

**BIOADSORCIÓN DE CROMO DE AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA
DE CURTIEMBRES EN QUITOSANO OBTENIDO A PARTIR DEL
EXOESQUELETO DEL CAMARON (*Litopenaus vanamei*).**

EDISSON DUARTE RESTREPO
//

**MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES
ALIANZA SUE CARIBE- SEDE UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
LÍNEA DE MEDIO AMBIENTE, SALUD Y CULTURA
CARTAGENA – BOLÍVAR**

2009

DP
TN
615.902
D 85

2

**BIOADSORCIÓN DE CROMO DE AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA
DE CURTIEMBRES EN QUITOSANO OBTENIDO A PARTIR DEL
EXOESQUELETO DEL CAMARON (*Litopenaus vanamei*).**

EDISSON DUARTE RESTREPO

Tesis para optar el Título de Magíster en Ciencias Ambientales

Director

BEATRIZ E. JARAMILLO C., Química, Ph.D

Codirector

JESUS OLIVERO VERBEL, Q.F., Ph.D



62542

MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES
ALIANZA SUE CARIBE- SEDE UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
LÍNEA DE MEDIO AMBIENTE, SALUD Y CULTURA
CARTAGENA – BOLÍVAR

2009

Nota de Aprobación del Jurado

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

DEDICATORIA

A mis cuatro musas

Laura

Stella

Beatriz

Jenny

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a la doctora Beatriz Eugenia Jaramillo, por ser mi amiga, mi esposa, mi amante y mi crítica más feroz.

A los doctores Jesús Olivero Verbel y Beatriz E. Jaramillo C., por sus aportes, orientación y colaboración, brindados durante el desarrollo de esta investigación.

A mi Familia, por todos sus esfuerzos, solidaridad y el amor que me dan día a día.

A Estella Restrepo Rincón y Jenny Duarte Restrepo.

A mis profesores.

A la Universidad de Cartagena, especialmente, al Grupo de Química Ambiental y Computacional y al Grupo de Investigaciones Agroquímicas.

A todos mis compañeros de maestría.

A mis evaluadores Dr. Jose Luis Marrugo Negrete y Msc. Guillermo Gutiérrez Ribon.

A la colaboración y humildad de Orlando de la Rosa.

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

- C_f** Concentración final de iones Cr (III) en (mg L^{-1})
- C_i** Concentración inicial de iones Cr (III) en (mg L^{-1})
- K** Constante de disociación de Langmuir (L mg^{-1})
- K_F** Constante de Freundlich (L g^{-1}) que indica la capacidad de adsorción
- $1/n$** Constante de Freundlich (adimensional), indica la intensidad de la Adsorción
- Q** Cantidad adsorbida de iones Cr (III) (mg g^{-1}) por el quitosano.
- Q_{\max}** Cantidad máxima adsorbida de iones Cr (III) (mg g^{-1}) por el quitosano
- R^2** Coeficiente de determinación
- V** volume of Cr solution (L)
- W** Masa del adsorbente (quitosano) (g)
- FT-IR** Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier
- M_b** Concentración molar de la base (NaOH)
- ν** Viscosidad cinemática
- d** Densidad
- η** Viscosidad dinámica
- η_{sp}** Viscosidad específica
- η_{sp}/c** Viscosidad reducida
- α** Constante adimensional de la ecuación Mark–Houwink–Saturada
- M** Peso molecular viscosimétrico

AAF Absorción atómica de llama

C_{eq} Concentración de cromo (III) al final del proceso de adsorción

q_{eq} Cantidad de cromo (III) absorbida

C_0 Concentración inicial de cromo (III)

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	13
2. MARCO TEORICO	16
2.1. METALES PESADOS: CARACTERÍSTICAS Y COMPORTAMIENTO	18
2.2. TOXICIDAD DE LOS METALES PESADOS	19
2.2.1. Cromo	21
2.3. TRATAMIENTOS PARA LA ELIMINACIÓN DE METALES PESADOS EN EFLUENTES INDUSTRIALES.	23
2.4. UNA ALTERNATIVA A LAS TECNOLOGÍAS CONVENCIONALES	28
2.4.1. Quitina y quitosano	33
2.5. MODELOS TEÓRICOS DE ISOTERMAS DE ADSORCIÓN	38
2.5.1. Isoterma de Langmuir	39
2.5.2. Isoterma de Freundlich	40
2.6. PARÁMETROS QUE INFLUYEN EN EL PROCESO DE ADSORCIÓN	42
3. OBJETIVOS	47
4. PARTE EXPERIMENTAL	
4.1. MATERIALES Y REACTIVOS	48
4.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS	50
4.3. PROCEDIMIENTOS	
4.3.1. Obtención de quitina y quitosano	50
4.3.2. Purificación del quitosano	52
4.3.3. Caracterización de quitosano	52

4.3.3.1. Determinación del grado de desacetilación por el método potenciométrico	52
4.3.3.2. Determinación del grado de desacetilación por el método IR	53
4.3.3.3. Determinación del peso molecular por Viscosidad capilar	54
4.3.4. Análisis de cromo	56
4.3.4.1. Digestión de la muestra	56
4.3.4.2. Efecto del pH en el proceso de adsorción de cromo (III)	57
4.3.4.2.1. Comparación de la influencia del pH utilizando una solución Buffer de acetato de sodio.	57
4.3.4.3. Análisis de la cinética de adsorción	57
4.3.4.4. Isotermas de adsorción y efecto de la concentración de cromo (III)	58
4.3.4.5. Cálculos del porcentaje absorbido de cromo (III)	58
5. RESULTADOS Y DISCUSION	
5.1. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO	60
5.1.1. Análisis de FT-IR	60
5.1.2. Grado de desacetilación por el método potenciométrico	62
5.1.3. Peso molecular por viscosimetría capilar	64
5.2. ADSORCIÓN DE CROMO	65
5.2.1. Determinación del pH óptimo de adsorción	65
5.2.1.2. Comparación del proceso de adsorción utilizando una solución buffer de acetato de sodio a pH 4.	68
5.2.2. Isotermas de adsorción	68
5.2.3. Tiempo óptimo de adsorción y cinética química	71

