



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE
IONES DE COBRE Y CADMIO PRESENTES EN AGUA
MARINA POR BIOMASA ACTIVADA DE *Sargassum*
sinicola SETCHELL Y GARDNER**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, manejo y preservación de los recursos naturales
(Orientación en Biotecnología)

Presenta

Mónica Patron Prado

La Paz, B.C.S., octubre 2005

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 11:00 horas del día 10 del Mes de octubre del 2005, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Evaluación de la capacidad de remoción de iones de cobre y cadmio presentes en agua marina por biomasa activada de *Sargassum sinicola* Setchell y Gardner 1924"

Presentada por el alumno:

Mónica Patrón Prado

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN Biotecnología

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

DRA. LIA CELINA MÉNDEZ RODRIGUEZ
DIRECTOR DE TESIS



M. en C. MARÍA DEL REFUGIO LÓPEZ TAPIA
CO-TUTOR

DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA
CO-TUTOR

DRA. THELMA ROSA CASTELLANOS CERVANTES,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMITE TUTORIAL

DIRECTORA: DRA. LIA CELINA MENDEZ RODRIGUEZ
TUTORES: DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA
M. en C. MARIA DEL REFUGIO LOPEZ TAPIA

COMITÉ REVISOR DE TESIS

DRA. LIA CELINA MENDEZ RODRIGUEZ
DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA
M. en C. MARIA DEL REFUGIO LOPEZ TAPIA

JURADO DE EXAMEN DE GRADO

DRA. LIA CELINA MENDEZ RODRIGUEZ
DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA
M. en C. MARIA DEL REFUGIO LOPEZ TAPIA

SUPLENTE

DR. LUIS BRITO CASTILLO

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por el apoyo económico que me permitió realizar los estudios de postgrado, lo mismo que al CIBNOR y al proyecto P.C. 2.2. de Metales Pesados del Proyecto estratégico de toxicología.

A Baudilio A. Vargas y Griselda F. Peña A., técnicos del laboratorio de Espectrofotometría de Absorción Atómica, por su ayuda, consejos, paciencia y amistad. Al igual que a Ma. Sofía Ramos G., Manuel S. Trasviña C. y especialmente a Pablo Monsalvo S., técnicos de los laboratorios de Diagnóstico Microbiológico, Edafología y Aclimatación y Mantenimiento de Organismos Acuáticos, respectivamente, por la ayuda prestada para la realización de este trabajo.

A la Dra. Lía Méndez, por su apoyo incondicional en todo momento, quien me inspiro para continuar en este camino, así como a la Dra. Elisa Serviere por sus acertados comentarios y a la M.C. Ma. Del Refugio López Tapia por darme ánimos en todo momento.

A Hector A. Serrano G. y Alma A. Parra A. brindarme la ayuda en el momento justo que la requería y especialmente a Hector A. Serrano P. por su valioso apoyo.

A mis queridas amigas Lilia Isabel Ibarra M. y Ma. Guadalupe Carrizosa V., por escucharme siempre que lo necesite.

A todos ellosGRACIAS.

Este trabajo esta dedicado a las personas que más amo, mi hija, esposo, papás y hermanos a quienes debo el ser quien soy y el poder hacer lo que prefiero.

INDÍCE

Contenido	Página
AGRADECIMIENTOS	
INDICE DE FIGURAS	
INDICE DE TABLAS	
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	7
GENERALIDADES DE LA BIOSORCIÓN	13
ORGANISMO DE ESTUDIO	19
JUSTIFICACIÓN	22
HIPÓTESIS	23
OBJETIVO	24
MATERIAL Y MÉTODOS	25
CARACTERÍSTICAS DEL SITIO DE COLECTA	25
ENSAYOS	28
1. Activación óptima para la biosorción máxima de <i>S. sinicola</i> .	28
2. Efecto de la concentración inicial de Cd y Cu de la solución en la capacidad de remoción del alga <i>S. sinicola</i> .	31
3. Tiempo requerido para la saturación de <i>S. sinicola</i> para cada uno de los elementos.	33
4. Efecto del pH en la capacidad de biosorción de <i>S. sinicola</i> .	34
5. Efecto de la salinidad en la capacidad de biosorción de <i>S. sinicola</i> .	36
6. Efectos de sinergismo-antagonismo entre Cu y Cd, en la biosorción de <i>S. sinicola</i> .	37
ANÁLISIS DE DATOS	39
RESULTADOS	40
1. Activación óptima para la biosorción máxima de <i>S. sinicola</i> .	40
2. Capacidad de biosorción máxima (Q) de <i>S. sinicola</i> .	41
3. Tiempo requerido para la saturación de <i>S. sinicola</i> para cada uno de los elementos.	46
4. Efecto del pH en la capacidad de biosorción de <i>S. sinicola</i> .	47

5. Efecto de la salinidad en la capacidad de biosorción de <i>S. sinicola</i> .	48
6. Efectos de sinergismo-antagonismo entre Cu y Cd, en la biosorción de <i>S. sinicola</i> .	49
DISCUSIÓN	51
CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61

INDÍCE DE FIGURAS

Página	
	Fig. 1.- Fórmulas clásicas de las dos unidades monoméricas del ácido algínico..... 13
	Fig. 2.- Fórmulas en formas de silla de las dos unidades monoméricas del ácido algínico..... 13
	Fig. 3.- Bloques MM presentes en el ácido algínico..... 14
	Fig. 4.- Bloques GG presentes en el ácido algínico..... 14
	Fig. 5.- Modelo “Egg-box” del ácido algínico..... 15
	Fig. 6.- Isotermas de Langmuir. Donde q = cantidad de metal removido, b = constante de afinidad y Q = capacidad máxima de remoción del metal..... 18
	Fig. 7.- Esquema de un ejemplar de <i>S. sinicola</i> 20
	Fig. 8.- Localización del sitio de colecta..... 27
	Fig. 9.- Diseño del ensayo de activación óptima..... 30
	Fig 10.- Efecto de la concentración inicial de Cd en la capacidad de remoción de <i>S.</i> <i>sinicola</i> . (35 ups, pH=8, t=24 hrs)..... 41
	Fig. 11.- Isoterma de Langmuir correspondiente a la cantidad de Cd removido por <i>S.</i> <i>sinicola</i> . (35 ups, pH=8, t=24 hrs)..... 42
	Fig. 12.- Efecto de la concentración inicial de Cu en la capacidad de remoción de <i>S.</i> <i>sinicola</i> . (35 ups, pH=8, t=24 hrs)..... 43
	Fig. 13.- Isoterma de Langmuir correspondiente a la cantidad de Cu removido por <i>S.</i> <i>sinicola</i> . (35 ups, pH=8, t=24 hrs)..... 44
	Fig. 14.- Cantidad de Cd retenida en <i>S. sinicola</i> después del proceso de biosorción. (35 ups, pH=8, t=24 hrs)..... 45
	Fig. 15.- Cantidad de Cu retenido en <i>S. sinicola</i> después del proceso de biosorción. (35 ups, pH=8, t=24 hrs)..... 45
	Fig. 16.- Cinética de remoción de iones de Cd por <i>S. sinicola</i> . (35 ups, pH=8)..... 46
	Fig. 17.- Cinética de remoción de iones de Cu por <i>S. sinicola</i> . (35 ups, pH=8)..... 46
	Fig. 18.- Cantidad promedio de Cd removida por <i>S. sinicola</i> a diferentes valores de pH. (35 ups, t=20 hrs)..... 47
	Fig. 19.- Cantidad promedio de Cu removida por <i>S. sinicola</i> a diferentes valores de pH. (35 ups, t=20 hrs)..... 47
	Fig. 20.- Capacidad de biosorción de Cd por <i>S. sinicola</i> a diferentes salinidades. (pH=8, t=24 hrs)..... 48
	Fig. 21.- Capacidad de biosorción de Cu por <i>S. sinicola</i> a diferentes salinidades. (pH=8, t=24 hrs)..... 48
	Fig. 22.- Efecto de la remoción simultanea de Cu y Cd sobre la capacidad de biosorción de Cd de <i>S. sinicola</i> . (35 ups, pH=8, t=24 hrs)..... 49
	Fig. 23.- Efecto de la remoción simultanea de Cu y Cd sobre la capacidad de biosorción de Cu de <i>S. sinicola</i> . (35 ups, pH=8, t=24 hrs)..... 50

ÍNDICE DE TABLAS

Contenido

Página

Tabla I.- Capacidad de sorción (Q) de Cd y Cu de varias algas café.	8
Tabla II.- Variaciones en los tratamientos de activación de <i>S. sinicola</i> .	29
Tabla III.- Cantidad de Cd y Cu removido por el alga sometida a diferentes procesos de activación.	40
Tabla IV.- Comparación entre la capacidad de sorción (Q) de Cd y Cu de varios biosorbentes y <i>S. sinicola</i> .	54

RESUMEN

A nivel mundial, existe una gran preocupación por la contaminación del medio ambiente especialmente en los sistemas marinos. Entre los contaminantes más peligrosos están considerados los metales pesados, entre los que se encuentran Cd y Cu que se presentan en numerosas descargas. El Cd es un contaminante muy tóxico para plantas y animales. Por su parte el Cu es un micronutriente esencial para la mayoría de los seres vivos, pero cuando este elemento se encuentra en su forma iónica libre (Cu^{2+}) en altas concentraciones, se vuelve tóxico para las células microbianas, así como para ciertas algas, hongos e incluso animales. Actualmente no se cuenta con ningún sistema que pueda ayudar a solucionar o mitigar los problemas generados por la presencia de metales pesados en agua marina. A pesar de que las algas son utilizadas como bioindicadores de contaminación por su capacidad para acumular metales, no han sido utilizadas para la remoción de metales pesados en ambientes costeros. Con la finalidad de aportar las bases científicas que permitan el desarrollo de una tecnología de biorremediación eficiente, de bajo costo y con recursos renovables propios de la región del Golfo de California, se determinó la máxima capacidad de remoción de iones de Cu y Cd por la macroalga café *Sargassum sinicola* colectada en las costas de Guaymas Sonora. También se estableció tiempo en el que la capacidad del alga se satura y el efecto del pH, del tipo de activación de la biomasa y de la presencia de otros iones en la solución sobre dicha capacidad en distintos ensayos. Se observó que *S. sinicola* presenta una baja capacidad de remoción de Cd al actuar en agua marina (2.8mg de metal por gramo de alga), mientras que muestra una buena capacidad de remoción de Cu (52mg de metal por gramo de alga) en comparación a las eficiencias de otros biosorbentes reportados en la literatura revisada. *S. sinicola* además de presentar una buena capacidad de remoción de Cu, puede mantener dicha capacidad en un rango de pH y de salinidad común en el medio marino. Sobresale el hecho de que la biomasa algal no requiere de activación para la remoción de este elemento y que su actividad no es afectada por la presencia de Cd en la solución, obteniéndose el 98% del retiro del metal en solo 75 minutos. De este trabajo se concluye que *S. sinicola* puede ser utilizado como un biosorbente de bajo costo para la remoción de Cu de agua marina pero no para la remoción de Cd.

ABSTRACT

One of the greater present preoccupations at world-wide level is the contamination, in special in the marine systems. Heavy metals are some of the most dangerous polluting agents, among them, Cu and Cd are present in numerous discharges. Cd is a very toxic polluting agent for plants and animals. On the other hand, Cu is an essential micronutrient for the most of the alive beings, but when this element is in its free ionic form (Cu^{2+}) in high concentrations, is toxic for the microbial cells, as well as for certain seaweed, fungi and even animals. At the moment any system does not exist that can help to solve or to mitigate the problems generated by the presence of heavy metals on marine waters. Although the seaweeds are used like biological indicators of contamination by their capacity to accumulate metals, they have not been used for the removal of heavy metals from coastal environments. With the purpose of contributing the scientific bases that allow the development of a technology of efficient biorremediation, of low cost and with own renewable resources of the region of the Gulf of California; the maximum capacity of removal of Cu and Cd by the brown seaweed *Sargassum sinicola* collected in the coasts of Guaymas, Sonora was determined; As well as the time in which the capacity of the alga is saturated and the effect of pH, the activation of the biomass and the presence of other ions in the solution on this capacity in different tests. Being that *S. sinicola* presents a low capacity of removal of Cd from marine water (2.8mg of metal by gram of algae), whereas it displays a good capacity of removal of Cu (52mg of metal by gram of algae) in comparison to the efficiencies of other biosorbents. Besides to display a good capacity of removal of Cu, *S. sinicola* it can maintain this capacity in a rank of pH and salinities common in the marine environment, combined to this the biomass it does not require of activation for the removal of this element, it is not affected by the presence of Cd in the solution and the time in which it carries out 98% of the removal of the metal is just 75 min. It is possible to be concluded that *S. sinicola* can be used like a biosorbent of low cost for the removal of Cu from marine water but does not for the removal of Cd.

INTRODUCCIÓN

Una de las mayores preocupaciones actuales a nivel mundial es la contaminación, en especial en los sistemas marinos. Según el Grupo de Expertos sobre los Aspectos Científicos de la Contaminación de las aguas (GESAMP), esta es producto de la introducción por el hombre, directa o indirecta de sustancias o de energía en dichos sistemas (incluyendo esteros). La cual tiene efectos nocivos en la biota presente en ellos, además de poner en peligro la salud humana, dificultar las actividades marinas, incluida la pesca, perjudicar la utilización del agua de mar y reducir su disfrute (GESAMP, 1991).

Entre los contaminantes más peligrosos se encuentran los metales pesados, término que se designa para englobar a aquellos elementos cuyo número atómico es mayor al del hierro (59), o tiene densidades mayores a 5g/ml (Sorentino, 1979). Desde el punto de vista de contaminación ambiental, los metales pueden ser clasificados dentro de los siguientes grupos, (I) No críticos, como por ejemplo el Fe, Na, K, Mg, Ca y Rb, entre otros, (II) Tóxicos, pero muy insolubles o muy raros, como el Ti, Ga, La, Ru, Ba y Zr entre otros, y (III) Muy tóxicos y relativamente accesibles como el Be, As, Zn, Co, Hg, Cu, Ag y Cd entre otros.

Algunos metales muy tóxicos, como el Cu y el Zn son micronutrientes esenciales y frecuentemente son referidos como metales traza. Diversos procesos industriales liberan metales pesados en sistemas marinos. En éstos, el Cd y Cu son elementos presentes en numerosas descargas, estando en muchas ocasiones por arriba de lo que estipulan las normas oficiales (Terry y Stone, 2002).

El Cd es un contaminante muy tóxico para plantas y animales. Presente en zonas costeras próximas a industrias y minas, donde las concentraciones pueden elevarse de

los niveles normales de cerca de $0.1\mu\text{g/L}$ hasta algunos microgramos por litro (Golberg et al., 1971; Riley y Taylor, 1972). El Cd es un metal no esencial para los organismos vivos y es tóxico al desplazar al Zn en funciones metabólicas (Leborans y Novillo, 1996). La exposición a bajas concentraciones de este metal pueden resultar en daño renal y además, según estudios epidemiológicos puede ser un factor que contribuya a desarrollar algunas formas de cáncer en humanos (Terry y Stone, 2002). Este elemento es utilizado en pigmentos y pinturas, baterías, como estabilizador del cloruro de polivinilo (PVC), en procesos de galvanoplastia, electro plateado, en acumuladores entre otros muchos usos (Albert, 1998). Los fertilizantes son una fuente importante de este elemento al encontrársele naturalmente asociado a la fosforita (Mann y Ritchie, 1995).

Por su parte el Cu es un micronutriente esencial para la mayoría de los seres vivos, ya que es constituyente de muchas metaloenzimas y de otras proteínas implicadas en los procesos de transporte de electrones y en otras reacciones de oxido-reducción. Los requerimientos de Cu por parte de los microorganismos por lo general se satisfacen con muy bajas concentraciones del metal, pero cuando este elemento se encuentra en su forma iónica libre (Cu^{2+}) en altas concentraciones, es tóxico para las células microbianas, así como para ciertas algas, hongos e incluso animales. La toxicidad del Cu se atribuye principalmente a sus interacciones con los ácidos nucleidos, a la alteración de sitios activos de enzimas y a la oxidación de componentes de las membranas, procesos que pueden relacionarse con la capacidad del Cu de formar radicales libres tóxicos (Simpson et al., 1988). Las concentraciones tóxicas de Cu, que varían de un organismo a otro, pueden inhibir la enzima Na-K ATPasa en la membrana celular, reduciendo la capacidad de regular K y el balance osmótico (Cardeilhac et al.,

1979). Este elemento es muy usado en la fabricación de cables, enchufes y terminales, así como en los componentes de casi todos los artículos alimentados por electricidad. También se utiliza como fungicida en cultivos agrícolas, y en ocasiones se utiliza en acuicultura como sulfato de Cu que es un alguicida empleado ocasionalmente antes de la siembra de los organismos en estanques (Acosta, 2002).

A diferencia de los pesticidas y otros compuestos tóxicos que pueden degradarse biológicamente, los metales pesados no pueden ser eliminados y permanecen en los suelos o sedimentos, de donde se liberan lentamente al agua (Rai et al., 1981; Erlich, 1990). Se han empleado distintos métodos para la remoción de metales en sistemas acuáticos. Dentro de éstos, los métodos convencionales (por ej. la precipitación y separación de sedimentos, oxidación química o reducción, intercambio iónico, ósmosis inversa, separación por membrana, tratamientos electroquímicos y evaporación) son frecuentemente ineficientes y costosos cuando se utilizan en efluentes diluidos y muy diluidos (Kaewsarn, 2002). Por ello, recientemente, los sistemas biológicos de remoción han sido considerados atractivos para la eliminación de metales de aguas de deshecho, para lo que se ha evaluado el uso de microorganismos y algas en los que la asimilación del metal puede efectuarse activamente (bioacumulación) y/o pasivamente (biosorción).

Algunos estudios para aplicaciones a gran escala, han demostrado que los procesos de biosorción son más eficientes que los procesos bioacumulativos debido a que los sistemas vivos (asimilación activa) frecuentemente requieren la adición de nutrientes que causan el incremento de la demanda biológica y/o química de oxígeno en el afluente, dificultando el mantenimiento de la población microbiana o algal debido a la toxicidad del metal y otros factores ambientales desfavorables. En estas condiciones el potencial de biosorción para la recuperación del metal se restringe ya que este puede

formar enlaces intracelulares, y/o complejos con productos metabólicos que favorezcan su retención en la solución.

