aniones adicionados y no por la fuerza iónica de la disolución.

5.4.8 Influencia de la temperatura

Para analizar el efecto de la temperatura sobre el proceso de biosorción se han realizado experimentos a 25, 30 y 35°C. Se ha seleccionado este intervalo ya que éstas son temperaturas normalmente utilizadas en los reactores de cultivo y para el proceso de adsorción no implicarían un consumo energético elevado.

Los valores experimentales correspondientes a las 4 biomazas se recogen en las Tablas 4.26 a 4.29 y 4.52 a 4.63.

Los datos cinéticos se han ajustado a los modelos de adsorción utilizados en el apartado 5.4.5, los resultados se recogen en las Tablas 5.49 a 5.51 y se han representado en la Figuras 5.99 a 5.101. Al igual que en el apartado 5.4.5. el modelo que mejor reproduce los resultados experimentales es el de pseudo-n orden siendo los órdenes de reacción medios de:

$$2,48 - 2,40 - 2,27 - 2,63 \text{ para SOCL} - \text{SOSL} - \text{BBCL} - \text{BBSL}$$

si bien este modelo proporciona resultados más dispares para el valor de la constante cinética.

Las capacidades de adsorción, q_e aumentan al aumentar la temperatura de 25 a 30°C, el posterior incremento a 35°C hace disminuir este valor en todos los casos, si bien a 35°C son superiores a 25°C. En la Figura 5.102 se ha reproducido mediante el modelo de pseudo-n orden la variación de la concentración total de Cr en el tiempo, hasta un tiempo de proceso de 10 h. El modelo es adecuado a efectos de simulación, la velocidad inicial de adsorción aumenta con la temperatura, la cantidad total de Cr adsorbido en el equilibrio es mayor a 30°C.

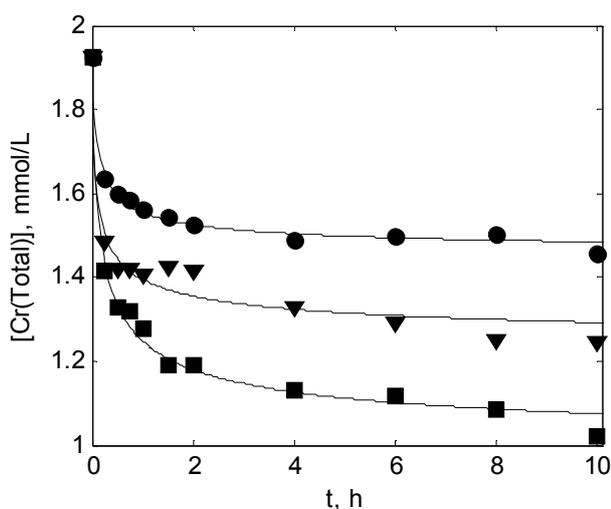


Figura 5.102 Variación del Cr en el tiempo BBSL ● 25°C ■ 30°C ▼ 35°C

Tabla 5.49 Modelo de pseudo-primer orden

SOCL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,661	0,860	0,693
k₁, h⁻¹	1,389	1,183	0,849
r₀, mmol/g h	0,918	1,017	0,588
SSE	0,231	0,208	0,055
r²	0,664	0,801	0,923
RMSE	0,134	0,127	0,065
SOSL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,695	0,753	0,738
k₁, h⁻¹	1,470	2,296	2,476
r₀, mmol/g h	1,022	1,729	1,827
SSE	0,079	0,109	0,104
r²	0,866	0,837	0,838
RMSE	0,078	0,092	0,089
BBCL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,588	0,775	0,722
k₁, h⁻¹	0,136	0,646	0,627
r₀, mmol/g h	0,080	0,501	0,453
SSE	0,054	0,140	0,075
r²	0,912	0,848	0,912
RMSE	0,064	0,104	0,076
BBSL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,447	0,902	0,661
k₁, h⁻¹	2,518	1,715	2,521
r₀, mmol/g h	1,126	1,547	1,666
SSE	0,026	0,172	0,145
r²	0,882	0,832	0,743
RMSE	0,045	0,115	0,106

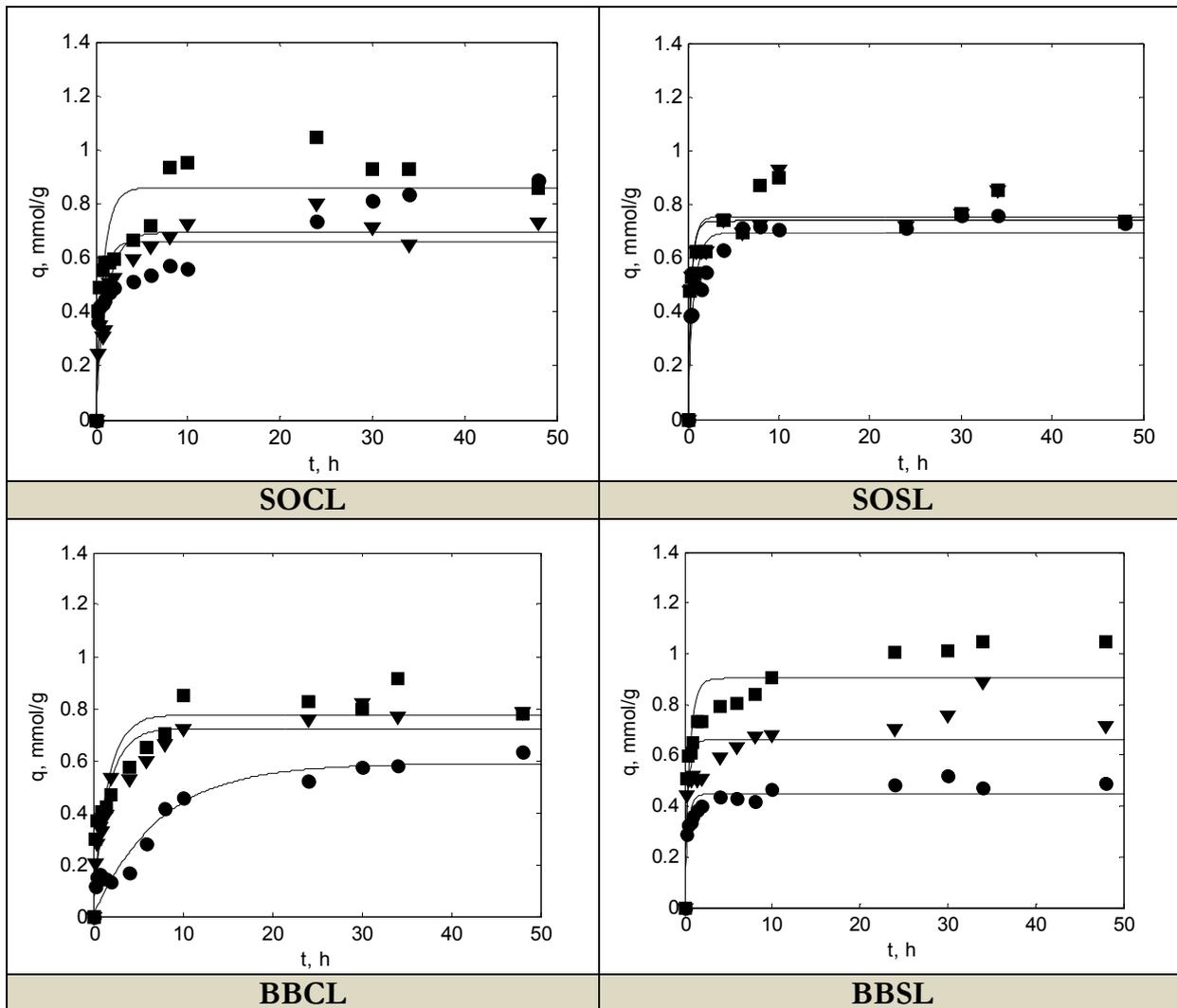


Figura 5.99 Ajuste al modelo de pseudo-primer orden ● 25°C ■ 30°C ▼ 35°C

Tabla 5.50 Modelo de pseudo-segundo orden

SOCL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,718	0,917	0,740
k₂, g/mmol h	2,493	1,922	1,691
r₀, mmol/g h	1,285	1,616	0,930
SSE	0,147	0,112	0,034
r²	0,786	0,893	0,953
RMSE	0,106	0,093	0,051
SOSL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,731	0,789	0,774
k₂, g/mmol h	3,320	5,080	5,543
r₀, mmol/g h	1,774	3,162	3,321
SSE	0,030	0,063	0,060
r²	0,948	0,906	0,906
RMSE	0,048	0,069	0,068
BBCL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,695	0,835	0,788
k₂, g/mmol h	0,220	1,129	1,053
r₀, mmol/g h	0,110	0,787	0,654
SSE	0,047	0,075	0,028
r²	0,923	0,920	0,967
RMSE	0,060	0,076	0,047
BBSL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,469	0,957	0,707
k₂, g/mmol h	9,055	2,756	5,037
r₀, mmol/g h	1,992	2,524	2,520
SSE	0,009	0,076	0,082
r²	0,956	0,925	0,854
RMSE	0,028	0,077	0,080

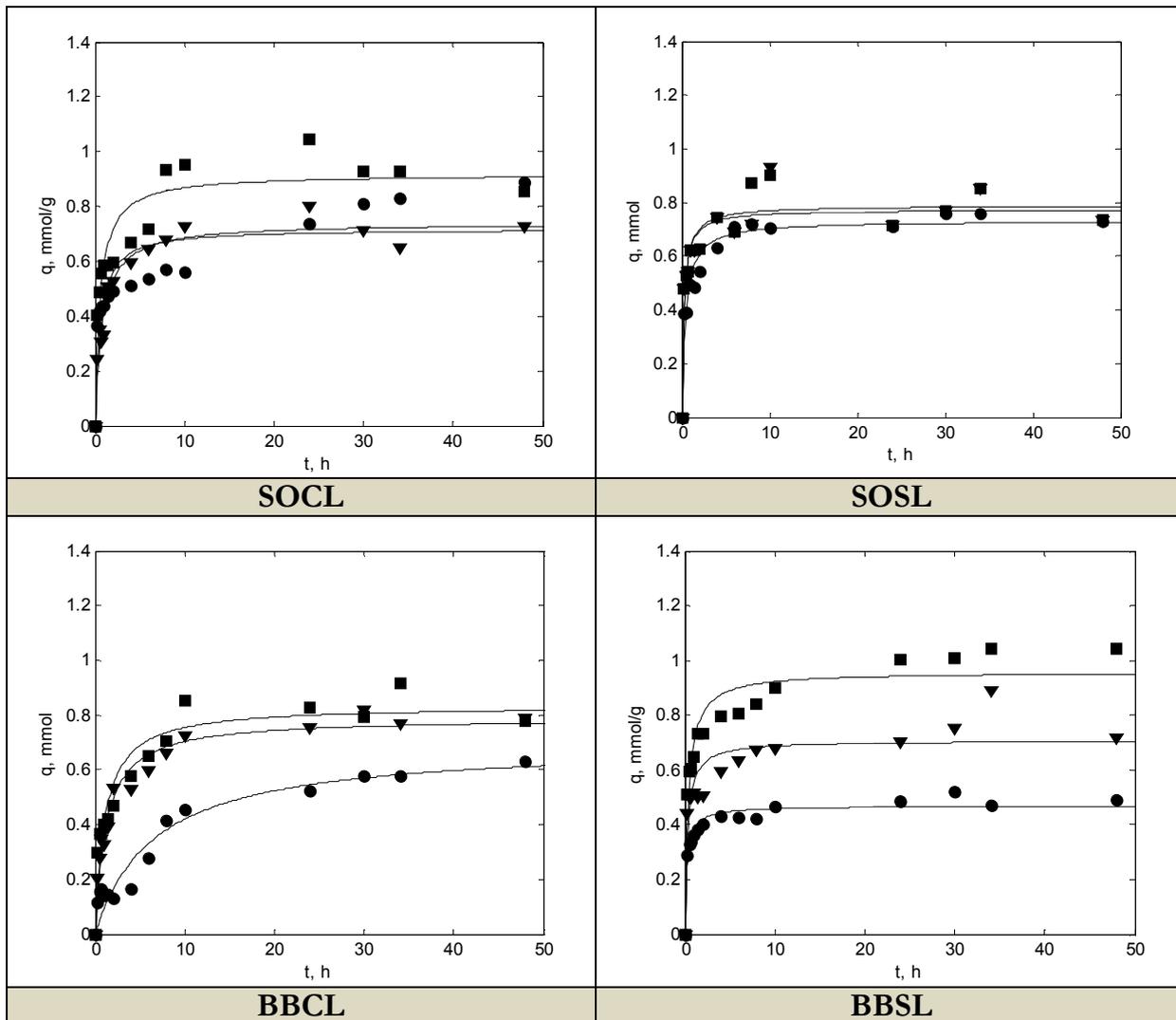


Figura 5.100 Ajuste al modelo de pseudo-segundo orden ● 25°C ■ 30°C ▼ 35°C

Tabla 5.51 Modelo de pseudo-n orden

SOCL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,720	0,920	0,740
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	6,163	2,769	1,812
n	2,874	2,486	2,076
ro, mmol/g h	2,400	2,251	0,970
SSE	0,123	0,100	0,034
r²	0,821	0,904	0,953
RMSE	0,097	0,088	0,051
SOSL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,730	0,790	0,780
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	5,139	7,266	8,669
n	2,401	2,338	2,447
ro, mmol/g h	2,414	4,187	4,720
SSE	0,026	0,060	0,056
r²	0,956	0,910	0,913
RMSE	0,045	0,068	0,066
BBCL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,700	0,840	0,790
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	0,239	1,539	1,289
n	2,129	2,421	2,260
ro, mmol/g h	0,112	1,009	0,756
SSE	0,047	0,068	0,026
r²	0,923	0,926	0,970
RMSE	0,063	0,073	0,045
BBSL			
T, °C	25	30	35
q_e, mmol/g	0,470	0,960	0,710
k_n, mmol¹⁻ⁿ gⁿ⁻¹ h⁻¹	19,920	4,420	12,370
n	2,492	2,610	2,781
ro, mmol/g h	3,035	3,973	4,772
SSE	0,008	0,059	0,068
r²	0,966	0,942	0,880
RMSE	0,024	0,067	0,072

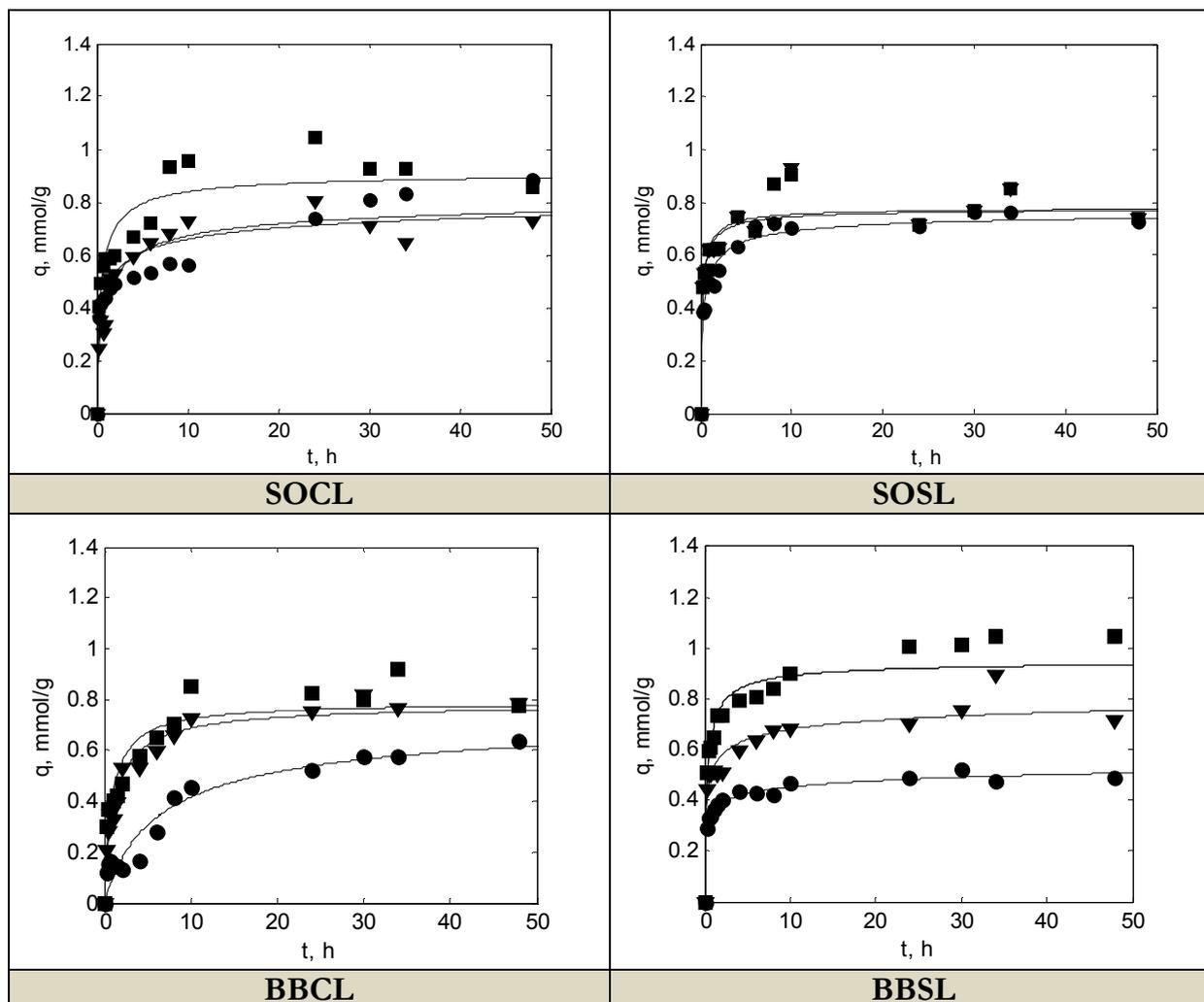


Figura 5.101 Ajuste al modelo de pseudo-n orden ● 25°C ■ 30°C ▼ 35°C

Utilizando el modelo de pseudo-segundo orden y tomando como temperatura base 25 °C, los porcentajes de aumento de la capacidad de adsorción por unidad de la magnitud considerada se recogen en la Tabla 5.52

Tabla 5.52 Porcentajes de aumento de la capacidad de sorción respecto a 25°C

Biosorbente	25 a 30°C	25 a 35°C
	%/°C	%/°C
SOCL	25,54	10,3
SOSL	21,58	10,5
BBCL	24,02	11,34
BBSL	40,81	15,07

Todas las biomazas se comportan en forma similar, siendo BBSL la que experimenta modificaciones mayores al variar la temperatura, en el rango considerado.

En el intervalo 25-30°C puede originarse un aumento en la adsorción como consecuencia de favorecerse las reacciones de protonación de los biosorbentes, mientras que a temperaturas superiores la mayor movilidad térmica de las moléculas origina un debilitamiento de las fuerzas de enlace entre los iones cromato y las biomásas. Por otra parte a 35°C, se favorecen reacciones de hidrólisis que implican una mayor solubilización de componentes de la biomasa y por tanto una pérdida de sorbente. Para ambas microalgas, 30°C es la temperatura óptima de crecimiento, la disminución observada a 35°C en la velocidad específica de crecimiento se interpreta como consecuencia de la desnaturalización térmica de compuestos esenciales de las mismas. (El Yousfi, 1995) (Órpez, 2012).

(Bajpai et al., 2004) observan un comportamiento similar en la adsorción de Cr(VI) sobre esferas binarias de alginato-gelatina. La adsorción aumenta en el intervalo de 10 a 35°C, evidenciándose una disminución al aumentar la temperatura a 40°C. (Shen et al., 2008) en el intervalo de 15 a 50°C detectan una influencia muy débil de la temperatura en la biosorción de Pb(II) y Cr(VI) por *Synechococcus*, encontrando que 30°C es la temperatura óptima en ambos casos. Para otros iones metálicos tales como Cu(II), Ni(II) y Zn(II) (Bayramoglu et al., 2009) no detectan influencia de la temperatura al variarla desde 5 a 40°C.

Por lo general, hay discrepancias en relación al efecto de la temperatura sobre el proceso de biosorción. (Gasser et al., 2007) determinan una influencia poco significativa encontrando que 25 °C es la temperatura más adecuada para la adsorción de Cr(VI) en el intervalo 10-50°C sobre adsorbentes de tipo sintético. Desde 15 a 60°C utilizando 50 mg/L de *Thuja orientalis*, la capacidad de sorción al alcanzar el equilibrio varió de 16 a 16,66 mg/g (Oguz., 2005). Por otra parte (Lazaridis et al., 2005) observan un aumento continuado de qe con la temperatura que explican considerando que la adsorción es un proceso endotérmico, que los centros activos aumentan al aumentar T y que un efecto de hinchamiento facilita la entrada de Cr(VI) en el compuesto alginato-goetita que utilizan como biosorbente. (Yavuz et al., 2011) en la adsorción de Cr(VI) sobre quitosano modificado determinan que 50°C es la temperatura óptima desde el punto de vista de la velocidad del proceso.

(Venugopal et al., 2011) en la adsorción de Cr(VI) sobre la macroalga *Parthenium hysterophorus* observan un efecto negativo del aumento de la temperatura desde 20 a 60°C, lo que explican por la naturaleza exotérmica del proceso y sugieren débiles interacciones entre la superficie de la biomasa y el ión metálico por lo que la adsorción puede ser de tipo físico. La entalpía de adsorción calculada de $(-\Delta H) = 7,83$ kJ/mol confirma ambas afirmaciones ya que se considera que si la entalpía de adsorción está en el intervalo de 2,1 a 20,9 kJ/mol el proceso es de tipo físico. (Khambaty et al., 2009) por el contrario obtienen un aumento en la adsorción de Cr(VI) a temperaturas de 22, 37 y 50°C por

Aspergillus niger, los cálculos termodinámicos de estos autores concluyen que el proceso es endotérmico y espontáneo.

En la Tabla 5.53 se recogen los valores de q_e experimentales, los observados a 0,25 h de proceso, así como los porcentajes que éstos representan respecto al total en el equilibrio.

Tabla 5.53 Capacidades de adsorción

q_e, mmol/g experimentales			
T, °C	25	30	35
SOCL	0,887	0,904	0,728
SOSL	0,727	0,785	0,785
BBCL	0,632	0,830	0,791
BBSL	0,491	1,03	0,786
q, mmol/g a 0,25 h			
T, °C	25	30	35
SOCL	0,363	0,402	0,243
SOSL	0,385	0,478	0,478
BBCL	0,118	0,299	0,205
BBSL	0,288	0,509	0,440
% de adsorción inicial			
T, °C	25	30	35
SOCL	40,92	44,46	33,38
SOSL	52,96	60,90	60,90
BBCL	18,67	36,02	25,92
BBSL	58,66	49,42	55,98

Tanto las cantidades adsorbidas por unidad de sorbente, al inicio del proceso, como los porcentajes de adsorción inicial son mayores para las biomazas sin lípidos, consecuencia de una mayor velocidad inicial de adsorción r_0 , como se recoge en el ajuste a los tres modelos cinéticos considerados.

La eliminación de los lípidos de la biomasa, en gran parte compuestos no polares hidrófobos, mayoritariamente en *Botryococcus*, facilita la adsorción inicial, fundamentalmente de tipo superficial. Este efecto, se ha resaltado como consecuencia del aumento de la temperatura ya que en el estudio cinético apenas se observó. Mejoras en la adsorción también observan (Gokhale et al., 2008) cuando modifican la biomasa de la cianobacteria *Spirulina platensis* extrayendo los pigmentos con acetona, lo que consideran es una opción interesante en beneficio de la economía del proceso de biosorción de Cr(VI).

En la Tabla 5.54 se recogen los resultados del modelo de difusión intrapartícula y en las Figuras 5.103 y 5.104 se ha representado el gráfico de Weber para dos de las biomazas utilizadas SOCL y BBSL. Se detecta a todas las temperaturas la multilinealidad ya observada.

Las constantes cinéticas de difusión aumentan al incrementar la temperatura de 25°C a 30°C, a 35°C disminuyen. Salvo para SOCL, los valores de k_{d1} son mayores a 35°C que a 25°C. Estas constantes son mayores en las biomazas sin lípidos. Este efecto es poco acusado en *Scenedesmus* pero muy marcado para *Botryococcus*, siendo a 30°C dicha constante de 0,6516 mmol/g h^{0,5} para la biomasa sin lípidos. Figura 5.105.

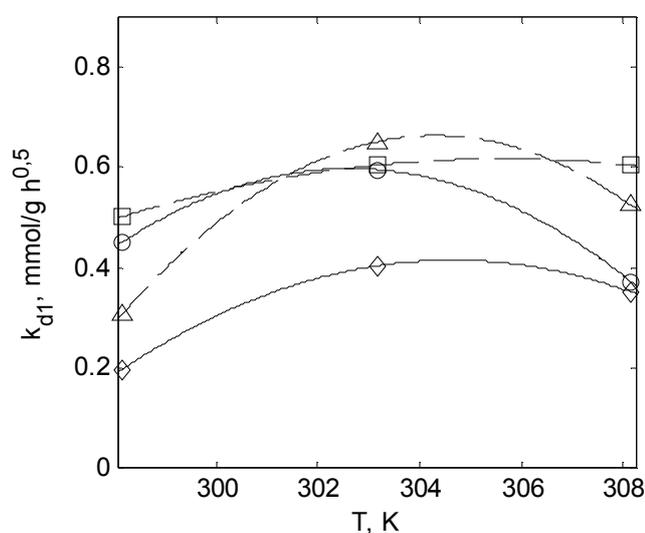


Figura 5.105 Variación con la temperatura de las constantes de difusión intrapartícula \square SOCL \circ SOSL \diamond BBCL Δ BBSL

Tabla 5.54 Parámetros del modelo de difusión intrapartícula

SOCL			
T, °C	25	30	35
k_{d1} , mmol/g h ^{0,5}	0,4503	0,5960	0,3720
k_{d2} , mmol/g h ^{0,5}	0,0771	0,1304	0,0828
C_1 , mmol/g	0,0536	0,0398	0,0235
C_2 , mmol/g	0,3606	0,4328	0,4270
r_1	0,976	0,960	0,912
r_2	0,999	0,960	0,949
SSE ₁	0,0161	0,0073	0,0118
SSE ₂	0,0038	0,0081	0,0034

SOSL			
T, °C	25	30	35
k_{d1} , mmol/g h ^{0,5}	0,5017	0,6050	0,6050
k_{d2} , mmol/g h ^{0,5}	0,0560	0,0461	0,1109
C_1 , mmol/g	0,0447	0,0623	0,0623
C_2 , mmol/g	0,4875	0,6147	0,6090
r_1	0,984	0,909	0,909
r_2	0,993	0,860	0,707
SSE_1	0,0130	0,0185	0,0185
SSE_2	0,0272	0,0611	0,1292
BBCL			
T, °C	25	30	35
k_{d1} , mmol/g h ^{0,5}	0,1958	0,4029	0,3508
k_{d2} , mmol/g h ^{0,5}	0,1040	0,1246	0,1610
C_1 , mmol/g	0,0068	0,0389	0,0153
C_2 , mmol/g	0,0365	0,0389	0,0153
r_1	0,993	0,918	0,953
r_2	0,976	0,975	0,808
SSE_1	0,0005	0,0074	0,0028
SSE_2	0,0277	0,0366	0,0791
BBSL			
T, °C	25	30	35
k_{d1} , mmol/g h ^{0,5}	0,3056	0,6516	0,5251
k_{d2} , mmol/g h ^{0,5}	0,0298	0,0845	0,0921
C_1 , mmol/g	0,0632	0,0709	0,0690
C_2 , mmol/g	0,3512	0,6065	0,4606
r_1	0,975	0,902	0,746
r_2	0,844	0,924	0,811
SSE_1	0,0462	0,0233	0,0220
SSE_2	0,0012	0,0040	0,0272

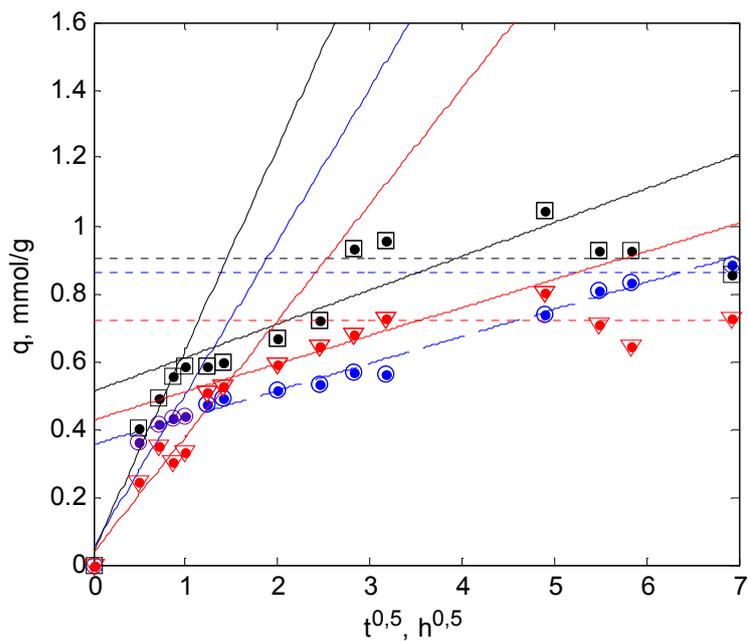


Figura 5.103 Gráfico de Weber para SOCL a una concentración inicial de Cr de 100 mg/L y temperaturas de ● 25 ■ 30 ▼ 35

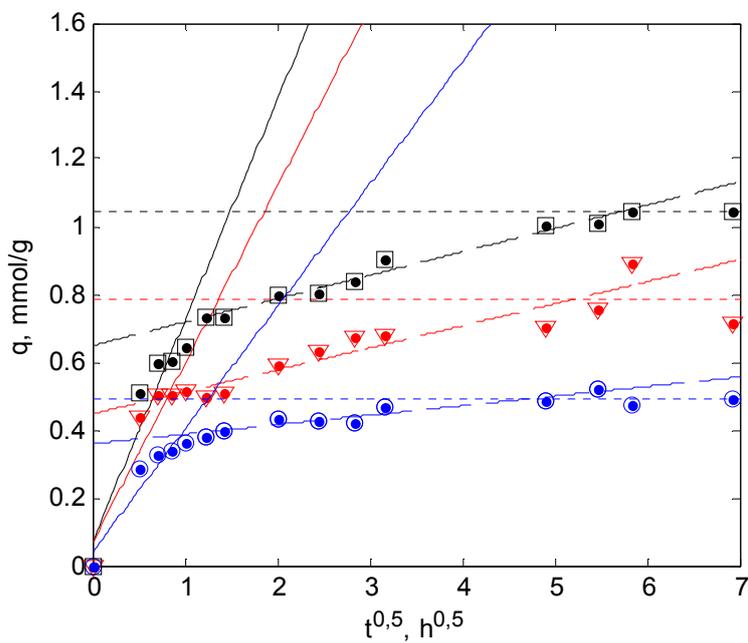


Figura 5.104 Gráfico de Weber para BBSL a una concentración inicial de Cr de 100 mg/L y temperaturas de ● 25 ■ 30 ▼ 35

Las ordenadas en el origen C_1 correspondientes a la primera zona de difusión interna, son superiores a las obtenidas en el apartado de estudio cinético, apartado 5.4.5.3. El utilizar una concentración inicial de Cr de 100 mg/L y aumentar la temperatura determina que si bien la difusión intrapartícula es una etapa importante no es la limitante del proceso global.