5.3. COMPARACIÓN DE LOS PROCESOS DE ADSORCIÓN DE UNA MUESTRA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA DE CURTIEMBRES Y UNA MUESTRA DE CROMOSAL BA	74
5.3.1. Bioadsorción de Cr (III) de las aguas residuales de la industria de curtiembres	74
6. CONCLUSIONES	79
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Principales aplicaciones de quitosano.	37
Tabla 2. Especificaciones de quitosano grado reactivo	47
Tabla 3. Especificaciones de reactivo Cromosal B-A	48
Tabla 4. Números de onda característicos de absorción del quitosano por FT-IR	58
Tabla 5. Coeficientes de determinación R^2 para los radios BE/BR	60
Tabla 6. Relación entre la viscosidad intrínseca y el peso molecular del quitosano obtenido en el laboratorio	63
Tabla 7. Relación entre el pH y la adsorción de Cromo (III)	63
Tabla 8. Parámetros de las isotermas de adsorción del quitosano.	69
Tabla 9. Relación entre el tiempo y la adsorción de cromo (III)	70
Tabla 10. Composición química del agua residual de la industria de curtiembres	72

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Unidad polimérica de la quitina	34
Figura 2. Esquema elemental de la producción de quitosano	35
Figura 3. Unidad polimérica del quitosano	36
Figura 4. Isoterma de Langmuir.	39
Figura 5. Isoterma de Freundlich.	41
Figura 6. Espectro infrarrojo del quitosano obtenido	59
Figura 7. Curva de titulación del quitosano	61
Figura 8. Representación de Huggins para el quitosano	62
Figura 9. Efecto del pH en la adsorción de Cr (III) en quitosano.	65
Figura 10. Efecto de la concentración de Cr (III) en el proceso de Adsorción por quitosano a pH 4	67
Figura 11. Cinética de absorción del cromo por quitosano.	71
Figura 12. Resultados obtenidos de los porcentajes de adsorción del quitosano en Cromosal BA y Aguas de desecho de curtiembre	73
Figura 13. Solución de Cromosal BA y de agua residual de la Industria de curtiembres	74

INTRODUCCIÓN

El problema de la contaminación de las aguas es uno de los aspectos más preocupantes de la degradación de los medios naturales por parte de la civilización contemporánea (Jeon y Höll, 2003). Los distintos estudios sobre aguas residuales confirman que la contaminación tiene, generalmente, un origen químico o microbiológico (Zheng et al., 2009). Los principales agentes contaminantes son pesticidas (Zhou et al., 2006), hidrocarburos (Cooper et al., 2009) y metales pesados (Jaleel et al., 2001). Los metales pueden provenir de efluentes urbanos (alimentos, productos farmacéuticos (Krishna et al., 2009), cosméticos, productos de limpieza, etc.) y de fuentes industriales (industrias papeleras, curtiembres, pinturas y pigmentos, recubrimientos, etc., (Hall et al., 2008).

La recuperación de metales de efluentes acuosos puede llevarse a cabo por diferentes tratamientos (Zhang y Banks, 2005). Además de los tratamientos mecánicos de las aguas residuales (sedimentación) o de los biológicos (lodos activados), se utilizan algunos tratamientos químicos para la eliminación de estos metales. Los procesos más comunes implican la precipitación mediante hidróxidos o sulfuros (Cheng et al., 2009) la oxidación-reducción (Deguillaume et al., 2005) intercambio iónico (Foster y Chang, 2007), separación sólido-líquido mediante decantación-flotación (Malysa et al., 2005) y la separación mediante membranas (Ozdes et al., 2008). Pero el mayor inconveniente de estos tratamientos es la formación de lodos que tienen que estar sujetos a restricciones o las bajas

eficacias del proceso en el caso de las membranas (Kolev et al., 2009). De aquí, la necesidad de buscar procesos alternativos más económicos basados, por ejemplo, en la utilización de polímeros naturales o sintéticos (Pehlivan et al., 2007).

La adsorción en carbón activado ha sido estudiada ampliamente. Se han considerado también otros adsorbentes con el fin de encontrar materiales más eficientes y menos costosos (Jain y Sikarwar, 2008). Así, se está estudiando la adsorción en organismos vivos (bacterias, hongos, algas) o por compuestos extraídos de estos organismos (Tsezos, 2001). Estos materiales son abundantes y amigables con el medioambiente (Dundar et al., 2008). Entre estos últimos se encuentran el quitosano.

El quitosano, poli(β -1-4)-2-amino-2-deoxi-D-glucopiranososa, se prepara por desacetilación de los grupos acetamida de la quitina, que es un polímero natural extraído de los caparazones de los crustáceos, tales como gambas, cangrejos, insectos y camarones. La capacidad del quitosano para formar complejos con distintos iones metálicos está siendo de gran interés para los investigadores (Benaissa y Benquella, 2002). La comparación entre los diferentes estudios realizados es complicada debido a la gran variabilidad de condiciones experimentales empleadas. Este polímero se caracteriza por un número elevado de grupos amino libres que son muy reactivos para la quelación de cationes metálicos a pH más o menos neutros (Tabeada et al., 2002).

Las propiedades ácido-base del quitosano conducen a la protonación de los grupos amino a pHs ácidos. Estas propiedades catiónicas del quitosano hacen que el polímero sea muy eficiente en la adsorción de iones metálicos por interacciones electrostáticas (Srivastava y Thakur, 2006).