La biosorción resulta de la habilidad de biomazas microbianas y vegetales para secuestrar iones de metales pesados de soluciones acuosas por mecanismos fisicoquímicos. Los grupos funcionales responsables de la biosorción de los metales son los grupos carboxílicos, hidroxilos y sulfatos, entre otros, presentes en los biopolímeros de las paredes celulares de la biomasa y la importancia de cualquier grupo para la biosorción de un determinado metal por una determinada biomasa depende de factores como: el número de sitios en el material biosorbente, la accesibilidad de los sitios, el estado químico de los sitios y la afinidad entre los sitios y el metal (Vieira y Volesky, 2000).

Según Kratochvil y Volesky (1998) las principales ventajas de la bioasorción sobre los métodos convencionales de tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados son bajo costo, alta eficiencia, minimización de lodos químicos y/o biológicos, no requiere de adición de nutrientes, regeneración del material biosorbente; y posibilidad de recobro del metal. Los procesos de biosorción son generalmente rápidos y han probado ser adecuados para la extracción de iones metálicos en grandes volúmenes de agua (Brady et al., 1994) utilizando biomasa de materias primas que son abundantes en la naturaleza (por ej. algas marinas) o deshechos de otras operaciones industriales (por ej. de fermentación).

Un problema potencial cuando se usa biomasa viva es que el crecimiento y la eficiencia de la remoción puede ser limitada por los efectos tóxicos de los metales pesados en solución (Wilde y Benemann, 1993), por ejemplo, a pesar de que la biomasa microalgal tiene la ventaja de ser relativamente fácil de cultivar y producir en grandes

cantidades, la eficiencia de la microalga de enlazar metales se ve modificada por el medio, edad y fase del crecimiento del cultivo.

Es por ello que han sido evaluadas en la última década, diferentes biomásas no vivas como bacterias (Strandberg et al., 1981; Scott y Karanjkar, 1992; Sag y Kutsal, 1995; Chang et al., 1997), hongos (Tobin et al., 1984; Huang et al., 1991; Fourest et al., 1994; Matheickal et al., 1991; Matheickal y Yu, 1997), levaduras (Huang et al., 1990; Volesky et al., 1993; Matheickal y Yu, 1996), algas dulceacuícolas (Crist et al., 1981; Ozer et al., 1994), microalgas (Harris y Ramelow, 1990; Zhou et al., 1998), macroalgas marinas (Holan et al., 1993; Chong y Volesky, 1995; Fourest y Volesky, 1996; Matheickal y Yu, 1996; Matheickal et al., 1997) y otras (Freer et al., 1989; Deshkar et al., 1990; Schneider et al., 1995). Diversos artículos mencionan el uso de microalgas y sobre todo en sistemas acuáticos de agua dulce (Gupta, et al., 2001; Nuhoglu et al., 2002; Terry y Stone, 2002; Vasconcelos et al., 2001), pero pocos se centran en el uso de macroalgas para la remoción de metales traza en ambientes marinos (Costa et al., 2001; Hashim y Chu, 2002).

Las investigaciones recientes han demostrado que las macroalgas marinas presentan una importante capacidad de biosorción para un amplio rango de metales pesados ya que tienen una alta capacidad de enlazar metales traza, hasta en un 25% de su peso seco (Yu et al., 2001). La pared celular es una matriz fibrosa y presenta espacios intracelulares ricos en polisacáridos sulfatados, grupos hidroxilos y carboxílicos que son fuertes intercambiadores que ofrecen sitios activos que favorecen la formación de complejos con metales. Una ventaja de utilizar biomasa algal muerta es que tiene la capacidad de desorber los metales mediante un tratamiento químico simple y de muy

bajo costo; y después de varios ciclos de biosorción y desorción aun conserva sus propiedades biosorbentes (Volesky, 2000).

Los estudios sobre la capacidad de biosorción de metales de diferentes especies de algas usan diferentes métodos de activación de la biomasa, como son el lavado con álcalis, ácidos, detergentes y calor (Matheickal et al., 1997; Volesky y Kuyucak, 1988; Schiewer y Volesky, 1999; Antunes et al., 2003; Davis et al., 2000), entre otros. Sin embargo, no se han realizado comparaciones entre los resultados obtenidos para determinar cual es el mejor método de activación. Por otra parte los estudios realizados con algas café, rojas y verdes han demostrado que las algas café tienen una mayor capacidad de remoción de Cd y Pb, pero hace falta evaluar efectos sinérgicos o antagónicos entre los elementos a remover.

Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo comparar entre diferentes métodos de activación algal para obtener la máxima remoción de Cu y Cd presentes en agua marina, así como determinar cuales son las condiciones óptimas requeridas para lograr la máxima capacidad de remoción; y evaluar los efectos sinérgicos o antagónicos entre Cd y Cu durante el proceso de biosorción usando biomasa muerta de *Sargassum sinicola*.

ANTECEDENTES

Los metales son asimilados pasivamente y activamente por las algas. Algunos como Pb y Sr, pueden ser adsorbidos pasivamente por polisacáridos cargados en la célula y la matriz intracelular (Morris y Bale, 1975; Eide et al., 1980). Estos procesos de adsorción de los metales pesados por células muertas de algas han sido ampliamente estudiados por varios investigadores, entre los que destaca B. Volesky. Este investigador y su grupo de colaboradores han logrado cuantificar la adsorción de varios tipos de biomasa y sus resultados muestran que los polisacáridos de las algas café logran adsorber iones en solución de varias especies metálicas, entre las que destacan la adsorción de Pb y Au. Las algas café muestran una especial afinidad por los iones divalentes y específicamente por metales como el Pb, Hg, Cr, Cu y Cd, lo que resulta especialmente importante, ya que estos metales se consideran como contaminantes muy tóxicos, debido a las altas cantidades descargadas al medio ambiente y a la alta toxicidad que presentan algunas de sus formas químicas (Volesky , 1990).

En general, las algas café muestran capacidades de remoción de metales pesados mucho más altas que las del carbón activado y la zeolita natural, y son comparables a las capacidades de remoción de las resinas de intercambio iónico sintéticas (Matheickal et al., 1997). Algunas de las capacidades de remoción de iones de Cd y Cu por algas café se resumen en la tabla I. Específicamente algunas especies del género *Sargassum* se han identificado como muy efectivos biosorbentes disponibles en grandes cantidades (Volesky y Kuyucak, 1988; Schiewer y Volesky, 1999). Antunes et al. (2003) han encontrado que la biomasa seca de *Sargassum* sp. puede adsorber hasta 166 mg de Cu por gramo de alga; mientras que Davis et al. (2000) reportan para *Sargassum vulgare*

una capacidad de sorción de 89 mg de Cu por gramo de biomasa. Además se ha encontrado que la biomasa seca del alga café *S. fluitans* es particularmente efectiva en atrapar iones metálicos de Cd. La alta capacidad de sorción (excediendo los 100mg/gr), la fácil regeneración y los bajos costos de esta biomasa, la hacen de especial interés para la purificación de altos volúmenes de aguas residuales con baja concentración de Cd (Yang y Volesky, 1999).

Tabla I.- Capacidad de sorción (Q) de Cd y Cu de varias algas café.

Bioasorbente	Cd Q(mg/g)	Cu Q(mg/g)	Referencia
<i>Scenedesmus obliquus</i>	*	10	Mattuschka et al. 1993
<i>Fucus vesiculosus</i>	73	*	Holan et al. 1993
<i>Ascophyllum nodosum</i>	215	*	Holan et al. 1993
<i>Sargassum vulgare</i>	87	59	Volesky et al.1995
<i>Sargassum fluitans</i>	80	56	Volesky et al.1995
<i>Sargassum filipendula</i>	74	51	Volesky et al.1995
<i>Laminaria japonica</i>	97	78	Zhou et al. 1998
<i>Sargassum Kjellmanianum</i>	101	92	Zhou et al. 1998

* = sin datos

La mezcla única de polisacáridos, principalmente alginato y fucoidan, es la mayor responsable de la excelente habilidad de biosorción de las algas café. Los grupos carboxilos de los alginatos han sido identificados como los principales sitios de unión de los metales. Otros grupos funcionales negativamente cargados como los grupos sulfonato del fucoidan también contribuyen a la complejación de los metales pesados (Crist et al., 1990; Fourest y Volesky, 1996). Aunque los productos derivados de las algas pardas han demostrado ser buenos biosorbentes, los alginatos son los que presentan la mayor capacidad de remoción; sin embargo el elevado costo de las fibras de alginato hacen impracticable su uso en escala industrial (Stirk et al., 2000).

FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN EL PROCESO DE LA BIOSORCIÓN

El proceso de biosorción es afectado por diferentes parámetros, entre los más importantes se encuentran: el estado fisiológico del organismo, la edad de las células, la disponibilidad de nutrientes durante su crecimiento y de las condiciones ambientales durante el proceso de biosorción (tales como pH, temperatura y presencia de ciertos cationes).

Entre los principales factores ambientales que afectan el proceso de la biosorción, la temperatura parece no tener influencia en el rango de 20 – 35 °C (Aksu et al., 1992); sin embargo, Tsezos y Volesky (1981), Kuyucak y Volesky (1989) y Aksu et al. (1991) reportan un ligero incremento en la capacidad de remoción de cationes por las macroalgas marinas al incrementarse la temperatura de los 4 a los 55 °C.

El pH parece ser el más importante parámetro en el proceso de la biosorción, este afecta el grado de solubilidad de los metales, la actividad de los grupos funcionales en la biomasa y la competencia entre iones metálicos (Friis y Myers- Keith, 1986; Galun et al., 1987).

La concentración de la biomasa en la solución parece influenciar la sorción específica: teniéndose que a medida que disminuye la concentración de biomasa se incrementa la sorción específica de los iones metálicos en la solución (Fourest y Roux, 1992; Gadd et al., 1988). Gadd et al. (1988) sugieren que un incremento en la concentración de la biomasa lleva a la interferencia entre los sitios de unión. Fourest y Roux (1992) invalidan esta hipótesis atribuyendo la responsabilidad del decremento en la biosorción específica a la escasez de metal en solución.

La biosorción es principalmente utilizada para el tratamiento de aguas contaminadas donde pueden estar presentes más de un tipo de iones metálicos; la

remoción de un ión metálico puede ser influenciada por la presencia de otros iones metálicos. Por ejemplo: la remoción de U por bacterias, hongos y levaduras no es afectada por la presencia de Mn, Co, Cu, Cd, Hg y Pb en solución (Sakaguchi y Nakajima, 1991). En contraste, la presencia de Fe^{2+} y Zn^{2+} influyen positivamente en la remoción de uranio por *Rhizopus arrhizus* (Tsezos y Volesky, 1982) y los tratamientos de remoción de Co mediante el uso de diferentes microorganismos han mostrado ser completamente inhibidos por la presencia de U, Pb, Hg y Cu (Sakaguchi y Nakajima, 1991).

ACTIVACIÓN DE LA BIOMASA

Aunado a lo anterior, la afinidad de la biomasa por el metal puede ser manipulada mediante activaciones de la biomasa con álcalis, ácidos, detergentes y calor, los cuales pueden incrementar la cantidad de metal removido. La capacidad de biosorción del hongo *Mucor rouxii* tratado con calor disminuye en comparación con el hongo vivo, lo que se atribuye a la pérdida de sorción intracelular (Yan y Viraraghavan, 2000). Sin embargo, Galun et al. (1987) reportan que la biomasa activada de *Pencillium* a 100°C por 5 minutos incrementa la biosorción de Pb, Cd, Ni y Zn, y el incremento se atribuye a la exposición de sitios de unión latentes después de la activación.

En el caso de la activación con álcalis, la capacidad de biosorción del hongo *Mucor rouxii* mejora significativamente en comparación con tratamientos térmicos (Yan y Viraraghavan, 2000). En un estudio de Galun et al. (1987), la biomasa de *Pencillium digitatum* activada con NaOH mostró mayor capacidad de remoción de Cd, Ni y Zn que la biomasa sin activar. La remoción de impurezas en la superficie celular, la ruptura de

membranas celulares y la exposición de sitios de unión activos para la sorción de metales después de la activación pueden ser la razón del incremento en la remoción del metal. McGahren et al. (1984), Brierly et al. (1985) y Muraleedharan y Venkobachar (1990) muestran que la activación con álcali de la biomasa puede destruir enzimas autolíticas que causan la putrefacción de la biomasa además de remover lípidos y proteínas que enmascaran sitios activos. Sin embargo, la activación puede causar la pérdida de polímeros como los polisacáridos que tienen una alta afinidad con determinados iones metálicos (Mittelman y Geesey, 1985; Loaec et al., 1997).

La activación con ácido del hongo *Mucor rouxii* disminuye significativamente la biosorción de metales pesados (Yan y Viraraghavan, 2000). Esto es atribuido a la unión de iones H^+ a la biomasa después de la activación con ácido. La estructura polimérica de la superficie de la biomasa presenta una carga negativa debido a la ionización de los grupos orgánicos e inorgánicos (Hughes y Poole, 1989). Bux y Kasan (1994) sugieren que a mayor electronegatividad de la biomasa, mayor será la atracción y sorción de cationes de metales pesados. Por esto, los iones H^+ remanentes del tratamiento ácido puede cambiar la electronegatividad de la biomasa, resultando en la disminución de la capacidad de biosorción.

Trabajando con cuatro especies de algas rojas, Burdin y Bird (1994) encuentran que los tejidos que habían sido liofilizados antes de la exposición a los metales pesados, mostraban mayores tasas de acumulación que los talos vivos, posiblemente debido a un incremento en la cantidad de superficie y áreas internas para la sorción de metales pesados. De manera similar polvo algal sometido a procesos de congelación y secado presentaron mayor capacidad de sorción que los talos intactos debido a una mayor

superficie en relación al volumen, con más sitios de unión disponibles (Webster et al., 1997).

Por lo anterior en el presente trabajo se evaluara la eficacia de diferentes activaciones reportadas anteriormente para aumentar la capacidad de remoción de la biomasa algal muerta de *S. sinicola*. Entre estas, las mas frecuentemente reportadas son: la activación con formaldehído y HCl (Lodeiro et al., 2004; Volesky et al.,1998), la activación mediante la cocción (Wilde y Benemann,1993; Hassall 1963), la activación con sucesivos lavados de H_2SO_4 y $Ca(OH)_2$ (Hashim y Chu, 2002; Lee y Volesky, 1997) y la activación con sucesivos lavados de H_2SO_4 y Na OH (Davis et al., 2000; Hashim y Chu ,2002).

Se buscara determinar también cuales son las condiciones óptimas para llevar a cabo el proceso de biosorción y cual es el tiempo mínimo requerido para lograr la saturación de la biomasa de *S. sinicola*.

GENERALIDADES DE LA BIOSORCIÓN

Recientemente se ha demostrado que el principal componente responsable de la sorción de los metales pesados en las algas café, es el alginato, el cual esta presente en forma de gel dentro de las paredes celulares y en el mucílago o material intracelular (Fourest y Volesky, 1997; Chapman y Chapman, 1980). El alginato es la sal del ácido algínico, polisacárido lineal constituido por dos unidades monoméricas, el ácido β -D-manurónico (M) y el ácido α -L-gulurónico (G). Estos se agrupan en bloques de secuencias MM, MG, unidos por enlaces glucosídicos β (1-4); y bloques GG, GM, unidos por enlaces glucosídicos α (1-4) (Haug et al., 1966). Las fórmulas clásicas de Haworth para los dos monómeros se muestran en la figura 1, mientras la figura 2 ilustra las llamadas fórmulas de silla que permiten ver en forma más clara el arreglo tridimensional de las moléculas:

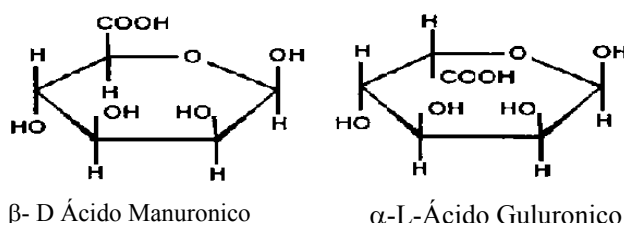


Fig. 1.- Fórmulas clásicas de las dos unidades monoméricas del ácido algínico.

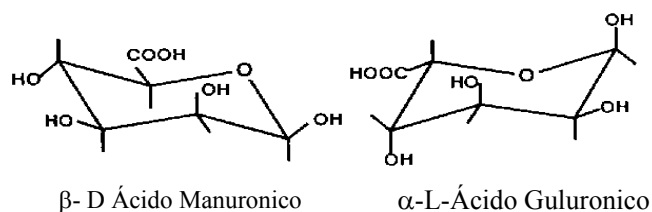


Fig. 2.- Fórmulas en formas de silla de las dos unidades monoméricas del ácido algínico.

Se ha demostrado que la cadena polimérica que constituye el ácido algínico y sus sales se compone de tres tipos de regiones o bloques. Los bloques G contienen solo unidades derivadas del ácido L-gulurónico, los M se basan enteramente en ácido D-manurónico y las regiones MG, que consisten en unidades alternadas de ambos ácidos. En las figuras 3 y 4 se muestran las configuraciones espaciales que adoptan los bloques M y G debido a los diferentes enlaces glucosídicos entre los carbonos C-1 y C-4 de las unidades monoméricas. Las regiones de bloques M corresponden a cadenas lineales, mientras que los bloques G presentan una estructura en forma de bucle.

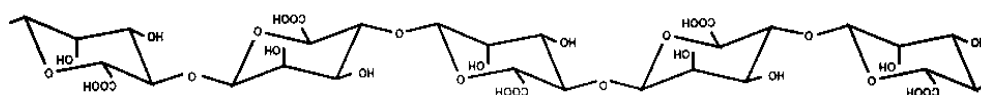


Fig. 3.- Bloques MM presentes en el ácido algínico.

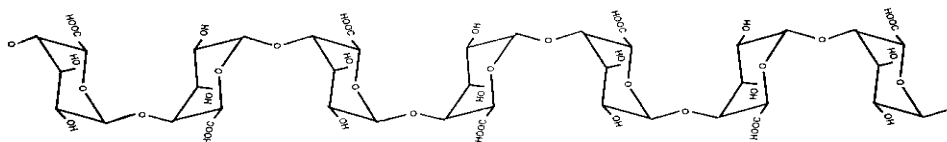


Fig. 4.- Bloques GG presentes en el ácido algínico.