En general el incremento de temperatura determina un aumento en C_1 , alejando a la etapa de difusión interna del control del proceso. Las constantes de difusión para la segunda zona lineal son menores que para la primera, y también aumentan al aumentar la temperatura.

Las condiciones finales recogidas en la Tabla 5.55 ponen de manifiesto que no hay una tendencia definida de variación con la temperatura, por lo que esta variable no es esencial en el proceso de biosorción.

Tablas 5.55 Condiciones finales a 48 h de biosorción

SOCL				
T, °C	[Cr(VI)] _f , mg/L	[Cr(III)] _f , mg/L	% eliminación	% detoxificación
25	34,91	18,94	46,15	65,09
30	38,36	17,12	44,51	61,64
35	42,61	19,51	37,87	57,39
SOSL				
T, °C	[Cr(VI)] _f , mg/L	[Cr(III)] _f , mg/L	% eliminación	% detoxificación
25	46,40	15,80	37,81	53,60
30	42,75	18,98	38,27	57,25
35	50,71	11,02	38,27	49,29
BBCL				
T, °C	[Cr(VI)] _f , mg/L	[Cr(III)] _f , mg/L	% eliminación	% detoxificación
25	42,94	24,15	32,91	57,06
30	33,32	26,15	40,53	66,68
35	33,32	25,75	40,93	66,68
BBSL				
T, °C	[Cr(VI)] _f , mg/L	[Cr(III)] _f , mg/L	% eliminación	% detoxificación
25	56,70	17,80	25,51	43,30
30	38,36	7,30	54,33	61,64
35	40,36	22,43	37,21	59,64

5.5 BIOMASA ENCAPSULADA

Para dar mayor resistencia mecánica a los biosorbentes se han realizado unos experimentos con la biomasa, BBSL, encapsulada en esferas de polisulfona, esta encapsulación también aumenta la densidad, la resistencia química a un ambiente adverso, facilita la separación sólido-líquido, permite la reutilización y se reduce una solubilización excesiva de componentes presentes en la biomasa. Los resultados de los experimentos se recogen en las Tablas 4.60 a 4.63.

En estos experimentos, se ha estudiado el equilibrio de adsorción, utilizando esferas de 3 mm de diámetro, la cinética de la adsorción con esferas de 3, 4 y 6 mm de diámetro y el estudio con los tres tamaños de esferas de tres ciclos repetidos adsorción-desorción.

5.5.1 Experimentos de biosorción

En la Figura 5.106 se han representado los valores de equilibrio para el Cr total. La isoterma es del mismo tipo que la obtenida para la biomasa libre. En la tabla 5.56 se indican los parámetros de la misma y los resultados del ajuste a la ecuación de BET.

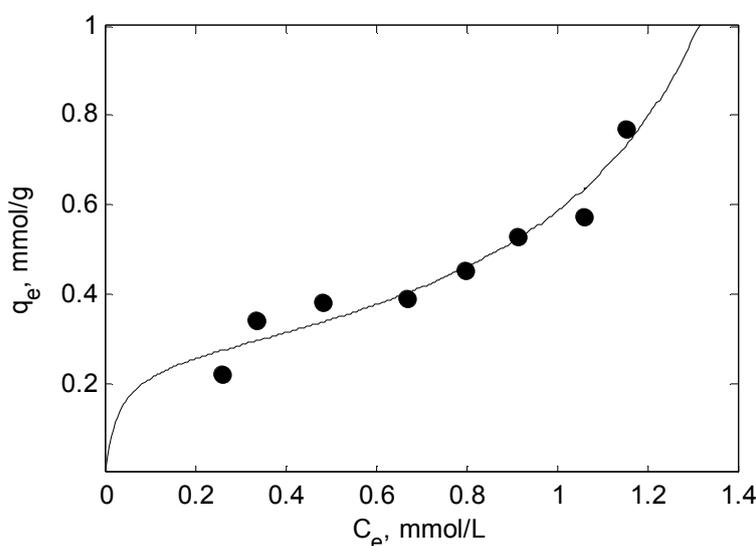


Figura 5.106 Isoterma de adsorción para BBSL encapsulado d_p 3mm

Tabla 5.56 Parámetros de las isotermas BET

	BBSL encapsulada	BBSL libre
q_m , mmol/g	0,2571	0,1999
C_s , mmol/L	1,767	2,141
K_B	56,41	59,98
r^2	0,940	0,997
SSE	0,0488	0,0041

La encapsulación aumenta la capacidad de retención de Cr por la biomasa, frente a la biomasa libre.

En todos los casos, la retención de Cr por la matriz de polisulfona, Tabla 4.70 ha sido muy pequeña. A 168 h de contacto y por las esferas de 3 mm el valor de Cr adsorbido es de 6,32 mg/g de polisulfona.

Teniendo en cuenta que todos los valores de q en la Memoria están expresados por g de biomasa y que la relación utilizada polisulfona/biomasa es de 3,33 g /1 g, el valor de 6,32 mg equivaldría a una adsorción por g de biomasa de 1,9 mg, valor insignificante en relación a los valores de q observados cuando se opera con la biomasa encapsulada.

Por tanto este aumento no es porque se sume a la biomasa, la polisulfona, sino por la desestructuración del aglomerado, que implica el método de encapsulación. Lo que origina que la biomasa en el interior de la cápsula esté más expuesta a un contacto directo con el Cr, facilitando la adsorción y la reducción.

(Horvatova et al., 2009) observan una mayor capacidad de sorción de Cu^{2+} y Zn^{2+} por *Chlorella kessleri* inmovilizada en esferas de alginato cálcico, en comparación a la biomasa libre.

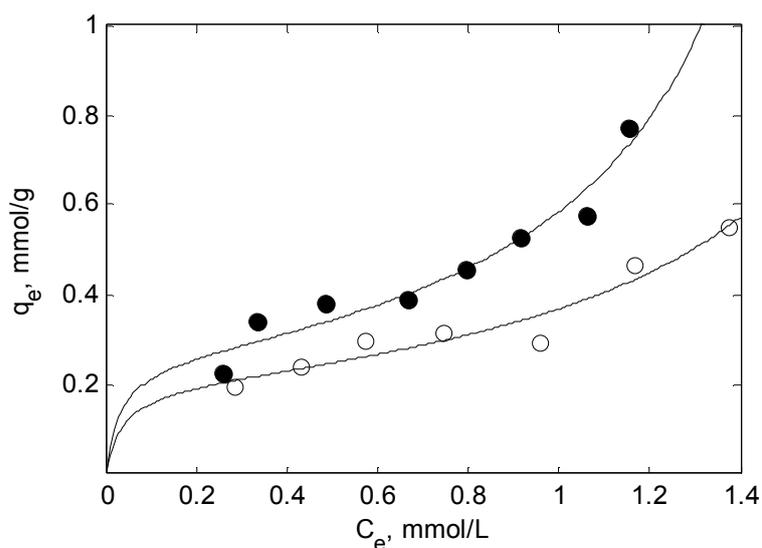


Figura 5.107 Isotermas BET para BBSL ● encapsulada d_p 3mm ○ libre

La concentración de Cr en el equilibrio es una función lineal de la concentración inicial de Cr, Figura 5.108, al igual que en la biomasa libre.

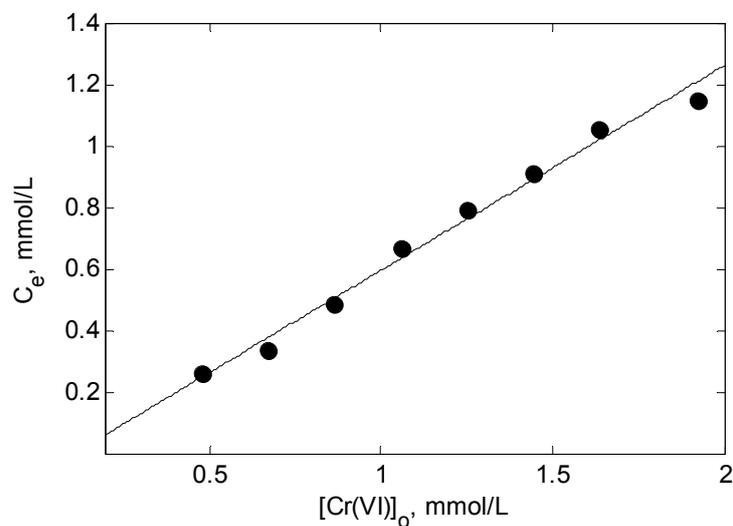


Figura 5.108 Relación lineal Cromo total en el equilibrio-Cromo inicial ● BBSL encapsulado d_p 3mm

La adsorción es un proceso más lento con la biomasa inmovilizada, como se observa en la Figura 5.109 en la que se comparan la retención de Cr en mmol/g en 48 h de adsorción, frente a la originada por la biomasa libre. La lentitud del proceso con la

biomasa inmovilizada determina que en los experimentos cinéticos, a 48 h no se alcance el equilibrio. En los experimentos de equilibrio anteriores, hubo que aumentar el tiempo de contacto hasta 168 h.

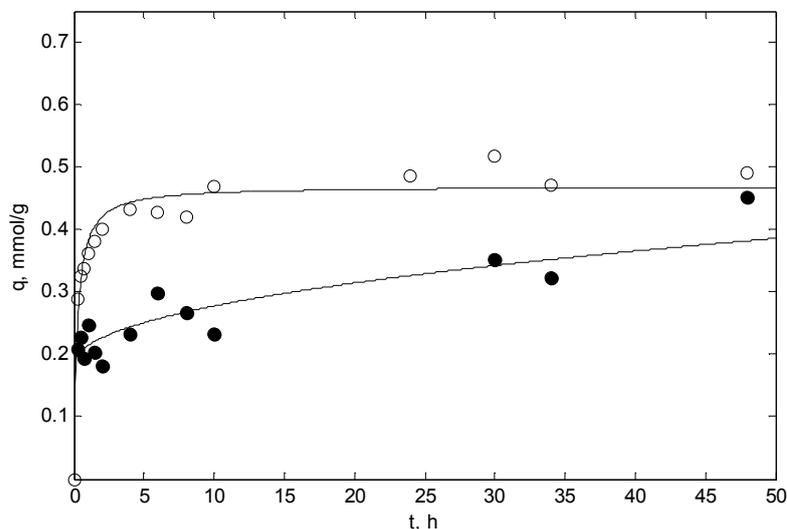


Figura 5.109 Adsorción de Cr a 100 mg/L de concentración inicial y 1 g/L de biomasa □ biomasa libre ● biomasa encapsulada d_p 3mm

En la Figura 5.110 se comparan la variación en el tiempo de las concentraciones de Cr(Total), Cr(III) , Cr(VI) así como el Cr retenido por la biomasa. Las velocidades iniciales de cambio de todas las magnitudes consideradas son menores para la biomasa inmovilizada.

Para el Cr(III) que en los experimentos con biomasa libre se detecta en el medio desde el inicio, con la biomasa inmovilizada hay un periodo lag de aproximadamente 10 h de duración. Este retraso es lógico, con la biomasa en el interior de las esferas, pero no permite discriminar si el Cr(III) procede de la reducción directa o indirecta.

Las curvas $q-t$ y Cr(Total)- t en las Figuras 5.111 y 5.112 para los tres tamaños de cápsulas pone de manifiesto que el proceso es más rápido y la retención de Cr es mayor para las de menor tamaño, 3 mm, seguidas de las de 4 mm y 6 mm, debido posiblemente al incremento que experimenta la superficie específica de los biosorbentes. (Lazaridis et al., 2005) observan una situación similar en la biosorción de Cr(VI) mediante esferas alginato-goetita.

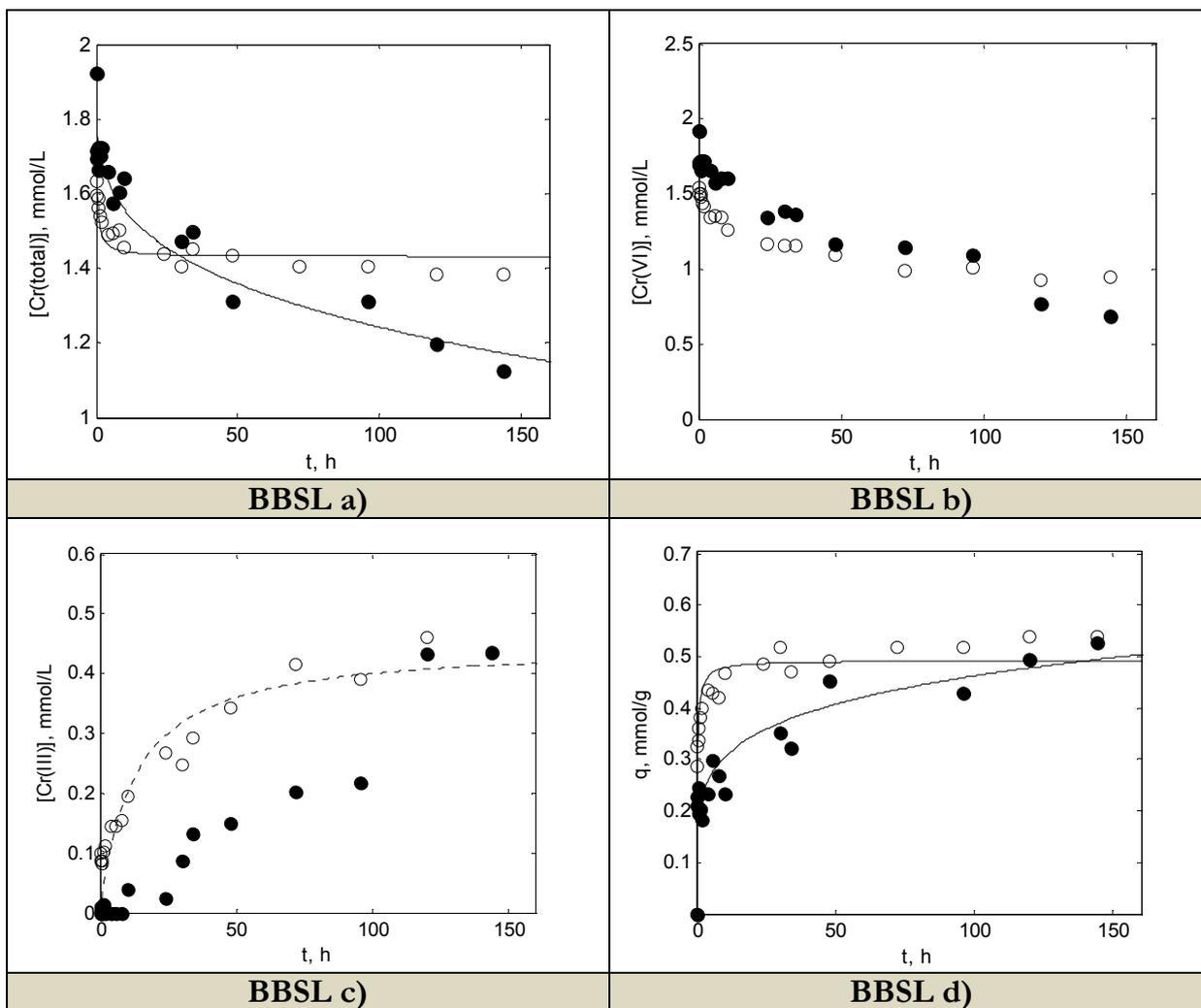


Figura 5.110 Variación en el tiempo a) Cr(Total) b) Cr(VI) c)Cr(III) d) q para una concentración inicial de Cr de 100 mg/L y 1 g/L de biomasa ○ biomasa libre ● biomasa encapsulada d_p 3mm

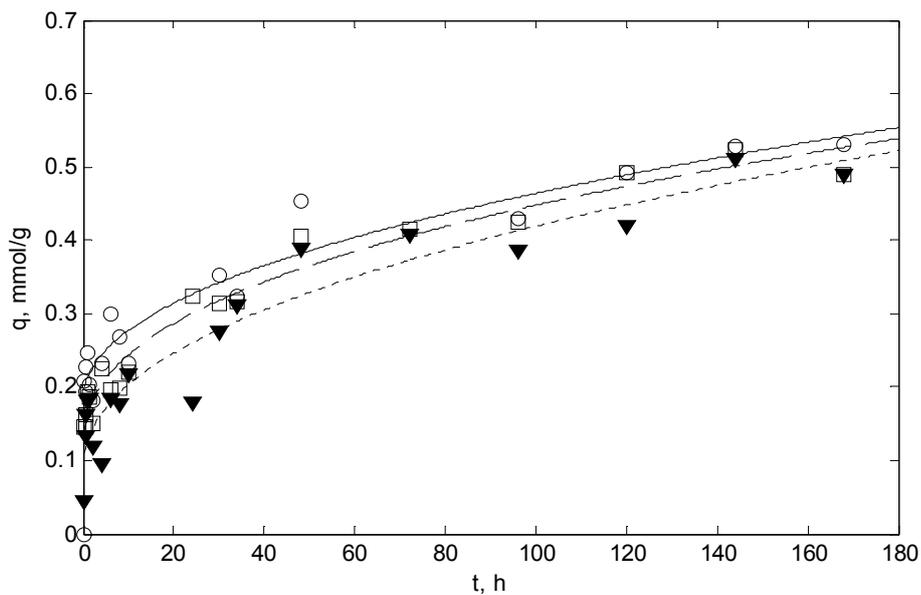


Figura 5.111 Adsorción de Cr a 100 mg/L de concentración inicial y 1 g/L de biomasa encapsulada en esferas, \circ 3mm \square 4 mm \blacktriangledown 6 mm

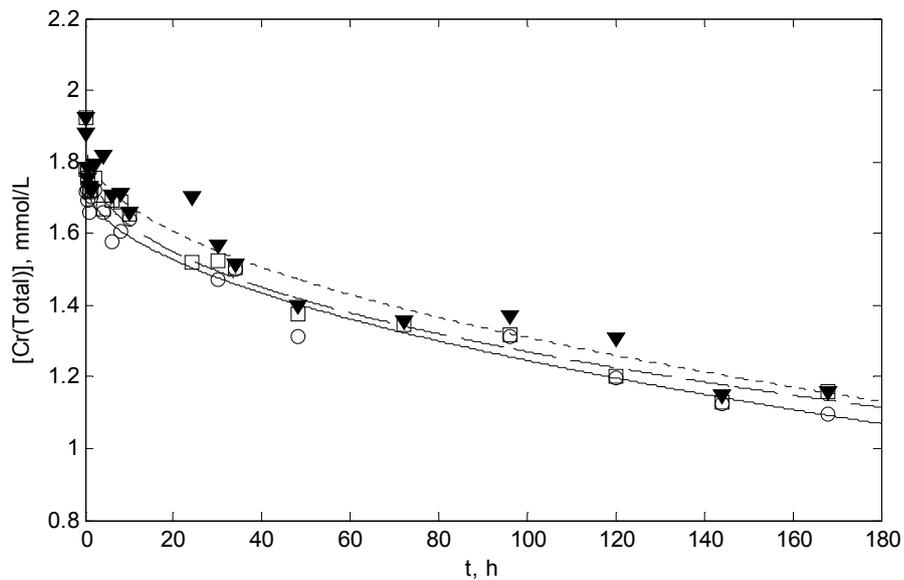


Figura 5.112 Adsorción de Cr a 100 mg/L de concentración inicial y 1 g/L de biomasa encapsulada en esferas, \circ 3mm \square 4 mm \blacktriangledown 6 mm

Ninguno de los modelos cinéticos basados en la adsorción, y en la reducción, utilizados para la biomasa libre ajusta aceptablemente los resultados. Las líneas de las Figuras 5.111 y 5.112 se han trazado utilizando un modelo de tipo potencial (Ho et al., 2003).

La representación $q - t^{0,5}$ correspondiente al modelo de difusión intrapartícula, Figura 5.113, muestra la existencia de una única zona lineal. Las ordenadas en el origen distintas de cero indican, que para ninguno de los tamaños, la etapa controlante es la difusión interna, si bien esta etapa va adquiriendo importancia al aumentar el tamaño de la esfera, siendo C , para las de 6 mm, el menor valor, de 0,0875 mmol/g.

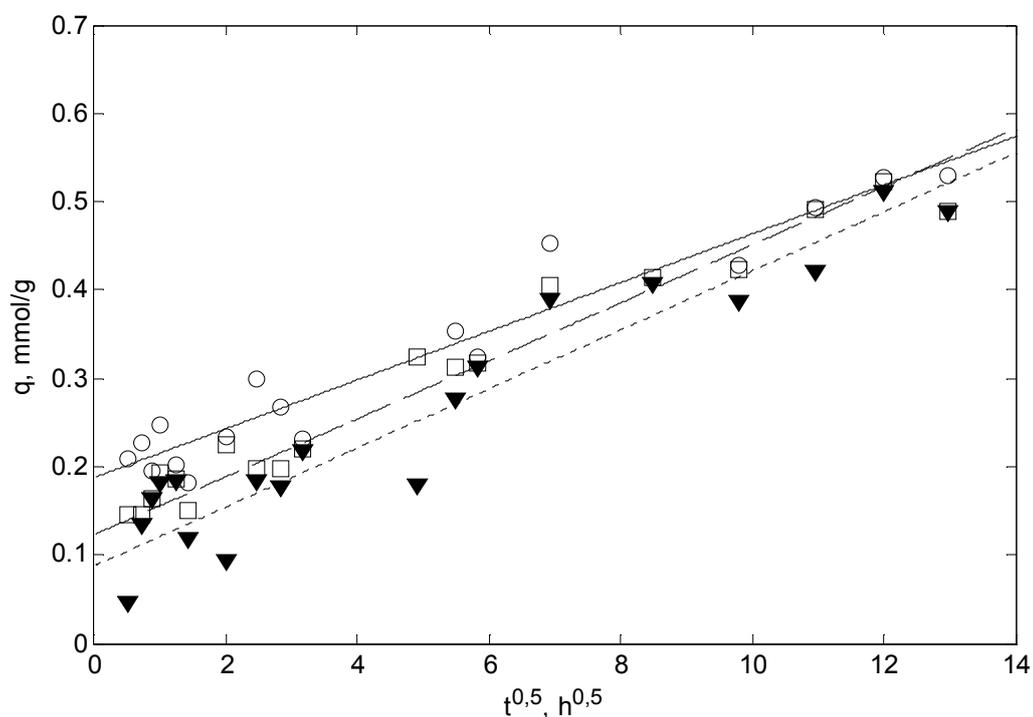


Figura 5.113 Gráfico de Weber para BBSL a una concentración inicial de Cr de 100 mg/L y 1 g/L de biomasa encapsulada en esferas, \circ 3 mm \square 4 mm \blacktriangledown 6 mm

En la Tabla 5.57 se indican los parámetros de este modelo. Las constantes de velocidad de difusión interna son del orden de magnitud de las obtenidas en la biomasa libre para el segundo periodo de difusión, en poros de pequeño tamaño. Es lógico que los macroporos hayan desaparecido ya que el método de preparación de las esferas implica una cierta desestructuración del aglomerado que se dispersa en la mezcla polisulfona-dimetilformamida, antes de la polimerización. Las constantes cinéticas de difusión, en el interior de la cápsula, no parecen depender del tamaño de la misma siendo el valor medio de 0,0321 (0,0017).

Tabla 5.57 Modelo de difusión intrapartícula

BBSL encapsulada			
d_p , mm	3	4	6
k_d , mmol/g h ^{0,5}	0,0302	0,0328	0,0334
C, mmol/g	0,188	0,123	0,0875
SSE	0,015	0,028	0,041
r^2	0,936	0,927	0,900
RMSE	0,032	0,039	0,048

En la Figura 5.114 se reproducen muy aceptablemente los resultados experimentales de q y $Cr(Total)$ en el tiempo, mediante el modelo de difusión intrapartícula.