El objetivo de este trabajo fue la síntesis de quitosano a partir del exoesqueleto del camarón (*Litopenaus vanamei*) y su uso como bioadsorbente de iones Cr (III) de una muestra de cromosal BA (solución utilizada en el proceso de curtición de pieles); analizando la influencia del pH, concentración y el tiempo en el proceso de adsorción de cromo(III) por el quitosano obtenido en el laboratorio. Estos resultados se compararon con el análisis del proceso de adsorción por el quitosano de una muestra de aguas residuales de una industria de curtiembres.

2. MARCO TEORICO

Los avances científicos y tecnológicos desarrollados desde la revolución industrial aumentó de manera considerable la capacidad del ser humano para explotar los recursos naturales. Sin embargo, esto ha generado una serie de perturbaciones en los ciclos biológicos, geológicos y químicos elementales (Cañizales y Villanueva., 2000).

La introducción repentina de componentes de mayor o menor toxicidad en el medio natural puede superar la capacidad de autolimpieza de los diversos ecosistemas receptores dando como resultado la acumulación de contaminantes en niveles inseguros y perjudiciales (Mieiro et al., 2009).

En los sistemas acuáticos y terrestres existe una capacidad de asimilar un aporte natural de iones metálicos puesto que muchos de ellos son necesarios para el desarrollo de los seres vivos (Vilchez, 2005). Elementos como el cromo, manganeso, cobalto, cobre, zinc, molibdeno, vanadio o hierro participan en una serie de funciones catalíticas (Cano et al., 2009, Liu et al., 2009). No obstante, para que puedan ser empleadas por los microorganismos deben encontrarse en el medio en concentraciones reducidas (niveles traza); sin embargo, este equilibrio se ha visto afectado por la actividad humana, debido a la cual los aportes al medio natural de iones metálicos se ha incrementado de manera considerable. Este aporte antropogénico se realiza por diferentes vías, siendo las más importantes las relacionadas con las actividades industriales y agrícolas, tales como operaciones

mineras y de fundición, tratamientos electrolíticos, vertidos de aguas residuales, fabricación de plásticos, obtención de pigmentos, fabricación de baterías, uso de fertilizantes y pesticidas (Beiger y Jernelov, 1986; Barisic et al., 1992; Erlinch, 1997).

Los metales pesados presentan efectos tóxicos derivados de su acción sobre grupos funcionales, desplazamientos de elementos esenciales del lugar de coordinación, modificaciones estructurales de algunos lugares activos o la ruptura de membranas (Vilchez., 2005).

La inexistencia de vías naturales para la eliminación de estos compuestos hace que se acumulen, redistribuyéndose en el medio natural e introduciéndose en la cadena trófica donde pueden alcanzar niveles tóxicos para los seres vivos con graves implicaciones en la salud de los seres humanos y de los animales, en agricultura y en los procesos biológicos por lo que pueden causar serios problemas medioambientales, sociales y económicos (Lankford y Eckenfelder., 1992).

Debido al crecimiento exponencial de la población mundial, la necesidad de controlar las emisiones de metales pesados al medio ambiente es cada vez más relevante. Es mejor evitar el problema desde la fuente de emisión, antes que los metales tóxicos entren a la complejidad de los ecosistemas; es difícil seguir la evolución de las especies metálicas una vez han penetrado en el entorno y evitar

que sus amenazas se vayan dispersando por las diferentes latitudes (Vega de Kuyper, 1999).

Por lo tanto, controlar los vertimientos de metales pesados y la eliminación de estos, se ha convertido en nuevo reto para este siglo.

2.1. METALES PESADOS: CARACTERÍSTICAS Y COMPORTAMIENTO.

Los metales pesados son elementos con elevados pesos atómicos, superiores a 44.956 g/mol y una densidad superior a 5 g/cm³, excluyendo a los grupos alcalinos y alcalinotérreos (Nadeem et al., 2009). Aunque algunos son imprescindibles para el desarrollo de las funciones vitales de los organismos, los denominados esenciales como cobalto (Co), cobre (Cu), hierro (Fe) manganeso (Mn), molibdeno (Mo), zinc (Zn), vanadio (V) y estroncio (Sr), en cantidades excesivas son perjudiciales e incluso letales para los seres vivos (Kennish, 1992; Zwolak y Zaporowska, 2009). Los metales pesados no esenciales comúnmente implicados en problemas de contaminación de las aguas son: cromo (Cr), cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb) y antimonio (Sb) (Kushner y Kushner, 1994).

En las aguas superficiales, los metales pesados existen en forma de coloide, partículas y como fases disueltas, aunque debido a su baja solubilidad estas últimas suelen presentar concentraciones muy bajas en forma iónica o complejos organometálicos (Connell y Miller, 1984). En las formas coloidales y partículas aparecen como hidróxidos, óxidos, silicatos y sulfuros o absorbidos en minerales del grupo de las arcillas, sílice y materia orgánica. La solubilidad de los metales

pesados en las aguas superficiales esta controlada por el pH, el tipo de ligandos en los que se encuentran adsorbidos, el estado de oxidación de las fases minerales y el ambiente redox del sistema (Harvey, 2002).

Una de las actividades con mayor riesgo ambiental es la descarga de metales generados en la degradación de los diferentes vertidos de materiales en la superficie, procedentes de la expulsión de gases y partículas en los procesos de combustión y la deposición de residuos urbanos e industriales (Velea et al., 2008). Así la contaminación por metales pesados puede ser el resultado de la oxidación de sulfuros o de la disolución de ciertos carbonatos, o bien pueden aportados directamente por actividades industriales y mineras (Doménech, 1995). En medio oxidante y de pH elevado pueden ser inmovilizados y quedar fijados como óxidos precipitados y co-precipitados. También en medios fuertemente reductores (materia orgánica abundante con suministro de sulfatos y pH elevado) pueden ser fijados como sulfuros (Acosta et al., 1995).