Cuando dos cadenas de bloques G se alinean lado a lado resulta un hueco en forma de diamante, el cual tiene la dimensión ideal para acomodar en su interior un ión Ca, formándose una estructura dimérica. Éste modelo fue propuesto por Grant en 1973 ("egg-box" -caja de huevos-) para explicar las propiedades gelificantes de los alginatos al reaccionar con iones de Ca y se basa en la formación de una unidad dimérica entre los iones Ca y las cadenas del polímero en forma de bucles (regiones de bloques GG). La estructura tridimensional de las cadenas ricas en ácidos gulurónicos genera

distancias entre los grupos carboxilos e hidroxilos que permiten un alto grado de coordinación de iones Ca , formándose la estructura mostrada en la figura 5. Esta diferencia clave en la conformación molecular entre los dos bloques homopoliméricos es la responsable de la afinidad de los alginatos por los metales pesados (Davis et al., 2003). Haug demostró en 1961 que la afinidad de los alginatos por iones divalentes como el Pb , Cu , Cd , Zn , Ca , etc. se incrementa al incrementarse el contenido de ácido gulurónico.

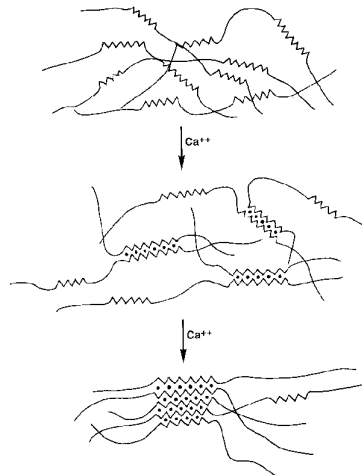


Fig. 5.- Modelo "Egg-box" del ácido algínico

Sin embargo a pesar de que el ácido algínico puede constituir entre el 10% y el 40% del peso seco del alga en su estado natural, la cantidad de este no permanece constante, ya que experimenta variaciones estacionales, las cuales pueden diferir de un lugar a otro, debido a que están relacionadas con diversos factores como son: la exposición al oleaje, las corrientes, nutrientes, estado de desarrollo, profundidades y temperatura, siendo esto último al parecer el de mayor importancia, ya que los alginatos son elaborados como un producto del metabolismo (Percival y McDowell, 1967).

En el caso de *S. sinicola* del Golfo de California se han reportado variaciones estacionales en el contenido de ácido algínico para poblaciones de diferentes localidades: en Bahía Magdalena, B.C.S. varía de 17.2% en invierno a 35.9% en verano, mientras que en San Juan de la Costa, B.C.S. se tiene reportada una variación que va del 17.2% en verano hasta un 26.2% en primavera (Hernández-Carmona, 1982). Aunado a lo anterior se sabe que la conformación y la proporción de los bloques M y G en el ácido algínico cambia dependiendo del género del alga y de la parte de la planta de donde se extrae el polisacárido (Haug et al., 1974), lo que resulta en una alta variación en la capacidad de sorción de metales pesados de especie a especie y aun de una población de algas a otra. Es por esto que se hace indispensable el estudio de la capacidad de biosorción de la población específica de algas que se pretenda utilizar para la biorremediación de un sitio contaminado con metales pesados.

En este sentido, los principales objetivos en el estudio de la biosorción son el esclarecer los mecanismos de unión, la afinidad relativa de los metales pesados por la biomasa y como ambos son afectados por las condiciones ambientales. El primer paso para lograr esta comprensión es cuantificar la capacidad de una biomasa dada para secuestrar metales pesados de una solución acuosa. Generalmente esto es llevado a cabo caracterizando el estado de equilibrio después de que la biomasa (por ejemplo alga café activada o no) se ha dejado reaccionar con una solución acuosa del metal de interés. La reacción es comúnmente monitoreada midiendo la cantidad de metal remanente en solución hasta que esta no varía con el tiempo. El modelo usado para describir los resultados debe de ser capaz de predecir la unión del metal pesado tanto a bajas como a altas concentraciones. Idealmente el modelo debería no ser no solo predictivo, sino que debe respaldar nuestra comprensión del mecanismo de biosorción.

ISOTERMA DE LANGMUIR

La isoterma de adsorción de Langmuir ha sido utilizada para cuantificar y contrastar el desempeño de diferentes biosorbentes. Sin embargo, este modelo fue originalmente desarrollado para describir la adsorción de la fase gas-sólido del carbón activado. En su formulación, la superficie de unión considera principalmente fuerzas físicas (por ejemplo fuerzas electrostáticas o de Van-der Waals), e implícitamente en su derivación se asume que todos los sitios de unión poseen igual afinidad por el metal. Su uso se extendió para describir empíricamente las relaciones de equilibrio entre una fase líquida y una fase sólida (Davis, 2003).

De acuerdo a la teoría de la isoterma de Langmuir se requiere: (1) que el número de las especies metálicas a adsorber no excedan el total de sitios de la superficie; y (2) que todos los sitios de la superficie tengan la misma energía o igual afinidad por el metal (en la figura 6 se muestran dos típicas isotermas de adsorción de Langmuir)(Langmuir, 1918). La última de estas condiciones no se presenta en el caso de la biosorción, ya que más de un tipo de grupo funcional contribuye al proceso de biosorción, cada uno de los cuales posee una diferente afinidad por determinado metal.

Sin embargo, la estequiometría uno a uno se ajusta a las observaciones experimentales, ya que se ha demostrado que el intercambio iónico es el mecanismo dominante, y aproximadamente dos protones son liberados al unirse un ión metálico divalente (Volesky, 1995). Debido a este hecho, la ecuación de Langmuir es usada frecuentemente para ajustar los datos experimentales. La forma usualmente aplicada en este caso es:

$$I) \quad q = \frac{Q * b * C_f}{1 + b * C_f}$$

Donde q es la cantidad de metal removido por la biomasa en miligramos por gramo, b es la constante de afinidad, C_f es la concentración final del metal en miligramos por litro, y Q es la capacidad máxima de remoción del metal por la biomasa en miligramos por gramo.

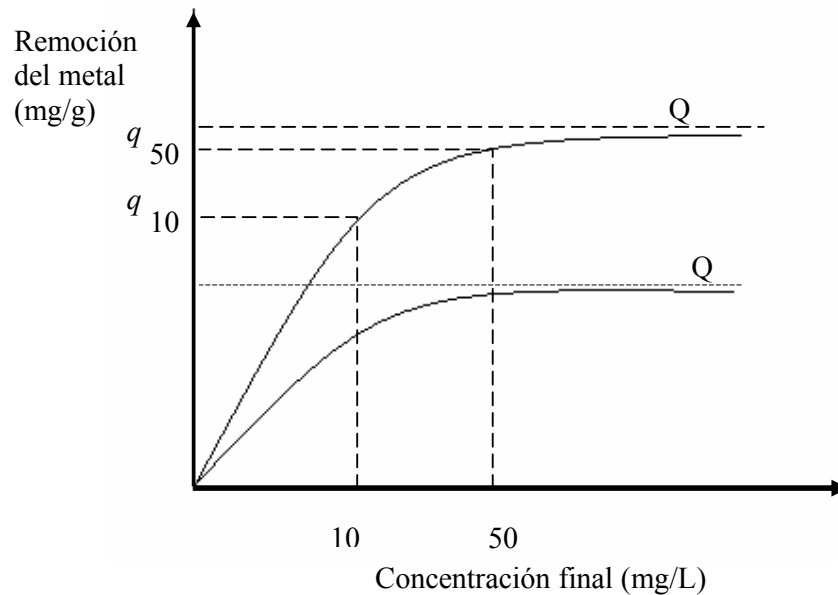


Fig. 6.- Isotermas de Langmuir. Donde q = cantidad de metal removido, b = constante de afinidad y Q = capacidad máxima de remoción del metal.

En este contexto, b no es realmente la constante de adsorción de Langmuir, sino un simple parámetro que se ajusta, ya que como se indicó antes, el sistema no cumple con las asunciones del modelo. El parámetro, sin embargo, resulta útil como una medida de la afinidad o la eficiencia de diferentes biomasa. Los valores altos de b reflejan una pendiente inicial abrupta de una isoterma de biosorción e indica una alta afinidad por el metal. En términos de implementación, los biosorbentes más deseables son los que poseen los mayores Q posibles y valores altos de b .

ORGANISMO DE ESTUDIO

Sargassum sinicola

Sargassum es uno de los géneros más complejos en morfología y desarrollo anatómico dentro de las algas (Dawson, 1966; Bold y Winne, 1978). Es un alga parda y su color varía desde café claro hasta café oscuro (Norris, 1975). Presenta el pigmento carotenoideo llamado fucoxantina, el cual da el color característico a éstas plantas y que también enmascara a otros pigmentos como a las clorofilas a y c, carotenos y violaxantina (Bold y Winne, 1978). Algunas de sus especies crecen fijadas desde la zona litoral media, hasta la sublitoral, aunque otras se han reportado que existen hasta 200 m (De Wreede y Jones, 1973), y algunas especies se sabe que se encuentran flotando al no estar adheridas a ningún sustrato (Bold y Winne, 1978).

Setchell y Gardner (1924), reportan 15 especies de *Sargassum* para el Golfo de California, con su mayor biomasa en la parte norte, distribuyéndose además a todo lo largo del golfo. Diversos trabajos manifiestan la importancia de este género como recurso aprovechable, con posibilidades de ser explotado por presentar una abundancia considerable en las costas de la Península de Baja California y por su composición química (Sánchez- Rodríguez, 1995). Para *S. sinicola* se han reportado biomásas de 9000 g/m², en Isla Magdalena y de 6800 g/m² en Isla Margarita (Sánchez- Rodríguez, 1995), mientras que en la Bahía de La Paz Hernández-Carmona et al. (1990) reportan que podrían existir del orden de 18,000 toneladas de biomasa fresca cosechable durante la primavera.

Conocido comúnmente como sargaso: *Sargassum sinicola* pertenece; de acuerdo a Setchell y Gardner (1924), Trainor (1978), Lee (1980):

División	Chromophyta
Clase	Phaeophyceae
Orden	Fucales
Familia	Sargassaceae
Género	<i>Sargassum</i>
Especie	<i>sinicola</i>

La especie *S. sinicola* (Fig. 7)

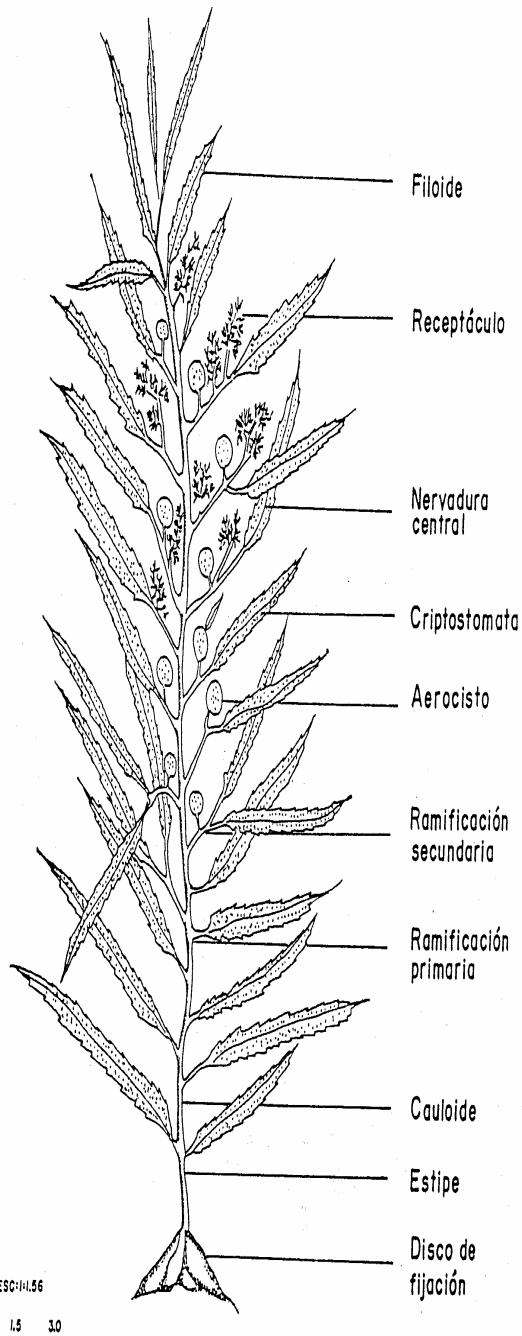


Fig. 7.- Esquema de un ejemplar de *S. sinicola*.

presenta estipe macroscópico corto y cilíndrico de aproximadamente cinco a seis centímetros de altura, del cual se emiten hasta diez ramificaciones primarias, que a su vez desarrollan ramificaciones secundarias más cortas (Critchley, 1983 b).

S. sinicola se adhiere al sustrato por medio de una estructura de fijación ruda e irregular con protuberancias parecidas a rizomas. En ramificaciones primarias y secundarias se desarrollan filoides lanceolados con márgenes cerrado-

dentados, tienen nervadura central con cryptostomas conspicuos y dispersos.

Generalmente desarrolla en las axilas de los filoides, vesículas esféricas, llamadas

aerocistos, que funcionan como estructuras de flotación y que en la época del mayor crecimiento, aumentan numéricamente.

En la época de reproducción desarrolla unas estructuras especiales llamadas receptáculos de superficie rugosa, los cuales albergan a los gametos femeninos y masculinos, en cavidades especiales llamadas conceptáculos. Los sexos pueden encontrarse en la misma planta o por separado. Algunos autores como Norris (1975), opinan que los receptáculos productores de anteridias son largos y delgados, mientras que los de las oogonias son más cortos y robustos. Sin embargo, Dawson (1944) observó que estas características son difíciles de separar, ya que existe variabilidad en la morfología de receptáculos.

Se reproduce a través de una simple generación diploide, perteneciendo al único orden (Fucales) dentro de las algas café que no presenta alternancia de generaciones (Chapman y Chapman, 1973). Su reproducción es gamética y externa. Los gametos haploides se liberan al medio ambiente donde se produce la fertilización y formación de un cigoto diploide que posteriormente se fija al sustrato. Las estructuras reproductoras adquieren sexualidad después de la meiosis. Cada oogonio produce una sola ovocélula mientras que los anteridios normalmente producen 64 anterozoides biflagelados de forma periforme (Norris, 1975). Generalmente los oogonios producen sustancias químicas atrayentes a los anterozoides (Kajiwara et al., 1980) y son liberadas al medio ambiente mediante “pulsos”, con períodos de varios días (Norton, 1981). Para algunas especies de *Sargassum* spp. el cigoto puede permanecer adherido exteriormente al receptáculo antes de desprenderse y fijarse al sustrato (Deysher y Norton, 1982). Esto mismo ha sido observado ocasionalmente en *S. sinicola* (Rodríguez-Garza, 1985).

JUSTIFICACIÓN

La presencia de metales pesados en las costas cercanas a asentamientos humanos es una preocupación cada vez mayor a nivel mundial, ya que estos representan un riesgo tanto a la salud humana como a la de los ecosistemas, debido a la capacidad de los organismos marinos de asimilar, concentrar y biomagnificar metales pesados a través de la cadena alimenticia.

La mayoría de los trabajos sobre biosorción evalúan la extracción o remoción de metales pesados en agua dulce. Actualmente no se cuenta con ningún sistema que pueda ayudar a solucionar o mitigar los problemas generados por la presencia de metales pesados en agua marina y a pesar de que las algas son utilizadas como bioindicadores de contaminación no han sido utilizadas para la remoción de metales pesados en ambientes costeros. Se requiere del desarrollo de nuevas tecnologías que permitan biorremediar sitios afectados por contaminantes como los metales pesados, y preferentemente con materias primas propias de los sitios que se desean recuperar.

Publicaciones recientes resaltan la capacidad de las algas café para remover metales pesados que se encuentran contaminando efluentes, principalmente de especies del género *Sargassum*. En este trabajo se considera factible que *S. sinicola*, pueda ser utilizada para biorremediar sitios contaminados por Cu y Cd en el Golfo de California.

S. sinicola es un recurso no aprovechado y abundante en gran parte de la costa mexicana, muchas veces considerado como basura al acumularse en las playas durante los periodos primavera-verano.

El presente trabajo evaluará las condiciones en las cuales *S. sinicola* presenta la mayor capacidad de remoción de metales de importancia ambiental como son Cd y Cu,

aportando las bases científicas que permitan el desarrollo de una tecnología eficiente, de bajo costo y con recursos renovables propios de la región.

HIPÓTESIS

S. sinicola al igual que otras especies del género *Sargassum* posee una alta capacidad de remoción de metales pesados, que puede ser aumentada con la ayuda de tratamientos químicos o térmicos, para ser utilizado como biosorbente de bajo costo, en la remoción de Cd y Cu de agua marina.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad de remoción de iones de Cu y Cd presentes en agua marina utilizando biomasa activada de *S. sinicola*.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Definir la activación óptima de la biomasa algal para lograr la máxima capacidad de biosorción de *S. sinicola*.
2. Evaluar el efecto de la concentración inicial de Cd y Cu de la solución en la capacidad de remoción del alga *S. sinicola*.
3. Definir el tiempo mínimo requerido para la saturación de *S. sinicola* para cada uno de los elementos.
4. Definir el pH óptimo requerido para lograr la máxima capacidad de biosorción de *S. sinicola*.
5. Evaluar el efecto de la salinidad en la capacidad de biosorción de *S. sinicola*.
6. Evaluar efectos de sinergismo-antagonismo entre Cu y Cd, en la biosorción de *S. sinicola*.

MATERIAL Y MÉTODOS

CARACTERÍSTICAS DEL SITIO DE COLECTA

La colecta de los ejemplares de *S. sinicola* se realizó en la costa de San Carlos Nuevo Guaymas, Sonora México (Fig. 8). El clima de la región de Guaymas conforme la clasificación propuesta por Köppen y modificada por García (1988) es muy seco, semicálido. La temperatura media anual oscila entre 18 y 22°C. En el mes más frío hay temperaturas superiores a los 18 °C. La lluvia se presenta en verano y en menor medida en invierno (entre 5 y 10% del total anual) y es extremoso con una oscilación térmica entre 7 y 14°C (Bwh'(h)w(e)) (Green-Ruiz, 2000). La tasa de evaporación supera diez veces a la precipitación. Los parámetros fisicoquímicos del agua presentan los siguientes intervalos a través del año: temperatura superficial (14-34° C), salinidad (30-37ups) y oxígeno disuelto (4-8 ml/L) (SEC-MAR, 1990).