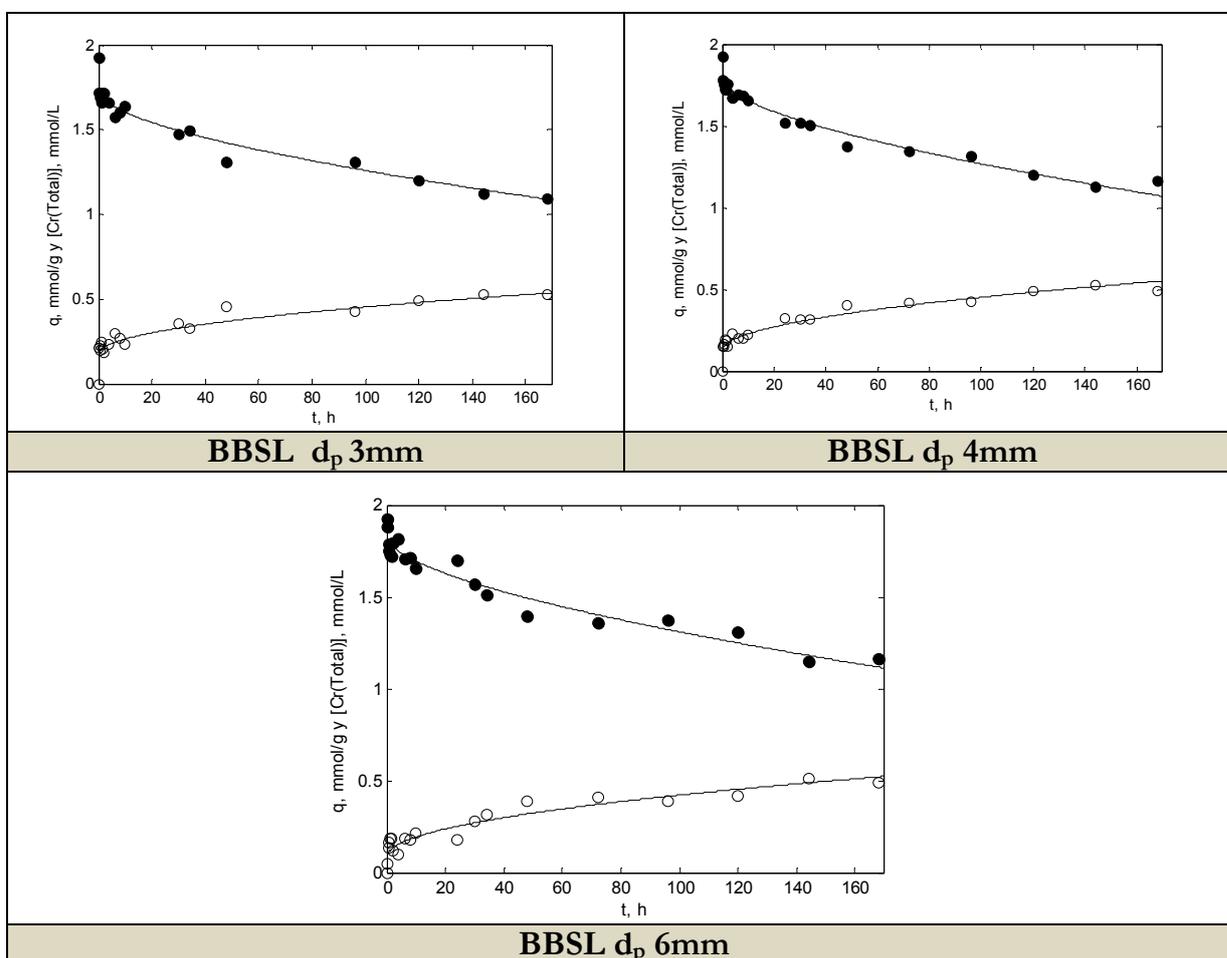


Figura 5.114 Reproducción de los resultados experimentales mediante el modelo de difusión intrapartícula a una concentración inicial de Cr de 100 mg/L y 1 g/L de biomasa encapsulada ● Cr(Total) o q

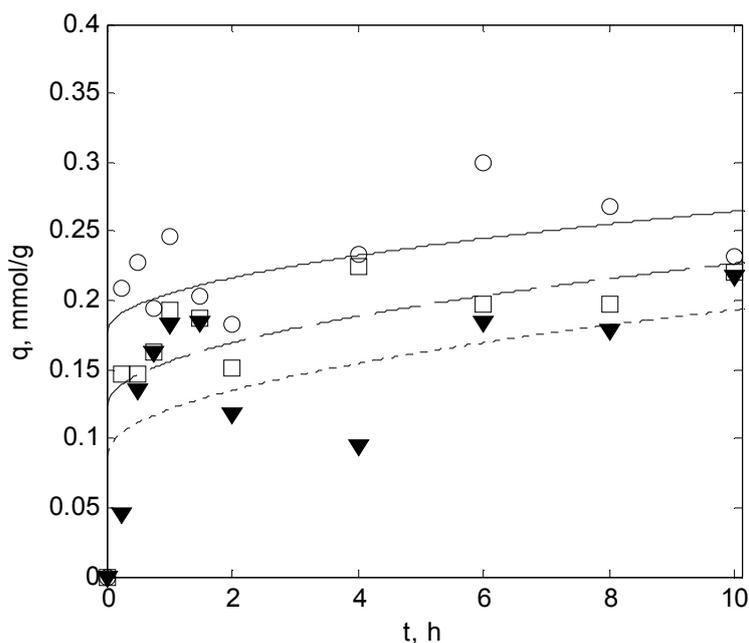


Figura 5.115 Variación q - t en las 10 primeras horas de proceso o 3 mm \square 4 mm \blacktriangledown 6 mm

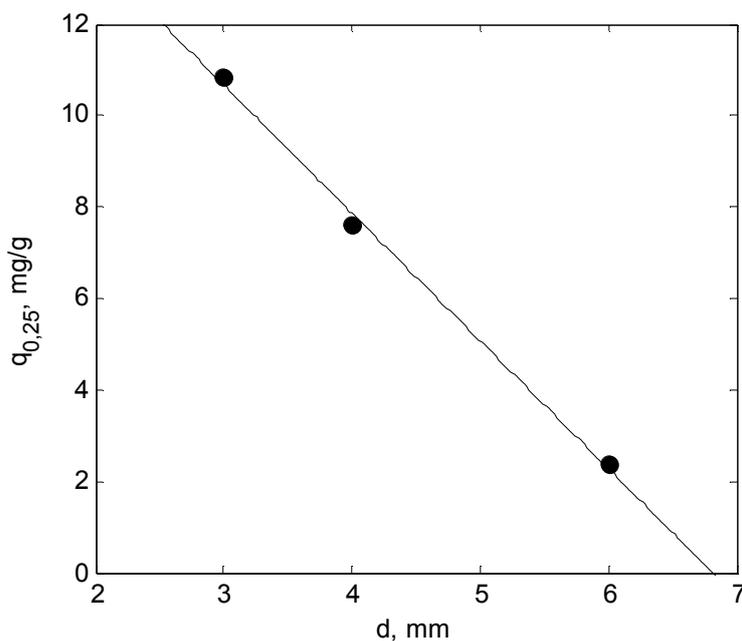


Figura 5.116 Relación lineal entre la adsorción a 0,25 h y el tamaño de partícula

Para más detalle en las Figura 5.115 se reproducen las 10 primeras horas de proceso mediante el mismo modelo.

La adsorción a 0,25 h de iniciado el proceso, $q_{0,25}$, medida de la adsorción superficial, es una función inversamente proporcional al tamaño de partícula, Figura

5.116. Esta relación evidencia que la adsorción superficial es proporcional a la superficie externa, mayor cuanto menor es el diámetro de partícula. Esta mayor velocidad de adsorción a tiempos cortos, cuanto menor tamaño de partícula, la observan (Blanco et al., 1999) para la adsorción de Cu(II), Fe(II), Ni(II) y Zn(II) por la microalga *Phormidium laminosum* inmovilizada en esferas de polisulfona de 2,56; 2,71; 3,04 y 3,60 mm de diámetro.

Los porcentajes de detoxificación y de eliminación de Cr obtenidos son:

66,1 – 60,5 – 60,2 % para 3 – 4 y 6 mm detoxificación

43,1 – 39,7 - 39,7 % para 3 – 4 y 6 mm eliminación

superiores a los conseguidos por la biomasa libre a las 144 h de tratamiento que fueron un 50,1 % de detoxificación y un 28,05 % eliminación. Este aumento no es tanto porque se sume a la biomasa, la polisulfona, ya que este efecto como se ha indicado es depreciable, sino por la desestructuración del aglomerado, lo que origina que la biomasa en el interior de la cápsula esté más expuesta a un contacto directo con el Cr, facilitando la adsorción y la reducción.

(Bai et al., 2003) analizan la eficiencia de distintos agentes para la inmovilización del hongo *Rhizopus nigricans*, tales como alginato cálcico, alcohol polivinílico, poliisopreno, poliacrilamida y polisulfona. Los más eficientes para la detoxificación de Cr(VI) son poliisopreno y polisulfona. Para polisulfona con un 2 % (p/v) de biomasa obtienen un 74,97 %. Los porcentajes en peso de biomasa que se recomiendan para la preparación de las esferas están entre 2-14 % ya que un valor mayor, determina una gran compactación interna y por tanto mayor dificultad en la difusión del cromo. En este trabajo se ha utilizado un valor del 3 %.

En las Figuras 5.117 a 5.120 se presentan imágenes correspondientes al microanálisis SEM-EDX. Las esferas de polisulfona que constituyen, el blanco, son de forma irregular y superficie externa lisa. La estructura interna está constituida por una serie de microcanales próximos a la superficie y una zona interna de poros de gran tamaño, que determinan una zona central prácticamente hueca.

El análisis elemental, de las superficies a la izquierda de los espectros, confirma la composición básica de los monómeros de polisulfona, Figura 3.16. Esta composición se ve afectada en la superficie interna por la presencia de los poros. En las esferas en blanco, no se detecta Cr. (Beolchini et al., 2003) atribuyen la formación de grandes espacios huecos en el interior de las esferas al uso de concentraciones de polisulfona relativamente bajas, del orden de 90 g/L, en este trabajo se ha utilizado un valor de 100 g/L.

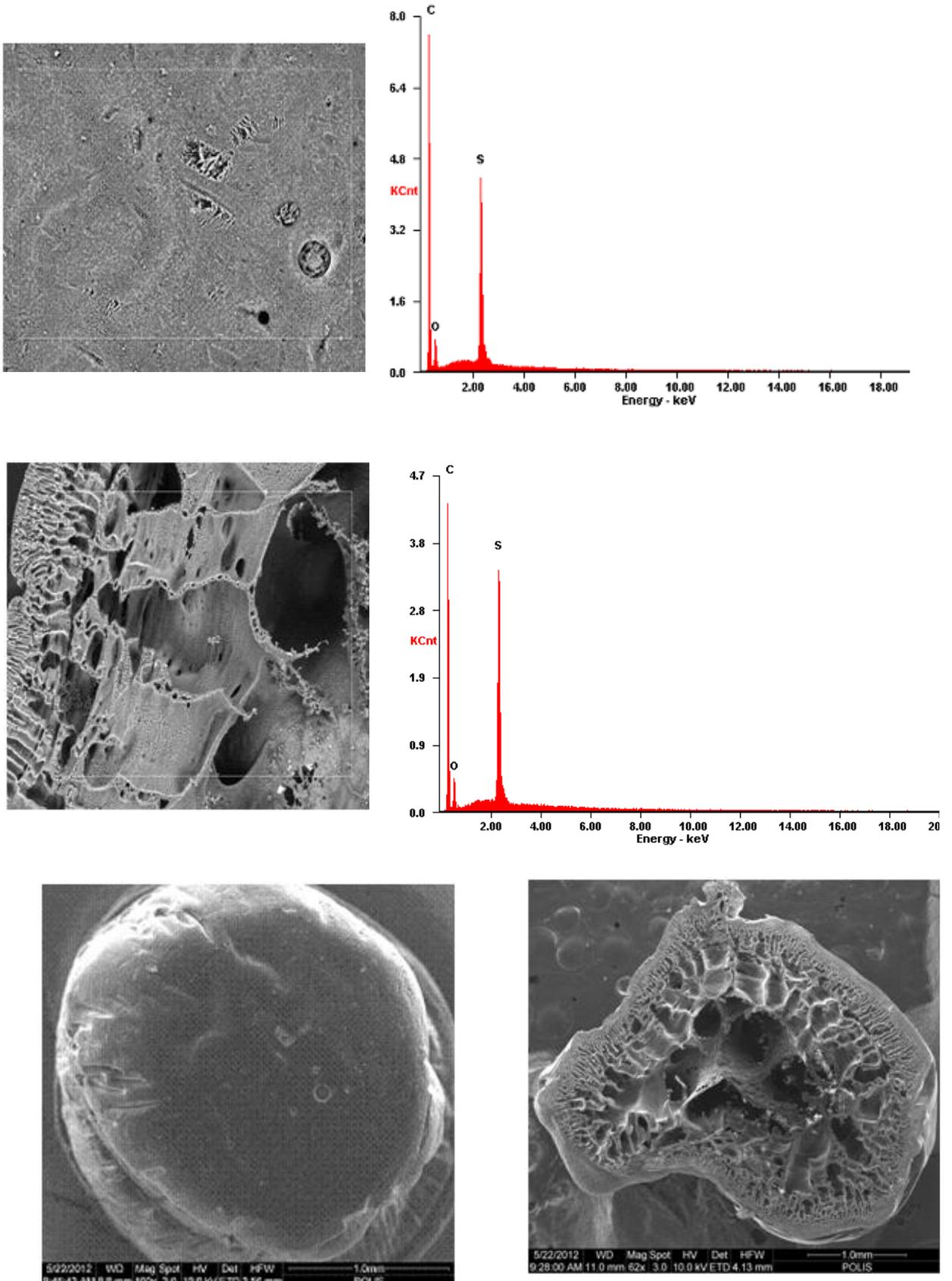


Figura 5.117 Esferas de polisulfona

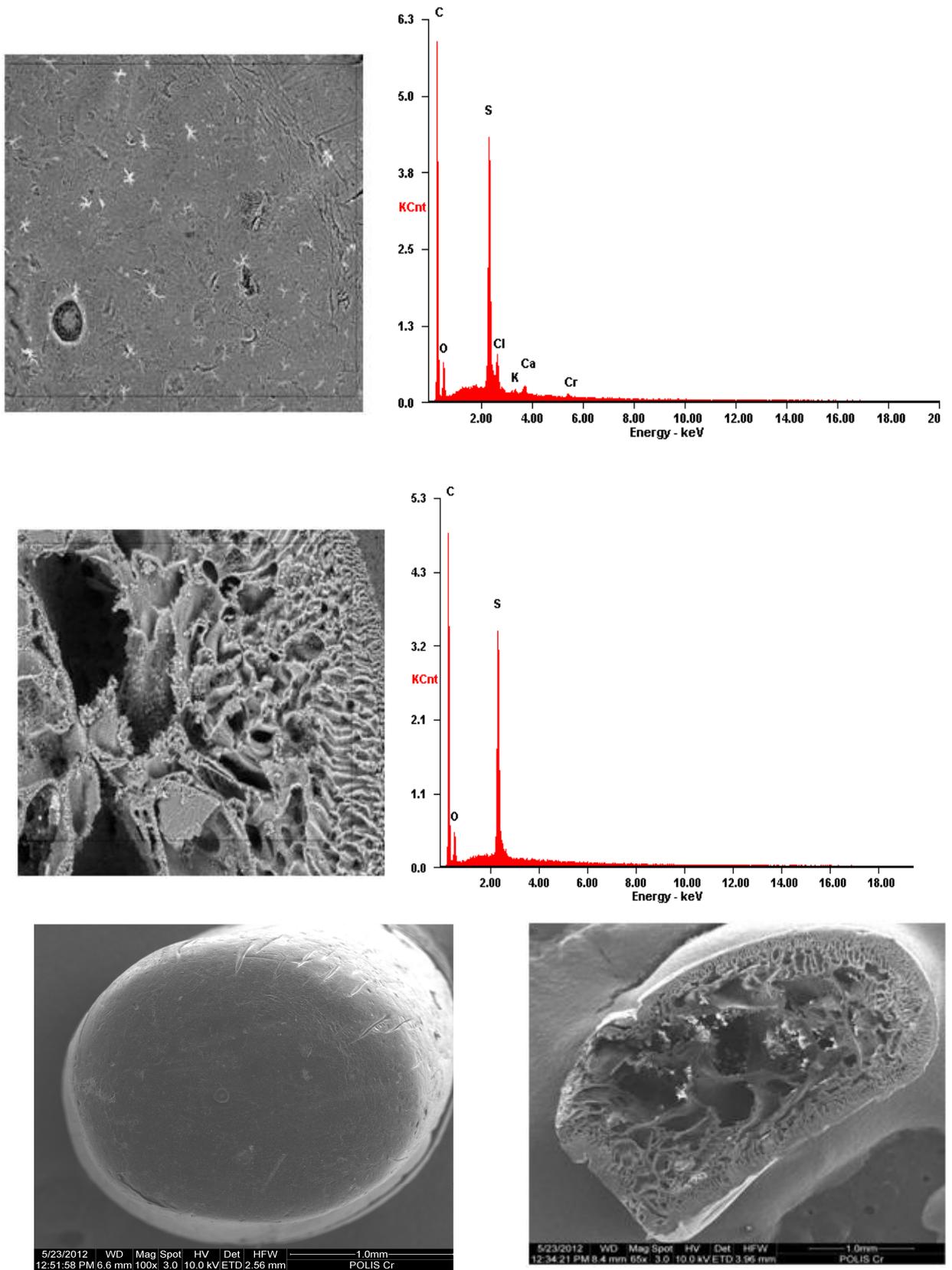


Figura 5.118 Esferas de polisulfona con Cr

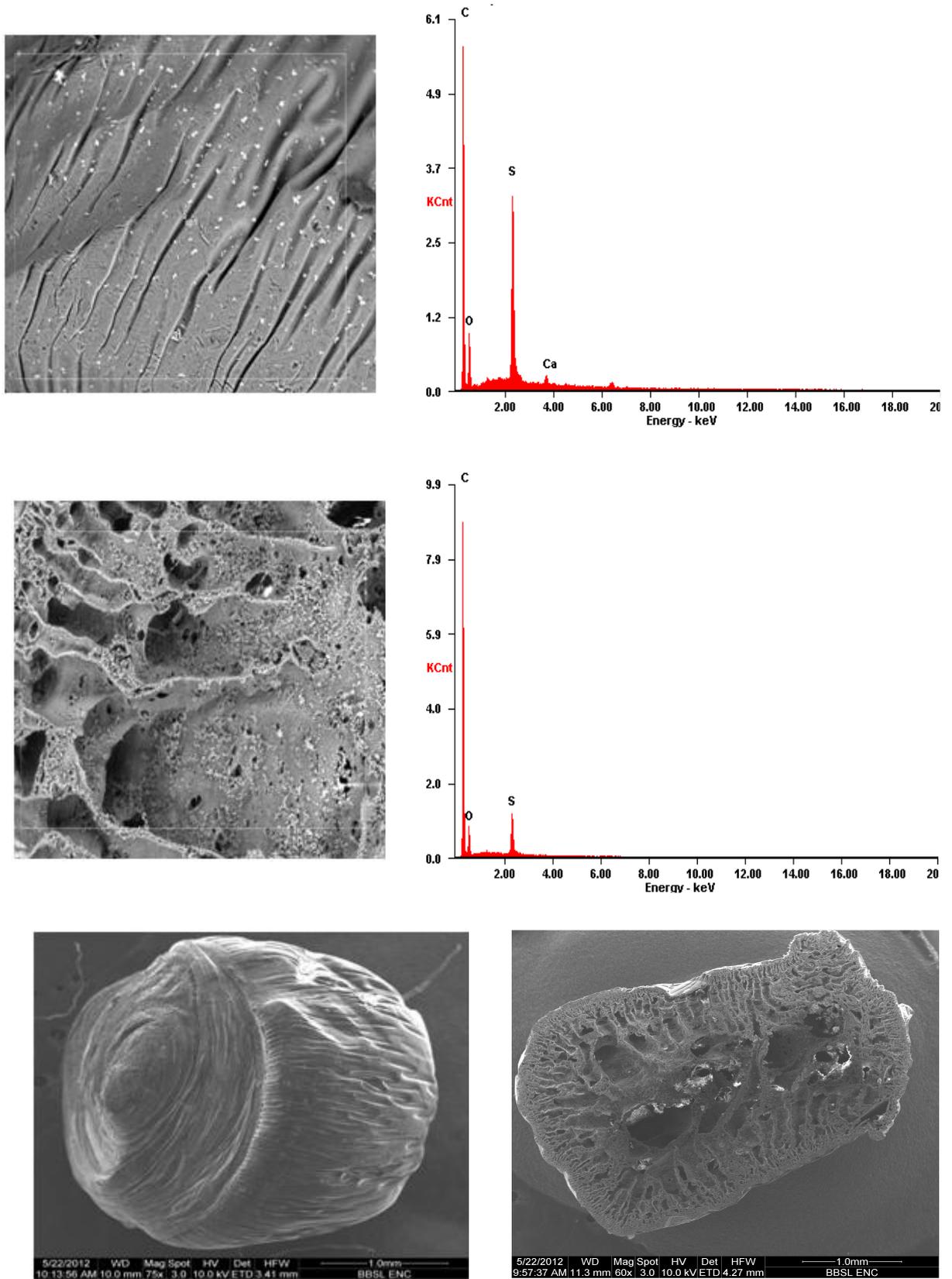


Figura 5.119 Esferas de polisulfona con BBSL

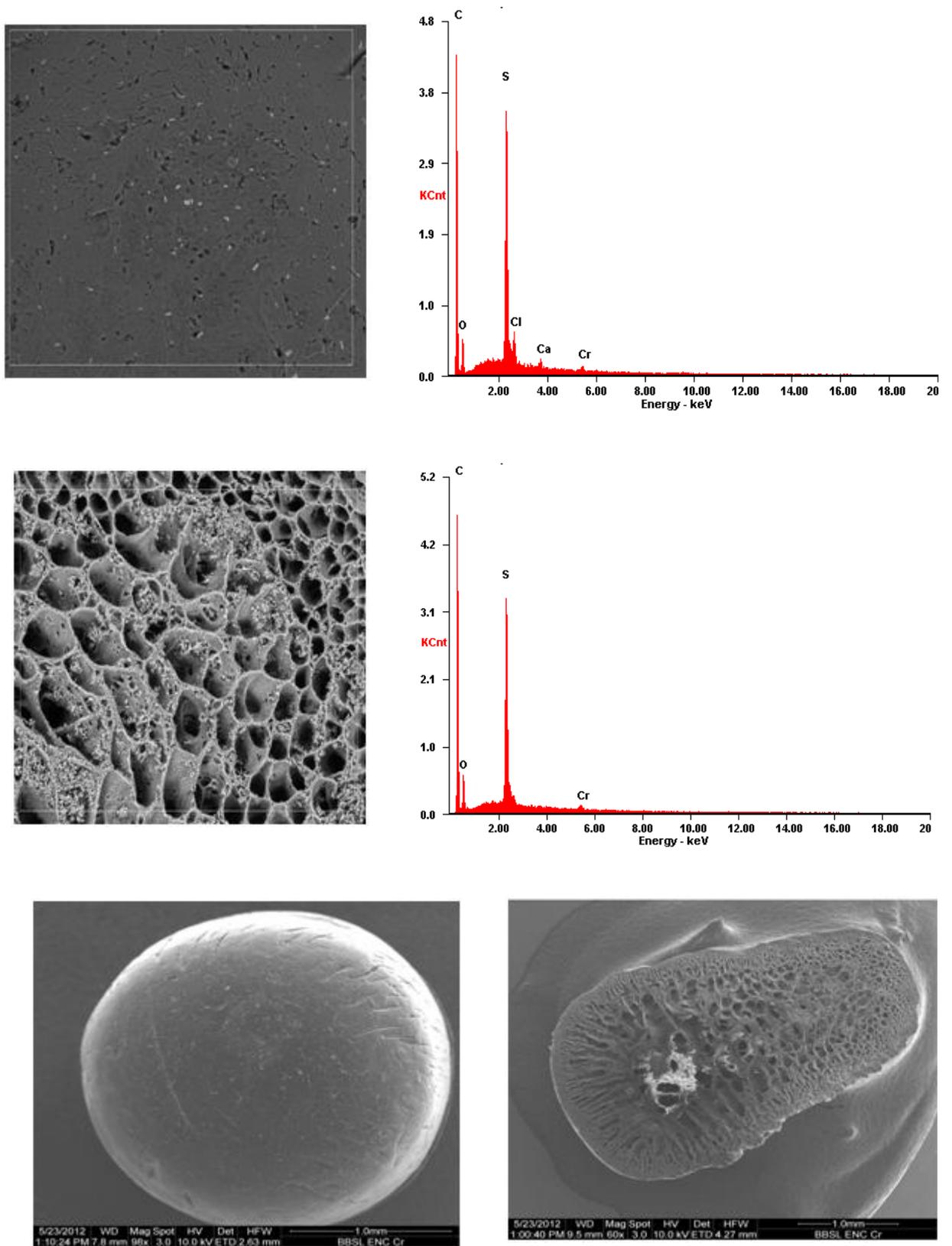


Figura 5.120 Esferas de polisulfona con BBSL y con Cr

Cuando las esferas se ponen en contacto con una disolución de Cr, de concentración $[\text{Cr(VI)}]_0$ 100 mg/L y transcurridas 168 h de contacto, solo se detecta Cr en la superficie externa de la esfera. Aparentemente, la superficies externa e interna son similares a las de las esferas sin contacto con Cr.

Las imágenes recogidas en las Figuras 5.119 y 5.120, muestran esferas de polisulfona con biomasa de *Botryococcus* retenida en su interior. El aspecto rugoso de las paredes internas de los poros a diferencia de las esferas sin biomasa, demuestra la retención de BBSL en el interior de las mismas. También en el espectro se observa un aumento en C en el interior de la esfera. El aspecto acanalado de la superficie externa de las esferas sin Cr parece un reflejo en superficie de la estructura microporosa próxima a la misma, pero no se observa cuando las esferas han estado en contacto con la disolución de Cr.

Los espectros del análisis elemental, muestran la existencia de Cr tanto en el exterior como en la superficie interna de las esferas.

5.5.2 Ciclos adsorción-desorción

En las Tablas 4.61 a 4.69 se exponen los resultados de adsorción de los tres ciclos repetidos adsorción-desorción que se han efectuado de forma consecutiva.

Antes de proceder a la desorción, se hicieron unos experimentos previos basados en resultados de la Bibliografía, de distintos eluyentes y concentraciones, apartado 3.10.5 de esta Memoria, decidiéndose la utilización de una disolución de NaOH 0,5 N (Bai et al., 2003).

Para la adsorción en los ciclos, se ha utilizado un periodo de 168 h a efectos de comparación con los experimentos previos de biosorción, mientras que para la desorción un periodo de 48 h es suficiente, ya que se comprobó no continuaba a tiempos superiores.

En la Figura 5.121 se ha representado la variación en el tiempo de la concentración total de Cr para cada ciclo de adsorción en forma individual, para las esferas de 3 mm. Se observa que los dos primeros ciclos se comportan en forma similar, mientras que la eficiencia en retirar Cr del medio se ve disminuida considerablemente en el tercer ciclo.

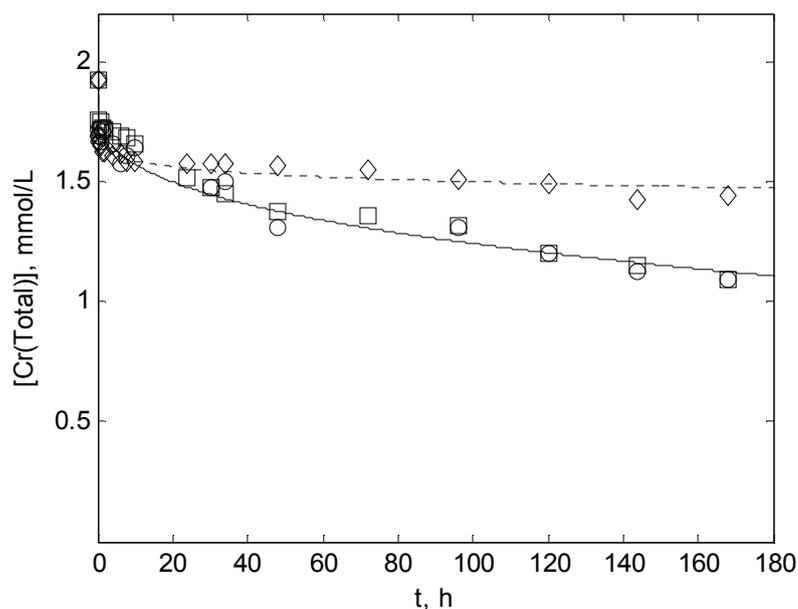


Figura 5.121 Variación de la concentración total de Cr, d_p 3 mm, \circ 1º ciclo \square 2º ciclo \diamond 3º ciclo

Las capacidades al final de cada ciclo de adsorción, mg/g, las cantidades desorbidas de Cr, expresadas en la misma forma, los porcentajes de desorción para cada ciclo, considerado de forma individual, se incluyen en la Tabla 5.58. También se recogen las cantidades de Cr remanente en las esferas y los % de desorción, modificados, acordes a la cantidad total de Cr presente en las mismas. El mayor porcentaje de desorción conseguido es del 46%.

(Bai et al., 2003) con biomasa fúngica inmovilizada en esferas de polisulfona consiguen eluir el 95 % del Cr retenido en 90 min de desorción, con disoluciones de NaOH 0,5 N. Con una disolución 0,1 M de NaOH (Anca et al., 2005) consiguen una recuperación del 95% del Cr adsorbido sobre *Chlamydomonas reinhardtii* nativa, tratada térmicamente y tratada con ácidos.

(Han et al., 2006) estudian la desorción de Cr(III) de la microalga *Chlorella miniata* por desorbentes tales como NaOH 0,5 M, HCl a una concentración máxima de 1 M, HNO₃ y H₂SO₄ 0,1 M, una disolución de EDTA al 2% y agua desionizada. La disolución de NaOH fue la que mostró la mayor efectividad consiguiendo en un único ciclo de desorción un porcentaje de recuperación de 46,39 %.