De los diversos metales procedentes de los diferentes vertimientos los más peligrosos son los metales pesados como el Cd, Cr, Cu, Hg y Pb puesto que poseen toxicidades a niveles de ppm y ppb (Beiger y Jemelov, 1986).

2.2. TOXICIDAD DE LOS METALES PESADOS

Los seres vivos requieren un gran número de metales pesados para llevar a cabo sus reacciones metabólicas, si bien es cierto que sus necesidades se limitan a cantidades muy pequeñas, generalmente a nivel de trazas, así mismo, no todos

los metales pesados son nutricionalmente esenciales para una vida sana; sin embargo, algunos como el Fe, Cu, Co, Mn, Ni o Zn juegan un papel importante sobre la calidad de vida (Deshpande et al, 2009; Zwolak y Zaporowska, 2009), encontrándose como elementos o en algunas de sus formas, en comestibles, frutas, vegetales o productos multivitamínicos. (Hamilton y Wetterhahn, 1987).

Sin embargo, los metales pesados llegan a ser tóxicos cuando no son metabolizados por el cuerpo y se acumulan en los tejidos (Sunar et al., 2009). Pueden incorporarse en el cuerpo humano a través de los alimentos, al agua, el aire o la absorción a través de la piel cuando entran en contacto con los seres humanos en procesos agrícolas, farmacéuticos e industriales. Esta última es considerada una ruta común de captación para los adultos, siendo la ingestión la más común en menores (Dickson, 1999).

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

- El desplazamiento de iones metálicos esenciales de biomoléculas y bloqueo de sus grupos funcionales (Hamilton y Wetterhahn, 1987).
- Modificación de la conformación de enzimas y pironucleótidos (Grunberg et al., 2009).
- Ruptura e inhibición de biomoléculas (Agnoletti et al., 2009).
- Modificación de otros agentes biológicamente activos (Hamilton y Wetterhahn, 1987).

Entre los metales más tóxicos están el Cd, Hg, Sn, Pb, Ta, Cr y Ni (Crinnion, 2009). La respuesta de un ser humano tras un contacto con un metal pesado puede producir efectos agudos o crónicos dependiendo de la duración de dicho contacto, entre otros, dermatitis, hiperqueratosis, ulceraciones, afecciones respiratorias, cardiovasculares, gastrointestinales, hematológicas, hepáticas, renales, neurológicas, trastornos en el desarrollo, consecuencias en la reproducción, enfermedades inmunológicas, genéticas, o efectos mutagénicos o carcinogénicos (Selvi et al., 2001; Agnoletti et al., 2009).

A continuación se describen brevemente las aplicaciones y efectos perjudiciales del cromo que es el metal objeto de este estudio.

2.2.1 Cromo. Es un metal de transición duro, frágil, gris acerado, brillante y muy resistente a la corrosión. Se produce a partir de la cromita (FeCr_2O_4) y puede existir en los diversos componentes en tres estados de valencia: Cr^{2+} , Cr^{3+} , Cr^{6+} , siendo los dos últimos los más frecuentes (Zouboulis et al., 1995).

El cromo es usado ampliamente a nivel industrial, algunas de sus aplicaciones son: metalurgia (Singh y Tiwari., 1997), procesos de electrogalvanizado (Raji y Anirudhan, 1998), fijador en pinturas (Tobin et al., 1998), catalizadores (Low et al., 2000), materiales refractarios (Solicio et al., 2000), curtido de cuero (Grupta et al., 2001; Selvi et al, 2001), fabricación de cintas magnéticas (Ucum et al., 2002), cementos y en la industria fotográfica (Park et al., 2005).

Las principales fuentes de contaminación por este metal son además de los residuos de los procesos industriales antes descritos, la minería, y los procesos de obtención del mismo (Singh y Tiwari, 1997; Gavrilesco, 2004).

Los riesgos sobre la salud asociados a la exposición de cromo dependen del estado de oxidación en que se encuentre. El cromo metálico y sus compuestos de Cr (III) no son considerados un riesgo debido a su nula y baja toxicidad, mientras que el cromo (VI) es tóxico en animales y humanos si se inhala o ingiere oralmente y también en plantas debido a su alta movilidad y solubilidad en fase acuosa, con respecto al Cr (III) (Dean y Tobin, 1999; Das et al., 2000; Solicio et al., 2000; Demirbas et al., 2004; Park et al., 2004).

El Cr(III) es un elemento esencial para el ser humano, aunque no se conocen con exactitud sus funciones. Parece participar en el metabolismo de los lípidos, hidratos de carbono, entre otras funciones. Se ha observado que algunos de sus complejos parecen participar en la potenciación de la acción de la insulina por lo que les ha denominado "factor de tolerancia a la glucosa"; debido a esta relación con la acción de la insulina la ausencia de cromo provoca una intolerancia a la glucosa generando la aparición de diversos problemas. Sin embargo, en altas concentraciones puede resultar tóxico, especialmente para las plantas y los hongos. En este último caso, la toxicidad parece esta relacionada con antagonismos específicos con la retención de hierro (Tobin y Roux, 1998; Armienta y Rodríguez., 1995).

Los compuestos de Cr(VI) son tóxicos para animales y humanos porque son muy oxidantes. Por ello, son potencialmente carcinógenos y mutagénicos, llegando a ser mortales si se ingieren dosis de unos pocos gramos (Galvao y Corey., 1987; Singh y Tiwari, 1997; Hamadi y Chen, 2001; Demirbas et al, 2004; Park et al., 2004).