La cuenca de drenaje en la que se encuentra la zona de colecta está constituida por rocas ígneas extrusivas ácidas del terciario. Esta zona de estudio, forma parte de la Cuenca más extensa e importante de Sonora, llamada Región hidrológica RH9 Sonora Sur (CRM, 1992) que comprende varios ríos entre ellos el río Matape, que cubre un área de 9043 km², en donde se realizan siembras de vid, hortalizas, cártamo, algodón, cítricos, forrajes, nogal y trigo (Anónimo, 1993). La actividad económica de la zona de colecta está dedicada enteramente al turismo (buceo y pesca deportiva) así como a la pesca artesanal.

Los ejemplares de *S. sinicola*, fueron recolectados manualmente en las costas de San Carlos Nuevo Guaymas, Sonora México (Lat.: 27° 56' 14.3", Long.: 111° 05' 43.2") el día 10 de enero del 2005. Encontrándose los mantos algales a una profundidad entre

0.5 y 1.00 mts. colectándose ejemplares de tallas desde 5 hasta 120 cm con talla promedio de 28.14 ± 2.04 cm.

Los ejemplares fueron colectados completos, lavados con agua dulce y secados en estufa (Marca PRECISION) a 50°C durante 18 horas hasta peso constante. Después fueron molidos hasta un tamaño de partícula de 0.2 a 0.5 mm y almacenados en bolsas de plástico a temperatura ambiente hasta su uso.

ENSAYOS

Con la finalidad de determinar la capacidad de biosorción de *S. sinicola*, así como las condiciones ambientales que afectan dicha capacidad. Se evaluó el efecto del tiempo de saturación, el pH, la activación de la biomasa y la presencia de otros iones en la solución en distintos ensayos.

1. Activación óptima para la biosorción máxima de *S. sinicola*.

La biomasa sin activar generalmente contiene iones de metales como potasio, Na, Ca y Mg, que se encuentran unidos a los grupos funcionales ácidos del alga que son adquiridos del agua de mar. La activación del alga tiene como objetivo eliminar los iones metálicos que se encuentren unidos a los sitios activos del alga, para dejarlos libres.

De la activación de la biomasa dependerá la afinidad por el metal y la capacidad de biosorción. Con base a esto se evaluaron los cuatro tratamientos más mencionados en la literatura para la activación de biomasa algales, que son la activación mediante lavados sucesivos con H_2SO_4 y $Ca(OH)_2$ (Hashim y Chu, 2002; Lee y Volesky, 1997), la activación con lavados sucesivos utilizando H_2SO_4 y Na OH (Davis et al., 2000; Hashim y Chu, 2002), la activación con formaldehído y HCl (Lodeiro et al., 2004; Volesky et al., 1998) y la activación mediante la cocción (Wilde y Benemann, 1993; Hassall, 1963).

En cada tratamiento, la activación se realizó mediante la inmersión de 100 g del alga seca por una hora en un litro de las soluciones correspondientes (tabla II) y en el caso de la cocción se hirvió por 20 minutos. Después, la biomasa se lavo con agua deionizada,

con la finalidad de eliminar el exceso de ácido hasta obtener un pH =7, para posteriormente secarla en estufa (Marca PRECISION) a 50°C por 24 horas.

Tabla II.- Variaciones en los tratamientos de activación de *S. sinicola*.

Tratamiento	1 ^{er} Lavado	2 ^o Lavado
1	H ₂ SO ₄ 0.2M	Ca(OH) ₂ 0.25g/L.
2	H ₂ SO ₄ 0.2M	NaOH 0.2 M
3	Formol al 5%	HCl 0.2M
4	Cocción alga a 110° C por 20 min	
5	Sin Activación	

En tubos cónicos de centrífuga de polipropileno (Corning) se colocaron 0.5±0.1g de la biomasa algal activada de acuerdo a los procedimientos indicados en la tabla II. A cada uno se adicionaron 50 ml de solución de Cd (2 mg/L) en agua marina (35 ups), se taparon y mantuvieron en movimiento por 72 horas en un agitador orbital (Marca Barnstead) a 100 rpm.

Posteriormente se procedió a separar la biomasa algal de la solución mediante filtración usando un filtro de malla de nylon (400μ). Las soluciones recuperadas se conservaron en tubos de polipropileno de 50 ml (Corning) para su análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica, mientras que la biomasa se guardó en bolsas de plástico para su posterior descarte (Fig. 9). Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado para cada tratamiento. Adicionalmente se colocó un tubo de centrífuga (Corning) con solución de Cd (2 mg/L) en agua marina (35 ups) sin alga, para ser utilizado como blanco.

El mismo procedimiento se utilizó para determinar la mejor activación algal para obtener la máxima biosorción de Cu, solo que utilizando esta vez una solución de Cu (30 mg/L) en agua marina (35 ups).

La concentración del metal en las soluciones fue determinada mediante espectrofotometría de absorción atómica, utilizando estándares certificados de referencia por NRCC (1993). La remoción del metal por el alga (sin activar y con las diferentes activaciones) fue determinada mediante la diferencia de las concentraciones de metal en las soluciones iniciales y finales (ver análisis de datos).

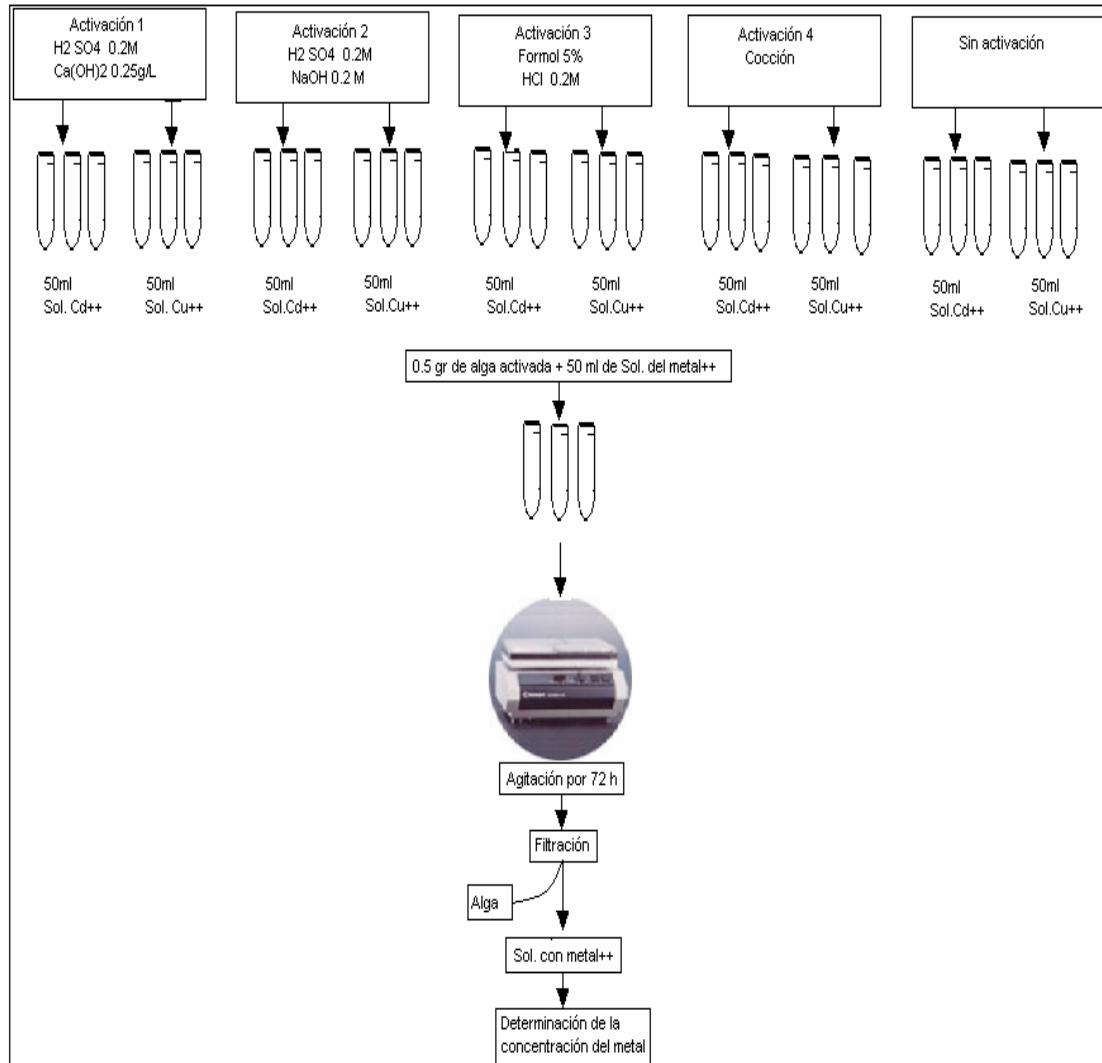


Fig. 9.- Diseño del ensayo de activación óptima.

2. Efecto de la concentración inicial de Cd y Cu de la solución en la capacidad de remoción del alga *S. sinicola*.

Se sabe que la capacidad de biosorción se ve modificada por la concentración inicial del metal a remover, cuanto mayor es la concentración inicial del metal, mayor es la capacidad de biosorción, por lo que se efectuó un ensayo en el que se determinó la capacidad de biosorción de *S. sinicola* cuando se encuentra en soluciones con concentraciones crecientes de Cd y Cu respectivamente. Las concentraciones de las soluciones evaluadas son: 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 y 256 ppm, tanto para Cd como para Cu.

En un tubo cónico de polipropileno (Corning) se colocaron 0.5 ± 0.1 g de biomasa algal activada con H_2SO_4 y NaOH, a la que se adicionaron 50 ml de solución de Cd (2 mg/L) en agua marina (35 ups), también se colocó un tubo (Corning) con solución del metal, sin alga, para ser utilizado como blanco. A continuación los tubos se mantuvieron tapados en agitación por 24 horas en agitador orbital (Marca Barnstead) a 100 rpm.

Una vez transcurridas las 24 horas se procedió a separar la biomasa algal de la solución mediante filtración, para lo cual se utilizó un filtro de malla de nylon (400μ). La solución así recuperada se mantuvo en tubo de centrifuga de polipropileno (Corning) para su análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica.

Las biomásas recuperadas se conservaron refrigeradas en tubos de centrifuga de polipropileno (Corning) para la posterior confirmación de la capacidad de remoción lograda en cada tratamiento. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado para cada una de las concentraciones iniciales (0, 4, 8, 16, 32, 64, 128 y 256 mg/L).

El mismo procedimiento se utilizó para evaluar la capacidad de remoción del alga al cambiar la concentración inicial de Cu en solución, usando soluciones de Cu de 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 y 256 mg/L.

Para la confirmación de la capacidad de biosorción de *S. sinicola*, se llevaron a cabo lavados del alga recuperada después del proceso de biosorción. Un primer lavado se realizó agregando 25 ml de agua deionizada a los tubos que contenían a la biomasa algal recuperada del ensayo anterior, agitando manualmente durante 20 segundos y filtrando a través de malla de nylon (400 μ) para separar la biomasa del agua. El agua recuperada de cada tratamiento se colocó en un tubo de polipropileno (Corning) para determinar la cantidad de metal liberado por el alga durante este lavado mediante espectrofotometría de absorción atómica.

A la biomasa recuperada del primer lavado se le realizó un segundo lavado agregando 25 ml de H₂ SO₄ (0.2M) a cada uno de los tubos, agitando manualmente durante algunos segundos y filtrando posteriormente a través de malla de nylon (400 μ), la solución recuperada se colocó en un tubo de polipropileno (Corning) para determinar la cantidad de metal liberado por el alga durante este lavado para su posterior determinación mediante espectrofotometría de absorción atómica, mientras que la biomasa recuperada se colocó en tubo de centrifuga de polipropileno (Corning) para determinar la cantidad de metal remanente en el alga después de los lavados.

Finalmente el alga recuperada durante los lavados sucesivos se secó en estufa (Marca PRECISION) a 50°C durante 18 horas, luego de las cuales se tomó una muestra de 0.4 ± 0.1 g de cada uno de los tubos para llevar a cabo su completa digestión con el fin de poder así determinar la concentración de metal remanente en el alga. Cada una de las muestras se colocó, individualmente, en un matraz erlenmeyer de 50 ml al que se

adicionó 15 ml de HNO₃ concentrado. Los matraces tapados se colocaron sobre planchas de calentamiento (Marca Thermoline) a 60 °C durante 6 horas, hasta la completa digestión de la muestra. Una vez digerida la muestra se aforó la solución resultante a 50 ml y se colocó en tubos de polipropileno (Corning) para la posterior determinación de la concentración del metal en la solución mediante espectrofotometría de absorción atómica.

Este procedimiento se llevo a cabo en todas las muestras de alga obtenidas en el ensayo en el que se determino la capacidad de biosorción máxima (Q) de *S. sinicola*, tanto las recuperadas de la biosorción de Cd como las recuperadas de la biosorción de Cu. Adicionalmente se llevó a cabo la digestión, por triplicado, del alga nativa (sin activación y sin haber sido utilizada en ninguno de los ensayos) para determinar la cantidad de metal presentes de forma natural en los ejemplares utilizados en el presente trabajo.

3. Tiempo requerido para la saturación de *S. sinicola* para cada uno de los elementos.

El tiempo de saturación es una de las variables importantes dentro del proceso de biosorción debido a que tiene repercusión directa en los costos de la biorremediación que se pretenda llevar a cabo. Por lo que utilizando el tratamiento con el que se registró la mejor capacidad de remoción de Cd y Cu, que fue en el que se empleo H₂SO₄ y NaOH, se procedió a realizar ensayos utilizando las mismas concentraciones de los metales que en el primer experimento, pero evaluando la capacidad de remoción de estos metales con respecto al tiempo hasta detectar la estabilización de la concentración de los metales en dilución.

Se colocaron 0.5 ± 0.1 g de biomasa algal activada en tubos cónicos de centrifuga de polipropileno (Corning) después de lo cual se adicionaron 50 ml de solución de Cd (2 mg/L) en agua marina (35 ups). Después los tubos se mantuvieron tapados en agitador orbital (Marca Barnstead) a 100 rpm. Cada 15 minutos por 90 minutos se retiró un set de tres tubos para la inmediata separación de la solución del alga, la cual se efectuó mediante un filtro de malla de nylon (400μ).

Las soluciones recuperadas se mantuvieron en tubos de polipropileno (Corning) para su análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica, mientras que la biomasa se guardó en bolsa de plástico para su posterior descarte. Adicionalmente, se colocó un tubo de centrifuga (Corning) con solución de Cd (2 mg/L) en agua marina (35 ups) sin alga, para ser utilizado como blanco, el cual se retiró de la agitación hasta los 90 minutos.

El mismo procedimiento se utilizó para determinar el tiempo mínimo de reacción para obtener la saturación de la biomasa algal en el caso del Cu, solo que esta vez utilizando una solución de Cu (30 mg/L) en agua marina (35 ups).

4. Efecto del pH en la capacidad de biosorción de *S. sinicola*.

Considerando que la capacidad de biosorción del alga es altamente dependiente del pH de la solución en la que se lleva a cabo el proceso de biosorción, es necesaria la caracterización del efecto de esta variable en el equilibrio de la biosorción para evaluar correctamente los parámetros del equilibrio. A pesar de que el pH del agua de mar es muy estable (alrededor de 8), es una variable que puede verse afectada sobre todo en los

sistemas costeros por condiciones como la precipitación pluvial y los escurrimientos de agua continental.

Por lo anterior se efectuó un ensayo en el que el pH de la solución se ajustó desde valores de pH de 3 hasta valores de 9, ya que se ha observado que a pH ácidos se obtiene una mayor biosorción y que a valores fuera de este rango la capacidad de biosorción disminuye prácticamente a cero.

En un tubo cónico de polipropileno (Corning) se colocaron 0.5 ± 0.1 g de biomasa algal activada, a los que se adicionaron 50 ml de solución de Cd (2 mg/L) en agua marina (35 ups) con el pH ajustado a 3.

Dado que durante las primeras 4 horas el pH varió, hubo necesidad de controlarlo adicionando alícuotas de una solución de NaOH (0.1 M) ó HNO₃ (0.1 M) de acuerdo a lo requerido. Este mismo procedimiento se llevo a cabo por triplicado para cada tratamiento de pH (4, 5, 6, 7, 8 y 9). Adicionalmente se colocó un tubo de polipropileno de 50 ml (Corning) con solución de Cd (2 mg/L) en agua marina (35 ups) y pH ajustado a 4, sin alga, para ser utilizado como blanco.

Los tubos se mantuvieron tapados en agitación por 20 horas en un agitador orbital (Marca Barnstead) a 100 rpm. Después de este tiempo se procedió a separar la biomasa algal de la solución mediante filtración, para lo cual se utilizó un filtro de malla de nylon (400 μ). La solución así recuperada se conservó refrigerada en tubo de polipropileno (Corning) para su análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica, mientras que la biomasa se guardó en bolsa de plástico para su posterior descarte.

El mismo procedimiento se utilizó para evaluar la biosorción de Cu en las diferentes condiciones de pH, solo que empleando esta vez una solución de Cu (30 mg/L) en agua marina (35 ups).

5. Efecto de la salinidad en la capacidad de biosorción de *S. sinicola*.

Hasta ahora sólo se han realizado estudios de los procesos de biosorción por biomasa algal muerta en condiciones dulceacuícolas, por lo que se hace necesario el evaluar el efecto de la salinidad en la capacidad de biosorción de *S. sinicola* ya que se pretende establecer las bases teóricas para llegar a implementar la tecnología de biosorción en sistemas marinos. La capacidad de biosorción del alga se evaluó en salinidades de: 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 ups.

En tubos cónicos de polipropileno (Corning) se colocaron 0.5 ± 0.1 g de biomasa algal activada con H_2SO_4 y NaOH, a la que se adicionaron 50 ml de solución de Cd (30 mg/L) en agua marina (5 ups). Junto con ellos, se colocó un tubo (Corning) con solución del metal, sin alga, para ser utilizado como blanco. A continuación los tubos se mantuvieron tapados en agitación por 24 horas en agitador orbital (Marca Barnstead) a 100 rpm. Una vez transcurridas las 24 horas se procedió a separar la biomasa algal de la solución mediante filtración, para lo cual se utilizó un filtro de malla de nylon (400 μ).

Las soluciones recuperadas se mantuvieron en tubos de polipropileno (Corning) para su análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica, mientras que la biomasa se guardó en bolsa de plástico para su posterior descarte. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado para cada una de las soluciones a diferentes salinidades evaluadas.