Si se considera que en las biomásas utilizadas, como mostraron los espectros XPS, una gran parte del Cr adsorbido si no el 100% , está en forma de Cr(III), puede ser éste el origen de una menor desorción ya que el Cr(III) que queda retenido en la biomasa en condiciones electrostáticas adversas, queda enlazado posiblemente por complejación con

los grupos carboxilo o amino. Por lo que no puede ser eluido por un simple lavado básico y una parte queda retenida irreversiblemente.

Tabla 5.58 Ciclos adsorción-desorción

Esferas de 3 mm					
	q_f , mg/g	Cr desorbido, mg/g	% desorción	q_{retenido} , mg/g	% desorción modificado
Ciclo 1	27,57	11,03	40,00	16,54	40,00
Ciclo 2	27,57	10,10	36,60	34,01	22,89
Ciclo 3	16,02	4,82	30,08	45,21	9,63
Esferas de 4 mm					
	q_f , mg/g	Cr desorbido, mg/g	% desorción	q_{retenido} , mg/g	% desorción modificado
Ciclo 1	25,40	11,65	45,87	13,75	45,87
Ciclo 2	27,32	10,57	38,70	30,50	25,74
Ciclo 3	19,43	4,13	21,30	45,80	8,27
Esferas de 6 mm					
	q_f , mg/g	Cr desorbido, mg/g	% desorción	q_{retenido} , mg/g	% desorción modificado
Ciclo 1	25,40	11,41	44,92	13,99	44,9
Ciclo 2	25,40	9,41	37,05	29,98	23,89
Ciclo 3	16,99	4,09	24,07	42,88	8,71

La cantidad de Cr en la biomasa por ciclo q_f , no cambia del primero al segundo y disminuye significativamente para el tercer ciclo de adsorción. Respecto a la desorción ésta disminuye, conforme aumenta el ciclo. Cuando se considera la cantidad de Cr retenido por la biomasa al final de cada ciclo q_{retenido} , Figura 5.122 se observa como la cantidad acumulada, aumenta con el ciclo, siendo ésta mayor para las esferas de menor tamaño.

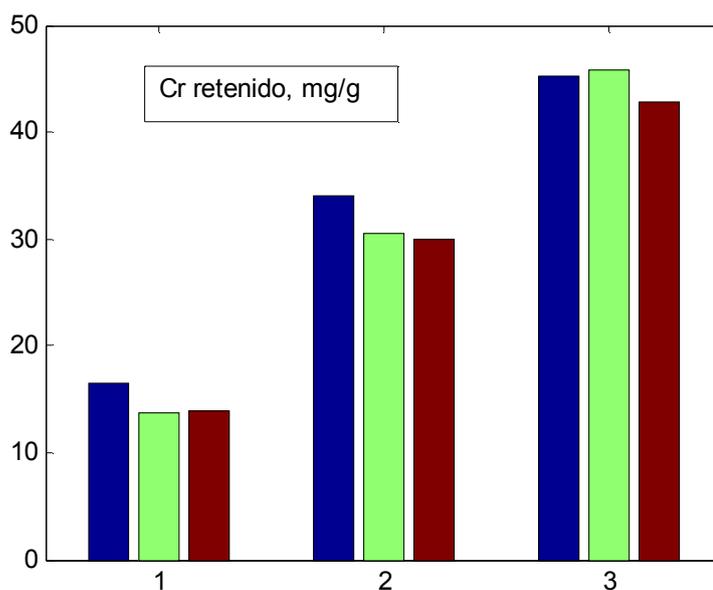


Figura 5.122 Cr retenido en las esferas en los tres ciclos, dp, azul 3mm verde 4mm rojo 6 mm

La cantidad de Cr retenido por la biomasa, en forma acumulada, para los tres ciclos y los tres tamaños de esfera se recogen en la Figura 5.123. En primer y segundo ciclo hay un aumento continuado de la retención de Cr por las esferas, mientras que en el tercero a poco de comenzar el ciclo no hay posibilidad de una mayor retención permaneciendo q , invariable en el tiempo. La mayor retención de Cr está en torno a los 45 mg/g.

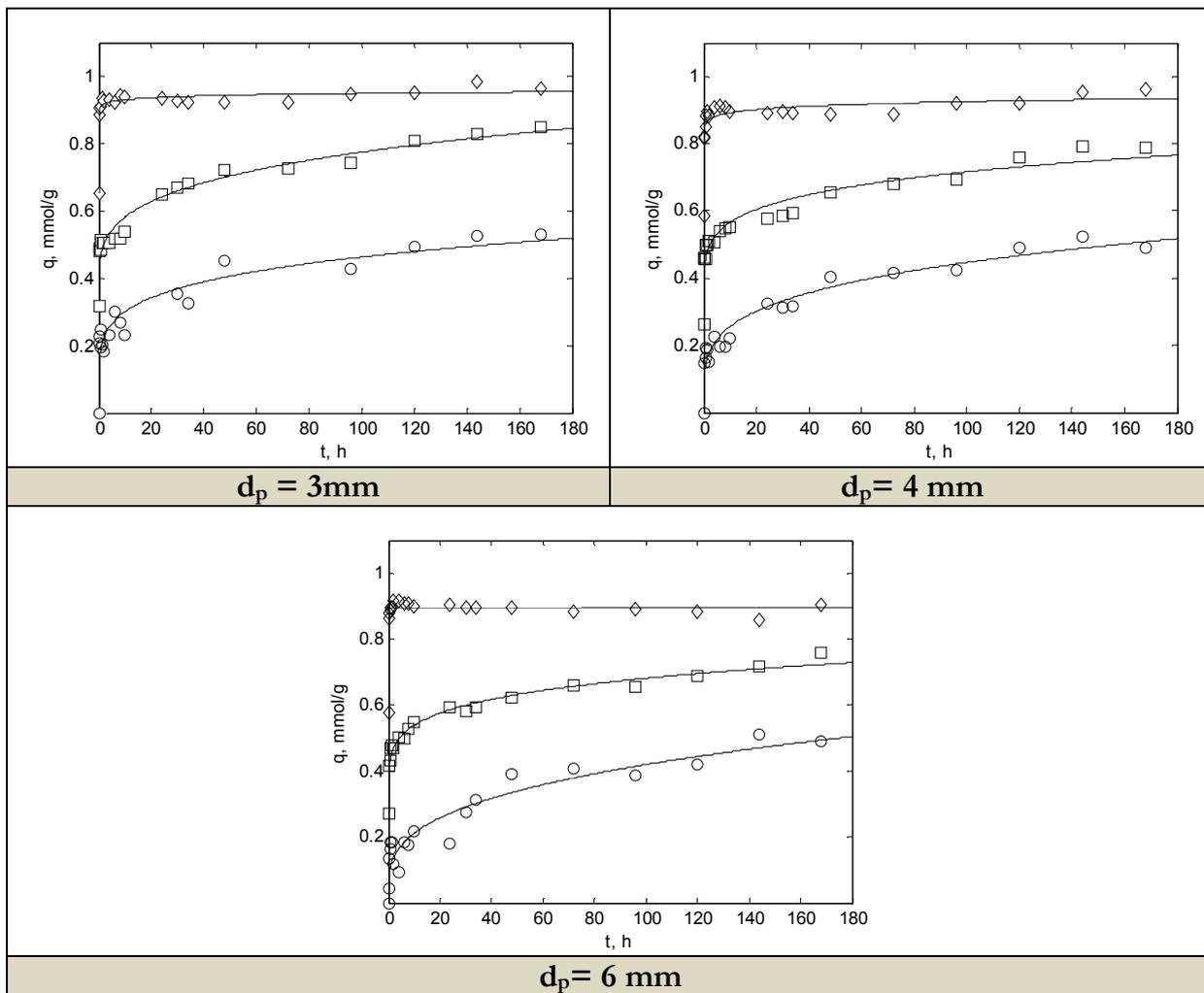


Figura 5.123 Variación de q_{retenido} en el tiempo o 1° ciclo \square 2° ciclo \diamond 3° ciclo

6 CONCLUSIONES

Como resultado del trabajo realizado se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. Las condiciones experimentales de aireación y agitación utilizadas, distan de aquéllas que originan un estrés hidrodinámico importante en algas con pared celular. Sin embargo, atendiendo a la fórmula elemental propuesta por Harrison, y a la relación másica N/P de los medios de cultivo utilizados, se pone de manifiesto que el medio Rodríguez-López (RL), Chu nº 13, 4 veces concentrado (Chu-13*4) y las aguas residuales procedentes de la EDAR de la ciudad de Linares son deficitarios en N. Las aguas residuales procedentes del tratamiento no convencional del Centro Experimental de las Nuevas Tecnologías del Agua TAMUDA-Tetuán son deficitarias en P.
2. El modelo de “Gompertz modificado” es el que mejor reproduce las curvas de crecimiento para las dos microalgas utilizadas, *Scenedesmus obliquus* y *Botryococcus braunii*, tanto en medios sintéticos como en aguas residuales urbanas. También este modelo, ajusta aceptablemente las curvas de consumo de los nutrientes N y P. La mayor velocidad de crecimiento la presenta *Scenedesmus* en medio sintético, disminuyendo en casi un 76% al crecer en el agua residual de la ciudad de Tetuán. Sin embargo para *Botryococcus*, microalga que presenta velocidades de crecimiento más pequeñas, el agua residual de la ciudad de Linares constituye un medio de crecimiento adecuado y comparable al medio sintético.
3. Para los cuatro biosorbentes, biomasa nativa y extraída la fracción lipídica, se han utilizado titulaciones potenciométricas ácido-base para identificar y cuantificar los grupos funcionales que intervienen en el proceso de biosorción-bioreducción del Cr(VI). *Scenedesmus* presenta globalmente carácter básico mientras que *Botryococcus* carácter ácido. Los grupos funcionales identificados han sido carboxilo, fosfato y amino salvo para *Scenedesmus* sin lípidos que solo tiene de los dos últimos. La concentración total de centros activos obtenida mediante el modelo continuo es de 1,656; 1,22; 0,786 y 0,644 mmol/g para *Scenedesmus* biomasa nativa y extraída y *Botryococcus* biomasa nativa y extraída respectivamente.
4. Los espectros IR de los biosorbentes, muestran la existencia de distintos grupos funcionales superficiales e indican la gran heterogeneidad química de las biomasa. Confirman la existencia de los grupos funcionales carboxilo, fosfato y amina. Los valores de la absorbancia de las bandas que los identifican varían en forma similar a como lo hace la concentración de cada centro después de la extracción lipídica.

5. Para los cuatro biosorbentes, las posiciones de las bandas del espectro XPS después de la biosorción/bioreducción del Cr(VI) coinciden con las posiciones de las bandas características del espectro de la sal de Cr(III), al igual que con las bandas después de la adsorción de Cr(III), lo que indica que el Cr retenido en la biomasa está en forma trivalente. Estas observaciones concuerdan con el aparente alisamiento de las superficies, tras la biosorción del Cr que se detecta en las imágenes FIB-FESEM.
6. El elemento mayoritario de las biomasas es el C, siendo el contenido próximo al 50 %. El alto contenido en N de *Scenedesmus* en torno al 7% indica que la biomasa ha crecido en un medio con exceso de este elemento y este valor ha sido confirmado mediante el análisis XPS. En ambas biomasas disminuye el contenido en C e H por la extracción de las cadenas hidrocarbonadas constituyentes del material lipídico. El contenido en lípidos totales es mayor en *Botryococcus* y del orden del 30% del peso seco. Es interesante el bajo contenido en ácidos grasos poliinsaturados de las biomasas para su aplicación a la elaboración de biodiesel.
7. La naturaleza aniónica del Cr(VI) determina la idoneidad de bajos valores de pH ya que éste debe ser inferior al valor correspondiente al punto de carga cero, de forma que la biomasa presente una carga neta positiva. En estas condiciones, ocurre la reducción del Cr(VI) a Cr(III) por lo que el proceso debe considerarse de biosorción/bioreducción. La capacidad reductora de la biomasa determinada mediante titulaciones redox y el método de “Biomasa limitante” es mayor en SOCL seguida de *Botryococcus* y SOSL. La detoxificación y la eliminación de Cr presentan valores de pH óptimos distintos. Se ha optado por una solución de compromiso eligiendo pH 2 para *Scenedesmus* y pH 1 para *Botryococcus*. A los pH considerados el Cr(III) catiónico no se adsorbe en las biomasas lo que demuestra que el existente en las mismas procede del mecanismo de reducción indirecta.
8. Desde el inicio del proceso de biosorción se detecta Cr(III) en el medio líquido, que procede del mecanismo de reducción directa, del mecanismo de reducción indirecta tras desorción o de ambos. La reducción del Cr(VI) y aparición de Cr(III) continua en el tiempo mientras la biomasa tenga capacidad reductora, no alcanzándose un equilibrio ni para la forma hexavalente ni para la trivalente. No ocurre así para el Cr(Total) que deja de variar en el tiempo a partir de las 20 h de biosorción. Se ha seleccionado para todas las biomasas un tiempo de 48 h.

9. Los datos de equilibrio, responden a una isoterma tipo BET, característica de sólidos macroporosos y heterogéneos, como son los aglomerados celulares constitutivos de los cuatro biosorbentes utilizados. Si bien, para BBCL también son válidas las isotermas de Langmuir y Freundlich. Las capacidades de sorción para la formación de la monocapa son de 14,77 ; 13,34 ; 33,33 ; y 10,39 mg/g para SOCL, SOSL, BBCL y BBSL respectivamente.
10. El proceso de biosorción de Cr(VI) es más lento que para otros metales pesados. Las capacidades máximas de sorción basadas en el Cr(Total) aumentan con la concentración inicial de Cr(VI) alcanzando para SOCL un valor de 46,12 mg/g, y variando para las otras biomásas en relación a la concentración de centros activos. De los diferentes modelos cinéticos, ensayados basados en la adsorción, en la reducción y el modelo de difusión intrapartícula son de particular interés este último y el de pseudo-n orden.
11. El aumento de la concentración de biomasa desde 1 a 10 g/L afecta a la biosorción a través del efecto sobre el pH, consecuencia del consumo de protones necesario para la protonación de la misma. Este efecto es muy marcado en *Scenedesmus* y poco en *Botryococcus* debido a los pH iniciales distintos y a la naturaleza básica y ácida de las biomásas. Solo utilizando *Botryococcus*, a partir de 2 g/L para la biomasa con lípidos y de 6 g/L para la sin lípidos es posible conseguir un 100 % de detoxificación y un 60 % de eliminación de cromo.
12. La presencia en el medio líquido de otras especies químicas, de tipo aniónico y catiónico, modifica la fuerza iónica del medio y afecta a la biosorción del metal pesado. Si bien la presencia de nitrato sódico no modifica la especiación del Cr, si disminuye tanto la capacidad de sorción de la biomasa como su capacidad de reducción. La inhibición de la reducción es más marcada en SOSL, biomasa que posee una menor capacidad de 1,28 mmol/g frente a 2,50 mmol/g para BBSL.
13. Las capacidades de adsorción de las distintas biomásas aumentan con la temperatura en el intervalo 25 a 30°C, el posterior incremento a 35°C hace disminuir este valor en todos los casos. Debido a efectos contrarios, una mejor protonación pero también una mayor movilidad térmica que origina el debilitamiento de las fuerzas de enlace entre los iones cromato y las biomásas. A mayor temperatura, se favorecen también reacciones de

hidrólisis que implican una mayor solubilización de componentes de la biomasa y por tanto una pérdida de sorbente. La eliminación de los lípidos facilita la adsorción inicial, a 0,25 h, fundamentalmente de tipo superficial, consecuencia de una mayor velocidad inicial de adsorción, r_0 , como se recoge en el ajuste a los diferentes modelos cinéticos.

14. El proceso de biosorción es más lento con la biomasa encapsulada. Si se aumenta el tiempo de biosorción se consiguen porcentajes de detoxificación y eliminación superiores a los conseguidos por la biomasa libre. Este aumento no es debido a la adsorción de Cr por la polisulfona, sino a la deseestructuración que experimenta el aglomerado celular en el interior de la cápsula, como consecuencia del método de preparación. La retención de Cr es mayor para las cápsulas de 3 mm, seguidas de las de 4 mm y 6 mm, por el incremento de la superficie específica a menor tamaño. Para ninguno de los tamaños, la difusión interna es la etapa controlante, si bien va adquiriendo importancia al aumentar el diámetro de la esfera.
15. El análisis de tres ciclos consecutivos adsorción-desorción, utilizando como eluyente NaOH 0,5 N muestra que los dos primeros ciclos se comportan en forma similar, mientras que la eficiencia en retirar Cr del medio se ve considerablemente disminuida en el tercero. El máximo porcentaje de desorción es del 46%, este bajo porcentaje concuerda con que gran parte, posiblemente, el 100% del Cr retenido en la biomasa esté en forma de Cr(III). Este cromo, en condiciones electrostáticas adversas, queda enlazado, por complejación, con los grupos carboxilo o amino de la biomasa y no puede ser eluido mediante un lavado básico.

7 BIBLIOGRAFÍA

A

Abeliovich A (2004) Water pollution and bioremediation by microalgae. Water purification: algae in wastewater oxidation ponds. In: Handbook of Microalgal Culture. Biotechnology and Applied Phycology. Richmond A (ed) Blackwell Publishing, Oxford. 430-438.

Ahmady S, Andres Y, Gerente C, Cloirec P L (2008) Biosorption of Cu(II) from aqueous solution by *Fucus serratus*: Surface characterization and sorption mechanism. *Biores. Technol.* 99, 6150-6155.

Akar T, Kaynak Z, Ulusoy S, Yuvaci D, Ozsari G, Akar S T (2009) Enhanced biosorption of nickel(II) ions by silica-gel-immobilized waste biomass: Biosorption characteristics in batch and dynamic flow mode. *J. Hazard. Mater.* 163, 1134-1141.

Akhtar N, Iqbal M, Zafar S I, Iqbal J (2008) Biosorption characteristics of unicellular green alga *Chlorella sorokiniana* immobilized in loofa sponge for removal of Cr(III). *J Environ. Sci.* 20, 231-239.

Aksu Z, Acikel U (2000) Modeling of a single-staged bioseparation process for simultaneous removal of iron(III) and chromium(VI) by using *Chlorella vulgaris*. *Biochem. Eng. J.* 4, 229-238.

Aksu Z, Akpınar D (2001) Competitive biosorption of phenol and chromium(VI) from binary mixtures onto dried anaerobic activated sludge. *Biochem. Eng. J.* 7, 183-193.

Aksu Z, Balibek E (2007) Chromium (VI) biosorption by dried *Rhizopus arrhizus*. Effect of salt (NaCl) concentration on equilibrium and kinetic parameters. *J. Hazard. Materials* 145, 210-220.

Aksu Z, Ertugrul S, Dönmez G (2009) Single and binary chromium (VI) and Remazol Black B biosorption properties of *Phormidium sp.* *J. Hazard. Materials* 168, 310-318.

Akhtar N, Saeed A, Iqbal M (2003) *Chlorella sorokiniana* immobilized on the biomatrix of vegetable sponge of *Luffa cylindrical*: a new system to remove cadmium from contaminated aqueous medium. *Biores. Technol.* 88, 163-165.

Al-Asheh S, Duvnjak Z (1998) Binary metal sorption by pine bark: Study of equilibria and mechanisms. *Separation Sci. Technol.* 33, 1303-1329.

Albadarin A B, Al-Muhtaseb A H, Al-Laqtah N A (2011) Biosorption of toxic chromium from aqueous phase by lignin mechanism, effect of other metal ions and salts. *Chem. Eng. J.* 169, 20-30.

Albadarin A B, Mangwandi C, Al-Muhtaseb A, Walker G M, Allen S J, Ahmad M N M (2012) Kinetic and thermodynamics of chromium ions adsorption onto low-cost dolomite adsorbent. *Chem. Eng. J.* 179, 193-202.

Albert L A (1990) *Cromo. Sociedad Mexicana de Toxicología.* 14, 227-248.

Alcedo J, Wetterhahn K E (1990) Chromium toxicity and carcinogenesis. *Inst. Rev. Exp. Path.* 31, 85-107.

Alexander J, Aashet J (1995) Uptake of chromate in human red blood cells and isolated rat liver cells: the role of the anion carrier. *Analyst* 120, 931-933.

Al-Hakawati M S, Banks C J (2000) Copper removal by polymer immobilized *Rhizopus oryzae*. *Water Sci. Technol.* 42, 345-352.

Allard B, Templier J (2000) Comparison of neutral lipid profile of various trilaminar outer cell wall (TLS) –containing microalgae with emphasis on algaenan occurrence. *Phytochemistry* 54, 369-380.

Allard B, Templier J (2001) High molecular weight lipids from the trilaminar outer wall (TLS)-containing microalgae *Chlorella emersonii*, *Scenedesmus communis* and *Tetraedron minimum*. *Phytochemistry* 57, 459-467.

Al-Saraj M, Abdel-Latif M S, El-Nahal I, Baraka R (1999) Bioaccumulation of some hazardous metals by sol-gel entrapped microorganisms. *J. Non-Cryst. Solids* 248, 137-140.

Anca M Y, Bayramoglu G (2005) Cr(VI) Biosorption from aqueous solutions using free and immobilized biomass of *Lentinus sajocaju*: preparation and kinetic characterization. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 253, 203-211.

Anca M Y, Tüzün I, Yalçın E, Ince Ö, Bayramoglu G (2005) Utilization of native, heat and acid-treated microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* preparations for biosorption of Cr(VI) ions. *Process Biochem.* 40, 2351-2358.

Andrade A.D, Rollemberg M.C.E, Nóbrega J.A (2005) Proton and metal binding capacity of the green freshwater alga *Chaetophora elegans*. *Process Biochem.* 40, 1931–1936.

Andrade L (2008) Utilización secuencial de microalgas en depuración y obtención de biocombustibles. Tesis fin de Master. Universidad de Granada.

APHA, AWWA, WPCF. (1992) Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Ediciones Díaz de Santos. Madrid.

Aslan S, Kapdan IK (2006) Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecol. Eng.* 28, 64-70.

ATSDR (1990) Toxicological Profile for Chromium. U.S. Dept of Health and Human Services, Atlanta USA.

Aziz M A (1993) Industrial wastewater treatment using an activated algae reactor. *Water Sci. Technol.* 28, 71-76.

B

Bachofen R (1982) The production of hydrocarbons by *Botryococcus braunii*. *Experientia* 38, 47-51.

Bag H, Lale M, Turker A R (1999) Determination of Cu, Zn and Cd in water by FAAs after preconcentration by baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) immobilized on sepiolite. *Fresenius J. Anal. Chem.* 363, 224-230.

Bagchi D, Bagchi M, Stohs S J (2001) Chromium (VI) induced oxidative stress. Apoptotic cell death and modulation of p53 tumor suppressor gene. *Molec. Cell. Biochem.* 222, 149-158.

Bai R S, Abraham T E (2003) Studies on chromium (VI) adsorption-desorption using immobilized fungal biomass. *Biores. Technol.* 87, 17-26.

Bajpai J, Shrivastava R, Bajpai A K (2004) Dynamic and equilibrium studies on adsorption of Cr(VI) ions onto binary bio-polymeric beads of cross linked alginate and gelatin. *Colloids and Surfaces: Physicochem. Eng. Aspects.* 236, 81-90.

Bakkaloglu I, Butter T J, Evison L M, Holland F S, Hancock I C (1998) Screening of various types biomass for removal and recovery of heavy metals (Zn, Cu, Ni) by biosorption, sedimentation and desorption. *Water sci. Technol.* 38, 269-277.

Banani R C, Runu C, Utpal R C (2007) Validity of modified Gompertz and logistic models in predicting cell growth of *Pediococcus acidilacti* H during the production of bacteriocin pediocin ACH.

Banerjee A, Sharma R, Chisti Y, Banerjee U C (2002) Botryococcus braunii: A renewable source of Hydrocarbons and other chemicals. *Critical Rev. Biotechnol.* 22, 3 245-279.

Baral S S, Das S N, Chaudhury G R (2008) Adsorption of Cr(VI) using thermally activated weed *Salvinia cucullata*. *Chem. Eng. J.* 139, 245-255.

Barbosa M J, Albercht M, Wijffels R H (2003) Hydrodynamic stress and lethal events in sparged microalgae cultures. *Biotechnol. Bioeng.* 83, 1, 112-120.

Basha S, Murthy Z V P (2007) Kinetic and equilibrium models for biosorption of Cr(VI) on chemically modified seaweed, *Cystoseira indica*. *Process Biochem.* 42, 1521-1529.

Bashan L E, Bashan Y (2010) Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. *Biores. Technol.* 101, 1611-1627.

Bayramoglu G, Arica M Y (2009) Construction a hybrid biosorbent using *Scenedesmus quadricauda* and Ca-alginate for biosorption of Cu(II), Zn(II) and Ni(II): Kinetics and equilibrium studies. *Biores. Technol.* 100, 186-193.

Becker E W (1984) Biotechnology and exploitation of the green alga *Scenedesmus obliquus* in India. *Biomass.* 4, 1-19.

Beneman J R (1998) Process analysis and economics of biophotolysis of water. Hydrogen Program of the International Energy Agency.

Beolchini F, Pagnanelli F, Toro L, Vegliò F (2006) Ionic strength effect on copper biosorption by *Sphaerotilus natans*: Equilibrium study and dynamic modeling in membrane reactor. *Water Res.* 40, 144-152.

Beolchini F, Pagnanelli F, Veglió F (2001) Modeling of copper biosorption by *Arthrobacter sp.* in a UF/MF membrane reactor. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3048-3054.

Bertheas O, Metzger P, Largeau C (1999) A high molecular weight complex lipid, aliphatic polyaldehyde tetraterpenediol polyacetal from *Botryococcus braunii* (L race). *Phytochem.* 85-96.

Bhatnagar A, Chinnasamy S, Singh M, Das K C (2011) Renewable biomass production by mixotrophic algae in the presence of various carbon sources and wastewaters. *Appl. Ener.* 88, 3425-3431.

Bisalputra T (1965) The origin of the pectic layer of cell wall of *Scenedesmus quadricauda*. *Can. J. Bot.* 43, 1549-1552.

Bisalputra T , Weier T E (1963) The cell wall of *Scenedesmus quadricauda*. Am. J. Bot. 50, 1011-1019.

Blackburn S, Parker N (2005) Microalgal life cycles. In: Algal culturing techniques. Anderson R A (ed) Elsevier Academic Press. China. 399-417.

Blázquez G, Hernáinz F, Calero M, Martín-Lara, MA, Tenorio G (2009) The effect of pH on the biosorption of Cr(III) and Cr(VI) with olive stone. Chem. Eng. Jour. 23, 473-479.

Bligh E G, Dyer W J (1959). A rapid method for total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. and Physiol. 37, 911-917.

Blokker P, Schouten S, Van Den Ende H, De leeuw J W, Hatcher P G, Sinninghe Damsté J S (1998) Chemical structure of algaenans from the fresh water algae *Tetraedron minimum*, *Scenedesmus communis* and *Pediastrum boryanum*, Org. Geochem., 29, 1453-1468

Borowizka M A (1992) Algal biotechnology products and process: matchingscience and economics. J Appl. Phycol. 4, 267-279.

Borrok D M, Fein J B (2005) The impact of ionic strength on the adsorption of protons, Pb, Cd, and Sr onto the surfaces of Gram negative bacteria: testing non-electrostatic diffuse, and triple layer models. J. Colloids and Interf. Sci. 286, 110-126.

Bosma R, Zessen E, Reith J H, Tramper J (2007) Prediction of volumetric productivity of an outdoor photobioreactor. Biotechnol. Bioeng. 97, 1108-1120.

Brennan L, Owende P (2010) Biofuels from microalgae- A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. Renewable and sustainable energy reviews. 14, 557-577.

Brunauer S, Emmett P H, Teller E (1938) Adsorption of gases in multimolecular layers. J. Am. Chem. Soc. (USA) 60, 309-319.

Burczyk J, Szkawran H, Zontek I, Czygan F C H (1981) Carotenoids in the outer cell-wall layer of *Scenedesmus* (Chlorophyceae). Planta 151, 247-250.

Bustard M, McHale A P (1998) Biosorption of heavy metals by distillery-derived biomass. Bioproc. Eng. 19, 351-353.

C

Camacho F, García F , Sevilla J, Chisti Y, Molina E (2003) A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. Biotechnol. Bioeng. 81 (4), 459-473.

Camacho F, Martínez M E, Sánchez S, Pérez A D (1989) Influence of pH on the kinetic and yield parameters of *Scenedesmus obliquus* heterotrophic growth. Process Biochem. 133-136.

Cañizares RO (2000) Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Revista Latinoamericana de Microbiología. 42, 131- 143.