En las personas puede causar irritación, corrosión de la piel, tracto respiratorio, ojos y mucosas, formación de úlceras, daños en el hígado, problemas respiratorios, congestión pulmonar, edemas y debilitamiento en el sistema inmunológico, este último al formar haptenos con proteínas, una vez que se reduce a Cr(III) en el interior de las células. Una fuerte exposición al Cr(VI) causa cáncer en el tracto digestivo y en los pulmones y puede ocasionar dolor epigástrico, náuseas, vómitos y severas diarreas y hemorragias. El cromato de zinc es el compuesto más cancerígeno (Dambies et al, 1999; Robertson y Dreishbach, 1998; Raji y Anirudhan, 1998; Das et al., 2000; Solicio et al, 2000; Gupta et al., 2001).

El Cr(VI) es también tóxico para la flora de ecosistemas acuáticos naturales ya que inhibe el crecimiento celular (Das et al., 2000; Solicio et al., 2000; Park et al., 2004; Losi et al., 1994).

2.3. TRATAMIENTOS PARA LA ELIMINACIÓN DE METALES PESADOS EN EFLUENTES INDUSTRIALES.

El tratamiento de efluentes contaminados es un proceso complicado, en ocasiones incluso más que cualquier otro proceso de fabricación o manufactura de productos, debido a que las aguas a tratar pueden tener una composición variable en cuanto a componentes orgánicos o inorgánicos, acidez o basicidad extrema, presencia de sustancias volátiles. De esta forma, son pocos los procesos que permiten la descontaminación de efluentes cumpliendo a la vez los siguientes requisitos: bajos costos económicos, flexibilidad en cuanto a la cantidad a tratar de efluente y de carga contaminante, continuidad del sistema, mínima supervisión y mantenimiento y selectividad para los metales considerados (Solicio et al., 2000; Vilchez et al., 2005).

Para eliminar metales pesados de efluentes líquidos se han empleado diferentes tecnologías como la coagulación-floculación, precipitación química, adsorción, electrodiálisis, intercambio iónico, osmosis inversa (Williams et al., 1998; Pagnanelli et al, 2000; Chen et al., 2002; Zhang y Banks, 2005). En general estas tecnologías son inadecuadas para la eliminación de metales pesados de efluentes industriales, debido a que no reducen su concentración por debajo de los límites permitidos por la legislación y no alcanzan una diferenciación clara en su composición, dificultando su reciclaje o reutilización de los subproductos, creando además problemas secundarios como lodos difíciles de tratar (Gavrilescu, 2004; Min et al., 2004). Para disoluciones con altas concentraciones de metales pesados (cientos o miles de mg/L) pueden emplearse algunas de las tecnologías citadas; sin embargo, cuando las concentraciones son de pocos cientos de mg/L o

inferiores, se requieren métodos más complejos y costosos (Niu y Volesky., 2003; Aksu, 2002).

A continuación se realiza una breve descripción de las tecnologías que han alcanzado mayor desarrollo:

- **Precipitación química.** La precipitación química se considera el tratamiento estándar para eliminar los metales en todo tipo de aguas y suele utilizarse como tratamiento primario de eliminación. La capacidad de precipitación de los metales de la disolución depende sobretodo de dos factores: La solubilidad de la especie metálica que es función del producto de solubilidad, el pH del medio y de la concentración de las especies precipitantes y la separación del sólido de la solución acuosa. Estos dos factores hacen que la precipitación sea poco efectiva cuando el metal se encuentra en concentraciones muy bajas, ya que se necesita un exceso de agente precipitante para llegar a formar un precipitado, y en muchos casos aunque se forme el precipitado, la partícula sólida formada no tiene estabilidad suficiente para separarse de la disolución. Para ayudar a superar estas dificultades se utiliza un tratamiento de coagulación (Lankford y Eckenfelder., 1992).

La coagulación o coprecipitación consiste en añadir hidróxido de hierro o de aluminio conjuntamente con el agente precipitante para que actúen como coagulantes, ya que en muchas ocasiones el tamaño de las partículas de precipitado es muy pequeño y se mantienen en suspensión por fuerzas

electrostáticas de su superficie. Los agentes coagulantes permiten unir estas finas partículas en estructuras más voluminosas de hidróxido metálico que facilitan la precipitación (Lee et al., 1997).

Otros metales necesitan tratamientos previos para que la precipitación sea efectiva, este es el caso del cromo que cuando se encuentra en su estado hexavalente requiere primero ser reducido a Cr (III) y luego precipitado con Ca(OH)_2 . El tratamiento de reducción consiste en disminuir el pH a 2 ó 3 con ácido sulfúrico y posteriormente utilizar algún agente reductor como SO_2 , NaHSO_3 o FeSO_4 . La precipitación de arsénico y hierro puede necesitar un tratamiento previo de oxidación con cloro o permanganato, ya que los iones de hierro y arsénico con estado de oxidación mayor (AsO_4^{-3} , Fe^{3+}) se precipitan más fácilmente que los estado de oxidación menor (AsO_2^{-} , As^{+3} , Fe^{2+}). (Niu y Volesky, 2003; Tarley y Arruda, 2004; Esposito et al., 2002).

- **Intercambio iónico.** En este tratamiento la separación de metales se basa en la propiedad de algunos materiales de intercambiar de forma reversible grupos catiónicos, normalmente Na^+ y H^+ , con los metales del efluente. En este proceso los metales quedan retenidos en la resina y los cationes se liberan a la disolución (Atkinson et al., 1998).

Este tratamiento permite conseguir concentraciones de metales muy bajas, del orden de mg/L, suele utilizarse como tratamiento secundario después de la

precipitación, cuando las concentraciones iniciales de metal no son excesivamente altas, porque su costo de inversión y de operación es elevado (Babel y Kumiawan, 2003).