El mismo procedimiento se utilizó para evaluar la capacidad de remoción de Cu por el alga, al variar las condiciones de salinidad, utilizando esta vez una solución de Cu (30 mg/L) en agua marina a diferentes salinidades (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 ups).

6. Efectos de sinergismo-antagonismo entre Cu y Cd, en la biosorción de *S. sinicola*.

En condiciones naturales los iones metálicos se encuentran formando parte de sistemas múltiples, donde se encuentran más de una especie metálica en solución. Por ello es necesario determinar los efectos de sinergismo-antagonismo que pudieran presentarse durante el proceso de biosorción, lo que permitirá una predicción más certera de los casos probables al aplicar la tecnología de biosorción en condiciones naturales.

Utilizando el tratamiento de activación con el que se registró la mejor capacidad de biosorción (H_2SO_4 y NaOH), se realizó un ensayo en el que se evaluó la capacidad de biosorción del alga en un sistema mixto de los metales estudiados, Cd y Cu. Las concentraciones de las soluciones evaluadas fueron: 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 y 256 ppm, tanto para Cd como para Cu en proporción de 1:1.

En un tubo cónico de polipropileno (Corning) se colocaron 0.5 ± 0.1 g de biomasa algal activada, a la que se adicionaron 50 ml de solución mixta de Cd (2 mg/L) y Cu (2mg/L) en agua marina (35 ups). Un tubo de centrifuga (Corning) con solución de los metales, sin alga, fue sometido al mismo tratamiento para ser utilizado como blanco. A continuación los tubos se mantuvieron tapados en agitación por 24 horas en agitador orbital (Marca Barnstead) a 100 rpm. Una vez transcurridas las 24 horas se procedió a separar la biomasa algal de la solución mediante filtración, para lo cual se utilizó un

filtro de malla de nylon (400 μ). Las soluciones recuperadas se mantuvieron en tubos de polipropileno (Corning) para su análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica. Las biomásas recuperadas se guardaron en bolsas de plástico para su posterior descarte. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado para cada una de las concentraciones iniciales (0, 4, 8, 16, 32, 64, 128 y 256 mg/L).

ANÁLISIS DE DATOS

La cantidad de metal removido por el alga en cada uno de los ensayos se calculó mediante la diferencia de las concentraciones de metal en las soluciones iniciales y finales usando la siguiente fórmula:

$$(2) \quad q = \frac{(C_i - C_f) V}{M}$$

Donde C_i y C_f , ambas en unidades de miligramos por litro, son las concentraciones de metal en las soluciones inicial y final respectivamente; V , en litros, es el volumen de solución, M , en gramos, es la biomasa del alga y q es la cantidad de metal removido por el alga en unidades de miligramos por gramo de biomasa.

Con el fin de comparar los valores de q obtenidos en cada uno de los ensayos se realizaron análisis de ANOVA de una vía, con la ayuda del software Statistica 7.0, al encontrarse diferencias significativas entre los datos se procedió a realizar un análisis *post hoc* mediante la prueba de Tukey.

Para ajustar al modelo de Langmuir los datos experimentales de q obtenidos a diferentes concentraciones iniciales del metal en solución, se realizó una regresión lineal con la ayuda del software Statistica 7.0 mediante la obtención del inverso de los valores de concentración final (C_f) y de la cantidad de metal removido por el alga (q). Los valores de la pendiente y la ordenada obtenidos en la regresión corresponden a la constante de afinidad (b) y a la máxima capacidad de biosorción (Q) del modelo de Langmuir.

RESULTADOS

1. Activación óptima para la biosorción máxima de *S. sinicola*.

La cantidad de Cd removido por *S. sinicola* fue diferente estadísticamente entre los métodos de activación evaluados ($p < 0.05$), encontrándose valores de q que van desde $0.0094 \pm 3 \text{ E-}05 \text{ mg/g}$ hasta $0.132 \pm 0.0002 \text{ mg/g}$ (tabla III). La mayor remoción de Cd se obtuvo con lavados sucesivos de $\text{H}_2 \text{SO}_4$ y NaOH, y fue diferente tanto al resto de las activaciones como a la remoción del alga sin activar.

Tabla III.- Cantidad de Cd y Cu removido por el alga sometida a diferentes procesos de activación.

Grupos	Cd $q(\text{mg/g})$	Cu $q(\text{mg/g})$
$\text{H}_2 \text{SO}_4$ 0.2M/ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.25g/L	$0.0094 \pm 3 \text{ E-}05^a$	0.89017 ± 0.0009^a
$\text{H}_2 \text{SO}_4$ 0.2M/ NaOH 0.2 M	0.132 ± 0.0002^b	1.245 ± 0.0007^b
Formol 5% / HCl 0.2M	$0.00463 \pm 4 \text{ E-}05^a$	0.3891 ± 0.001^a
Cocción	$0.01197 \pm 2 \text{ E-}05^a$	1.1365 ± 0.0005^a
Sin Activación	$0.02427 \pm 8 \text{ E-}05^a$	1.2250 ± 0.001^b

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

En el caso de la remoción de Cu se encontraron diferencias estadísticas entre las activaciones ($p < 0.05$), los valores obtenidos de q van desde $0.3891 \pm 0.001 \text{ mg/g}$ hasta $1.245 \pm 0.0007 \text{ mg/g}$ (tabla III). La mayor remoción de Cu se obtuvo con lavados sucesivos de $\text{H}_2 \text{SO}_4$ y NaOH, y fue diferente al resto de las activaciones pero estadísticamente igual a la remoción del alga sin activar.

2. Efecto de la concentración inicial de Cd y Cu de la solución en la capacidad de remoción del alga *S. sinicola*.

Ensayo de Cd

Al momento de verificar las concentraciones de las soluciones preparadas para este ensayo se observó que las concentraciones reales a las que se llevaron a cabo las pruebas fueron: 1.6, 2.5, 3.5, 15, 23, 50, 101 y 190 mg/L. A mayores concentraciones la sal de Cd utilizada para la preparación (CdCl_2) de las soluciones se precipitó, por lo que no se logró evaluar la capacidad de remoción de esta alga a mayores concentraciones de las indicadas anteriormente.

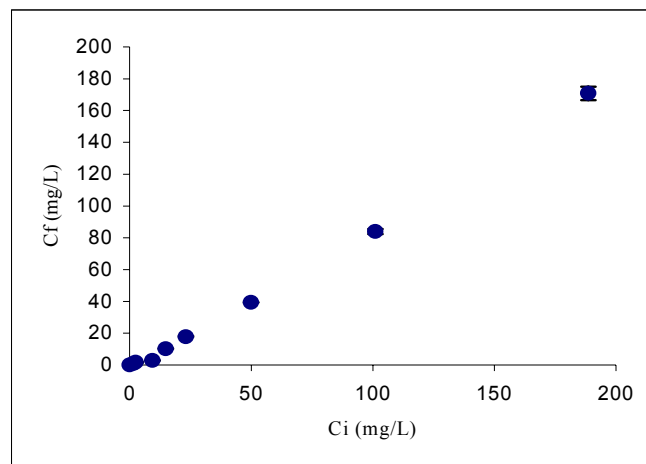


Fig. 10.- Efecto de la concentración inicial de Cd en la capacidad de remoción de *S. sinicola*. (35 ups, pH=8, t=24 hrs).

La capacidad de remoción del alga se ve afectada directamente con la concentración inicial del elemento a retirar del medio (Fig. 10). Por ejemplo, al partir de una concentración inicial (C_i) de Cd en solución de 1.6 mg/L, se obtiene una concentración final (C_f) de 0.959 ± 0.024 mg/L, y de una $C_i = 190$ mg/L, se llega a una $C_f = 165.892 \pm 1.237$ mg/L. Esto es, a medida que es menor la concentración del elemento menor será

la cantidad del elemento que sea retirado del sistema y por lo tanto q será proporcionalmente menor.

En el presente trabajo se encontraron valores de q para Cd desde 0.061 ± 0.002 mg/g cuando la concentración inicial del metal en la solución es de 1.6 mg/L, hasta 2.267 ± 0.101 mg/g cuando la concentración inicial de Cd en la solución es de 190 mg/L (Fig. 10).

En condiciones ideales en las que la sal de Cd no se precipitara, la capacidad del alga para remover los elementos no tiene un comportamiento lineal constante, ya que ha cierta concentración no eliminara mas, sino que la capacidad de remoción del metal se mantiene constante independientemente de la concentración inicial en el medio. Este comportamiento es descrito por el modelo de Langmuir (Fig. 11). De acuerdo a este modelo el valor de Q encontrado en el presente trabajo para Cd es de 2.98 mg/g y el valor de la constante b es de 0.0167 ($R^2=0.998$).

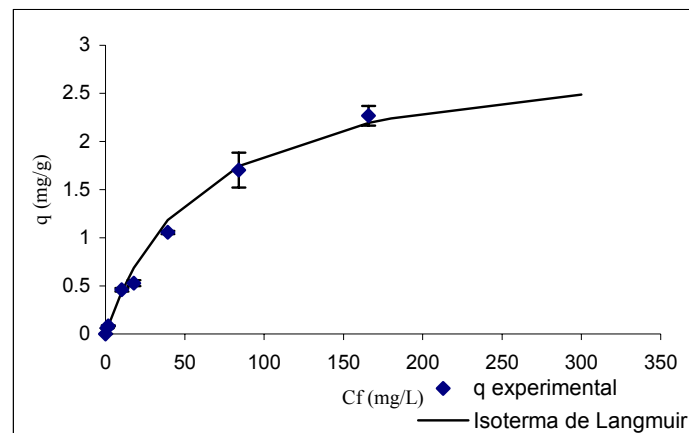


Fig. 11.- Isotherma de Langmuir correspondiente a la cantidad de Cd removido por *S. sinicola*. (35 ups, pH=8, t=24 hrs).

Ecuación de Langmuir que incorpora los valores de Q y b obtenidos es este ensayo:

$$q = \frac{2.98 * 0.0167 * C_f}{1 + 0.0167 * C_f}$$

Ensayo de Cu

Al igual que en el ensayo de Cd al verificar las concentraciones reales, utilizando el espectrofotómetro de absorción atómica, a las que se efectuó el ensayo se observó que las concentraciones reales utilizadas fueron: 1.6, 4.1, 8, 11, 21, 53, 122 y 295 mg/L.

Durante la remoción de Cu se observa que presenta el mismo comportamiento que Cd en agua marina, sin embargo a cierta concentración la remoción del metal será constante independientemente de la concentración inicial del metal en el medio. En este ensayo se observó que *S. sinicola* tiene la capacidad de disminuir la concentración de Cu en soluciones marinas. Por ejemplo, al partir de una C_i de 1.6 mg/L, se obtiene una C_f de 0.287 ± 0.007 mg/L, y de una $C_i = 295$ mg/L se llega a una $C_f = 63.058 \pm 1.402$ mg/L (Fig. 12).

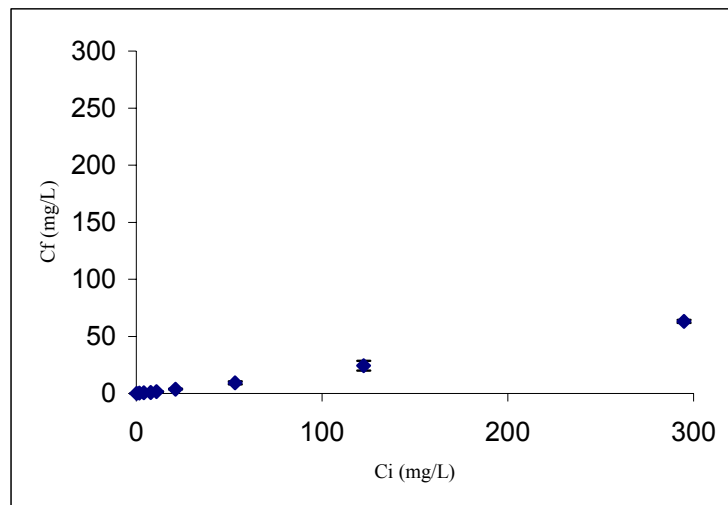


Fig. 12.- Efecto de la concentración inicial de Cu en la capacidad de remoción de *S. sinicola*. (35 ups, pH=8, t=24 hrs)

Los valores de q observados para Cu van desde 0.135 ± 0.0007 mg/g cuando la concentración inicial de este metal en la solución es de 1.6 mg/L, hasta 23.176 ± 0.140

mg/g cuando la concentración inicial de Cu en la solución es de 295 mg/L (Fig. 13). Mientras que, de acuerdo al modelo de Langmuir para Cu se encontró un valor de Q igual a 52 mg/g con una constante b igual a 0.011.

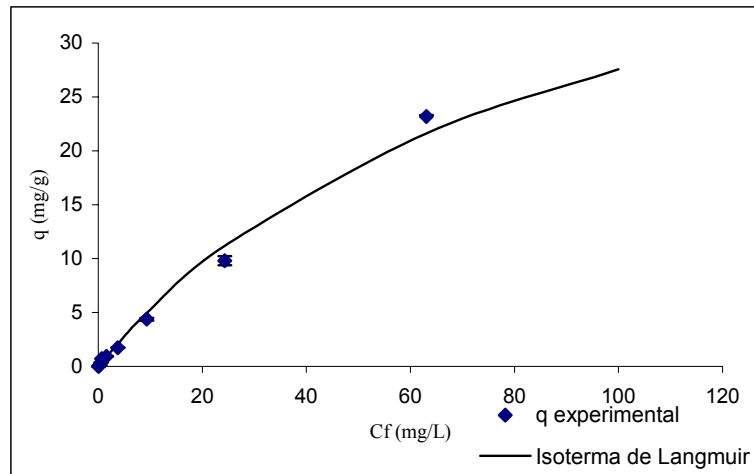


Fig. 13.- Isoterma de Langmuir correspondiente a la cantidad de Cu removido por *S. sinicola*. (35 ups, pH=8, t=24 hrs).

Ecuación de Langmuir que incorpora los valores de Q y b obtenidos es este ensayo:

$$q = \frac{52 * 0.011 * C_f}{1 + 0.011 * C_f}$$

Al analizar las muestras de agua marina con las diferentes concentraciones de Cd y Cu se observó una gran variación en los resultados, ocasionados principalmente por la metodología analítica utilizada para la cuantificación de estos elementos. Entre otros factores se encuentran las altas concentraciones utilizadas en los ensayos que para su análisis requieren el uso de diluciones, lo que involucra una fuente de error importante. Además los análisis se ven afectados por interferencias físicas de las sales en los accesorios de detección. Con base a esto para determinar la cantidad de metal removido por las algas, se cuantifico directamente en ellas los elementos, utilizando como blancos muestras de biomasa activada (Fig. 14 y 15).

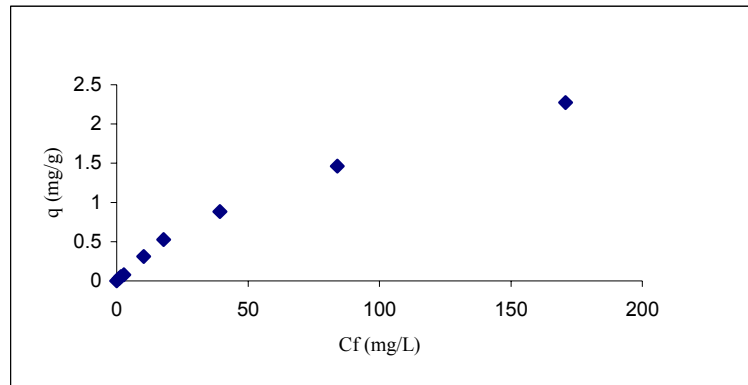


Fig. 14.- Cantidad de Cd retenida en *S. sinicola* después del proceso de biosorción. (35 ups, pH=8, t=24 hrs).

Al analizar el contenido de metal en el alga, después de haber sido utilizada en el proceso de biosorción, se encontraron valores de q para Cd desde 0.029 ± 0.0002 mg/g cuando la concentración inicial del metal en la solución es de 1.6 mg/L, hasta 2.27 ± 0.089 mg/g cuando la concentración inicial de Cd en la solución es de 190 mg/L (Fig. 14).

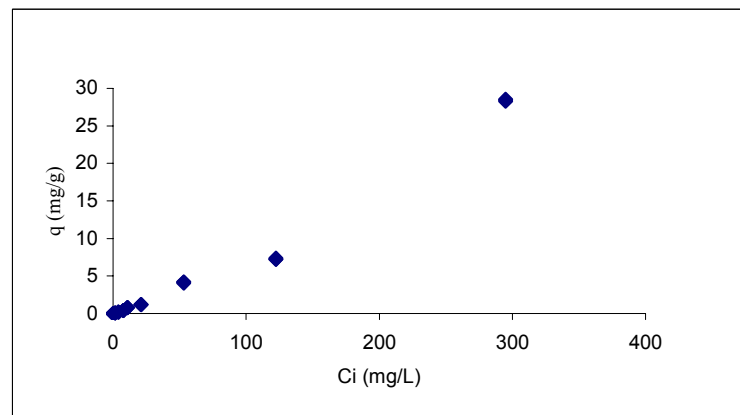


Fig. 15.- Cantidad de Cu retenida en *S. sinicola* después del proceso de biosorción. (35 ups, pH=8, t=24 hrs).

Mientras que los valores de q observados para Cu van desde 0.164 ± 0.0007 mg/g cuando la concentración inicial de este metal en la solución es de 1.6 mg/L, hasta 28.425 ± 0.149 mg/g cuando la concentración inicial de Cu en la solución es de 295 mg/L (Fig. 15).

3. Tiempo requerido para la saturación de *S. sinicola* para cada uno de los elementos.

El tiempo al que se observa una saturación en la capacidad de remoción de Cd y Cu a una salinidad de 35 ups es de 75 min. para ambos metales (Fig. 16 y 17).

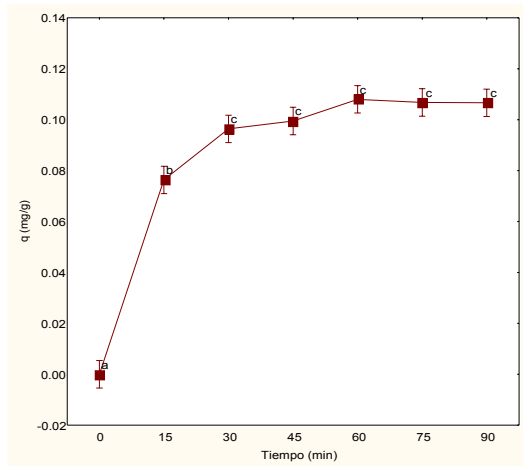


Fig. 16.- Cinética de remoción de iones de Cd por *S. sinicola*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). (35 ups, pH=8).