Carvalho A P, Meireles L A, Malcata F X (2006) Microalgal reactors: A review of enclosed systems designs and performances. Biotechnol. Prog. 22, 1490-1506.

Castañé P M, Topalián M L, Cordero R R, Salibián A (2003) Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad. Rev. Toxicol. 20, 13-18.

Celekli A, Tanriverdi B, Bozkurt H (2011) Predictive modeling of removal of Lanaset Red on *Chara contraria*: kinetic, equilibrium, and thermodynamic studies. Chem. Eng. J. 169, 166-172.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (2008) Détermination du chrome hexavalent:method colorimétrique. M A 200. CrHex 1.1.

Chan Y, So-Young J, Jae-Yon L, Chi-Yong A, Hee-Mock O (2010) Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. Biores. Technol. 101, 571-574.

Chang J S, Law R, Chang C C (1997) Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21 Water Res. 31, 1651-1658.

Chen C, Wang J L (2008) Investigating the interaction mechanism between zinc and *Sacharomyces cerevisiae* using combined SEM_EDEX and XAFS. Appl. Microbiol. Biotechnol. 79, 293-299.

Chen C-Y, Chang H-W, Kao P-C, Pan J-L, Chang J-S (2011) Biosorption of cadmium by CO₂-fixing microalga *Scenedesmus obliquus* CNWN, Biores. Technol., in press.

Chen F (1996) High cell density culture of microalgae in heterotrophic growth. Trends Biotechnol.14, 421-426.

Chen J-P, Lin Y-S (2007) Sol-gel-immobilized recombinant *E. coli* for biosorption of Cd(II). J. Chinese Inst. Chem. Eng. 38, 235-243.

Chen X C, Wang Y P, Lin Q, Shi J Y, Wu W X (2005) Biosorption of copper(II) and zinc(II) from aqueous solution by *Pseudomonas putida* CZ1. *Colloid. Surf. B-Biointerfaces* 46, 101-107.

Chergui A, Kerbachi R, Junter G-A (2009) Biosorption of hexacyanoferrate(III) complex anion to dead biomass of the basidiomycete *Pleurotus mutilus*: Biosorbent characterization and batch experiments, *Chem. Eng. J.* 147,150–160

Cheung K H, Gu J D (2007) Mecanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review. *Int. Biodet. Biodeg.* 59, 8-15.

Cheung W K, Szeto Y S, Mckay G (2007) Intraparticle diffusion processes during acid dye adsorption onto chitosan. *Biores. Technol.* 98, 2897-2904.

CHo D H, Chu K H, Kim E Y (2011) Lead uptake and potentiometric titration studies with live and dried cells of *Rhodotorula glutinis*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1911-1917.

Cho D-W, Chon C-M, Kim Y, Jeon B-H, Scwartz F W (2011) Adsorption of nitrate and Cr(VI) by cationic polymer-modified granular activated carbon. *Chem. Eng. J.* 175, 298-305.

Chong K H, Volesky B (1996) Metal biosorption equilibria in a ternary system. *Biotechnol. Bioeng.* 49, 629-638.

Choy K K H, Ko D C K, Cheung C W, Porter J F, Mckay G (2004a) Film and intraparticle mass transfer during adsorption of metal ions onto bone char. *J. Colloid Interf. Science.* 271, 284-295.

Choy K K H, Porter J F, Mckay G (2004b) Intraparticle diffusion in single and multicomponent acid dye adsorption from wastewater onto carbon. *Chem. Eng. J.* 103, 133-145.

Coates J (2000) Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 10815–10837.

Concas A, Pisu M, Cao G (2010) Novel simulation model of the solar collector of BIOCOIL photobioreactors for CO₂ sequestration with microalgae.

Craggs R J (2005) Advanced integrated wastewater pond In: *Pond treatment technology*. Shilton A (ed). IWA London 282-310.

Crank J (1975) *Mathematics of diffusion*. Clarendon Press. 150

Crist R H, Oberholser K, Schwartz D, Marzoff J, Ryder D, Crist D R (1988) Interaction of metals and protons with algae. *Environ. Sci. Technol.* 22, 755-760.

Cui H, Fu M F, Yu S, Wang M K (2011) Reduction and removal of Cr(VI) from aqueous solutions using modified byproducts of beer production. *J. Hazard. Materials* 186, 1625-1631.

D

Davis T A, Volesky B, Mucci A (2003) A review of the biochemistry of heavy metals biosorption by brown algae. *Water Res.* 37, 4311-4330.

De Castro T N, Dantas A A, Moura M C P (2001) Removal of chromium from aqueous solutions by diatomite treated with microemulsion. *Water Res.* 35, 2219-2224.

De Filippis L F, Pallaghy C K (1994) Heavy metals: Sources and biological effects. In: *Algae and Water Pollution*. Rai L C, Gaur J P, Soeder C J (eds). E Scheeizerbart'sche Verlagsbuchhandlung. 31-77.

De la Noue J, Laliberté G, Proulx D (1992) Algae and wastewater. *J Appl. Phycol.* 4, 247-254.

De Nicola E, Meriç S, Della Roca C, Gallo M, Iaccarino M, Manini P, Petruzelli D, Belgiorno V, Cheggour M, Di Gennaro A, Moukrim A, Tünay O, Pagano G (2007) Wastewater toxicity of tannin-versus Chromium-based leather tanneries in Marrakesh, Morocco. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 53 321-328.

De Vargas I, Macaskie I E, Guibal E (2004) Biosorption of palladium and platinum by sulfate reducing bacteria. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79, 49-56.

Debnath S, Ghosh U C (2008) Kinetics, isotherm and thermodynamics for Cr(III) and Cr(VI) adsorption from aqueous solutions by crystalline hydrous titanium oxide. *J. Chem. Thermodynamics* 40, 67-77.

Degen J, Uebele A, Retze A, Schmid U, Trösch W (2001) A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. *Journal of Biotechnol.* 92, 89-94.

Dias M A, Lacerda I C A, Pimentel P F, de Castro H F, Rosa C A (2002) Removal of heavy metals by an *Aspergillus terreus* strain immobilized in a polyurethane matrix. *Letts. Appl. Microbiol.* 34, 46-50.

Dodd J (1986) Elements of pond design and construction. En: *Microalgal mass culture*. Richmond A (ed). Boca Ratón (FL) CRC pp 265-283.

Dönmez G C, Aksu Z, Öztürk A, Kutsal T (1999) A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae. *Process Biochem.* 34, 885-892.

Dönmez G, Aksu Z (2002) Removal of chromium (VI) from saline wastewaters by *Dunaliella* species. *Process Biochem.* 38 751-762.

Doshi H, Ray A, Kothari I L (2007) Bioremediation potential of live and dead *Spirulina*: Spectroscopic, kinetics and SEM studies. *Biotechnol. Bioeng.* 96, (6) 1051-1063.

Duruibe J O, Ogwuegbu M O (2007) Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *Int. J. Phy. Sci.* 2, 112-118.

E

Eazmovski R, Sciban M (2008) Biosorption of Cr(VI) and Cu(II) by waste tea fungal biomass. *Ecol. Eng.* 34, 179-186.

El Sikaily A, El Nerm A, Khaled A, Abdelwehab O (2007) Removal of toxic chromium from wastewater using green algae *Ulva lactuca* and its activated carbon. *J. Hazard. Mat.* 148, 216-228.

El Yousfi F (1995) Análisis del consumo de fósforo y crecimiento de *Scenedesmus obliquus* en fotobioreactores discontinuo y continuo. Tesis doctoral. Universidad de Granada.

El-Naas M H, Al-Rub F A, Ashour I, Marzouqi M A (2007) Effect of competitive interference on the biosorption of lead(II) by *Chlorella regularis*. *Chem. Eng. and Process.* 46, 1391-1399.

Elsey D, Jameson D, Raleigh B, Cooney M J (2007) Fluorescent measurement of microalgal neutral lipids. *J. of Microbiol. Methods* 68, 639-642.

Eriksen N T, Geest T, Iversen J J (1996) Phototrophic growth in the lumostat: a photobioreactor with on-line optimization of light intensity. *J. Appl. Phycol.* 8, 345-352.

Esposito A, Pagnanelli F, Lodi A, Solisio C, Veglio F (2001) Biosorption of heavy metals by *Sphaerotilus natans*: An equilibrium study at different pH and biomass concentrations. *Hydrometallurgy* 60, 129-141.

Esposito A, Pagnanelli F, Vegliò F (2002) pH-related equilibria models for biosorption in single metal systems. *Chem. Sci. Technol.* 35, 3048-3054.

F

Feng D, Aldrich C (2004) Adsorption of heavy metals by biomaterials derived from marine alga *Ecklonia maxima*. Hydrometallurgy 73, 1-10.

Fierro S, Sánchez M^a P, Copálcuca C (2008) Nitrate and phosphate removal by chitosan immobilized *Scenedesmus*. Biores. Technol. 99, 1274-1279.

Fourest E, Volesky B (1996) Contribution of sulphonate groups and alginate to heavy metal biosorption by the dry biomass of *Sargassum fluitans*. Environ. Sci. Technol. 30 (1), 277-282.

Freundlich H (1907) Ueber die adsorption in Loesungen. Z. Phys. Chem. 57, 385-470.

Fu F, Wang Q (2011) Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. J. Environ. Manag. 92, 407-418.

G

Gadd G M (2009) Biosorption: critical review of scientific rationales, environmental importance and significance for pollution treatment. J Chem. Technol. Biotechnol. 84 13-28.

Gasser M S, Morad G H A, Aly H F (2007) Batch kinetics and thermodynamics of chromium ions removal from waste solutions using synthetic adsorbents. J. Hazard. Mater. 142, 118-129.

Ghasemi M, Keshtkar A R, Dabbagh R, Safdari S J (2011) Biosorption of uranium (VI) from aqueous solutions by Ca-pretreated *Cystoseira indica* alga: Breakthrough curves studies and modeling.

Gin K Y, Tang Y Z, Aziz M A (2002) Derivation and application of a new model for heavy metal biosorption by algae. Water Res. 36, 1313-1323.

Godos I, Blanco S, García P A, Becares E, Muñoz R (2009) Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates. Biores. Technol. 100, 4332-4339.

Gokhale S V, Jyoti K K, Lele S S (2008) Kinetic and equilibrium modeling of chromium (VI) biosorption on fresh and spent *Spirulina platensis/Chlorella vulgaris* biomass. Biores. Technol. 99, 3600-3608.

Gokhale S V, Jyoti K K, Lele S S (2009) Modelling of chromium (VI) biosorption by immobilized *Spirulina platensis* in packed column. J. Hazard. Mater. 170, 735-743.

Goksungur Y, Uren S, Guvenc U (2005) Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass. *Biores. Technol.* 96, 103-109.

Gram G (1988) Equivalence volumes in potentiometric titrations. *Anal. Chimica Acta.* 206, 111-123.

Griffiths M J, Harrison S T L (2009) Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J Appl. Phycol.* 21: 493-507.

Gupta V K, Rastogi A (2008) Biosorption of lead from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species : Kinetics and equilibrium studies. *J. Hazard. Mater.* 152, 407-414.

Gupta V K, Shrivastava A K, Jain N (2001) Biosorption of chromium (VI) from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species. *Water Res.* 35, 4079-4085.

Güru M, Venedik D, Murathan A (2008) Removal of trivalent chromium from wastewater using low cost natural diatomite. *J. Hazard. Mat.* 160, 318-323.

H

Han X, Wong Y S, Wong M H , Tam N F Y (2008) Effects of anion species and concentration on the removal of Cr(VI) by a microalgal isolate, *Chlorella miniata*. *J. Hazard. Materials* 158, 615-620.

Han X, Wong Y S, Wong M H, Tam N F Y (2006) Surface complexation mechanism and modeling in Cr(III) biosorption by a microalgal isolate, *Chlorella miniata*. *J. Colloid Interface Sci.* 303, 365-371.

Han X, Wong Y S, Wong M H, Tam N F Y (2007) Biosorption and bioreduction of Cr(VI) by a microalgal isolate, *Chlorella miniata*. *J. Hazard. Mat.* 146, 65-72.

Hashimoto S, Furukawa K J (1989) *J Ferment. Bioeng.* 67 (1), 62.

Haskim M A, Chu K H (2001) Modeling of the batch adsorption of copper by the microalga *Chlorella vulgaris* In: *Proceedings of the Sixth World Congress Of Chemical Engineering.* Melbourne. Australia.

Hodaifa G (2004) Aprovechamiento de las aguas residuales de la industria oleícola en la producción de biomasa de microalgas. Tesis doctoral. Universidad de Jaén.

Hodaifa G, Martínez M^a E, Sánchez S (2008) Use of industrial wastewater from olive-oil extraction from biomass production of *Scenedesmus obliquus*. *Biores. Technol.* 99, 1111-1117.

Hodaifa G, Martínez M^a E, Sánchez S (2009a) Daily doses of light in relation to the growth of *Scenedesmus obliquus* in diluted three-phase olive-mill wastewater. J. Chem. Technol. Biotechnol. 84, 1550-1558.

Hodaifa G, Martínez M^a E, Sánchez S (2009b) Influence of temperature on growth of *Scenedesmus obliquus* in diluted olive mill wastewater as culture medium. Eng. Life. Sci. 10, 257-264.

Holan Z R, Volesky B (1995) Accumulation of cadmium, lead, and nickel by fungal and wood biosorbents. Appl. Environ. Microbiol. 53, 133-146.

Hsieh C H, Wu W T (2009) Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation. Biores. Technol. 100, 3921-3926.

Hu X-J, Wang J-S, Liu Y-G, LI X, Zeng G-M, Bao Z-L, Zeng X-X, Chen A-W, Long F (2011) Adsorption of chromium (VI) by ethylenediamine-modified cross-linked magnetic chitosan resin: Isotherms, kinetics and thermodynamics. J. Hazard. Materials 185, 306-314.

Huang G, Chen F, Wei D, Zhang X, Chen G (2010) Biodiesel production by microalgal biotechnology. Appl. Energy 87, 38-46.

I

Inthorn D (2001) Removal of heavy metal by using microalgae In: Photosynthetic microorganisms in environmental biotechnology. Hiroyuki K, Yuan Kun L (ed) Springer Hon-Kong 111-136.

J

Jácome C R, Cristiani E, Floes L, Velasco R, Ponce T, Cañizares R O (2009) Continuous Cr (VI) removal by *Scenedesmus incrassatulus* in an air lift photobioreactor. Biores. Technol. 100, 2388-2391.

Jae-Yong L, Chan Y, So-Young J, Chi-Yong A, Hee-Mock O (2010) Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. Biores. Technol. 101, 575-577.

Javornicky P, Soeder C J, Komarek J, Lhotsky O (1973) Arch. Hydrobiol. 41, 450

Jin X J, Kushner D J, Nalewajko C (1996) Nickel uptake and release in nickel-resistant and sensitive strains of *Scenedesmus acutus* f. *alternans* (Chlorophyceae). Environ. Exp. Botany 36, 401-411.

Jin-Young A, Sang-Jun S, Jin Suk L, Byung W K (2003) Hydrocarbon production from secondarily treated piggery wastewater by the green alga *Botryococcus braunii*. J. of Appl. Phycol. 15, 185-191.

Jorquera O, Kiperstok A, Sales E A, EmbiruÇu M, Ghirardi M L (2010) Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. Biores. Technol. 101, 1406-1413.

K

Kalacheva S G, Zhila O N, Volova T G (2002) Lipid and hydrocarbon compositions of a collection strain and a wild sample of the green microalga *Botryococcus*. Aquat. Ecol. 36, 317-330.

Kang C D, An J Y, Park T H, Sim S J (2006) Astaxanthin biosynthesis from simultaneous N and P uptake by the green alga *Haematococcus pluvialis* in primary-treated wastewater. Biochem. Eng. J. 31, 234-238.

Kapetas L, Ngwenya B T, Macdonald A M, Elphick S C (2011) Kinetics of bacterial potentiometric titrations: The effect of equilibration time on buffering capacity of *Pantoea agglomerans* suspensions. Journal of Colloid and Interface Science, 359, 481–486

Kapoor A, Viraraghavan T, Cullimore D R (1999) Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. Biores. Technol. 70, 95-104.

Karthikeyan T, Rajgopal S, Miranda L R (2005) Chromium (VI) adsorption from aqueous solution by *Hevea brasiliensis* sawdust activated carbon. J. Hazard. Materials B124, 192-199.

Karticioglu H, Aslim B, Türker A R, Atici T, Beyatli Y (2008) Removal of cadmium(II) ion from aqueous system by dry biomass, immobilized live and heat-inactivated *Oscillatoria sp. H1* isolated from freshwater (Morgan Lake). Biores. Technol. 99, 4185-4191.

Kathiravan M N, Rani R K, Karthich R, Muthukumar K (2010) Mass transfer studies on the reduction of Cr(VI) using calcium alginate immobilized *Bacillus sp.* In packed bed reactor. Biores. Technol. 101, 853-858.

Kaya V M, Goulet J, de la Noüe J, Picard G (1996) Effect of intermittent CO₂ enrichment during nutrient starvation on tertiary treatment of wastewater by alginate – immobilized *Scenedesmus bicellularis*. Enzyme Microbiol. Technol. 18, 550-554.

Khambhaty Y, Mody K, Basha S, Bhavanath J. (2009) Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies on biosorption of hexavalent chromium by dead fungal biomass of marine *Aspergillus niger*. Chem. Eng. J. 145, 489-495.

Kim M K, Park J W, Park C S, Kim S J, Jeune, Chang M U, Acreman J (2007) Enhances production of *Scenedesmus* sp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. Biores. Biotechnol. 98, 2220-2228.

Koble R A, Corrigan T E (1952) Ind. Eng. Chem. 44, 383.

Kojima E, Zhang K (1999) Growth and hydrocarbon production of microalga *Botryococcus braunii* in bubble column photobioreactors. Journal of Biosci. and Bioeng. 87, 6, 811-815.

Kong Q, Li L, Martínez B, Chen P, Ruan R (2010) Culture of microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in wastewater for biomass feedstock production. Appl. Biochem. Biotechnol. 160, 9-18.

Kotas J, Stasicka Z (2000) Chromium occurrence on the environment and methods of its speciation. Environ. Pollut. 107, 263-283.

Kratochvil D, Volesky B (1998) Removal of trivalent and hexavalent chromium by seaweed biosorbent. Environ. Sci. Technol. 32, 2693-2698.

Kumar D, Gaur J P (2011) Chemical reaction-and particle diffusion-based kinetic modeling of metal biosorption by a *Phormidium* sp.- dominated cyanobacterial mat. Biores. Technol. 102, 633-640

Kumar K V, Porkodi K (2007) Mass transfer, kinetics and equilibrium studies for the biosorption of methylene blue using *Paspalum notatum*. J Hazard. Mat.146, 214-226.

Kumar R, Bhatia D, Singh R, Bishnoi N R (2012) Metal tolerance and sequestration of Ni(II), Zn(II) and Cr(VI) ions from simulated and electroplating wastewater in batch process: Kinetics and equilibrium study. Intern. Biodet. Biodegr. 66, 82-90.

Kunjapur AM, Eldridge RB (2010) Photobioreactor design for commercial biodiesel production from microalgae. Ind. Eng. Chem. Res. 49, 3516-3526.

L

Langmuir I (1918) The adsorption of gases on plane surface of glass, mica and platinum. J. Am. Chem. Soc. 40, 1361-1403.

Lara M^a A (2008) Caracterización y aplicación de biomasa residual a la eliminación de metales pesados, Tesis doctoral. Universidad de Granada.

Lardon L, Hélias A, Stalve B, Steyer P, Bernard O (2009) Life-cycle assessment of biodiesel production from microalgae. *Environ. Sci. Technol.* 43, 6475-6481.

Largeau C, Casadeval E, Berkaloff C, Dhaliencourt P (1980) Sites of accumulation and composition of the hydrocarbons in *Botryococcus braunii*. *Phytochem.* 19, 1043-1048.

Lau P S, Lee H Y, Tsang C C, Tam N F, Wong Y S (1999) Effect of metal interference, pH and temperature on Cu and Ni biosorption by *Chlorella vulgaris* and *Chlorella miniata*. *Environ. Technol.* 20, 953-961.

Laurent L, Casellasa M, Carrèreb H, Dagota C (2011) Effects of thermal hydrolysis on activated sludge solubilization, surface properties and heavy metals biosorption, *Chem. Eng. J.* 166, 841-849.

Lazaridis N K, Charalambous Ch (2005) Sorptive removal of trivalent and hexavalent chromium from binary aqueous solutions by composite alginate-goethite beads. *Water Res.* 39, 4385-4396.

Lee A K, Lewis D M, Ashman P (2009). Microbial flocculation, a potential low-cost harvesting technique for marine production microalgae for the production of biodiesel. *J. Appl. Phycol.* 21, 559-567.

Lee H S, Suh J H, Kim B I, Yoon T (2004) Effect of aluminum in two metal biosorption by an algal biosorbent. *Minerals Eng.* 17, 487-493.

Lehr F, Posten C (2009) Closed photobioreactors as tools for biofuel production. *Current Opinion in Biotechnology.* 20, 280-285.

Lepage G, Roy C C (1984) Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *J. Lipid. Res.* 25, 1391-1396.

Lesmana S, Febriana N, Soetaredjo F E, Sunarso J, Ismadji S (2009) Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater. *Biochem. Eng. J.* 44, 19-41.

Li Jiayi, Gu Ji-Dong, Pan Li (2005) Transformation of dimethyl phthalate, dimethyl isophthalate and dimethyl terephthalate by *Rhodococcus ruber* Sa and modeling the processes using the modified Gompertz model. *Intern. Biodet. Biodeg.* 55, 223-232.

Liu Y, Liu Y-J (2008) Biosorption isotherms, kinetics and thermodynamics. *Separation and Purification Technol.* 61, 229-242.

Liu, S y Suflita J M (1993). Ecology and evolution of microbial populations for bioremediation. *Trends Biotechnol.* 11, 344-352.

Lopes da Silva T, Reis A, Medeiros R, Oliveira A C, Gouveia L (2009) Oil production towards biofuel from autotrophic microalgae semicontinuous cultivation monitorized by flow cytometry. *Appl Biochem. Biotechnol.* 159, 568-578.

López-García M, Lodeiro P, Barriada J L, Herrero R, Sastre M E (2010) Reduction of Cr(VI) levels in solution using bracken fern biomass: Batch and column studies. *Chem. Eng. J.* 165, 517-523.

M

Macaskie L E (1990) An immobilized cell bioprocess for the removal of heavy metals from aqueous flows *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 49, 357-379.

Madigan M T, Martinko J M, Parker J (2001) Eukarya: microorganismos eucarióticos. In: Brock. *Biología de los microorganismos.* Prentice Hall Iberia. Madrid. 769-784.

Mallick N (2002) Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: A review. *Biometals* 15, 377-390.

Mameri N, Boudries N, Addour L, Belhocine D, Lounici H, Grib H (1999) Batch biosorption by a bacterial nonliving *Streptomyces rimosus* biomass. *Water Res.* 33, 1347-1354.

Mandal S, Mallick N (2009) Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84, 281-291.

Mao Q M, Stockman R, Prince I G, Hearn M T W (1993) Modeling of protein adsorption with non-porous and porous particles in a finite bath. *J. Chromatogr.* 646, 67-80.

Markou G, Georgakakis D (2011) Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. *Appl. En.* 88, 3389-3401.

Martín Lara M A (2008) Caracterización y aplicación de biomasa residual a la eliminación de metales pesados. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.

Martínez M E, Sánchez S, Jiménez J M, El Yousfi F, Muñoz L (2000) Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Biores. Technol.* 73, 263-272.

Martín-Lara M A, Pagnanelli F, Mainelli S, Calero M, Toro L (2008) Chemical treatment of olive pomace: Effect on acid-basic properties and metal biosorption capacity. *J. Hazard. Mater.* 156, 448-457.

Massara H, Mulligan C N, Hadjinicolaou J (2008) Hexavalent chromium removal by viable, granular aerobic biomass. *Biores. Technol.* 99, 8637-8642.

Mata T M, Martins A A, Caetano N S (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and sustainable energy reviews* 14, 217-232.

Matheical J T, Yu Q (1996) Biosorption of lead from aqueous solutions by marine alga *Ecklonia radicata*. *Water Sci. Technol.* 34, 1-7.

Mathews C K, Holde K E, Ahern K G (2002) Fotosíntesis. En: *Bioquímica*. Pearson Educación. Madrid. 665-700.

McKay G, Otterburn M S, Aga J A (1987) Intraparticle diffusion process occurring during adsorption of dyestuffs. *Water Air and Soil Pollution* 36, 381-390.

Mehta S K, Gaur J P (2001) Concurrent sorption of Ni and Cu by *Chlorella vulgaris* from a binary metal solution. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, 379-382.

Mehta S K, Gaur J P (2005) Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospects. *Crit. Rev. In Biotechnol* 25, 113-152.

Melis A (2009) Solar energy conversion efficiencies in photosynthesis: Minimizing the chlorophyll antennae to maximize efficiency. *Plant Sci.* 177, 272-280.

Metzger P, Berkloff C, Casadevall E, Coute A (1985) Alkadiene and botryococcene producing races of wild strains of *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry* 24, 2305-2312.

Molina E, Fernández J, Acién F G, Chisti Y (2001) Tubular photobioreactor design for algal cultures. *J. Biotechnol.* 92, 113-31.

Mona S, Kaushik A, Kaushik C P (2011) Biosorption of chromium(VI) by spent cyanobacterial biomass from a hydrogen fermentor using Box-Benken model. *Inter. Biodet. Biodeg.* 65, 656-663.

Morales L, Cristiani E (2006) Removal of hexavalent chromium by *Trichoderma viride* in an air lift bioreactor. *Enzyme Microb. Technol.* 40, 107-113.

Mungasavalli D P, Viraraghavan T, Jin Y-C (2007) Biosorption of chromium from aqueous solutions by pretreated *Aspergillus niger*. Batch and column studies, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 301, 214–223.

Muñoz L (1997) Eliminación de nitrógeno y fósforo de aguas residuales urbanas mediante *Scenedesmus obliquus* en un fotobio-reactor discontinuo. Tesis de Licenciatura. Universidad de Granada.

Muñoz R, Guieysse B (2006) Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Res.* 40, 2799-2815.

Murphy V, Tofail S A M, Hughes H, McLoughlin P (2008) Comparative study of chromium biosorption by red, green and brown seaweed biomass. *Chemosphere* 70, 1128–1134.

Murphy V, Tofail S A M, Hughes H, McLoughlin P (2009) A novel study of hexavalent chromium detoxification by selected seaweed species using SEM-EDX and XPS analysis. *Chem. Eng. J.* 148, 425-433.

N

Naja G, Deneux-Mustin S, Mustin C, Rouiller J, Munier-Lamy C, Berthelin J (1999) Potentiometric Titration: a Dynamic Method to study the Metal Binding-Mechanism of Microbial Biomass. *Process Metallurgy*, 9, 201-210

Naja G, Mustin C, Berthelin J, Volesky B (2005) Lead biosorption study with *Rhizopus arrhizus* using a metal-based titration technique, *Journal of Colloid and Interface Science* 292, 537–543

Nakajima A, Tsuruta T (2004) Competitive biosorption of thorium and uranium by *Micrococcus luteus*. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 260, 13-18.

Neilson A H, Lewin R A (1974) *Phycologia* 13, 227

Nguyen R T, Harvey H R, Zang X, Van Heemst J D H, Hetényi M, Hatcher P G (2003) Preservation of algenan and proteinaceous material during the oxic decay of *Botryococcus braunii* as revealed by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry and ¹³C NMR spectroscopy. *Organic Geochem.* 34, 483-497.

Niu H, Xu X S, Wag J H, Volesky B (1993) Removal of lead from aqueous solutions by *Penicillium* biomass. *Biotechnol. Bioeng.* 42, 785-787.

O

OChie V, Trifestari K, Sunarso J, Indraswati N, Ismadji S (2008) Recent progress on biosorption of heavy metals from liquids using low cost biosorbents: characterization, biosorption parameters and mechanism studies. *Clean* 36 (12), 937-962.

Oguz E (2005) Adsorption characteristics and the kinetics of the Cr(VI) on the *Thuja orientalis*. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 252, 121-128.

Olguín E J (2003b) Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnol. Adv.* 22, 81-91.

Olguín E J, Galicia S, Camacho R, Mercado G, Pérez T (1997) Production of *Spirulina* sp. in sea water supplemented with anaerobic effluents in outdoor raceways under climatic conditions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48, 242-247.

Olguín E J, Galicia S, Mercado G, Pérez T (2003a) Annual productivity of *Spirulina* and nutrient removal in a pig wastewater recycling process, under tropical conditions. *J. Appl. Phycol.* 15, 249-257.