- **Ósmosis inversa.** La ósmosis inversa consiste en separar los iones metálicos del efluente haciéndolos pasar a través de una membrana semipermeable a alta presión, de forma que los iones metálicos queden retenidos en la membrana. Este sistema se utiliza en algunos lugares para potabilizar agua, a parte de los iones metálicos otros iones como sales y nitratos también son separados por la membrana. Si ésta agua se destina al consumo humano deberá tenerse en cuenta la falta de algunos minerales esenciales para el organismo (Lankford y Eckenfelder., 1992). El costo de la ósmosis inversa es elevado, ya que además de necesitar una gran cantidad de energía, requiere una inversión alta inicial y un costoso mantenimiento debido a que las membranas se han de sustituir frecuentemente. Por eso este tratamiento se utiliza fundamentalmente para tratar efluentes pequeños y con baja concentración de metal.

En la actualidad están siendo desarrolladas nuevas técnicas para extraer y recuperar metales de forma efectiva de las aguas residuales, entre ellas se destacan la electrólisis y la electrodiálisis, ésta última combina la electrolisis con un proceso de separación a través de membranas, aunque son técnicas efectivas su costo generalmente es mayor que los tratamientos de precipitación, intercambio iónico y adsorción, por ello su uso a nivel industrial es muy reducido. Es

importante recuperar los metales de los efluentes antes de los tratamientos biológicos, para evitar la toxicidad y la acumulación de los mismos en los lodos (Al-asheh y Duvniak, 1997).

- **Adsorción.** La adsorción de iones tiene lugar sobre una gran variedad de materiales, entre ellos se destacan: carbón activo, óxidos de hierro y aluminio, arcilla, materiales sintéticos y otros substratos de diferentes orígenes (Metcalf y Hedí, 1998).

En estos procesos, la sustancia adsorbida se une a la superficie del adsorbente mediante fuerzas físicas (fuerzas electrostáticas o de Van der Waals). La capacidad de adsorción de un material es función de su superficie interna y externa, es por ello que los materiales altamente porosos facilitan el contacto entre el adsorbato y los lugares activos del material adsorbente, la superficie de adsorción de un carbón activo comercial se encuentra entre 500 - 1500 m²/g. El proceso de adsorción depende fuertemente del pH y cada metal tiene un pH óptimo para ser adsorbido. La temperatura, el tiempo de equilibrio, la concentración de metal y la presencia de otros iones en disolución son factores que influyen también en el proceso de adsorción. La presencia de los iones Ca²⁺ y Mg²⁺ correspondientes a la dureza del agua, interfieren de forma significativa en el proceso de extracción de metales pesados, tal como ocurre en los procesos de intercambio iónico (Lankford y Eckenfelder., 1998; Castellan, 1999).

2.4. ALTERNATIVAS A LAS TECNOLOGÍAS CONVENCIONALES.

El elevado precio de los tratamientos convencionales para la eliminación de metales ha motivado a gran número de investigadores a la búsqueda de nuevos materiales de bajo costo (low-cost sorbents) que puedan sustituir a las resinas de intercambio iónico y al carbón activo. Dentro de este grupo se encuentran los biosorbentes, materiales de origen biológico, vegetal o procedente de procesos industriales con elevadas capacidades de adsorción. (Davis et al., 2003; Baytak y Turker, 2005).

Biosorción. Los adsorbentes de origen biológico están formados por una biomasa de origen microbiano formada principalmente por algas, bacterias, hongos y levaduras. Éstos se obtienen a partir de los residuos de las industrias de fermentación, medicina, farmacia y productos derivados de algas. Los biosorbentes de origen vegetal están formados por residuos de origen agrícola y forestal, entre ellos destacan cortezas de árboles, restos de vegetales, cereales y frutos. También se encuentran dentro de este grupo los residuos orgánicos o de origen animal procedentes de procesos industriales, como el quitosán o el xantato (Volesky, 2001; Deng y Ting, 2005).

Aparte de los biosorbentes, otros materiales de bajo costo están siendo investigados para la extracción de metales, algunos de origen natural como zeolitas, arcillas, turba, etc. y otros de origen industrial como hidróxidos de hierro y aluminio o lodos de depuradora (Babel y Kumiawan, 2003; Gavrilesco, 2004).

Las ventajas de los biosorbentes en comparación con los sorbentes tradicionales son numerosas, entre ellas el bajo precio ya que muchos son residuos industriales sin ningún valor, por el contrario el carbón activo es un material de elevado costo de compra y que a menudo debe ser tratado previamente para conseguir valores altos de adsorción (Veglio y Beolchini, 1997) esto dificulta su aplicación a gran escala. Otra ventaja de los biosorbentes es su fácil disponibilidad ya que muchos de ellos se encuentran de forma abundante en la naturaleza (Al-asheh y Duvnjak, 1998; Zhang y Banks, 2005).

El estudio de las características de los biosorbentes se realiza en primer lugar con los estudios de equilibrio, "batch studies", en ellos se determina la influencia de los principales parámetros que afectan al proceso, como el tiempo de equilibrio, el pH, la fuerza iónica y la presencia de otros metales. También se estudia el tipo de mecanismo de adsorción y se modela el proceso mediante isothermas de equilibrio (Volesky, 2001; Zhou et al., 2005).

Aplicaciones de la bioadsorción. Como aplicaciones de la adsorción de una solución se pueden mencionar la clarificación de jarabes o licores de azúcar por carbón vegetal, la eliminación de materia colorante de otros tipos de soluciones y la recuperación de tintes a partir de soluciones diluidas. La adsorción se ha utilizado también para la recuperación y concentración de vitaminas y otras

sustancias biológicas. Otra alternativa de adsorción hace uso de polímeros naturales llamados **biopolímeros** (Sabina et al., 2001).