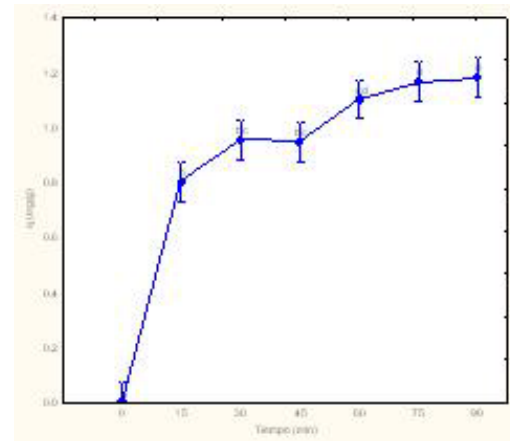


Fig. 17.- Cinética de remoción de iones de Cu por *S. sinicola*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). (35 ups, pH=8).

El 68% del Cd es removido a los 15 minutos de acción del alga, mientras que en el mismo tiempo es removido el 71% de Cu. Sin embargo a los 75 minutos se observa la remoción del 98% de ambos metales por el alga.

Se encontró concordancia entre los valores encontrados en este ensayo ($t = 90$ min.) y los valores obtenidos mediante las ecuaciones de Langmuir encontradas en el ensayo 2 (Capacidad de biosorción máxima) para la remoción de Cd y Cu, respectivamente. Lo que corrobora los resultados obtenidos en ambos ensayos.

4. Efecto del pH en la capacidad de biosorción de *S. sinicola*.

Se observó que la mayor capacidad de biosorción de la biomasa activada de *S. sinicola*, se presenta en condiciones ácidas, a pH=5 ($q = 0.680$ mg/g) en el caso de Cd y a pH= 4-5 ($q = 2.499$ mg/g) en el caso de Cu (Fig. 18 y 19).

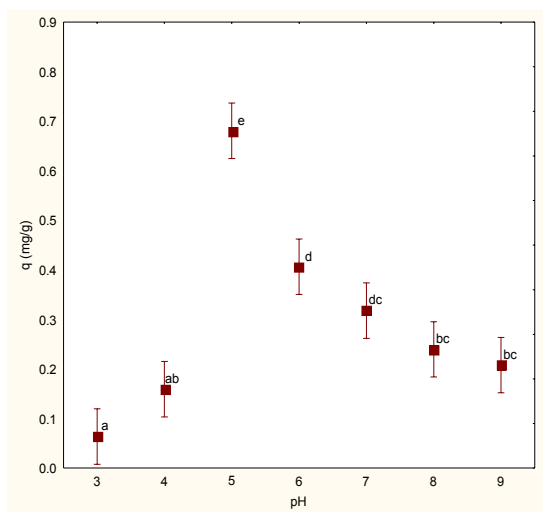


Fig. 18.- Cantidad promedio de Cd removida por *S. sinicola* a diferentes valores de pH. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). (35 ups, $t = 20$ hrs).

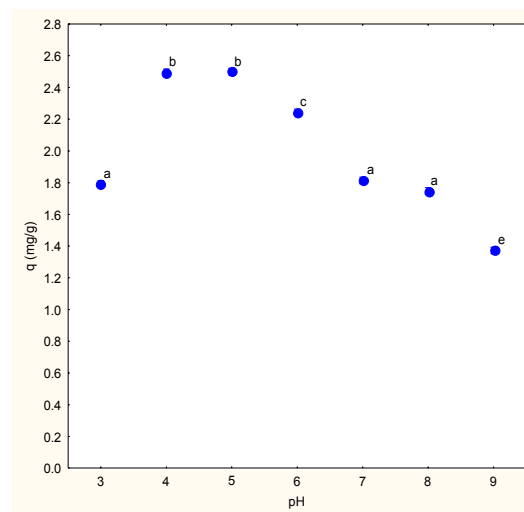


Fig. 19.- Cantidad promedio de Cu removida por *S. sinicola* a diferentes valores de pH. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). (35 ups, $t = 20$ hrs).

En el caso del Cd se observa que a un pH menor de 5 la capacidad de remoción disminuye significativamente, lo mismo que a un pH mayor de 6. Mientras que en el caso de Cu se observa una disminución significativa a un pH menor de 4 e igualmente a un pH mayor de 6. Se encontró concordancia entre los valores encontrados en este ensayo (pH = 8) y los valores obtenidos mediante las ecuaciones de Langmuir encontradas en el ensayo 2 (Capacidad de biosorción máxima) para la remoción de Cd y Cu, respectivamente. Lo que corrobora los resultados obtenidos en ambos ensayos.

5. Efecto de la salinidad en la capacidad de biosorción de *S. sinicola*.

En el caso del Cd se observó que la capacidad de biosorción se ve significativamente disminuida al aumentar la salinidad, observándose un descenso en los valores de q desde 1.9145 mg/g cuando la salinidad es igual a cero, hasta 0.2312 mg/g cuando la salinidad es igual a 40 ups (Fig. 20).

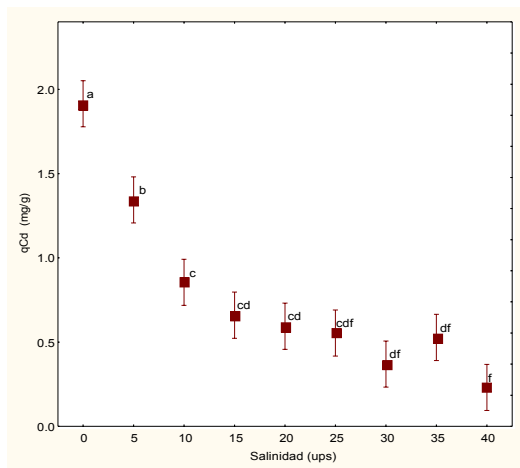


Fig. 20.- Capacidad de biosorción de Cd por *S. sinicola* a diferentes salinidades. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$). (pH=8, t=24 hrs).

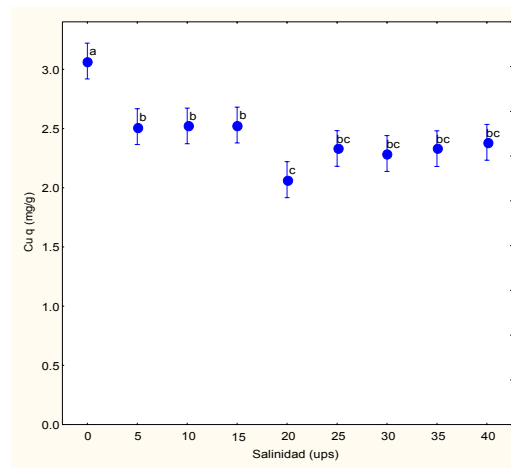


Fig. 21.- Capacidad de biosorción de Cu por *S. sinicola* a diferentes salinidades. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$). (pH=8, t=24 hrs).

En el caso del Cu se observó una diferencia significativa entre la capacidad de biosorción cuando la salinidad cambia de 0 a 5 ups, que va de 3.069 a 2.516 mg/g, intervalo después del cual se observa un ligero decremento en la capacidad de biosorción ya que los valores de q disminuyen hasta 2.067 mg/g (Fig. 21). Se encontró concordancia entre los valores encontrados en este ensayo (salinidad = 35 ups) y los valores obtenidos mediante las ecuaciones de Langmuir encontradas en el ensayo 2 (Capacidad de biosorción máxima) para la remoción de Cd y Cu, respectivamente. Lo que corrobora los resultados obtenidos en ambos ensayos.

6. Efectos de sinergismo-antagonismo entre Cu y Cd, en la biosorción del *S. sinicola*.

Se observó un descenso en la capacidad de biosorción de Cd por *S. sinicola* cuando este metal se encuentra en solución mixta con Cu. Los valores de Q obtenidos mediante el modelo de Langmuir son de 2.98 mg/g, con una afinidad (b) de 0.0167 cuando Cd se encuentra solo en la solución, mientras que en una solución en la que también se encuentra Cu se obtiene un valor de $Q = 1.25$ mg/g, con un valor de $b = 0.0324$ (Fig. 22).

La ecuación de Langmuir que incorpora los valores de Q y b obtenidos es este ensayo es:

$$q = \frac{1.25 * 0.0324 * C_f}{1 + 0.0324 * C_f}$$

con esta ecuación se obtuvo la isoterma presentada en la figura 22 con línea punteada.

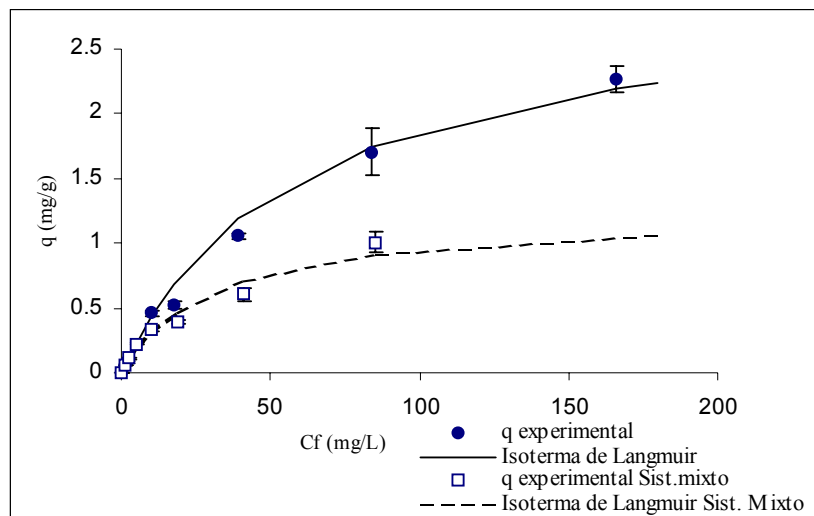


Fig. 22.- Efecto de la remoción simultánea de Cu y Cd sobre la capacidad de biosorción de Cd de *S. sinicola*. (35 ups, pH=8, t=24 hrs).

Por lo anterior se deduce que existe un efecto antagónico en la biosorción de Cd cuando se encuentra presente Cu en el medio, sin embargo la capacidad de remoción de Cu por *S. sinicola* no se ve afectada por la presencia de Cd

En caso de la biosorción de Cu se observó un descenso en la capacidad de biosorción de Cu por *S. sinicola* cuando este metal se encuentra en solución mixta con Cd. Mediante el modelo de Langmuir el valor de Q es igual a 55 mg/g cuando el Cu se encuentra solo en la solución y un valor de $b= 0.011$, mientras que este metal se encuentra junto con Cd en la solución se obtiene una $Q = 50$ mg/g y la afinidad del alga por Cu cambia a 0.009, sin que se encuentre diferencia estadística entre estos valores (Fig. 23).

La ecuación de Langmuir que incorpora los valores de Q y b obtenidos es este ensayo es:

$$q = \frac{50 * 0.009 * C_f}{1 + 0.009 * C_f}$$

con esta ecuación se obtuvo la isoterma presentada en la figura 23 con línea punteada.

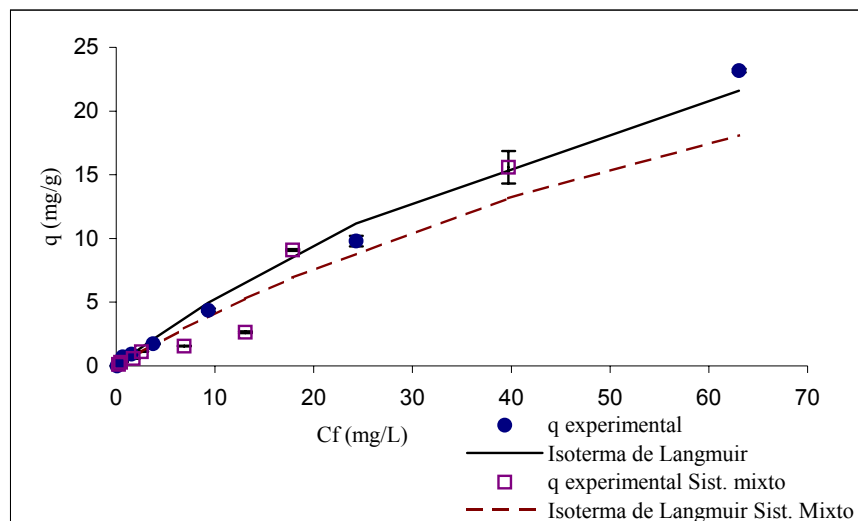


Fig. 23.- Efecto de la remoción simultánea de Cu y Cd sobre la capacidad de biosorción de Cu de *S. sinicola*. (35 ups, pH=8, t=24 hrs).

DISCUSIÓN

Al estudiar la capacidad de biosorción (q) de Cd y Cu por *S. sinicola* al ser sometida a diferentes activaciones se encontró que ambos metales obtuvieron el mayor valor de q al

activar la biomasa con H_2SO_4 y NaOH, sin embargo, en el caso de la biosorción de Cu no existe diferencia significativa entre la q observada con el alga activada y la q obtenida con el alga sin activar, por lo que no es necesaria la activación de la biomasa para la remoción de este metal.

La capacidad de remoción para ambos metales se ve significativamente disminuida al ser activada con formaldehído y HCl. Este tratamiento favorece la formación de enlaces cruzados que de acuerdo con Volesky (1990) mejoran la estabilidad de la biomasa. Sin embargo la disminución en la capacidad de remover metales en comparación a los demás tratamientos, puede deberse a la inactivación de los sitios de unión en el alga o bien a la pérdida de los mismos a causa del tratamiento (Volesky et al., 1998). Esto difiere de lo reportado por Lodeiro et al. (2004) quienes encuentran que la biosorción de Cd por *S. muticum* se incrementa al ser tratada utilizando el mismo método, pero concuerda con lo reportado por Volesky et al. (1998), quien encuentra que la biosorción de Cd por *S. fluitans* decrece al ser tratada por este procedimiento.

En cuanto a las capacidades de remoción obtenidas con la cocción de *S. sinicola* se observó una disminución en la tasa de remoción de Cd y Cu en comparación a la biosorción de la biomasa sin activar. Esto es contrario a lo reportado para algunas microalgas, entre ellas *Chlorella vulgaris* que posteriormente al ser sometida a tratamientos térmicos enlaza uranio más efectivamente que las células vivas, lo que es atribuido a la desnaturalización de las paredes celulares, que favorece la exposición de los sitios de unión intracelulares o a la activación de los mismos (Wilde y Benemann, 1993). Sin embargo, Hassall (1963) al comparar la biosorción de Cu por células vivas y por células previamente hervidas, encuentra que estas últimas absorben más

rápidamente el metal que las células vivas, aunque se obtiene al final la misma concentración de Cu en los dos tratamientos.

La biosorción obtenida con el lavado con H_2SO_4 / $\text{Ca}(\text{OH})_2$ para ambos metales decrece. Esto puede ser debido a una interferencia del Ca durante la biosorción, lo cual fue reportado también por Hashim y Chu (2002), quienes al comparar la remoción de iones de Cd en presencia de otros cationes como Na, K, Mg y Ca por biomasa muerta de *S. bacularia* encuentran que la remoción de los iones de Cd no es afectada por la presencia de Na, K y Mg, pero si es reducida por la presencia de Ca en solución. Estudios de desorción realizados por Lee y Volesky (1997) muestran que los iones de Cd y Cu pueden ser eluidos de la biomasa algal usando soluciones de Ca. Lo anterior concuerda con lo encontrado en el presente estudio y hace suponer que los iones de Cd y Ca compiten por los mismos sitios de unión presentes en el alga; al lavar con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ los sitios de unión son llenados por el Ca y durante el proceso de remoción los iones de Cd deben desplazarlos para ser removidos de la solución, sin embargo, se ha demostrado que la afinidad por ambos metales es muy parecida (Davis et al., 2003), por lo que al Cd le resulta difícil desplazar al Ca de los sitios de unión.

La biosorción de Cd obtenida con el lavado con H_2SO_4 / NaOH se incrementa con respecto a la biosorción del alga sin activar, esto puede ser debido a que el ión Na es fácilmente desplazado por los iones divalentes, por lo que no causa interferencia alguna con la remoción de metales pesados (Hashim y Chu, 2002), esto resulta de especial importancia ya que en el agua marina Na es el ión más abundante; sin embargo, en el caso del Cu la biosorción del alga activada por este método y el alga sin activar no presentaron diferencias estadísticas, lo que hace suponer que los sitios de unión de uno y otro metal son diferentes.

La capacidad de biosorción máxima (Q) encontrada en el presente trabajo para Cd de acuerdo a la isoterma de Langmuir es de 2.98 mg/g y el valor de la constante b es de 0.0167; El valor de Q obtenido para Cd en este trabajo casi 30 veces menor de lo reportado para otras especies de *Sargassum*. Volesky et al. (1999) reportan para *S. fluitans* una Q= 80 mg/g, mientras que Holan et al. (1993) reportan para *Ascophyllum nodosum* un valor de Q= 215 mg/g; sin embargo los valores reportados por estos investigadores fueron obtenidos realizando los bioensayos en condiciones de agua dulce y pH= 4.5, mientras que las condiciones del presente trabajo son de 35 ups y pH= 8, que son condiciones típicas del agua marina.

En el caso de Cu se encontró un valor de máximo de Q de 52 mg/g con un valor de b igual a 0.011. El valor observado de Q observado es similar al reportado para otras especies de *Sargassum*. Volesky et al. (1995) reportan valores de Q de 51, 56 y 59 mg/g para *Sargassum vulgare*, *S. fluitans* y *S. filipendula* respectivamente, cuando las condiciones de las soluciones son de agua dulce y pH=4.5.

Se ha sugerido que para poder competir con las tecnologías existentes de remoción de metales pesados en agua dulce, la eficiencia de remoción de una determinada biomasa tiene que ser mayor al 99% y la capacidad de biosorción debe ser mayor a 15 mg/g (Brierley et al.,1986). De acuerdo a lo anterior *S. sinicola* presentó una baja capacidad de biosorción de iones de Cd, lo que hace a esta alga inadecuada para la remoción de este metal. En cambio *S. sinicola* presenta una buena capacidad de biosorción de Cu en comparación a las eficiencias de otros biosorbentes (Tabla IV).