Onyancha D, Mavura W, Ngila J C, Ongoma P, Chacha J (2008) Studies of chromium removal from tannery wastewaters by algae biosorbents, *Spirogyra condensata* and *Rhizoclonium hieroglyphicum*. *J. Hazard. Mater.* 158, 605-614.

Orpez R (2012) Tesis Doctoral en redacción. Universidad de Jaén.

Oswald W J (1963) High rate ponds in waste disposal. *Dev. Ind. Microbiol.* 4, 112-119.

Oswald W J (1988) Micro-algae and waste water treatment. In: *Microalgal Biotechnology*. Borowitzka, M B L (ed). Cambridge University Press. Cambridge, 305-328.

Oswald W J (1995) Ponds in the twenty-first century. *Water Sci. Technol.* 31, 1-8.

Ozer A, Ozer D (2003) Comparative study of the biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ions onto *S cerevisiae*: determination of biosorption heats. *J. Hazard. Mater.* 100, 219-229.

Ozturk A (2007) Removal of nickel from aqueous solution by the bacterium *Bacillus thurigiensis*. *J. Hazard. Mater.* 147, 518-523.

Ozturk A, Artan T, Ayar A (2004) Biosorption of nickel(II) and copper(II) ions from aqueous solution by *Streptomyces coelicolor* A3(2). Colloid. Sur. B-Biointerfaces 34, 105-111.

P

Pagand P, Blancheton J P, Lemoalle J, Casellas C (2002) The use of high rate algal ponds for the treatment of marine effluent from a recirculating fish rearing system. Aquac. Res. 31, 729-736.

Pagnanelli F, Mainelli S, Toro L (2008) New biosorbent materials for heavy metal removal: product development guided by active site characterization. Water Res. 42, 2953-2962.

Pagnanelli F, Esposito A, Toro L, Vegliò F (2003) Metal speciation and pH effect on Pb, Cu, Zn and Cd biosorption onto *Sphaerotilus natans*: Langmuir-type empirical model. Water Res. 37, 627-633.

Pagnanelli F, Petrangeli P, Toro L, Trifoni M, Vegliò F (2000) Biosorption of metal ions on *Arthrobacter* sp: Biomass characterization and biosorption modeling. Environ. Sci. Technol. 34, 2773-2778.

Pagnanelli F, Vegliò F, Luigi T (2004) Modelling of the acid–base properties of natural and synthetic adsorbent materials used for heavy metal removal from aqueous solutions. Chemosphere, 54, 905-915.

Palk M J, Kim H, Lee J, Brand J, Kim K R (2009) Separation of triacylglycerols and free fatty acids in microalgal lipids by solid-phase extraction for separate fatty acid profiling analysis by gas chromatography. J. Chromatogr. 1216, 5917-5923.

Panda M, Bhowal A, Datta S (2011) Removal of hexavalent chromium by biosorption process in rotating packed bed. Environ. Sci. Technol. 45, 8460-8466.

Pang Y, Zeng G-M, Tang L, Zhang Y, Liu Y-Y, Lei X-X (2011) Cr(VI) reduction by *Pseudomonas aeruginosa* immobilized in a polyvinyl alcohol/sodium alginate matrix containing multi-walled carbon nanotubes. Biores. Technol. 102, 10733-10736.

Pardo R, Herguedas M, Barrado E, Vega M (2003) Biosorption of cadmium, copper, lead, and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas putida*. Anal. Bioanal. Chem. 376, 26-32.

Park J K, Lee J W, Jung J Y (2003) Cadmium uptake capacity of two strains of *Saccharomyces cerevisiae* cells. Enzyme Microb. Technol. 33, 371-378.

Park D, Ahn C K, Kim Y M, Yun Y S, Park J M (2008a) Enhanced abiotic reduction of Cr(VI) in a soil slurry system by natural biomaterial addition. *J. Hazard. Mater.* 160, 422-427.

Park D, Lim S R, Yun Y S, Park J M (2007b) Reliable evidences that the removal mechanism of hexavalent chromium by natural biomaterials in adsorption-coupled reduction. *Chemosphere* 70, 298-305.

Park D, Lim S-R, Yun Y-S, Park J M (2008c) Development of a new Cr(VI)-biosorbent from agricultural biowaste. *Biores. Technol.* 99, 8810-8818.

Park D, Park J M (2006) Mechanism of the removal of hexavalent chromium by biomaterials or biomaterials-based activated carbons. *J. Hazard. Mater.* B137, 1254-1257.

Park D, Yun Y S, Ahn C K, Park J M (2007a) Kinetics of the reduction of hexavalent chromium with the brown seaweed *Ecklonia* biomass. *Chemosphere* 66, 939-946.

Park D, Yun Y S, Kim J Y, Park J M (2008b) How to study Cr(VI) biosorption: Use of fermentation waste for detoxifying Cr(VI) in aqueous solution. *Chem. Eng. J.* 136, 173-179.

Park D, Yun Y S, Lee H W, Park J M (2008) Advanced kinetic model of the Cr(VI) removal by biomaterials at various pHs and temperatures. *Biores. Technol.* 99, 1141-1147.

Park D, Yun Y S, Park J M (2004a) Reduction of hexavalent chromium with the brown seaweed *Ecklonia* biomass. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4860-4864.

Park D, Yun Y-S, Ho J H, Park J M (2005d) Effects of ionic strength, background electrolytes, heavy metals, and redox active species on the reduction of hexavalent chromium by *Ecklonia* biomass. *J. Microbiol. Biotechnol.* 15 (4), 780-786.

Park D, Yun Y-S, Jo J H, Park J M (2005a) Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*. *Water Res.* 39, 533-540.

Park D, Yun Y-S, Park J M (2005b) Use of dead fungal biomass for the detoxification of hexavalent chromium: screening and kinetics. *Process Biochem.* 40, 2559-2565.

Park D, Yun Y-S, Park J M (2005c) Studies on hexavalent chromium biosorption by chemically-treated biomass of *Ecklonia* sp. *Chemosphere* 60, 1356-1364.

Park J B K, Craggs R J, Shilton A N (2011) Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Biores. Technol.* 102, 35-42.

Parvathi K., Nagendran R (2008) Functional groups on waste beer yeast involved in chromium biosorption from electroplating effluent. *World J Microbiol Biotechnol*, 24, 2865–2870.

Pellón A, Benítez F, Frades J, García L, Cerpa A, Alguacil F J (2003) *Revista de metalurgia* 39, 9-16.

Perales H V, Peña-Castro J M, Cañizares R (2006) Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere* 64, 1-10.

Pistorius A M A, DeGrip W J, Egorova T A (2009) Monitoring of biomass composition from microbiological sources by means of FT-IR spectroscopy. *Biotechnol. Bioeng.* 103, 123-129.

Ponou J, Kim J, Wang L P, Dodbiba G, Fujita T (2011) Sorption of Cr(VI) anions in aqueous solution using carbonized or dried pineapple leaves. *Chem. Eng. J.* 172, 906-913.

Powell N, Shilton A, Chisti Y, Pratt S (2009) Towards a luxury uptake process via microalgae- Defining the polyphosphate dynamics. *Water Res.* 43, 4207-4213.

Pruvost J, Van Vooren G, Cogne G, Legrand J (2009) Investigation of biomass and lipids production with *Neochloris oleoabundans* in photobioreactor. *Biores. Technol.* 100, 5988-5995.

Q

Qiu H, Pan B, Zhang Q, Zhang W (2009) Critical review in adsorption kinetics models. *J. Zhejiang University Science A* 10, 716-724.

R

Radke C J, Prausnitz J M (1972) Thermodynamics of multisolite adsorption from dilute liquid solutions. *AIChE J.* 18, 761-768.

Rai L C, Gaur J P, Kumar H D (1981) Phycology and heavy metal pollution. *Biol. Rev.* 56, 99.

Raize O, Argaman Y, Yannai S (2004) Mechanisms of biosorption of different heavy metals by brown marine microalgae. *Biotechnol. Bioeng.* 87, 451-458.

Ramírez M, Pereira M, Ferreira S, Vasco O (2007) Mathematical models applied to the Cr(III) and Cr(VI) breakthrough curves. *J. Hazard. Mat.* 146, 86-90.

Ramrakhiani L, Majumder R, Khowala S (2011) Removal of hexavalent chromium by heat inactivated fungal biomass of *Termitomyces chypeatus*: Surface characterization and mechanism of biosorption, *Chem. Eng. J.* 171, 1060-1068.

Rapoport A L, Muler O A (1995) Biosorption of hexavalent chromium by yeasts. *Process. Biochem.* 30, 145-149.

Rawat I, Kumar R R, Mutanda T, Bux F (2011) Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Appl. Ener.* 88, 3411-3424.

Razmovski R, Sciban M (2008) Biosorption of Cr(VI) and Cu(II) by waste tea fungal biomass. *Ecolog. Eng.* 34, 179-186.

Redlich O, Peterson D L (1959) A useful adsorption isotherm. *J. Phys. Chem.* 63, 1024.

Remacle J (1990) The cell wall and metal binding In: *Biosorption of heavy metals*. Volesky B (ed) CRC Press, 83-92.

Ritchie A G (1977) Alternative to the Elovich equation for the kinetic of adsorption of gases on solids *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 73, 1650-1653.

Rivera J, Sánchez M (2003) Adsorption of Cr(III) on ozonised activated carbon. Importance of C π -cation interactions. 37, 3335-3340.

Rodríguez M E, Miranda R C, Olivas R, Sosa C A (2008) Efectos de las condiciones de operación sobre la biosorción de Pb²⁺, Cd²⁺, Cr³⁺ en solución por *Sacharomyces cerevisiae* residual. *Inf. Technol.* 19 (6), 47-55.

Rodríguez-López M (1964) Influence of the inoculums and the medium on the growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *Nature* 203, 666-667.

Romero M E, Williams C J, Gardiner P H E (2001) Study of the mechanism of cadmium biosorption by dealginated seaweed waste. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3025-3030.

Ruiz A, Mendoza L G, Stephenson T (2010) Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semicontinuous cultures treating real wastewater. *Biores. Technol.* 101, 58-64.

S

Sag Y, Aktay Y (200) Mass transfer and equilibrium studies for the sorption of chromium ions onto chitin. *Process. Biochem.* 36, 157-173.

Saha B, Orvig C (2010) Biosorbents for hexavalent chromium elimination from industrial and municipal effluents. *Coord. Chem. Rev.* 254, 2959-2972.

Sandau E, Sandau P, Pulz O, Zimmerman M (1996) Heavy metal sorption by microalgae. *Acta Biotechnol.* 16, 227-235.

Sawayama S, Minowa T, Dote Y, Yokoyama S (1992) Growth of the hydrocarbon-rich microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 38, 135-138.

Schiewer S (1999) Modeling complexation and electrostatic attraction in heavy metal biosorption by *Sargassum* biomass. *J. App. Phycol.* 11, 79-87.

Selatnia A, Boukazouia A, Echid N, Bakhti M Z, Chergui A, Kerchich Y (2004) Biosorption of lead(II) from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Biochem. Bioeng. J.* 19, 127-135.

Shen L, Xia J-L, He H, Nie Z-Y (2008) Comparative study on biosorption of Pb(II) and Cr(VI) by *Synechococcus sp.* *Trans. Nonferrous Met. Soc. China* 18, 1136-1342.

Sheng P X, Wee K H, Ting Y P, Chen J P (2008) Biosorption of copper by immobilized marine algal biomass. *Chem. Eng. J.* 136, 156-163.

Shi J, Podola B, Melkonian M (2007) Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. *J. Appl. Phycol.* 19, 417-423.

Sierra E, Acién F G, Fernández J M, García J L, González C, Molina E (2008) Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chem. Eng. J.* 138, 136-147.

Singha B, Das S K (2011) Biosorption of Cr(VI) ions from aqueous solutions: Kinetics, equilibrium, thermodynamics and desorption studies. *Colloids and Surf. B: Biointerfaces* 84, 221-232.

Sips S (1948) On the structure of a catalyst surface. *J. Chem. Phys.* 16, 490-495.

Soeder C J, Hegewald E (1988) *Scenedesmus* In: *Microalgal Biotechnology* Borowitzka M A, Borowitzka L J (ed) Cambridge University Press. Cambridge

Spanelova M, Machovic V, Brezina M (2003) Characterization and sorption properties of *Aspergillus niger* waste biomass. *Cent. Eur. J. Chem.* 1, 192-200.

Srinah T, Verma T, Ramteke P W, Garg S K (2002) Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. *Chemosphere* 48, 427-435.

Srivastava V, Weng C H, Singh V K, Sharma Y C (2011) Adsorption of nickel ions from aqueous solutions by nano alumina: Kinetic, mass transfer, and equilibrium studies *J. of Chem. Eng. Data.* 56, 1414-1422.

Stanley N (2002) <http://www.sas.org/E-Bulletin/2002-08-23/chem/body.html>

Stern R M (1982) Chromium compounds: production and occupational exposure. In: *Biological and Environmental Aspects of Chromium.* Langard S (ed) Elsevier Amsterdam 5-47.

Su H J, Zhao Y, Li J, Tan T W (2006) Biosorption of Ni by the surface molecular imprinting adsorbent. *Process. Biochem.* 41, 1422-1426.

Sydney E B, Silva T E, Tokarski A, Novak A C, Carvalho J C, Woiciechowski A L, Larroche C, Soccol C R (2011) Screening of microalgae with potential for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage. *Appl. En.* 88, 3291-3294.

Sze M F F, McKay G (2010) An adsorption diffusion model for removal of para-chlorophenol by activated carbon derived from bituminous coal. *Environ. Poll.* 158, 1669-1674.

T

Tam N F Y, Wong Y S (2000) Effect of immobilized microalgal bead concentrations on wastewater nutrient removal. *Environ. Poll.* 107, 145-151.

Tan T W, Cheng P (2003) Biosorption of metal ions with *Penicillium chrysogenum* *Appl. Biochem. Biotechnol.* 104, 119-1128.

Tenorio G (2006) Caracterización de la biosorción de cromo con hueso de aceituna. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.

Tian Y, Ji C, Zhaob M, Xub M, Zhangb Y, Wangb R (2010) Preparation and characterization of baker's yeast modified by nano-Fe₃O₄: Application of biosorption of methyl violet in aqueous solution. *Chem. Eng. J.* 165, 474-481.

Ting Y P, Teo W K, Soh C Y (1995) Gold uptake by *Chlorella vulgaris*. *J. Appl. Phycol.* 7, 97-100.

Toth J (1971) *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 69, 311.

Trainor F R, Cain J R, Shubert L E (1976) Morphology and nutrition of the colonial green alga *Scenedesmus*, 80 years later. Bot. Rev. 42, 5-25.

Travieso L, Benítez F, Sánchez E, Borja R, Martín A, Colmenarejo M F (2006) Batch mixed culture of *Chlorella vulgaris* using settled and diluted piggery waste. Ecol. Eng. 28, 158-165.

Travieso L, Pellón A, Benítez F, Sánchez E, Borja E, O'Farrill N, Weiland P (2002) BIOALGA reactor: preliminary studies for heavy metals removal. Biochem. Eng. J. 12, 87-91.

Tsezos M, Noh S H, Baird M H I (1988) A batch reactor mass transfer kinetic model for immobilized biomass biosorption. Biotechnol. Bioeng. 32, 545.

Tunali S, Cabuk A, Akar T (2006) Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. Chem. Eng. J. 115, 203-211.

U

Urrutia M M (1997) General Bacterial Sorption Processes In: Biosorbents for metal ions. Wase J F (ed) CRC Press, 39-66.

Uslu G, Tanyol M (2006) Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead(II) and copper(II) ions onto *Pseudomonas putida*: effect of temperature. J. Hazard Mater. 135, 87-93.

V

Vadivelan V, Kumar K V (2005) Equilibrium, kinetics, mechanism, and process design for the sorption of methylene blue onto rice husk. J. of Colloid and Interf. Sci. 286, 90-100.

Vegliò F, Beolchini F (1997) Removal of metals by biosorption: a review. Hydrometallurgy 44 (3), 4895-4903.

Venugopal V, Mohanty K (2011) Biosorptive uptake of Cr(VI) from aqueous solutions by *Parthenium hysterophorus* weed: Equilibrium, kinetics and thermodynamic studies. Chem. Eng. J. 174, 151-158.

Vijayaraghavan K, Han M H, Choi S B, Yun Y S (2007) Biosorption of reactive black 5 by *Corynebacterium glutamicum* immobilized in alginate and polysulfone matrices. Chemosphere 68, 1838-1845.

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

Vilar V J P, Botelho C M S, Pinheiro J P S, Domingos R F, Boaventura R A R (2009) Copper removal by algal biomass: Biosorbents characterization and equilibrium modeling. *J. Hazard. Materials* 163, 1113-1122.

Vílchez C, Garbayo I, Lobato, Vega J M (1997) Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. *Enzyme Microb. Technol.* 20, 562-572.

Volesky B (1990) Removal and recovery of heavy metals by biosorption. In: *Biosorption of Heavy Metals*. Volesky B (ed) CRC Press, Boca Ratón, Florida 7-44.

Volesky B (1994) Advances in biosorption of metals: selection of biomass type. *Microbiol. Rev.* 14, 291-302.

Volesky B (2003) Equilibrium biosorption performance. En: *Sorption and Biosorption*. BV Sorbex Inc. Montreal. Canada. 103-178.

Voltolina D, Gómez-Villa H, Correa G (2005) Nitrogen removal and recycling by *Scenedesmus obliquus* in semicontinuous cultures using artificial wastewater and a simulated light and temperature cycle. *Biores. Technol.* 96, 359-362.

W

Wang J L, Chen C (2006) Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review. *Biotechnol. Adv.* 24, 427-451.

Wang J L, Chen C (2009) Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnol. Adv.* 27, 195-226.

Weber W J, Morris J C (1963) Kinetics of adsorption on carbon solution. *J Sanit. Eng. Div. Am. Soc. Civil Eng.* 89, 31-59.

Weldy C S, Huesemann M. (2007) Lipid production by *Dunaliella salina* in batch culture: effects of nitrogen limitation and light intensity. *US Department of Energy. Journal of undergraduate research* 7, 115-122.

Y

Yamaguchi K, Nakano H, Murakami M, Konosu S, Nakayama O, Kanda M, Nakamura A, Iwamoto H (1987) Lipid composition of a green alga *Botryococcus braunii*. *Agric. Biol. Chem.* 51, 493-499.

Yang C, Hua Q, Shimizu K (2000) Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light-autotrophic/dark-heterotrophic conditions. *Biochem. Eng. J.* 6, 87-102.

Yang L, Chen J P (2008) Biosorption of hexavalent chromium onto raw and chemically modified *Sargassum sp.* *Biores. Technol.* 99, 297-307.

Yavuz A G, Dincturk-Atalay E, Uygun A, Gode F, Aslan E (2011) A comparison study of adsorption of Cr(VI) from aqueous solutions onto alkyl-substituted polyaniline/chitosan composites. *Desalination* 279, 325-331.

Yun Y S, Park D, Park J M, Volesky B (2001) Biosorption of trivalent chromium on the brown seaweed biomass. *Environ. Sci. Technol.* 35, 4353-4358.

Yusoff F M, Matias H B, Khalid Z A, Phang S M (2001) Culture of microalgae using interstitial water extracted from shrimp pond bottom sediments. *Aquaculture* 201, 263-270.

Z

Zainul A Z, Zainoha Z, Salmijah S, Wan A A (2007) Hexavalent chromium reduction by *Acinobacter haemolyticus* isolated from heavy metal contaminated wastewater. *J. Hazard. Mat.* 146, 30-38.

Zemke P E, Wood B D, Dye D J (2010) Considerations for the maximum production rates of triacylglycerol from microalgae. *Biomass and Bioener.* 34, 145-151.

Zhang E, Wang B, Wang Q, Zhang S, Zhao B (2008) Ammonia-nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Scenedesmus sp* isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment. *Biores. Technol.* 99, 3787-3793.

Zheng Y-M, Liu T, Jiang J, Fan Y, Wee A T S, Chen J P (2011) Characterization of hexavalent chromium interaction with *Sargassum* by X-ray absorption fine structure spectroscopy, X-ray photoelectron spectroscopy, and quantum chemistry calculation. *J. Colloid Interface Sci.* 356, 741-748.

Zhitkovich A, Voitkun V, Costa M (1996) Formation of the Amino Acid-DNA Complexes by Hexavalent and Trivalent Chromium in Vitro: Importance of Trivalent Chromium and the Phosphate Group. *Biochemistry* 35, 7275-7282.

Zitelli G C, Pastorelli R, Tredici M R.(2000). A modular flat panel photobioreactor for indoor mass cultivation of *Nannochloropsis sp* under artificial illumination. *J. Appl. Phycol.* 12, 521-526.

8 NOMENCLATURA

A	Absorbancia en los espectros de infrarrojo
A_i	Grupo funcional ácido
A_i⁻	Forma ionizada del grupo funcional ácido
A_iH	Forma protonada del grupo funcional ácido
[A_i]_T	Concentración total de grupos ácidos
ARUJ	Aguas residuales urbanas de la ciudad de Linares (Jaén)
ARUT	Aguas residuales urbanas de la ciudad de Tetuán (Marruecos)
b	Parámetro de la ecuación de Langmuir, mM ⁻¹ [5.55]
[B]	Concentración de biomasa en los experimentos de biosorción , g/L
BBCL	Biomasa nativa de <i>Botryococcus braunii</i>
BBSL	Biomasa sin lípidos de <i>Botryococcus braunii</i>
B_j	Grupo funcional básico
[B_j]_T	Concentración total de grupos básicos
B_jH⁺	Forma protonada del grupo funcional básico
C	Concentración de biomasa, mg/L
% C	Porcentaje de carbono en la biomasa
C*	Concentración de reductores en la biomasa, mg Cr/g
C₁	Ordenada en el origen, primer tramo lineal del modelo de difusión intrapartícula
C₂	Ordenada en el origen, segundo tramo lineal del modelo de difusión intrapartícula
C_{CD}	Coeficiente en la ecuación [5.7]
C_e	Concentración de Cr en la disolución en el equilibrio, mmol/L

C_{FL}	Coeficiente en la ecuación [5.8]
C_{HCl}	Concentración de ácido clorhídrico utilizado
Chu-13*4	Medio de cultivo Chu-13 4 veces concentrado
$[Cl^-]$, C_a	Concentración de iones cloruro
C_m	Máxima concentración de biomasa modelo de Gompertz, mg/L
C_{NaOH}	Concentración de la disolución de NaOH utilizada en la titulación ácido-base
$[Cr(III)]$	Concentración de cromo trivalente, mg/L o mmol/L
$[Cr(Total)]$	Concentración de cromo total, mg/L o mmol/L
$[Cr(VI)]$	Concentración de cromo hexavalente, mg/L o mmol/L
D_i	Diámetro interno de los reactores tipo tanque agitado, m
d_i	Longitud del imán agitador, m
D_o	Diámetro del tubo burbujeador, m
d_p	Diámetro de las esferas con biomasa encapsulada, mm
D_s	Coeficiente de difusión intrapartícula
e	Base de los logaritmos neperianos
e_i	Grosor del imán agitador, m
E_N	Velocidad máxima de eliminación de N, mg/L h
E_P	Velocidad máxima de eliminación de P, mg/L h
f	Frecuencia de burbujeo
$[H^+]$	Concentración de protones
$[H^+]_c$	Concentración de protones consumidos, mM
$\% H$	Porcentaje de hidrógeno en la biomasa

h_i	Altura de líquido en los reactores tipo tanque agitado, m
h_i/D_i	Relación de esbeltez en los reactores tipo tanque
k₁	Constante cinética en la ecuación [5.58]
k₂	Constante cinética en la ecuación [5.62]
K_Aⁱ	Constante de equilibrio en la ecuación [5.15]
K_B^j	Constante de equilibrio en la ecuación [5.16]
k_{d1}	Constante de velocidad de difusión interna, primer tramo lineal del modelo de difusión intrapartícula
k_{d2}	Constante de velocidad de difusión interna, segundo tramo lineal. Del modelo de difusión intrapartícula
K_f	Parámetro de la ecuación de Freundlich [5.56]
K_i	Constante de inhibición en la ecuación [5.91]
K_{i,H}	Constante de equilibrio de adsorción de protones en la ecuación [5.28]
k_n	Constante cinética en la ecuación [5.67]
K_s	Constante de saturación en la ecuación [5.92]
m	Cantidad de biomasa utilizada para la titulación ácido-base, g
m	Número de centros activos básicos
m_{i,H}	Parámetro en la ecuación [5.30]
n	Número de centros activos ácidos
n	Parámetro de la ecuación de Freundlich
n	Orden de reacción
% N	Porcentaje de nitrógeno en la biomasa
N_a	Número de aireación

[Na⁺], C_b	Concentración de iones sodio
N_{Fr}	Número de Froude
N_i	Velocidad de agitación, rpm o rps
% O	Porcentaje de oxígeno en la biomasa
[OH⁻]	Concentración de iones oxhidrilo
pH_f	pH final
pH_o	pH inicial
Q	Caudal volumétrico de aire, m ³
Q	Carga neta positiva de la biomasa, mol/g
q_{0,25}	Capacidad de adsorción a 0,25 h de iniciado el proceso, mmol/g
q_∞	Capacidad de adsorción en el equilibrio, mmol/g
q_e	Capacidad de adsorción en el equilibrio, mmol/g
q_f	Capacidad final de adsorción en los ciclos adsorción-desorción, mg/g
q_m	Capacidad de adsorción para la formación de la monocapa, mmol/g
q_{retenido}	Cr acumulado en la biomasa tras la desorción, mg/g
q_t	Capacidad de adsorción a distintos tiempos
R	Radio de la partícula
r²	Coefficiente de regresión
Re_i	Número de Reynolds con respecto a la agitación
Re_o	Número de Reynolds referido a la circulación del aire por el tubo burbujeador
[RB]	Concentración de reductores en la biomasa, meq/g

RL	Medio de cultivo Rodríguez-López
Rm	Velocidad máxima de eliminación de nutrientes, mg/L h
RMSE	Error cuadrático medio
r_o	Velocidad inicial de adsorción, mmol/g h
S	Concentración de nutriente (N o P) en la ecuación [5.10]
% S	Porcentaje de azufre en la biomasa
[SA]	Concentración total de centros ácidos, mmol/g
[SB]	Concentración total de centros básicos, mmol/g
[ST]	Concentración total de centros con carácter ácido-base, mmol/g
Si	Sección de los reactores tipo tanque agitado, m ²
So	Sección del tubo burbujeador, m ²
So	Concentración inicial de nutriente (N o P) en la ecuación [5.10]
SOCL	Biomasa nativa de <i>Scenedesmus obliquus</i>
SOSL	Biomasa sin lípidos de <i>Scenedesmus obliquus</i>
SSE	Sumatorio del cuadrado de los residuos
t	Tiempo , h
T	Temperatura, °C , K
t_{lag}	Tiempo de adaptación, h
Ug	Velocidad de circulación del aire a través del reactor, m/s
V_{ea}	Volumen de equivalencia rama ácida, mL
V_{eb}	Volumen de equivalencia rama básica, mL
V_{ec}	Volumen de equivalencia del control, mL

v_g	Velocidad de salida del aire por el tubo burbujeador, m/s
V_i	Volumen al inicio de las valoraciones ácido-base, mL
V_t	Volumen de titulante acumulado, mL

LETRAS GRIEGAS

α	Parámetro de la ecuación [5.57] [5.89]
β	Parámetro de la ecuación [5.89]
$\Delta\nu$	Desplazamiento de frecuencia en los espectros IR
ΔA	Modificación de la absorbancia en los espectros IR
ρ_g	Densidad del aire, kg/m ³
ρ_g	Densidad del medio de cultivo, kg/m ³
μ_m	Velocidad específica de crecimiento máxima, h ⁻¹
μ_g	Viscosidad del aire, Pa.s
μ_L	Viscosidad del medio de cultivo, Pa.s
$\theta_{i,H}$	Fracción protonada de un determinado centro activo, i ácido o básico

9 RÉSUMÉ

Les microalgues sont un ensemble d'organismes microscopiques qui se développent dans des milieux aqueux (marin et eau douce), elles contiennent au moins la chlorophylle "a" et possèdent des structures reproductives simples.