Dentro de las aplicaciones de los biopolímeros como medio adsorbente, podemos mencionar la eliminación de contaminantes metálicos de efluentes mineros. Su aplicación provee una ventaja técnica y económica frente a otros; como el intercambio iónico o el uso de membranas, ya que estos polímeros presentan una toxicidad baja convirtiéndose así en una medida de descontaminación sin efectos secundarios, ya que son biodegradables. Algunos de ellos son derivados de algas como los alginatos, poliamidas de cabellos, colágeno de tejidos óseos o *quitina* y *quitosán* provenientes del caparazón de crustáceos (Niu y Volesky, 1999). Estos últimos han sido estudiados ampliamente y cada día son más las aplicaciones que se están desarrollando. (Markai et al., 2003; Dambies et al., 1999; Muzzarelli et al., 1999).

Mecanismos de bioadsorción. Los mecanismos de bioadsorción son muy variados y dependen en cada caso del metal y del tipo de material adsorbente. La extracción de metales mediante bioadsorbentes vegetales se atribuye a sus proteínas, carbohidratos y componentes fenólicos que contienen grupos carboxil, hidroxil, sulfatos, fosfatos y amino que pueden atrapar los iones metálicos (Villaescusa et al., 2004; Al-Asheh y Duvnjak, 1998).

Cuando los biosorbentes son de origen biológico o animal, la extracción de metales se atribuye a los grupos amino y fosfatos en los ácidos nucleicos; grupos

amino, amido y carboxílicos en las proteínas; grupos hidroxil, carboxil y sulfatos de polisacáridos en algas marinas, polisacáridos estructurales en hongos y grupos acetamido en la quitina (Volesky y Holan, 1995).

Debido a la compleja estructura de estos materiales se cree que probablemente varios mecanismos actúen simultáneamente en el proceso de adsorción, los principales son:

Intercambio iónico. Gran parte de los adsorbentes contienen sales de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} en sus estructuras, estos cationes pueden ser intercambiados con los iones metálicos y quedar unidos al material. Estudios previos proponen el intercambio iónico como el principal mecanismo en la adsorción de Cu^{2+} , Cd^{2+} y Ni^{2+} con corteza de pino, de Cd^{2+} y Zn^{2+} con restos de cassava (Horsfall et al., 2003) y de Cu^{2+} y Ni^{2+} con raspo de uva (Villaescusa et al., 2004), se cree que este mecanismo está presente en la mayoría de adsorbentes de origen vegetal. También se considera que el intercambio iónico es el principal mecanismo de adsorción de las algas marinas y de algunos hongos (Davis et al., 2003; Volesky y Holan, 1995), esto es debido al contenido en sales de los polisacáridos que forman sus estructuras celulares.

Adsorción física. La unión entre la superficie del adsorbente y el metal se produce por fuerzas de atracción electrostática o de Van der Waals. Este mecanismo esta presente en la sorción de diversos metales con biomasa

microbiana. Estudios previos de la sorción de torio, uranio, cobre, níquel, zinc y cadmio con *Rhizopus arrhizus* (Veglio y Beolchini, 1997; Tsezos, 2001) han concluido que la unión del metal al sorbente se produce principalmente mediante adsorción física sobre algunos componentes de la pared celular. La adsorción también se considera el principal mecanismo de la extracción de cobre con la bacteria *Zoogloea ramigera* y la alga *Chlorella vulgaris* y de la extracción de cromo con los hongos *Canoderma lucidum* y *Aspergillus niger* (Srivastava y Thakur., 2006; Metcalf y Hedi, 1998).

Complejación. La unión entre el adsorbente y el metal se produce a través de formaciones complejas en la superficie del material, ésta contiene ligandos unidentados o polidentados, según si pueden coordinar uno o más electrones con el metal. Este mecanismo está presente en la adsorción de uranio y torio por el hongo *Rhizopus arrhizus* (Fiol et al., 2003), el mecanismo principal es la adsorción pero también se forman complejos del metal con el nitrógeno de los componentes de la pared celular. La adsorción de cobre con las algas *Chlorella vulgaris* y *Zoogloea ramigera* tiene lugar mediante adsorción y complejación del metal con los grupos amino y carboxil de los polisáridos de la pared celular (Reddad et al, 2002). La complejación es el mecanismo principal de la acumulación de calcio, magnesio, zinc, cobre y mercurio por *Pseudomonas syringae* (Leung et al., 2000).

Otros mecanismos de adsorción menos frecuentes son la quimiosorción y la precipitación. En la quimiosorción la unión entre el sorbente y el metal se produce

por enlaces químicos mediante el intercambio de electrones. La precipitación se asocia a un mecanismo de defensa de algunos microorganismos, los cuales pueden producir sustancias que precipitan los elementos tóxicos acumulados en su interior o en el medio que los rodea (Pagnanelli et al., 2005). La naturaleza del adsorbente juega un papel importante en estos tipos de mecanismos, un ejemplo concreto es la interacción que se genera entre los grupos amino del quitosano y metales pesados como el cromo, el mercurio y cadmio.

2.4.1. Quitina y quitosano. La quitina es el segundo polisacárido en abundancia después de la celulosa, fue descubierto por Braconnot en 1811 cuando estudiaba las sustancias derivadas del *Agaricus volvaceus* y otros hongos. Posteriormente, Velásquez reportó que había encontrado en algunos insectos la misma sustancia que forma la estructura de las plantas, llamándola "quitina" (del griego *tunic*, envoltura) (Velásquez, -2003).

Payen, en 1843, inició una controversia que duró más de cien años sobre las diferencias entre la quitina y la celulosa; en parte porque se pensaba que la presencia de nitrógeno reportada en algunas investigaciones se debía a residuos de proteínas que no podían ser completamente eliminados de las muestras. (Hattis, 1976).