Tabla IV.- Comparación entre la capacidad de sorción (Q) de Cd y Cu de varios biosorbentes y *S. sinicola*.

Bioasorbente	Cd Q(mg/g)	Cu Q(mg/g)	Referencia
<i>Scenedesmus obliquus</i> (alga café)	*	10	Mattuschka et al. 1993
<i>Fucus vesiculosus</i> (alga café)	73	*	Holan et al. 1993
<i>Ascophyllum nodosum</i> (alga café)	215 ⁽¹⁾	63 ⁽²⁾	⁽¹⁾ Holan et al. 1993 ⁽²⁾ Chong et al. 1995
<i>Sargassum vulgare</i> (alga café)	87	59	Volesky et al. 1995
<i>Sargassum fluitans</i> (alga café)	80	56	Volesky et al. 1995
<i>Sargassum filipendula</i> (alga café)	74	51	Volesky et al. 1995
<i>Laminaria japonica</i> (alga café)	97	78	Zhou et al. 1998
<i>Sargassum Kjellmanianum</i> (alga café)	101	92	Zhou et al. 1998
<i>Sargassum sinicola</i> (alga café)	2.98	52	Este estudio
<i>Chlorella vulgaris</i> (microalga verde)	111 ⁽¹⁾	43 ⁽²⁾	⁽¹⁾ Aksu et al. 2001 ⁽²⁾ Aksu et al. 1992
<i>Gracilaria edulis</i> (alga roja)	27	*	Hashim y Chu, 2002
<i>Rhizopus arrhizus</i> (hongo)	30	*	Holan et al. 1995
Carbon Activado	8	*	Matheickal et al. 1999
Amberlita IRC-718	202	*	Holan et al. 1993
Amberlita IRA-400	56	*	Chamarthy et al. 2001
Duolita GT-73	55	45	Wafwoyo et al. 1999

* = Sin datos

Al comparar la capacidad de remoción de las algas con respecto a otros biosorbentes (Tabla IV) se observa que las algas presentan un mejor rendimiento, inclusive mejor que otras resinas comerciales como la duolita.

En el presente estudio se encontró que el 68% del Cd es removido a los 15 minutos de acción del alga activada, mientras que en el mismo tiempo es removido el 71% de Cu. A los 75 minutos la remoción del 98% de ambos metales. Esto concuerda con lo reportado por Volesky (1998), quien reporta que cerca del 75% de saturación de *S. fluitans* se alcanza en los primeros 15 minutos al remover Cd. De igual manera Antunes et al. (2003) reportan una rápida remoción de Cu durante los primeros 10 minutos por

parte de *Sargassum* sp. El tiempo de equilibrio es una función de muchos factores, como el tipo de biomasa (número y clase de sitios activos), talla y forma de la biomasa, estado fisiológico de la biomasa (activa o inactiva, libre o inmovilizada), así como el metal a remover (Vieira y Volesky, 2000).

Los valores reportados en la bibliografía para alcanzar el tiempo de equilibrio se encuentran en el rango de minutos (Aksu y Kutsal, 1991) hasta 10 días (Nourbakhsh et al., 1994). Los resultados previos de biosorción por biomasa algal muestran que durante las primeras dos horas de exposición a los iones metálicos la biosorción es muy rápida, lo que es atribuido a la adsorción superficial basada en intercambio aniónico (Schiewer y Volesky, 2000). Esto es seguido por una absorción lenta, la cual se basa en la difusión de iones dentro de las estructuras celulares (Volesky y Holan, 1995; Stirk y Staden, 2000). El tiempo requerido para la remoción de los dos metales estudiados, es especialmente importante, ya que de esto depende el costo de biorremediación del sistema y la factibilidad de que dicho bioasorbente sea utilizado.

Por otra parte, en el presente estudio se encontró que a un pH de 5 se obtiene la mayor capacidad de biosorción de Cd ($q = 0.680$ mg/g), lo cual es un valor muy cercano a lo reportado por Lodeiro (2004) y Cordero et al. (2004), quienes al trabajar con algas café encuentran la mayor remoción de Cd a pH 4.5. Sin embargo, se observa que a valores de pH menores a 5 la capacidad de remoción disminuye significativamente ($P < 0.05$), lo mismo que a pH mayores a 6.

Fourest y Volesky (1996) han sugerido que la dependencia de la biosorción de Cd al pH, esta estrechamente relacionada al estado iónico de los grupos funcionales de la pared celular, principalmente de los grupos carboxilo, así como a la especiación del Cd en la solución. Esto último se puede asumir ya que el Cd esta presente en su forma

iónica, Cd^{2+} , a valores de pH menores a 8, mientras a valores mayores el Cd se asocia con otros iones y forma compuestos que en su mayoría se precipitan en la solución, dando como resultado una baja capacidad de biosorción.

Esto implica que el tipo y el estado iónico de los grupos carboxilo con pKa alrededor de 3.5 determinan la biosorción de Cd en el rango estudiado. A valores de pH menores que el pKa, los grupos carboxilo se encuentran estrechamente asociados con los iones de hidrógeno, restringiendo el acceso a los sitios activos a los iones de Cd como resultado de fuerzas repulsivas, dando como resultado una baja capacidad de biosorción; mientras que a valores mayores que el pKa los grupos carboxilo se encuentran asociados a iones metálicos presentes en la solución, en este caso Na y Cd principalmente, lo cuales compiten entre sí por los sitios activos y se refleja en el incremento de la capacidad de biosorción (Davis et al., 2000).

Al estudiar la capacidad de biosorción de Cu a diferentes valores de pH, se encontró que los valores de pH a los que se obtiene la mayor capacidad de biosorción se encuentran en el intervalo de 4 a 5 ($q = 2.499 \text{ mg/g}$), lo cual concuerda con lo reportado por Kaewsarn (2002) y Zhou et al. (1998), quienes reportan rangos óptimos de biosorción de 3 a 5 y de 4 a 5 respectivamente al trabajar con algas café.

De manera similar a lo descrito anteriormente en el caso del Cd, se observa una disminución significativa de la capacidad de biosorción de Cu a valores de pH menores a 4 y mayores a 6.

Al comparar la capacidad de remoción de *S. sinicola* con los dos metales, se observa que la tasa de remoción de Cu se mantiene constante de un pH de 4 a 5, mientras que en el caso de Cd solo se observa un pico a un de pH 5 disminuyendo abruptamente tanto a un pH de 4 como a un pH de 6, llegando a ser su actividad casi

nula a un pH de 3. Este comportamiento difiere al observado durante la remoción de Cu (Fig. 18 y 19).

Esto indica que el mecanismo de biosorción del Cu no solo depende del estado iónico de los grupos carboxilo, sino que también otros grupos funcionales pueden estar implicados en la remoción de los iones de este metal en *S. sinicola*. Además de los carboxilos presentes en el ácido alginico también se encuentran grupos tioles en el fucoidan, el cual aunque se encuentra en menor cantidad que el primero, su presencia es importante para determinar la afinidad del alga por el metal que será removido del sistema (Davis et al., 2000).

Se observó que no existe diferencia significativa entre la capacidad de biosorción de Cu por *S. sinicola* cuando este metal se encuentra en una misma solución con Cd. Cuando el Cu se encuentra solo en la solución se obtiene el valor de $Q = 55$ mg/g mediante la aplicación del modelo de Langmuir, mientras que cuando este metal se encuentra junto con Cd en la solución se obtiene una $Q = 50$ mg/g.

Zhou et al. (1998) observaron la reducción de la capacidad de biosorción tanto de Cu como de Cd por *Laminaria japonica* y *Sargassum kjellmanianum* cuando ambos metales se encuentran en una misma solución. Estos resultados no coinciden con los resultados generados en el presente estudio para Cu pero si para Cd ya que los valores de Q obtenidos mediante el modelo de Langmuir son de 2.98 mg/g cuando Cd se encuentra solo en la solución, mientras que en una solución en la que también se encuentra Cu se obtiene un valor de $Q = 1.25$ mg/g, lo que representa una disminución del 55%.

De manera similar Kuyucak y Volesky (1989) reportan que la presencia de Cu causa la disminución en la biosorción de Cd por *Ascophyllum nodosum*. Por lo anterior

se deduce que existe un efecto antagónico en la biosorción de Cd cuando se encuentra presente Cu en el medio, sin embargo la capacidad de remoción de Cu por *S. sinicola* no se ve afectada por la presencia de Cd. Esto indica que los sitios activos que puede ocupar el Cd los puede ocupar también el Cu, pero existen otros sitios activos que solo puede ocupar el Cu y no el Cd.

Por otra parte se observó que la capacidad de biosorción de Cd por *S. sinicola* se ve estadísticamente disminuida al aumentar la salinidad, observándose un descenso en los valores de q desde 1.9145 mg/g cuando la salinidad es igual a cero, hasta 0.2312 mg/g cuando la salinidad es igual a 40 ups. De manera similar a lo observado en este trabajo, Lodeiro et al. (2004) reportan la disminución de la capacidad de biosorción de Cd por *Sargassum muticum* cuando se incrementa la fuerza iónica de la solución. Esto lo atribuyen a la fuerte competencia de los electrolitos por los sitios activos en la biomasa, lo cual también es sugerido por Shiewer y Wong (2000).

En el caso del Cu se observó un decremento significativo ($P < 0.05$) en la capacidad de biosorción cuando la salinidad cambia de 0 a 5 ups, ya que la q disminuye de 3.069 a 2.516 mg/g. A partir de esa salinidad hasta 40 ups ya no se observan cambios significativos aunque sigue disminuyendo la capacidad de remoción del alga hasta una q de 2.067 mg/g. Esto concuerda con lo mencionado por Kaewsarn (2002), quien reporta que la capacidad de biosorción de Cu por *Padina* sp. no es afectada por la presencia del ión Na en concentración de 23 ups.

Hasta el momento se desconocía la capacidad de remoción de *S. sinicola* activada en ambientes marinos. Los resultados obtenidos indican que es baja en comparación con otros biosorbentes, y que su uso es impráctico a nivel industrial.

S. sinicola presenta una buena capacidad de remoción de Cu en comparación a las eficiencias de otros biosorbentes, (52 mg/g) que puede mantener en un amplio intervalo de pH y salinidades que son comunes en el medio marino. La biomasa no requiere de activación para la remoción de este elemento y el proceso tiene una capacidad de retirar el 98% de Cu en 75 min. Con base a esto se concluye que *S. sinicola* puede ser utilizado como un biosorbente de bajo costo para la remoción de Cu de agua marina.

CONCLUSIONES

La capacidad de biosorción de *S. sinicola* se ve alterada significativamente al ser tratada con diferentes activaciones. En *S. sinicola* la activación con H_2SO_4 0.2M y NaOH 0.2 M resulta la más efectiva para aumentar la capacidad de sorción de Cd. Sin embargo, los tratamientos de activación estudiados para aumentar la capacidad de remoción de Cu en *S. sinicola* no son efectivos.

La capacidad de biosorción máxima (Q) encontrada en el presente trabajo para Cd de acuerdo a la isoterma de Langmuir es de 2.8 mg/g con una afinidad (b) al metal de 0.0167. En el caso de Cu se encontró un valor de máximo de Q de 52 mg/g con un valor de b igual a 0.011.

El 98% de saturación de iones de Cd y Cu en la biomasa activada de *S. sinicola* se alcanza en los primeros 75 minutos.

El valor de pH al que se obtiene la mayor capacidad de biosorción de Cd es 5, mientras que para los valores de pH a los que se obtiene la mayor capacidad de biosorción de Cu se encuentran en el rango de 4 a 5.

La capacidad de biosorción de Cd se ve significativamente disminuida al aumentar la salinidad de 0 a 40 ups. La capacidad de biosorción de Cu se ve significativamente disminuida al aumentar la salinidad de 0 a 5 ups, pero se mantiene estadísticamente igual en el rango de 5 a 40 ups.

Existe un efecto antagónico en la biosorción de Cd cuando se encuentra presente Cu en el medio, sin embargo la capacidad de remoción de Cu por *S. sinicola* no se ve afectada por la presencia de Cd.

S. sinicola puede ser utilizado como un biosorbente de bajo costo para la remoción de Cu de agua marina, pero no para la remoción de Cd.

REFERENCIAS

- Acosta, B. 2002. Valoración del Grado de Contaminación por Metales Pesados en el Sistema Costero de Guaymas-Empalme, Sonora. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Bioquímico. Tecnológico de la Paz. 61 pp.
- Aksu, Z., Kutsal, T. 1991. A bioseparation process for removing lead (II) ions from waste water by using *C. Vulgaris*. Chemical Technology and Biotechnology. 52: 109- 118.
- Aksu, Z., Sag, Y., Kutsal, T. 1992. The biosorption of copper (II) by *C. vulgaris* and *Z. Ramigera*. Environ. Technol. 13:579- 586.
- Aksu, Z. 2001. Equilibrium and kinetic modeling of cadmium (II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature. Separation and Purification Technology. 21: 285-294.
- Albert, L. 1998. Curso Básico de Toxicología ambiental. Ed. Limusa. México, D.F. 311 pp.
- Antunes, W.M. ,Luna, A.S. ,Henriques, C.A., Costa, A. C. 2003. An Evaluation of copper biosorption by brown seaweed under optimized conditions. Electronic Journal of Biotechnology. 6:174-184
- Arreola, A., Padilla, G., Burrola, S., Doradp, F., López, R., Urías, D., Méndez, L., Hernández, A., Acosta, B., Hernández, L. 2002. La Bahía de Guaymas. Escenario ambiental, actividades humanas y necesidades de saneamiento. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste y Secretaría de Marina. 76 pp.
- Axtell, N. R., Stenberg, S.P., Claussen, K. 2003. Lead and nickel removal using *Microspora* and *lemna minor*. Bioresource Technology. 89: 41-48.

- Bold, C.H., Winne, J.M. 1978. Introduction to the algae. Structure and reproduction. Prentice-Hall. 706 pp.
- Brady, D., Stoll, A. D., Starke, L., Duncan, J. R., 1994. Chemical and enzymatic extraction of heavy metal binding polymers from isolated cell walls of *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnol. Bioeng. 44: 297–302.
- Brierly, C.L., Kelly, D.P., Seal, K.J., Best, D.J. 1985. Materials and Biotechnology. En: Higgins, I.J., Jones, J. (Eds.) Biotechnology. Principles and Applications. Blackwell, Oxford. 163- 212.
- Brierley, J.A., Brierley, C.L., Goyak, G.M. 1986. AMT-BIOCLAIM: A new wastewater treatment and metal recovery technology. En: Lawrence, R.W., Branion, R.M.R., Ebner, H.G. (Eds). Fundamental and applied biohydrometallurgy. Elsevier, Amsterdam, 291–304.
- Burdin, K.S., Bird, K.T. 1994. Heavy metal accumulation by carrageenan and agar producing algae. Bot. Mar. 37: 467-470.
- Bux, F., Kasan, H.C. 1994. Comparison of selected methods for relative assesment of surface charge on waste sludge biomass. Water SA. 20: 73-76.
- Cardeilhac, P.T., Simpson, C.F., Lovelock, R.L., Yosha, S.R., Calderwood, S.F., Gudat, J.C. 1979. Failure of osmoregulation with apparent potassium intoxication in marine teleosts: a primary toxic effect of copper. Aquaculture. 12: 231-239.
- Cervantes, C., Moreno-Sánchez, R. 1999. Contaminación Ambiental por Metales Pesados: Impacto en los seres vivos. A.G.T. Editor, S.A. 157 pp.
- Chamarchy S., Seo C.W., Marshall W.E. 2001. Adsorption of selected toxic metals by modified peanut shells. Chem. Tech. Biotechnol. 76: 593- 597.

- 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.
- Chapman, V. J., Chapman, D.J. 1973. *The algae*. Mc Millan Press. L.T.D. Londres. 497 pp.
- Chapman, V.J., Chapman, D.J. 1980 *Seaweeds and their uses*. Chapman and Hall. Londres. 334 pp.
- Chong, K.H., Volesky, B. 1995. Description of two metal biosorption equilibria by Langmuir-type models. *Biotechnol. Bioeng.* 47: 451 – 460.
- Costa, A.C., Tavares, A.P., Pessoa, F. 2001. The release of light metals from a brown seaweed (*Sargassum* sp) during zinc biosorption in a continuous system. *Electronic Journal of Biotechnology.* 4:125-129.
- Consejo de Recursos Minerales 1992. *Monografía Geológico-Minera del estado de Sonora*, coordinación Ing. José CárdenasVargas. SEMIP. México D.F. 220 pp.
- Cordero, B., Lodeiro, P., Herrero, R., Sastre de Vicente, M. E. 2004. Biosorption of cadmium by *Fucus spiralis*. *Environ. Chem.* 1: 180 – 187.
- Crist, R. H., Oberholser, K., Shank, N., Nguyen, M. 1981. Nature of bonding between metallic ions and algal cells walls. *Environ. Sci. Technol.* 15: 1212 – 1217.
- Crist, R.H., Martin, J.R., Guotill, P.W., Eslinger, J.M., Crist, D. R. 1990. Interactions of metals and protons with algae-2. Ion exchange in adsorption and metal displacement by protons. *Environ. Sci. Technol.* 24: 337-342.

- Critchley, A.T. 1983b. *Sargassum muticum*: A morphological description of european material. Mar. Biol. Ass. U.K. 63: 813- 824.
- Davis, T.A., Volesky, B., Vieira, R. H.S.F. 2000. *Sargassum* seaweed as biosorbent for heavy metals. Water Res. 34: 4270-4278.
- Davis, T.A., Volesky, B., Mucci, A. 2003. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. Water Res. 37: 4311 – 4330.
- Dawson, E.Y. 1944. The marine algae of the Gulf on California. Allan Hancock Pacific Expedition. 3: 189-464.
- Dawson, E.Y. 1966. Marine Botany. Holt, Rinehart and Winston Inc. USA. 371 pp.
- Deshkar, A. M., Bokada, S.S., Dara, S.S. 1990. Modified *Hardwickia binata* bark for adsorption of mercury (II) from water. Water Res. 24: 1011 – 1016.
- De Wreede, R. E., Jones, E. C.1973. New Records of *Sargassum hawaiiensis* Doty and Newhouse (Sargassaceae, Phaeophyta), a Deep Water Species. *Phycologia*. 12: 59 - 62.
- Deysher, L., Norton, T.A. 1982. Dispersal and colonization in *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. Exp. Mar. Biol. Ecol. 56: 179-195.
- Eide, I., Myklestad, S., Melson, S.1980. Long-term uptake and release of heavy metals by *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae) in situ. Environ. Pollut. 23: 19- 28.
- Erlich, H.L., Brierley C.L.1990 Microbial Mineral Recovery. Mc GrawHill. NY. 454 pp.