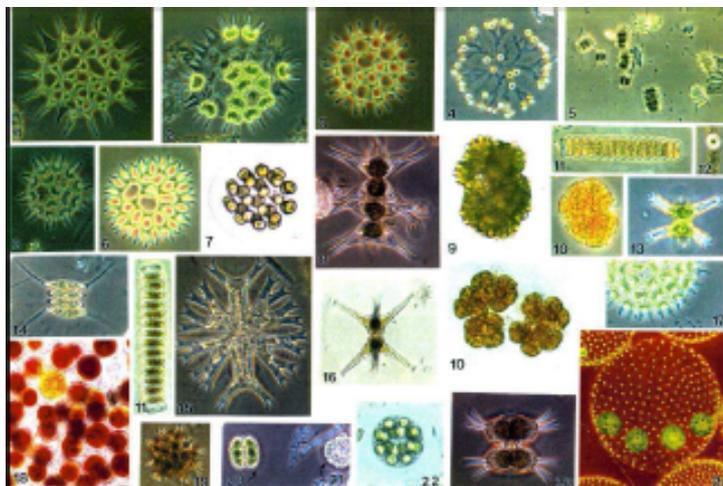


Figure 1 Morphologie de certaines microalgues : collection de Gertrud Cromber

Elles ont généralement un métabolisme photosynthétique analogue aux plantes supérieures. Ce métabolisme converti l'énergie lumineuse en énergie chimique, en utilisant le CO₂ comme source de C et libérant O₂.

Grâce à la photosynthèse, les algues peuvent produire durablement de nombreux produits d'intérêt commercial en utilisant une source d'énergie renouvelable. Le concept de bioproduction est utilisé pour les définir y la possibilité d'utilisation de toutes les composantes de la biomasse, lipides, glucides, protéines, minéraux, vitamines etc ... a introduit le concept des bioraffineries.

Dans le présent travail, nous avons utilisé les micro-algues *Botryococcus braunii* et *Scenedesmus obliquus*. La *Scenedesmus* est une espèce très commune dans tous les types d'eau douce, elle joue un rôle important dans la production primaire et contribue à la purification des eaux eutrophes. Les cellules de *Scenedesmus* sont reliés par groupes de 4, 8 ou rarement 16, appelé monastères.



Figure 2 *Scenedesmus obliquus*

Dans la *Botryococcus braunii* se distinguent 3 races A, B et L sur la base des différents types d'huile qu'ils produisent. La race A produit des oléfines C_{25} - C_{31} , n-dialcènes et trialcène, la race B des triterpènes insaturés polyméthylés ($C_n H_{2n-10}$) $n = 30-37$ et la race L ne produit que le tetraterpene $C_{44}H_{78}$. Les cellules piriformes sont regroupées formant des colonies unies par une matrice d'exopolysaccharides.



Figure 3 *Botryococcus braunii*

La culture à grande échelle de micro-algues et l'utilisation de la biomasse comme source de lipides a été lancée en Allemagne pendant la Seconde Guerre Mondiale. Au fil du temps les cultures de microalgues ont été entraînées par les différents facteurs socio-économiques. Les dernières années ont été le témoin du progrès et du développement des applications multiples.

L'application de ce qu'on appelle "les systèmes algues-bactéries" pour le traitement des déchets liquides et la production des algues HRAP (high rate algal ponds), pour l'obtention des produits alimentaires animale ou pour la production de méthane par digestion anaérobie, ont été mis au point par Ostwald et ses collègues à l'Université de Californie et elles sont utilisées dans de nombreux pays.

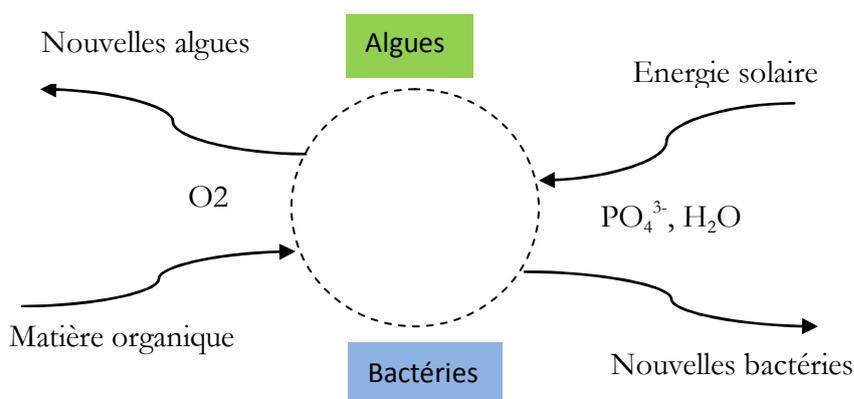


Figure 4 Systeme algues - bacteries

En revanche les étangs facultatifs, HRAP, sont peu profonds 0,3 à 0,6 m, afin de favoriser la pénétration de la lumière, l'oxygénation est assurée via la photosynthèse. Ils peuvent fonctionner à des temps de rétention plus petits dans la plage de 4 à 10 jours en fonction des conditions météorologiques. L'agitation est assurée d'une manière continue à l'aide des lames en rotation qui provoquent des débits d'eau de 0,15 à 0,30 m/s.

Le phosphore et l'azote sont les nutriments essentiels à éliminer pour éviter le danger de l'eutrophisation. Les algues peuvent utiliser une variété de composés azotés, tels que les source d'azote inorganique ou organique pour la synthèse des acides aminés. De préférence, elles absorbent le phosphore au phosphate inorganique sous forme $H_2PO_4^-$ et HPO_4^{2-} pour l'utiliser dans les processus liés au transfert de l'énergie et la synthèse d'acide nucléique.

Le biodiesel est fabriqué à partir des huiles végétales (comestibles ou non comestibles) utilisées ou non, et de graisses animales. L'utilisation des huiles végétales a conduit à une hausse des prix de ces matières, et a provoqué un problème d'éthique.

La transition vers les biocarburants de deuxième génération, dits entre autres, à partir de microalgues, contribuera à la disparition de ces limitations. Avec un rendement plus élevé par hectare, vu la vitesse élevée de croissance des microalgues par rapport aux plantes supérieures C_3 ou C_4 , moins consommation d'eau que l'agriculture conventionnelle, qui peut même être une eau résiduaire et moins d'occupation d'espace qui n'est pas nécessairement des terres agricoles.

Le contenu en lipides des algues dépend de l'espèce, et aussi des différentes conditions environnementales de la culture, généralement associées à des conditions de stress, elles peuvent l'accentuer. Pour beaucoup d'algues, il est possible d'induire une teneur élevée en lipides en modifiant des facteurs tels que les conditions de croissance, le contenu d'azote dans le milieu de culture, l'intensité de la lumière, la température, la salinité et la concentration de CO_2 .

Les systèmes fréquemment utilisés pour une culture massive, sont de type cuve ouverte, qui malgré leurs différentes formes et tailles sont similaires à l'environnement naturel de microalgues. Les réacteurs fermés ont des configurations différentes, les types les plus communs sont tubulaire, plat ou à bulles, ils sont composés de matériaux transparents.

Table 1 Contenu en lipide et productivités

Espèce	Contenu % poids sec	Productivité Lipides mg/L j	Productivité Biomasse g/L j	Productivité Biomasse g/m ² j
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75	4-7	0,02	3
<i>Chlorella vulgaris</i>	5,0-58	11,2-40	0,02-0,20	0,57-0,95
<i>Dunaliella salina</i>	6-25	116	0,22-0,34	1,6-3,5 20-38
<i>Nannocloropsis sp.</i>	12-53	37,7-90	0,17-1,43	1,9-5,3
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18-57	44,8	0,003-1,9	2,4-21
<i>Scenedesmus sp.</i>	19,6-21,1	40,8-53,9	0,03-0,26	2,43-13,52
<i>Tetraselmis suecica</i>	8,5-23	27-36,4	0,12-0,32	19



Figure 5 Réacteurs ouverts y fermés

Les métaux lourds constituent un groupe dans le tableau périodique des éléments qui ont une densité supérieure ou égale à 5 g par cm³. Certains d'entre eux, à petites doses, sont essentiels pour la croissance comme As, Cr, Co, Cu, Ni, Se, Zn et V et à des doses plus élevées peuvent être toxiques, comme une conséquence de sa capacité à dénaturer les protéines. Certains comme Au, Ag, Pb, cd, Hg, U, n'ont aucune fonction biologique connue.

La contamination de l'environnement par les métaux toxiques et les radionucléides est le résultat de l'activité industrielle, toutefois, l'agriculture et l'élimination des déchets contribuent également.

Les méthodes conventionnelles pour le traitement des eaux usées contenant des métaux lourds sont coûteuses et inefficaces, en particulier lorsque la concentration du métal est faible. Ces méthodes utilisent différentes opérations telles que la précipitation, l'oxydation, la réduction, l'échange ionique, la filtration, le traitement électrochimique, l'adsorption, la filtration sur membrane ...etc. Le chrome est un métal lourd de la première série des métaux de transition. Il est le septième élément le plus abondant sur terre, dans les dernières décennies la quantité de chrome a augmenté dans les écosystèmes aquatiques et terrestres à la suite de diverses activités humaines.

L'utilisation des systèmes biologiques pour l'élimination des métaux lourds provenant des milieux liquides dilués est un processus efficace et peu coûteux. Les technologies basées sur les micro-organismes ou leurs produits offrent une alternative aux techniques conventionnelles pour l'élimination et la récupération des métaux.

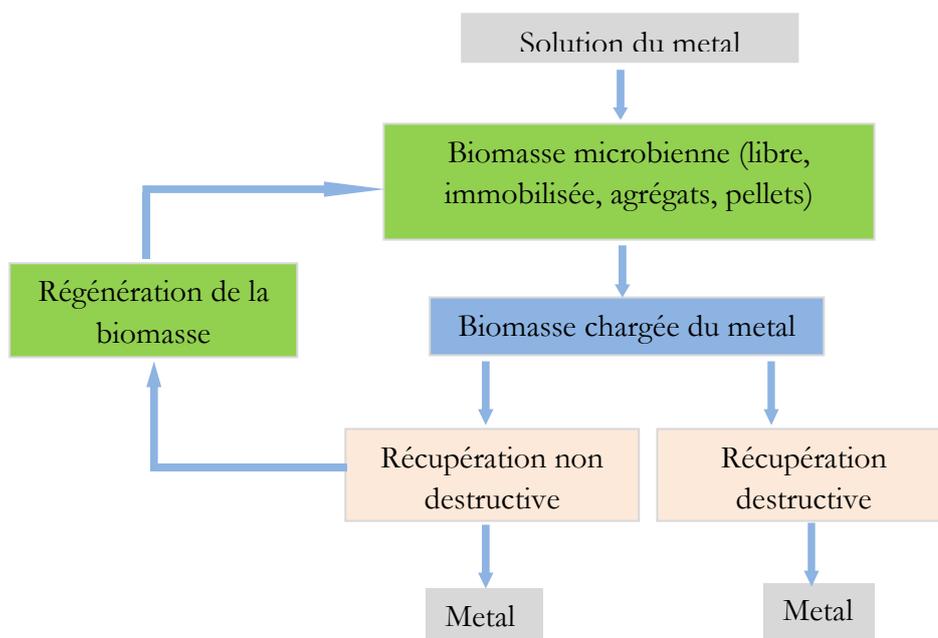


Figure 6 Schéma du processus de biosorption

Parmi les matériaux biologiques susceptibles d'être utilisés comme biosorbants sont la biomasse bactérienne, de champignons, levures, algues, plantes aquatiques, déchets générés dans les fermentations industrielles ...etc. Ces biosorbants peuvent séquestrer rapidement les ions métalliques dissous avec une grande efficacité, ce qui les rend candidats idéals pour le traitement de grands volumes d'eaux usées complexes. L'utilisation de la biomasse morte a des avantages sur celui des cellules vivantes. Il n'est pas nécessaire d'ajouter des nutriments, le processus se déroule à l'abri d'une toxicité ou à des conditions d'exploitation défavorables, la récupération des métaux est plus facile par le biais de traitements qui permettent la régénération de la biomasse.

Table 2 Capacité de biosorption des algues

Metal	Algue	Capacité de biosorption, mg/g	Référence
Al	<i>Laminaria japonica</i>	75,28	(Lee et al., 2004)
Au	<i>Chlorella vulgaris</i>	25,02	(Ting et al., 1995)
Co	<i>Ulva reticulata</i>	45,97	(Vijayaraghavan et al., 2005)
Cd	<i>Chlorella vulgaris</i>	12,48	(Sandau et al., 1996)
Cd	<i>Ecklonia máxima</i>	83,50	(Feng et al., 2004)
Cd	<i>Laminaria japonica</i>	125,89	(Lee et al., 2004)
Cr(III)	<i>Ascophyllum sp.</i>	129,99	(Kratochvil et al., 1998)
Cr(III)	<i>Sargassum sp.</i>	119,59	(Kratochvil et al., 1998)
Cr(VI)	<i>Chlorella miniata</i>	23,19	(Lau et al., 1999)
Cr(VI)	<i>Chlorella vulgaris</i>	190,62	(Mehta et al., 2001)
Cr(VI)	<i>Ecklonia máxima</i>	94,00	(Feng et al., 2004)
Cr(VI)	<i>Laminaria japonica</i>	101,03	(Lee et al., 2004)
Ni	<i>Chlorella miniata</i>	20,43	(Lau et al., 1999)
Ni	<i>Scenedesmus obliquus</i>	30,18	(Donmenz et al., 1999)
Ni	<i>Ulva reticulata</i>	46,51	(Vijayaraghavan et al., 2005)
Pb	<i>Ecklonia radiata</i>	281,78	(Matheickal et al., 1996)
Pb	<i>Laminaria japonica</i>	349,09	(Lee et al., 2004)

L'utilisation des algues comme biosorbants pour l'élimination des métaux lourds a commencé il ya plusieurs décennies et de nombreux groupes de recherche se sont consacrés à étudier le rôle des macroalgues et microalgues dans ce processus. La paroi cellulaire des *Chlorophyta* est principalement composée de cellulose et des protéines liées aux polysaccharides formant des glycoprotéines. La cellulose est également structurée sous forme de fibrilles, et dans les algues rouges et vertes apparaissent d'autres composés de structures fibrillaires telles que le xylane et le mannane.

Les expériences réalisées dans ce travail sont de différents types:

- Expériences de croissance des microalgues choisies, en milieu synthétique et en eaux résiduaire urbaines. L'obtention répétitive de la biomasse utilisée comme biosorbant a été réalisée à Tétouan et Jaén.
- Expériences de caractérisation de la biomasse utilisée comme biosorbant
- Expériences de biosorption en discontinu utilisant les biomasses secs sous forme des agglomérats de taille $<100 \mu\text{m}$.
- Expériences de biosorption en discontinu utilisant la biomasse encapsulée.

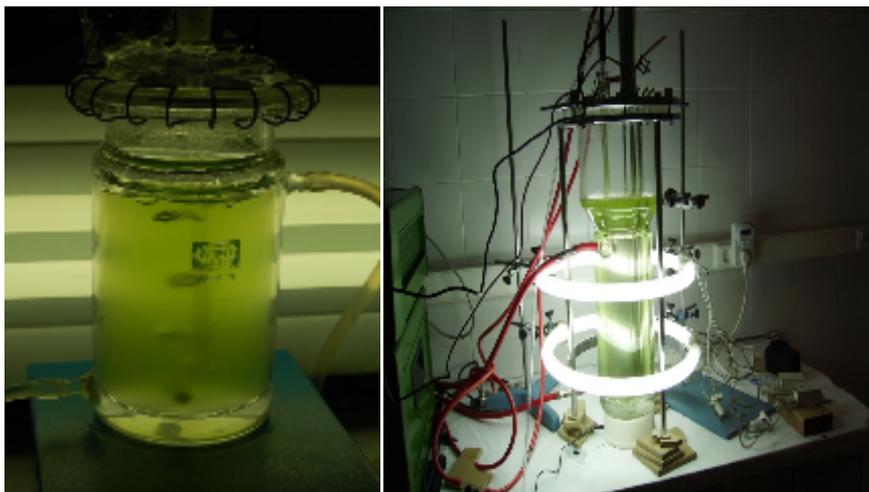


Figure 7 Réacteurs type cuve agité et air-lift

Parmi les modèles testés, celui de Gompertz modifié qui reproduit mieux les courbes de croissance des micro-algues utilisées, *Botryococcus braunii* et *Scenedesmus obliquus*, dans les deux milieux synthétiques et eaux usées.

$$C = C_m \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m e}{C_m} (t_{\text{lag}} - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

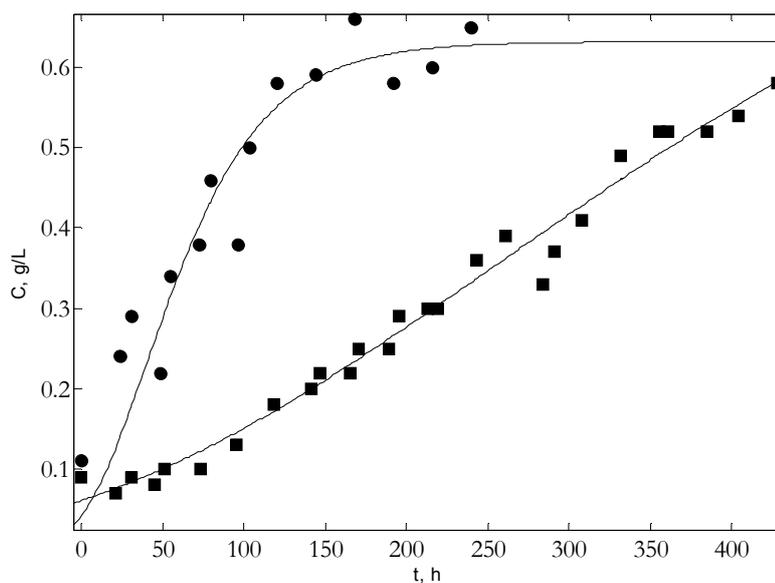


Figure 8 Courbes de croissance de *Scenedesmus obliquus* ● Milieu synthétique ■ ARUT

En outre, ce modèle reproduit d'une manière acceptable les courbes d'assimilation des nutriments N et P

$$S = S_0 \left\{ 1 - \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m e}{S_0} (t_{lag} - t) + 1 \right] \right\} \right\} \quad (2)$$

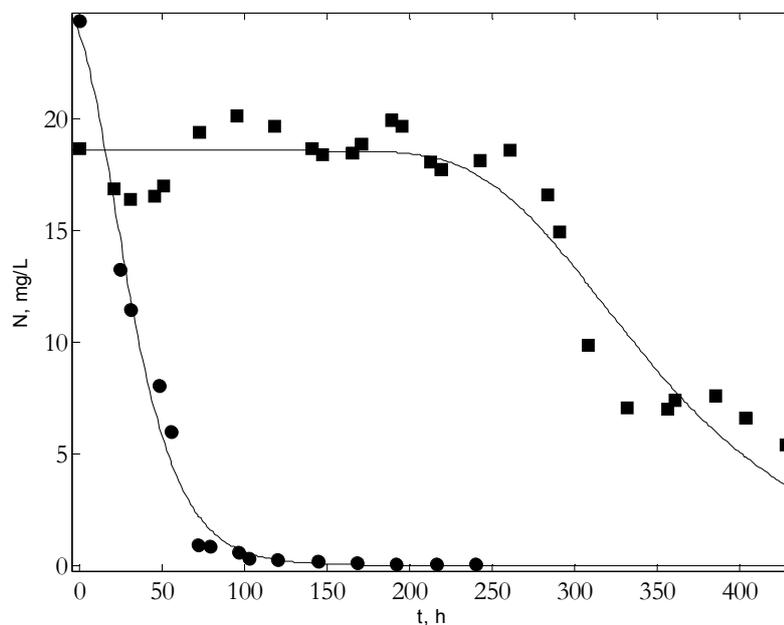


Figure 9 Consommation de N par *Scenedesmus obliquus* ● Milieu synthétique ■ ARUT

La Scenedesmus a un taux de croissance plus élevé dans un milieu synthétique que dans l'eau résiduaire de la ville Tétouan, il diminue de près de 76%.

En revanche, pour la microalgue *Botryococcus* qui a des taux de croissance plus faibles, les eaux usées de la ville de Linares présente un milieu de croissance approprié et similaire à un milieu synthétique. Cette microalgue détourne la grande partie de l'énergie vers la synthèse des composés énergétique ce qui explique le faible taux de croissance.

Les biomasses des microalgues *Scenedesmus obliquus* et *Botryococcus braunii* cultivées dans des eaux résiduaires urbaines ont été utilisées comme biosorbants.

Ces biomasses ont été utilisées dans deux conditions différentes, appelées native y extraite.

- la biomasse native, désigne une biomasse avec sa composition chimique inchangée.
- La biomasse extraite, c'est la biomasse qui a subi à un processus d'extraction des lipides.

De cette manière, quatre biosorbants ont été préparés :

- *Scenedesmus obliquus*, en forme native, SOCL
- *Scenedesmus obliquus*, sans lipides, SOSL
- *Botryococcus braunii*, en forme native, BBCL
- *Botryococcus braunii*, sans lipides, BBSL

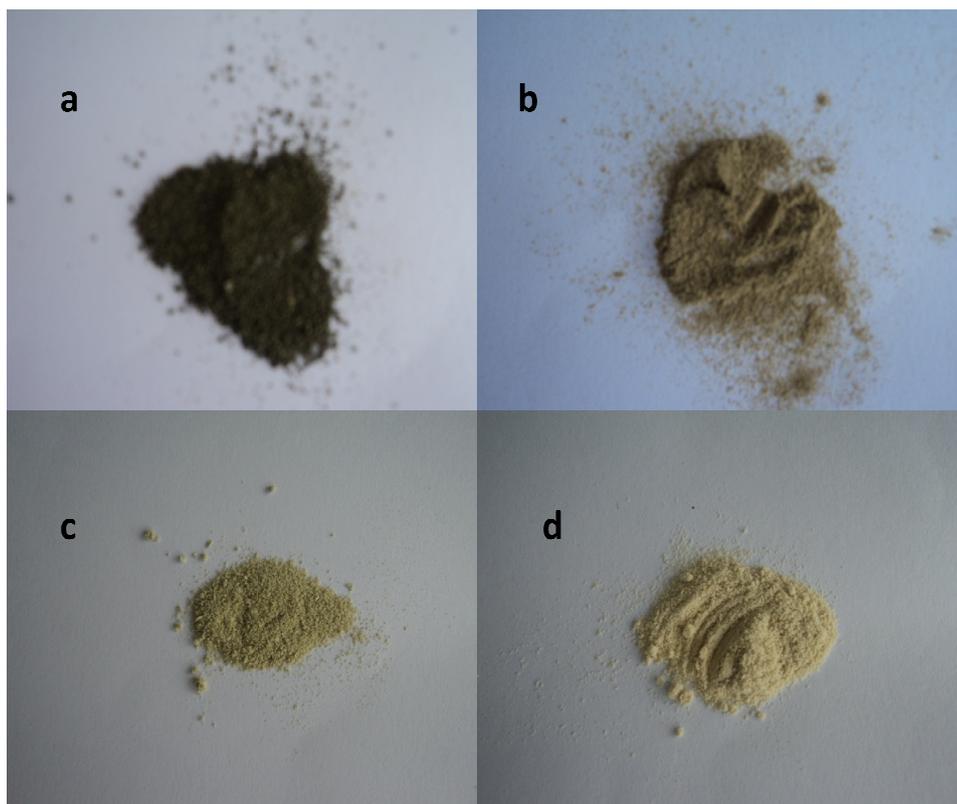


Figure 10 a) *SOCL*, b) *SOSL*, c) *BBCL*, d) *BBSL*

Nous avons utilisé le titrage potentiométrique acido-basique pour identifier et quantifier les groupes fonctionnels impliqués dans le processus de biosorption-bioréduction du Cr (VI).

Une première estimation de la concentration totale des groupements fonctionnels acide-base de la biomasse est effectuée selon la méthode de Gran. La modélisation des données expérimentales pour déterminer la concentration et le pKa de chaque groupement a été effectuée à l'aide de deux modèles: continu et discontinu.

Table 3 Concentration total des sites actifs de caractère acido-basique mmol/g

BIOMASSE	Gran	Discontinu	Continu
SOCL	1,575	1,470	1,656
SOSL	1,274	1,328	1,220
BBCL	0,532	0,654	0,786
BBSL	0,399	0,430	0,644

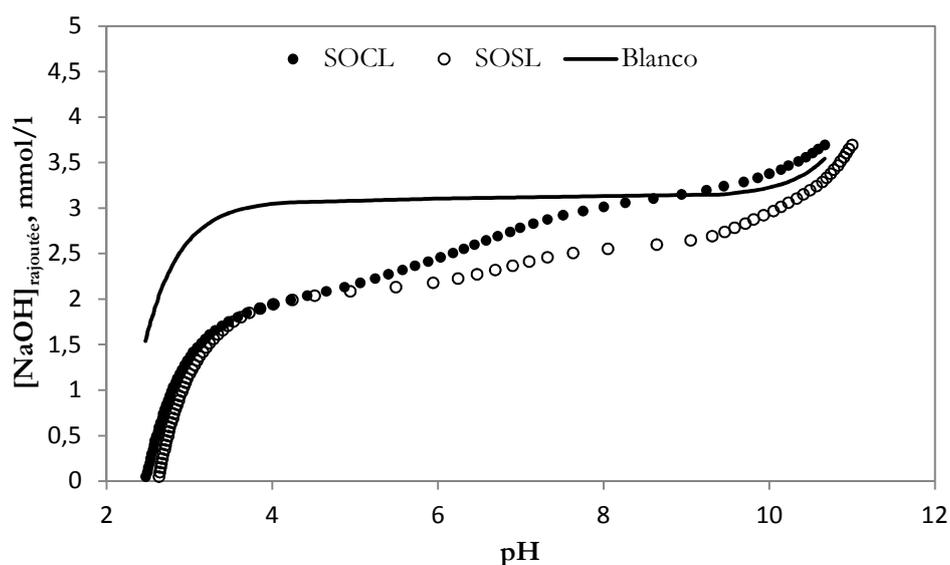


Figure 11 Titration potentiométrique de SOCL y SOSL

Les résultats reflètent ce qui a été observé dans les courbes de titrage; *Scenedesmus* a une concentration totale des sites actifs supérieure à celle de *Botryococcus* et majoritairement de caractère basique. Les sites actifs de *Botryococcus* sont de caractère acide. Le traitement d'extraction des lipides fait diminuer la concentration totale et élimine les sites acides de *Scenedesmus*. Les groupes fonctionnels qui ont été identifiés sont le carboxyle, le phosphate et l'amine à l'exception de *Scenedesmus* sans lipides qu'il ne dispose que des deux derniers.

Les spectres IR ont de nombreuses bandes d'intensité et de position différente, ce qui démontre l'existence de groupements fonctionnels superficiels qui donnent un caractère complexe et hétérogène à ces biomasses. Toutefois, ils y a de nombreuses similitudes entre les spectres. L'intensité de l'absorption du rayonnement infrarouge est plus élevée pour *Botryococcus* sauf pour la bande à 1641 cm^{-1} correspondante à la tension de $\text{C}=\text{O}$ de l'amide primaire qui est moins intense que celle de *Scenedesmus* qui a une teneur en protéines, généralement, élevée.

Les spectres infrarouges confirment l'existence des groupements fonctionnels carboxyle, phosphate et amine. Les valeurs de l'absorbance qui identifient les bandes varient de la même manière que la concentration de chaque centre après l'extraction des lipides.

Les positions des bandes du spectre XPS après la biosorption/bioréduction du Cr(VI) coïncident avec celles des bandes caractéristiques du spectre du sel de Cr(III) . Pour visualiser l'effet de l'environnement chimique du chrome retenu sur la position des pics, les spectres ont été comparés avec ceux des biosorbants avec Cr(III) adsorbé. Les positions des bandes sont très similaires, ce qui confirme que la forme du chrome retenu

par la biomasse dans les expériences de biosorption du Cr(VI), par les quatre biosorbants, est le chrome trivalent.