- Fourest, E., Roux, J.C. 1992. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by products: Mechanism and influence of pH. *Applied Microbiology Biotechnology*. 37: 399-403.
- Fourest, E., Canal, C., Roux, J.C. 1994. Improvement of heavy metal biosorption by mycelial dead biomass (*Rhizopus arrhizus*, *mucor miechei* and *Pencillium chrysogenum*): pH control and cationic activation. *FEMS. Microbiol. Rev.* 14: 325 – 332.
- 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: 277- 282.
- Fourest, E., Volesky, B. 1997. Alginate properties and heavy metal biosorption by seaweed biomass. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 67: 215-226.
- Freer, J., Baeza, J., Maturana, H., Palma, G. 1989. Removal and recovery of uranium by modified *Pinus radiata*. *Chem. Tech. Biotechnol.* 46: 41 – 48.
- Friis, N., Myers-Keith, P. 1986. Biosorption of uranium and lead by *Streptomyces longwoodensis*. *Biotechnol. Bioeng.* 28:21-28.
- Gadd, G.M. 1990. Fungi and Yeasts for metal accumulation. En: C.L Ehrlich, Brierly, (Eds). *Microbial Mineral Recovery*. McGrawHill, New York, 249-276.
- Gadd.G.M. 1988. Accumulation of metals by microorganisms and algae. En: Rehm, H.J., Reed, G. (Eds.) *Biotechnology- A comprehensive treatise*. VCH Publishers, Weinheim. 401- 433.
- Galun, M., Galun, E., Siegel, B.Z., Keller, P., Lehr, H., Siegel, S.M.1987. Removal of metal ions from aqueous solutions by *Pencillium* biomass: Kinetic and uptake parameters. *Water, Air and Soil Pollution*. 33: 359-371.

- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Offset Larios, México. 217 pp
- GESAMP (IMO/FAO/Unesco/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution) 1991. Global strategies for marine environmental protection. Rep.Stud.GESAMP. 45: 36.
- Goldberg, E.D., Broecker, W. S., Gross, M.G. Turekian, K.K. 1971. Marine chemistry. En: National Research Council (Eds). Radioactivity in the marine environment. National Academy of Sciences. Washington, D.C. 137-146 pp.
- Grant, G.T., Morris, E.R., Rees, D.A., Smith, P.J.C., Thom, D. 1973. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. FEBS Lett. 32:195–198.
- Green Ruiz, 2000. Geoquímica de metales pesados y mineralogía de la fracción arcillosa de los sedimentos de cuatro puertos del Golfo de California. Tesis Doctoral. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Unidad Académica Mazatlán. UNAM. 329 pp.
- Gupta, V.K., Shrivastava, A.K., Neeraj J. 2001. Biosorption of Chromium (VI) from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species. War. Res. 35: 4079-4085.
- Harris, P.O., Ramelow, G.J.1990. Binding of metal ions by particulate biomass derived from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda*. Environ. Sci. Technol. 24: 220-228.
- Hassall, KA 1963. Uptake of copper and its physiological effects on *Chlorella vulgaris*. Physiol. Plant. 16: 323 –332.

- Hashim, M.A., Chu, K.H. 2002. Biosorption of cadmium by brown, green, and red seaweeds. *Chemical Engineering Journal*. 97: 249-255.
- Haug, A. 1961. The affinity of some divalent metals to different types of alginates. *Act. Chem. Scand.* 15: 1794 –1795.
- Haug, A., Larsen, B, Smidsrod, O. 1966. A study of the constitution of alginic acid by partial acid hydrolysis. *Acta. Chem. Scand.* 20:183–190.
- Haug, A., Larsen, B, Smidsrod, O. 1974. Uronic acid sequence in alginate from different sources. *Carbohydr. Res.* 32: 217–225.
- Hernández Carmona, G., Casas Valdez, M.M., Fajardo Leon, C., Sánchez Rodríguez, I., Rodríguez Montesinos, Y.E. 1990. Evaluación de *Sargassum* spp. en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Inv. Mar. CICIMAR.* 5: 11-18.
- Hernández Carmona, G. 1982. Variación estacional del contenido de alginatos en tres especies de feofitas de BCS. Tesis de Licenciatura. CICIMAR. La Paz. B.C.S. 65 pp.
- Holan, Z.R., Volesky, B., Prasetyo, I. 1993. Biosorption of Cd by biomass of marine algae. *Biotech. Biotech.* 41: 819- 825.
- Huang, J.P., Huang, C. P., Morehart, A. L. 1990. The removal of Cu (II) from dilute aqueous solutions by *Saccharomyces cerevisiae*. *Water Res.* 24: 433 – 499.
- Huang, J.P., Huang, C. P., Morehart, A. L. 1991. Removal of heavy metals by fungal (*Aspergillus oryzae*) adsorption. En: J. P. Vernet (Ed.) *Heavy Metals in the Environment*. Elsevier, London. 329 – 349.
- Huang C., Huang C.P., 1996. Application of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oryzae* for Cu (II) removal. *Water Res.* 9: 1985-199.

- Hughes, N. M., Poole, K.R.1989. Metals and microorganisms. Chapman and Hall. NY. 424 pp.
- Jalali, R., Ghafourian, H., Asef, Y., Davarpanah, S.J. , Sepehr, S. 2002. Removal and recovery of lead using nonliving biomass of marine algae. Journal of Hazardous Materials. 92: 253- 262.
- Kaewsarn, P. 2002. Biosorption of copper (II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine algae *Padina* sp. Chemosphere 47:1081-1085.
- Kajiwara, T., Kodama, K., Hatanaka, A. 1980. Attractants of male gamete from a marine brown algae *Sargassum horneri*. Bull. Jap. Soc. Scientific Fish. 46: 555 – 557.
- Kapoor A., Viraraghvan, T. 1998. Biosorption of heavy metals on *Aspergillus niger*: Effect of pretreatment. Bioresour. Technol. 63: 109-113
- Kapoor A., Viraraghvan T. 1995. Fungal Biosorption: An alternative treatment option for heavy metal bearing wastewater: A review. Bioresour. Technol. 53: 195-206.
- Kratochivil, D., Volesky, B. 1998. Biosorption of Cu from ferruginous wastewater by algal biomass. Water Res. 32: 2760-2768.
- Kuyucak, N., Volesky, B. 1989. Desorption of cobalt-laden algal biosorbent. Biotechnol. Bioeng. 33: 815- 822.
- Kuyucak, N., Volesky, B. 1988. Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions. Biotechnol. Lett. 10:137 -42.
- Langmuir, I. 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. Am. Chem. Soc. 40:1361-1402.
- Lee, R.E. 1980. Phycology. Cambridge University Press. London.478 pp.

- Lee, H.S., Volesky, B. 1997. Interaction of light metals and protons with seaweed biosorbent. *Water Res.* 31: 3082- 3088.
- Leborans, G.F., Novillo, A. 1996. Toxicity and bioaccumulation of cadmium in *Olithodiscus luteus*. *Water Resources.* 30:57-62.
- Loaec, M., Olier, R., Guézennec, J. 1997. Uptake of lead, cadmium and Zinc by a novel bacterial exopolysaccharide. *Water Res.* 31: 1171-1179
- Lobban, C. S., Harrison, P.J. 1994. *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge. University Press. New York. 336 pp.
- Lodeiro, P., Cordero, B., Grille, Z. Herrero, R., Sastre de Vicente, M.C. 2004. Physicochemical Studies of Cadmium (II) Biosorption by the invasive Alga in Europe, *Sargassum muticum*. *Biotechnol. Bioeng.* 88: 237-247.
- Mann, S.S., Ritchie, G.S.P. 1995. Forms of cadmium in sandy soils after amendment with soils of higher fixing capacity. *Environ Poll.* 87: 23-29.
- Matheickal, J. T., Iyengar L., Venkobachar C. 1991. Sorption and desorption of Cu (II) by *Ganoderma Lucidum* . *Water Poll. Res.* 26:187-200.
- Matheickal, J.T., Yu, Q. 1996. Biosorption of lead from aqueous solutions by marine alga *Ecklonia radiata* biomaterial. *Water Sci. Technol.* 34:1-7.
- Matheickal, J.T., Yu, Q. 1997. Biosorption of lead (II) from aqueous solutions by *Phellinus badius*. *Miner. Eng.* 10: 947-957.
- Matheickal, J.T., Yu, Q., Feltham, J. 1997. Cu (II) binding by marine alga *Ecklonia radiata* biomaterial. *Environ. Technol.* 18: 25- 34.
- Matheickal, J.T., Yu, Q. 1999. Biosorption of lead (II) and copper (II) from aqueous solution by pre-treated biomass of Australian marine algae. *Bioresource Technology.* 69: 223-229.

- Mattuschka B., Junghaus, K., Straube, G. 1993. Biosorption of metals by waste biomass. *Biohydrometallurgical Technologies*. 2: 125 – 132.
- McGahren, W.J., Perkinson, G.A., Growich, J.A., Leese, R.A., Ellestad, G.A. 1984. Chitosan by Fermentation. *Process Biochemistry*, 19: 88-90.
- Méndez, L., Salas-Flores, L.M., Arreola-Lizarraga, A., Alvarez-Castañeda, S.T., Acosta, B. 2002. Heavy Metals in Clams from Guaymas Bay, México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 68: 217-223.
- Mittelman, M.W., Geesey, G.G. 1985. Copper binding characteristics of exopolymers from a freshwater sediment bacterium. *Appl Environ. Microbiol.* 49: 846 - 851.
- Morris, A.W., Bale, A. J. 1975. The accumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by *Fucus vesiculosus* in the Bristol Channel. *Estuar. Cstl. Sci.* 3: 153 – 163.
- Muraleedharan, T.R., Venkobachar, C. 1990. Mechanism of cobalt biosorption. *Biotechnol. Bioeng.* 33: 823-831
- Muraleedharan, T.R., Iyengar, L., Venkobachar, C. 1995. Screening of tropical wood-rotting mushrooms for copper biosorption. *Applied Environmental Microbiology*. 61: 3507-3508.
- Nourbakhsh, M., Sag, Y., Ozer, D., Aksu, Z., Kutsal, T.A., Caglar, A. 1994. A comparative study of various biosorbents for removal of Chromium (VI) ions from industrial waste waters. *Process Biochemistry*. 29: 1- 5.
- Norris, J.N. 1975. Marine algae of the northern Gulf of California. Tesis Doctoral. University of California, Santa Barbara. 375 pp.

- Norton, T.A. 1981. Gamete expulsion and release in *Sargassum muticum*. Bot. Mar. 24: 465 – 470.
- Nuhoglu, Y., Malkoc, E., Gurses, A., Canpolat, N. 2002. The removal of Cu (II) from aqueous solutions by *Ulothrix zonata*. Bioresource Technology. 85: 331-333.
- Ozer, D., Aksu, Z., Kutsal, T., Caglar, A. 1994. Adsorption isotherms of lead (II) and chromium (VI) on *Cladophora crispata*. Environ. Technol. 15:439-448.
- Percival, E., McDowel, R.H. 1967. Chemistry and enzymology of marine algal polisacharides. Academic Press. London. 219 pp.
- Rai, L.C., Gaur, J.P., Kumar, H.N. 1981. Phycology and heavy metal pollution. Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. 56: 99-151.
- Riley, J.P., Taylor, D. 1972. The concentrations of cadmium, copper, iron, manganese, molybdenum, nickel, vanadium and zinc in part of the tropical northeast, Atlantic Ocean. Deep Sea Res. 19: 307-323.
- Rodríguez Garza, H. 1985. Diferencia de longitud, crecimiento, reproducción y dimensiones de filoides entre dos grupos poblacionales de *Sargassum sinicola* (Setchell Gardner) en la Bahía de La Paz, B.C.S. Tesis de Licenciatura. CICIMAR. La Paz. B.C.S. 73 pp.
- Sag, Y., Kutsal, T. 1995. Biosorption of heavy metals by *Zooglea ramigera*: Use of adsorption isotherms and a comparison of biosorption characteristics. Chem. Eng. J. Biochem. Eng. J. 60: 181-188.
- Sakaguchi, T., Nakajima, A. 1991. Accumulation of heavy metals such as uranium and thorium by microorganisms En: R.W. Smith, M. Misra (Eds).

Mineral Bioprocessing. The Minerals, Metals and Materials Society.London. 127-139.

- Schiewer, S., Volesky, B. 1995. Modeling of the proton-metal ion exchange in biosorption. Environ. Sci. Technol.. 29: 3049-3058.
- Schiewer, S., Volesky, B. 1999. Advances in Biosorption of Heavy Metals. En: Flickinger, M.C.,Drew, S.W., (Eds).Encyclopedia of Bioprocess Engineering, Wiley Interscience. NY. 433-453.
- Schiewer, S., Volesky, B. 2000. Biosorption process for Heavy metal removal. En: Environmental Microbe-Metal Interactions, Lovley, DR (Ed.) ASM Press, Washington, D.C. 329-362.
- Schiewer, S., Wong, M.H. 2000. Ionic strength effects in biosorption of metals by marine algae. *Chemosphere*, 41:271–282.
- Schneider, I.A.H., Rubio, J., Misra, M., Smith, R.W. 1995. *Eichhornia crassipes* as biosorbent for heavy metal ions. Miner. Eng. 9: 979-988.
- Scott, J.A., Karanjkar, A.M. 1992. Repeated cadmium biosorption by regenerated *Enterobacter aerogenes* biofilm attached to activate carbon. Biotechnol. Lett. 14: 737-740.
- SECMAR, 1990. Estudio de la calidad del agua de la Bahía de Guaymas, Sonora y Proximidades. Informe técnico externo, Dirección General de Oceanografía, Secretaria de la Marina Armada de México, México, D.F.
- Setchell, W. A., Gardner, N. L. 1924. Expedition of the California Academy of Sciences to the Gulf of California in 1921. Proc. Calif. Acad. Sci.12: 695-949.
- Simpson, J. A., Cheeseman, K. H., Smith, S. E., Dean, R. T. (1988). Free-radical generation by copper ions and hydrogen peroxide. Biochem. 254: 519-523.

- Sorrentino, C. 1979. The effects of heavy metals on phytoplankton: a review. *Phykos* 18:149-161.
- Strandberg, G.W., Shumate, S.E., Parrot, J.R. 1981. Accumulation of uranium by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 41: 237-245.
- Stirk, W.A., Van Staden, J. 2000. Removal of heavy metals from solution using dried brown seaweed material. *Botanica Marina.* 43: 467-473.
- Terry, P. A., Stone, W. 2002. Biosorption of cadmium and copper contaminated water by *Scenedesmus abundans*. *Chemosphere* 47: 249- 255.
- Tobin, J.M., Cooper, D. G., Neufeld, R.J. 1984. Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:821-824.
- Tsezos, M., Volesky, B. 1981. Biosorption of uranium and thorium. *Biotechnol. Bioeng.* 23: 583-604.
- Tsezos M., Volesky, B. 1982. The mechanism of uranium biosorption by *Rhizopus arrhizus*. *Biotechnol. Bioeng.* 24: 385-401.
- Trainor, F. R. 1978. *Introductory Phycology*. Ed. John Wiley & Sons, N.Y. 525 pp.
- Vasconcelos, M.T., Leal, M.F. 2001. Antagonistic interactions of Pb on Cu uptake, growth inhibition and chelator release in the marine algae *Emiliana huxleyi*. *Marine Chemistry* 75: 123-139.
- Van Loon, J. 1985. *Selected methods of Trace metal analysis. Biological and Environmental samples*. Wiley Interscience. NY. 357 pp.
- Vieira, R., Volesky, B. 2000. Biosorption: a solution to pollution?. *International Microbiology.* 3: 17-24.

- Volesky, B., Kuyucak, N. 1988. Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions. *Biotechnol. Let.* 10: 137- 42.
- Volesky, B., 1990. *Biosorption of Heavy Metals*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 396 pp.
- Volesky, B., Holan, Z.R. 1995. Biosorption of heavy metals. *Biotechnology Progress*. 11: 235-250.
- Volesky, B., May, H., Holan, Z. 1993. Cadmium biosorption by *S. Cerevisiae*. *Biotechnol. Bioeng.* 41: 826-829.
- Volesky, B., Leusch, A., Holan, Z.R. 1995. Biosorption of heavy metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) by chemically reinforced biomass of marine algae. *Chem. Technol. Biotechnol.* 62: 279-288.
- Volesky, B., Weber, J. & Vieira, R.H.S.F. 1999. Biosorption of Cd and Cu by different types of *Sargassum* biomass, *Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century*, Internat. Biohydrometallurgy Symposium Proceedings, Ballester, A., Amils, R. (Eds.) Elsevier Sciences, Amsterdam, 473-482.
- Volesky, B. 2000. Biosorption of heavy metals: Methodology example of uranium removal. En: Kornmuller, A. (Ed). *Treatment of Wastewaters Containing Heavy Metal Compounds*. TU. Berlin. 17-37.
- Wafwoyo, W., Chung W. S., Wayne M. 1999. Utilization of peanut shells as adsorbents for selected metals. *J. Chem Technol and Biotechnol.* 74:1117-1121.
- Webster, E. A., Murphy, A.J., Chudek, J.A., Gadd, G.M. 1997. Metabolism-independent binding of toxic metals by *Ulva lactuca*: cadmium binds to oxygen-containing groups, as determined by NMR. *BioMetals.* 10: 105 – 117.

- Wilde, E.W., Beneman, J.R. 1993. Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae. *Biotech. Adv.* 2:781-812.
- Yan G, Viraraghavan T. 2000. Effect of pretreatment on the bioadsorption of heavy metals on *Mucor rouxii*. *Water SA* 26:119-123.
- Yang, J., Volesky, B. 1999. Cadmium biosorption rate in protonated *Sargassum* biomass. *Environmental Science & Technology*. 33: 751-757
- Yun, Y.S., Park, D.H., Park, J.M., Volesky, B. 2001. Biosorption of trivalent chromium on the brown seaweed biomass. *Envir. Sci. Technol.* 35: 4353-4358.
- Zhou, J.L., Huang, P.L., Lin, R.G.1998. Sorption and desorption of Cu and Cd by macroalgae and microalgae. *Environmental Pollution*. 101: 67-75.