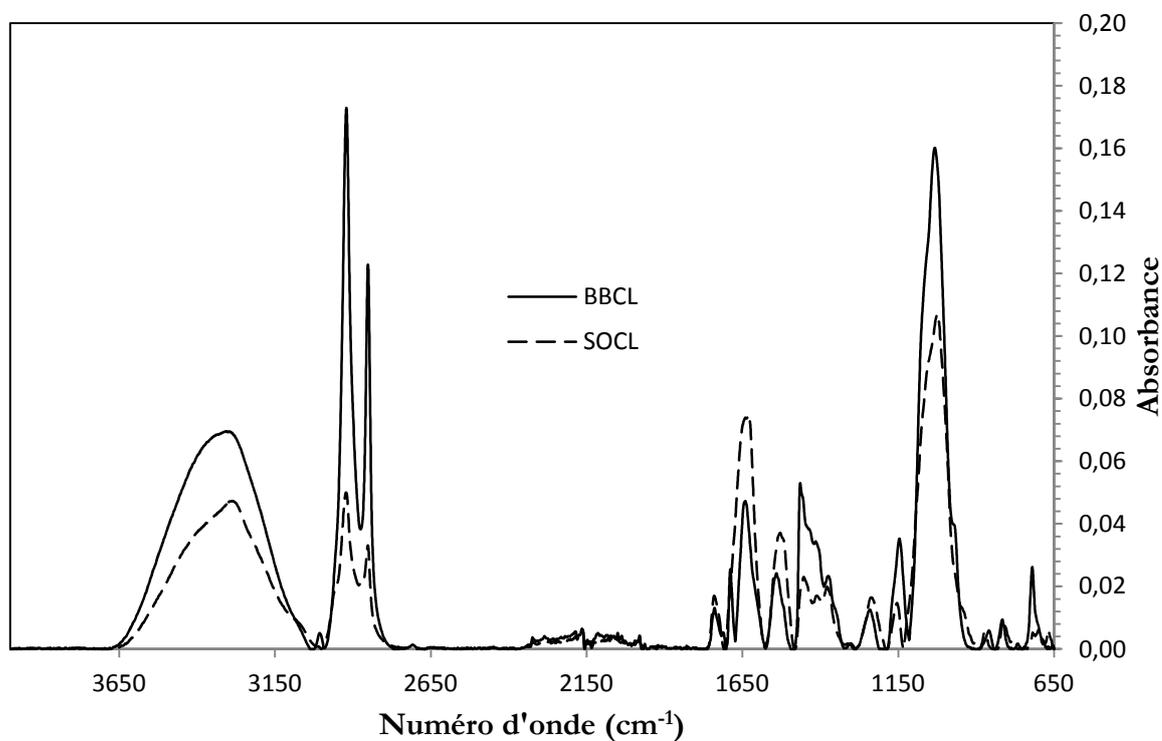


Figure 12 Spectres IR des biomasses SOCL y BBCL

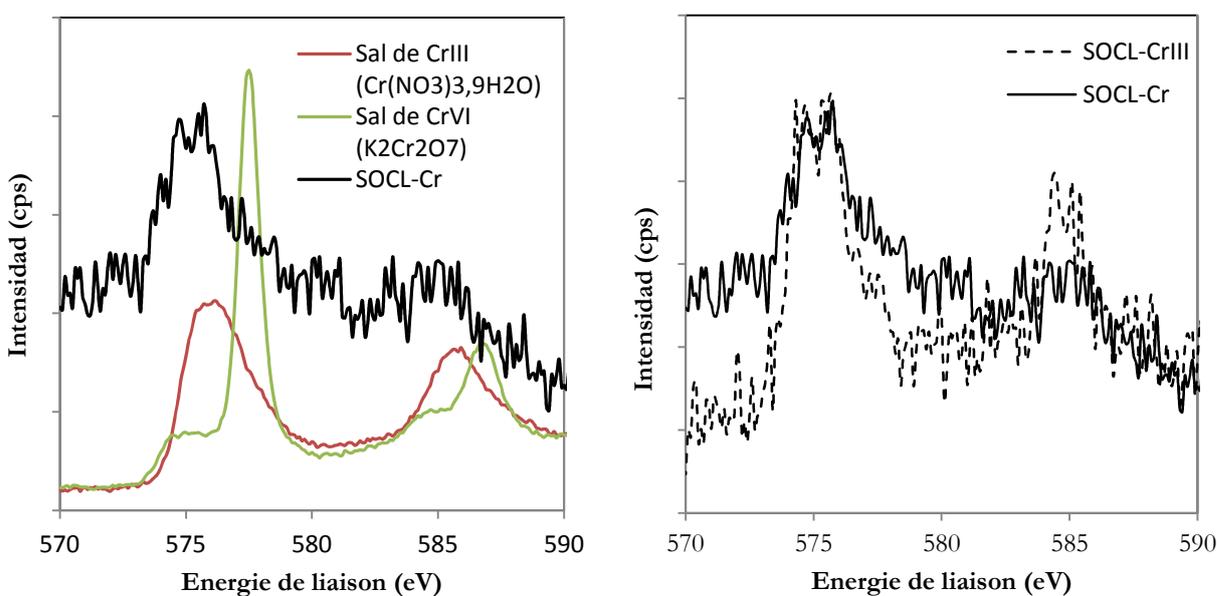


Figure 13 Spectres XPS de SOCL après la biosorption/bioréduction du Cr(VI) (SOCL-Cr), de SOCL avec Cr(III) (SOCL-CrIII) et de sels du Cr(III) et Cr(VI)

Ces observations coïncident avec les images FIB-FESEM qui ont montrés le lissage de la surface apparente après la biosorption du Cr.

L'analyse élémentaire des biosorbants montre que l'élément majoritaire est le C, le contenu dans les biomasses natives est proche de 50%, une valeur habituellement rencontrée dans les biomasses algales. *Botryococcus* a une teneur légèrement plus élevée que *Scenedesmus*. Après extraction des lipides, le contenu en C diminue dans les deux cas, 13,2% pour SOSL et 10,0% pour BBSL.

La teneur totale en lipides est plus importante dans *Botryococcus*, elle est de l'ordre de 30% du poids sec. La faible teneur en acides gras polyinsaturés des biomasses est adaptée à une application à la production de biodiesel.

La nature anionique du Cr(VI) détermine les faibles valeurs de pH, dans le processus de biosorption, qui doit être inférieure à la valeur correspondant au point de charge zéro, de sorte que la biomasse présente une charge nette positive. Dans ces conditions, se produit la réduction du Cr(VI) en Cr(III), de ce fait le processus devrait être considéré comme biosorption/bioréduction.

L'apparition dans le milieu liquide du Cr(III) provenant de la réduction du chrome hexavalent conduit à considérer le processus en deux approches. La première, est la détoxification, en considérant la disparition du Cr(VI) du milieu liquide par adsorption et réduction, et la deuxième, est la disparition du Cr (totale) par rétention à la biomasse.

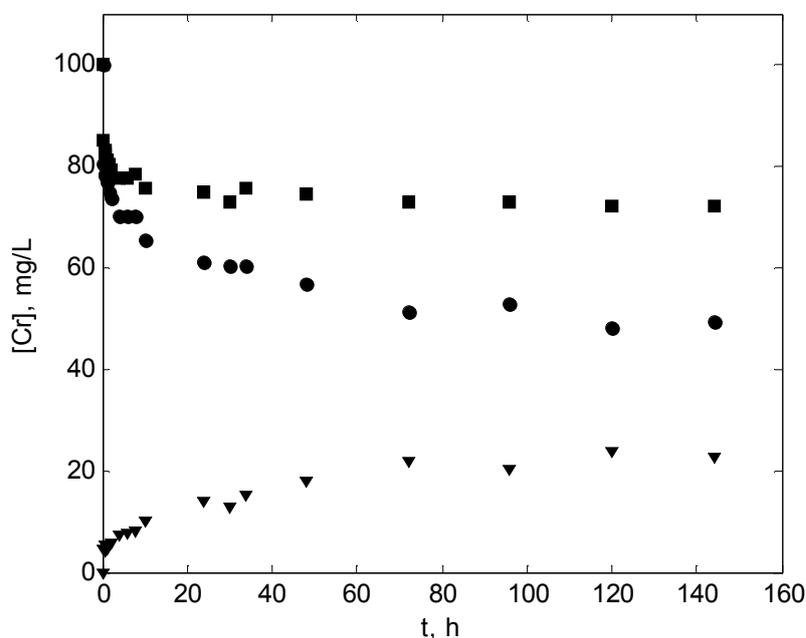


Figure 14 Biosorption/Bioréduction du Cr(VI) par BBSL(● Cr(VI) ■ Cr(Total) ▼ Cr(III))

Table 4 Détermination de la capacité de réduction des biomasses

Biosorbant	[Cr(VI)] ₀ , mg/L	[Cr(VI)] _f , mg/L	[B], g/L	C*, mg/g	C*, mmol/g
SOCL	85,76	67,57	0,05	363,81	7,00
SOSL	85,76	82,44	0,05	66,45	1,28
BBCL	83,76	77,53	0,05	124,78	2,40
BBSL	83,76	77,26	0,05	130,09	2,50

La capacité réductrice de la biomasse, déterminée par le titrage redox et la méthode de 'biomasse limitante' est plus grande dans SOCL suivi par *Botryococcus* et SOSL.

Les pourcentages de détoxification et d'élimination du Cr du milieu liquide augmentent avec le temps de contact. La nature de l'adsorbant et sa concentration en sites actifs disponibles pour la sorption affectent le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre. Ceci est observé pour le Cr (totale) et non pas pour le Cr(VI) et le Cr(III).

Les données d'équilibre présentent une isotherme type II caractéristique de solides macroporeux et hétérogène. Le modèle mathématique qui reproduit une allure de la forme S est le modèle de Brunauer-Emmett-Teller considérant l'adsorption multicouche avec une énergie d'adsorption uniforme

$$q_e = \frac{q_m K_B C_e}{(C_S - C_e) \left[1 + (K_B - 1) \frac{C_e}{C_S} \right]} \quad (3)$$

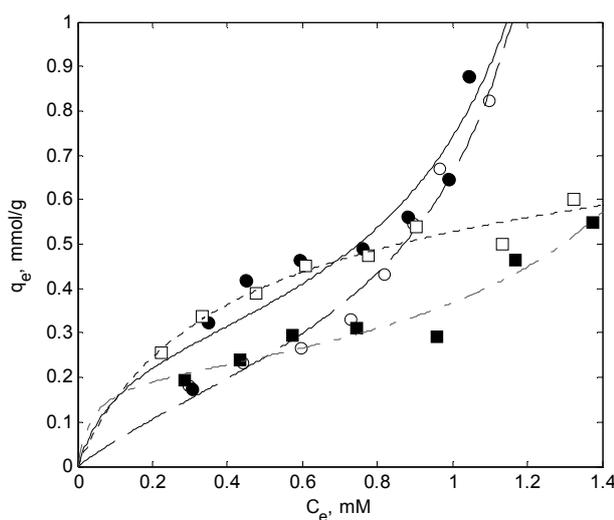


Figura 15 Isothermes d'adsorption ● SOCL ○ SOSL □ BBCL ■ BBSL

Les capacités d'adsorption pour la formation de la monocouche sont 14,77; 13,34; 33,33, et 10,39 mg/g pour SOCL, SOSL, BBCL et BBBSL respectivement.

Différents modèles cinétiques ont été testés basés sur l'adsorption, la réduction et la diffusion intraparticulaire. Comme dans la cinétique chimique homogène, des modèles généraux qui ne supposent pas une valeur numérique de l'ordre de la réaction peuvent être développés, de cette manière le modèle d'ordre n est posé sur la même base que les deux modèles précédents pour un ordre de réaction n .

$$q = q_e - [q_e^{(1-n)} - (1-n)k_n t]^{1/n} \quad (4)$$

Les capacités de sorption, augmentent en fonction du temps, elles varient rapidement au début du processus pour se rapprocher lentement à l'équilibre, dans tous les cas, nous avons utilisé un temps final de 48 h.

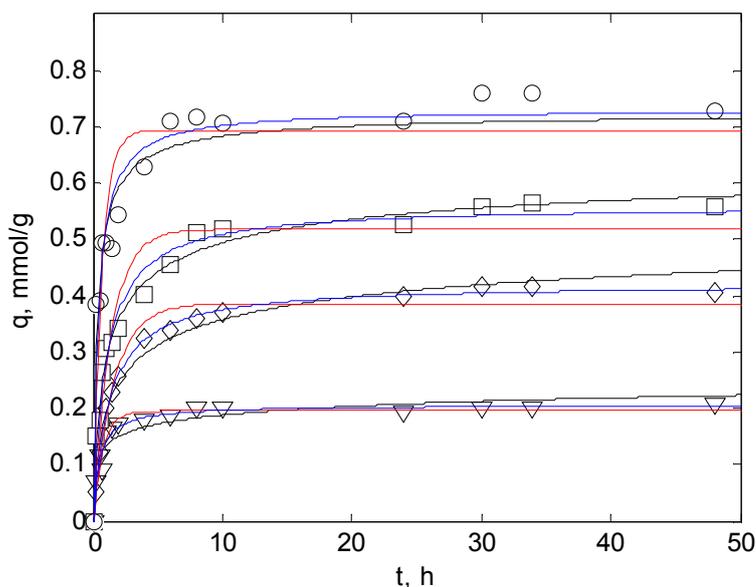


Figure 16 Modèles de pseudo-premier ordre (rouge), pseudo-second (bleu) et pseudo-n (Noir) pour SOSL \circ 100 \square 75 \diamond 50 Δ 25 mg/L

La représentation graphique des résultats expérimentaux obtenus par le modèle de Weber, indique l'existence d'une multilinéarité. Les constantes de vitesse de diffusion augmentent avec la concentration d'ions métalliques initiale et sont plus élevés dans la première étape de diffusion linéaire.

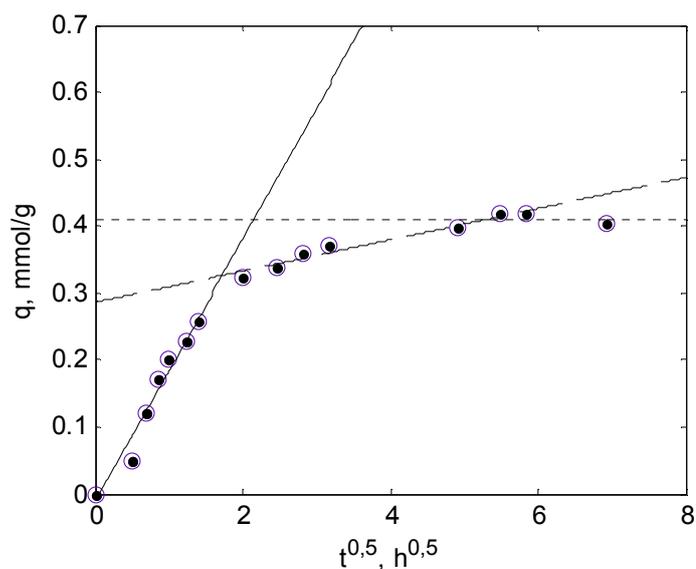


Figure 17 Graphe de Weber pour SOSL pour des concentration inicial de Cr de 50mg/L

Les valeurs des paramètres de la diffusion interne peuvent être liées à la concentration initiale de Cr avec une équation de type :

$$k_{d1} = \alpha [\text{Cr(VI)}]_0^\beta \quad (5)$$

L'augmentation de la concentration de la biomasse de 1 à 10g/L affecte la biosorption par l'effet sur le pH, résultat de la consommation des protons nécessaires à la protonation du biosorbant.

Cet effet est plus marqué pour la *Scenedesmus* et moins notable pour la *Botryococcus* vu les pH initiaux différents. Seulement en utilisant *Botryococcus* à 2 g/L d'une biomasse avec lipides et 6 g/L d'une biomasse sans lipides, il est possible d'atteindre une désintoxication de 100% et 60% d'élimination.

Etant donné la forme des courbes des taux d'élimination et de détoxification de SOCL, les résultats expérimentaux ont été ajustés avec un modèle d'inhibition, pour les autres biomasses, un modèle de saturation, similaire à ceux utilisés en cinétique enzymatique, a été utilisé :

$$\% \text{ Cr} = \frac{\% \text{ Cr}_{\text{max}} \cdot [\text{B}]}{K_s + [\text{B}] + \frac{1}{K_i} [\text{B}]^2} \quad (6)$$

$$\% \text{ Cr} = \frac{\% \text{ Cr}_{\text{max}} \cdot [\text{B}]}{K_s + [\text{B}]} \quad (7)$$

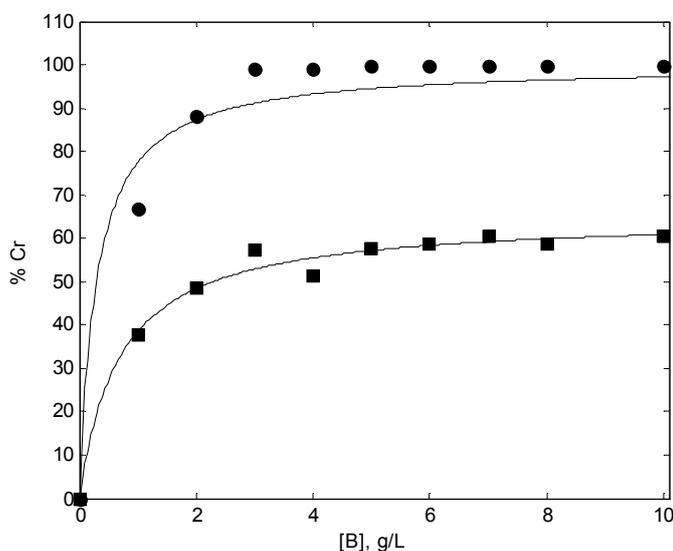


Figure 18 BBCL - Taux de détoxifications ● élimination ■

La présence de nitrate de sodium à des concentrations de 0,01 et 0,1 M, ne modifie pas la spéciation du Cr dans le milieu, mais elle fait diminuer à la fois les capacités de sorption et de réduction de la biomasse. L'inhibition de la réduction est plus marquée dans SOSL, la biomasse qui a une capacité de réduction de 1,28 mmol/g est inférieure à celle de BBSL qui est de l'ordre de 2,50 mmol/g.

Les capacités d'adsorption de différents types de biomasse augmentent avec la température dans la gamme de 25 à 30 °C, l'augmentation postérieure à 35 °C fait diminuer cette capacité dans tous les cas à cause des effets contraires; une augmentation de la température favorise une meilleure protonation, mais aussi elle engendre une grande mobilité thermique qui provoque l'affaiblissement des forces de liaison entre les ions chromate et la biomasse. Une température plus élevée, favorise également les réactions d'hydrolyse qui impliquent une plus grande solubilisation des composants de la biomasse et donc une perte du biosorbant.

L'extraction des lipides facilite l'adsorption initiale, à 0,25 h, essentiellement de type superficielle, conséquence d'une grande vitesse initiale d'adsorption, r_0 , comme il est confirmé par différents modèles cinétiques, la désintoxication maximum et les taux d'élimination montrent qu'il n'y a pas une tendance définie de la variation avec la température, et que cette variable n'est pas indispensable dans le processus de biosorption.

Le processus de biosorption est plus lent avec la biomasse encapsulé dans des sphères de polysulfone. Lorsque le temps de biosorption augmente, des taux de désintoxication et d'élimination atteints sont supérieurs à ceux obtenus par la biomasse libre. Cette augmentation n'est pas due à l'adsorption du Cr par le polysulfone, mais à la déstructuration de l'agglomérat cellulaire dans la capsule comme conséquence de la méthode de préparation. Ce qui rend la biomasse à l'intérieur de la capsule plus exposé à un contact direct avec le Cr, en facilitant l'adsorption et la réduction.

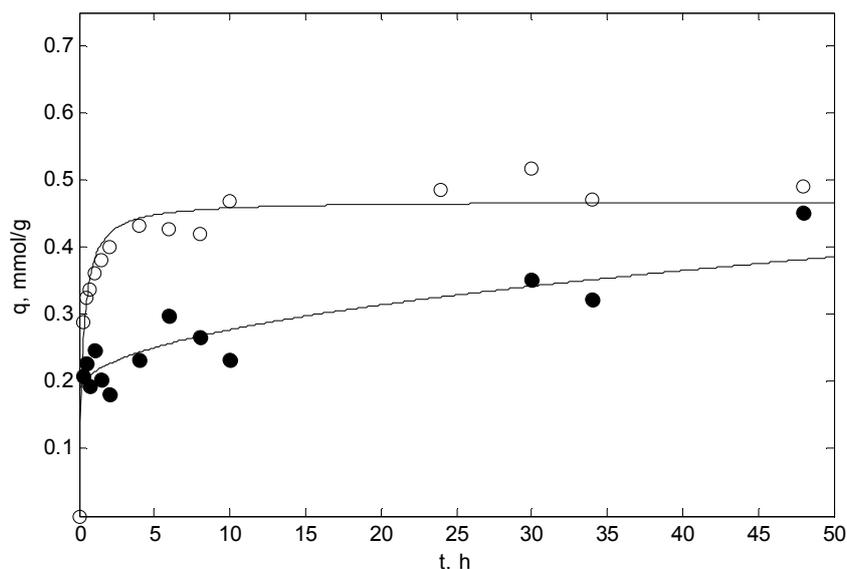


Figure 19 Adsorption du Cr à concentration initiale 100 mg/L, et 1 g/L de biomasse
o biomasse libre ● biomasse encapsulée d_p 3 mm

Les courbes de capacité de sorption en fonction du temps pour les trois tailles de capsules indiquent que le processus le plus rapide et la rétention du Cr. les plus élevées sont enregistrées pour les petites capsules de 3 mm suivi par 4 mm et 6 mm, ceci est dû à l'augmentation de la surface spécifique lorsque la taille des capsules est plus petite.

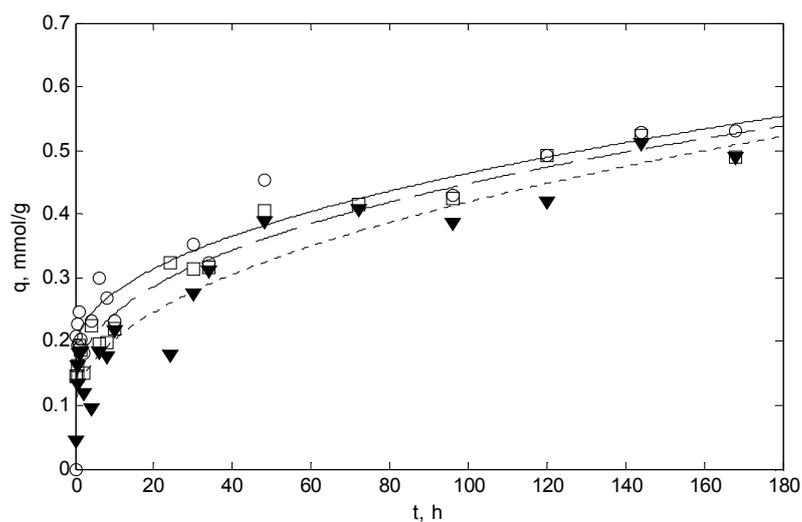


Figure 20 Adsorption du Cr à concentration initiale de 100 mg/L de et 1 g/L de biomasse encapsulée en sphères d_p o 3mm □ 4 mm ▼ 6 mm

La représentation $q - t^{0,5}$ correspondante à un modèle de diffusion intraparticulaire montre l'existence d'une seule région linéaire. Les ordonnées à l'origine différentes de zéro indiquent que pour toutes les tailles, l'étape contrôlant le processus est la diffusion interne, cette étape devient plus importante avec la taille croissante des capsules, où C atteint une valeur inférieure à 0,0875 mmol/g pour les sphères de 6 mm.

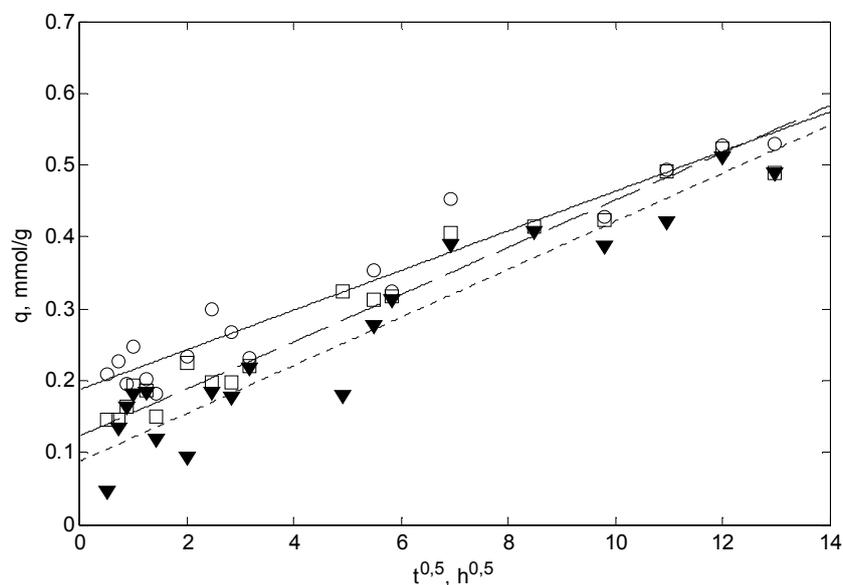


Figure 21 Graphe de Weber pour BBSL à une concentration initiale de Cr de 100 mg/L et 1 g/L de biomasse encapsulée en sphères d_p o 3mm □ 4 mm ▼ 6 mm

Les taux de détoxification et élimination du Cr obtenus sont :

66,1 – 60,5 – 60,2 % para 3 – 4 y 6 mm détoxification

43,1 – 39,7 - 39,7 % para 3 – 4 y 6 mm élimination

L'analyse de trois cycles consécutifs d'adsorption-désorption, en utilisant comme éluant NaOH 0,5 N a montré que les deux premiers cycles se comportent de façon similaire, tandis que l'efficacité de l'élimination du Cr du milieu est considérablement diminuée dans le troisième.

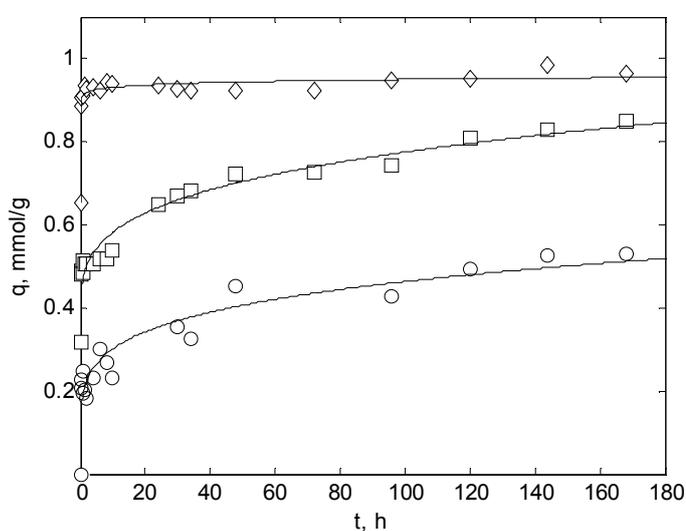


Figure 22 Variation de q_{retenu} en fonction du temps, d_p 3mm o 1° cycle □ 2° cycle ◇ 3° cycle

Lorsque le Cr retenu par la biomasse à la fin de chaque cycle, q_{retenu} , est pris en compte, la quantité accumulée augmente avec les cycles, et elle est plus importantes pour les sphères de petites tailles.

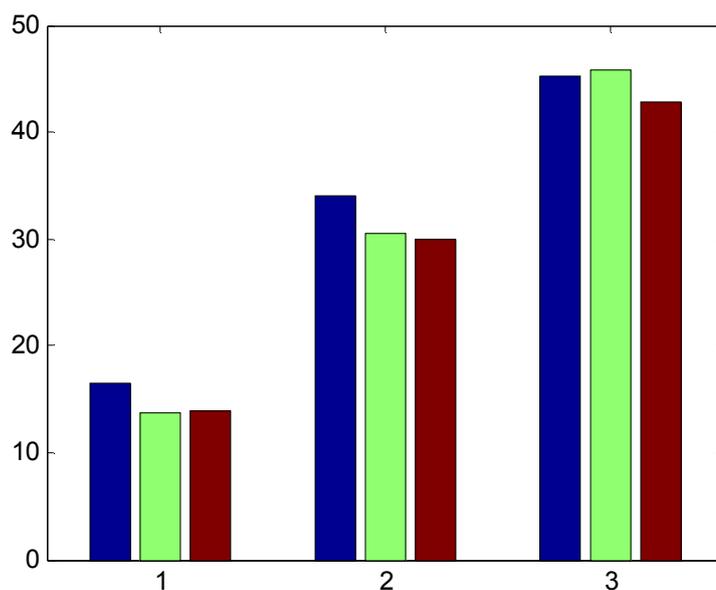


Figure 23 Cr retenu par les sphères dans les trois cycles, d_p , (bleu) 3mm (vert) 4mm (rouge) 6 mm

Le taux maximal de désorption est de 46%, ce faible pourcentage est justifié du fait que la grande partie du Cr, peut-être 100%, est retenu par la biomasse sous forme de Cr(III). Ce dernier, qui se trouve dans des conditions électrostatiques défavorables (interaction répulsive) est probablement lié à la biomasse par complexation avec des groupements carboxyle ou amine de la biomasse et ne peut pas être élué par lavage avec une base.