El nombre sistemático de la quitina es β -(1-4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa. Se encuentra principalmente en las conchas de crustáceos y formando parte del exoesqueleto de los insectos (Roberts, 1992), así como también en las paredes

celulares de muchos hongos, levaduras y algas. Su estructura química es la siguiente (Figura 1).

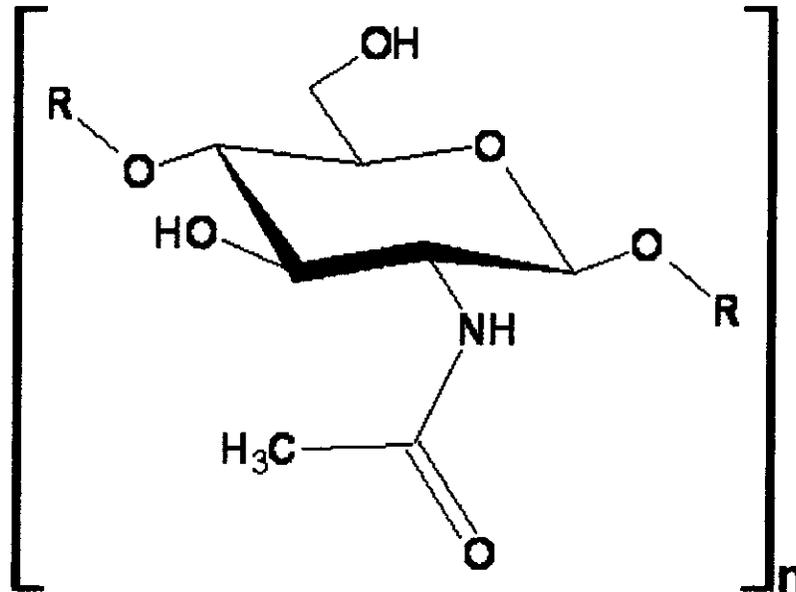


Figura 1. Unidad polimérica de la quitina.

Por su parte, el quitosán es también un polisacárido que se encuentra en estado natural en las paredes celulares de algunos hongos; sin embargo, su principal fuente de producción es la hidrólisis de la quitina en medio alcalino, usualmente con hidróxido de sodio o de potasio, a altas temperaturas (Cervantes et al., 2001; Lee et al., 1997).

El quitosán fue descubierto por Rouget en 1859, quien encontró que al tratar quitina con una solución caliente de hidróxido de potasio se obtenía un producto soluble en ácidos orgánicos; esta "*quitina modificada*", como él la llamó, se tomaba de color violeta en soluciones diluidas de yoduro y ácido, mientras la

quitina era verde. Mas tarde, en 1894, fue estudiada por Hoppe-Seyler, quién la denominó "**quiosano**" (Auzely y Rainudo, 2001).

En la **Figura 2** se aprecia los pasos elementales de la obtención del quitosano (Konovalova et al., 2001):

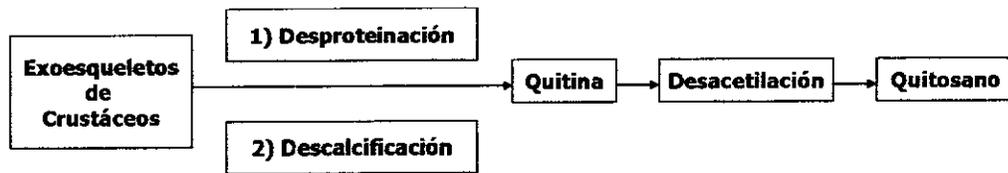


Figura 2. Esquema elemental de la producción del quitosano.

La desacetilación completa de la quitina produce un material totalmente soluble en medio ácido. Sin embargo, cuando la deacetilación del material de partida es incompleta se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades $\beta(1-4)$ - 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y $\beta(1-4)$ -2-amino-2-desoxi-D-glucosa, cuya relación depende de las condiciones de reacción y que, obviamente, genera "**quitosán**" con distintas propiedades. La diferencia en las propiedades de estos materiales puede llegar a ser notable, como por ejemplo la distinta solubilidad en medio acuoso que pueden llegar a tener. La estructura química del quitosán se muestra en la **Figura 3** (Tabeada et al., 2002).

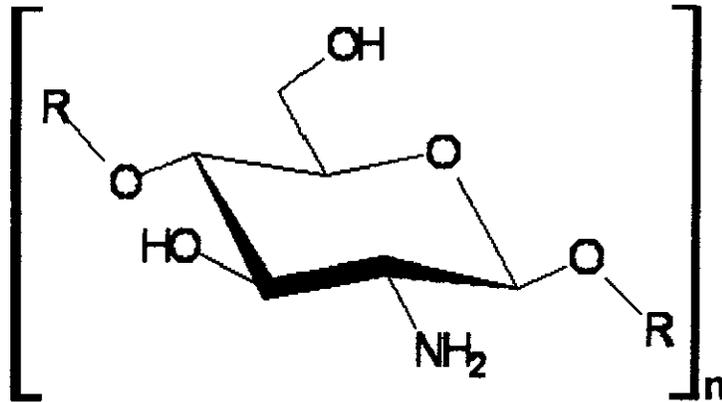


Figura 3. Unidad polimérica del quitosano.

La presencia de grupos aminos en la cadena polimérica ha hecho del quitosano uno de los materiales más versátiles que se han estudiado por la posibilidad de realizar una amplia variedad de modificaciones, tales como las reacciones de atrapar enzimas (Lee et al., 1997).

A continuación se presenta una clasificación por área sobre las aplicaciones que se le ha dado al quitosano (Tabla 1):

Tabla 1. Principales aplicaciones de quitosano.

CAMPOS DE APLICACIÓN	APLICACIONES RECONOCIDAS
Química analítica	Cromatografía: Adsorción de iones de metales pesados. (Tabeada <i>et al.</i> , 2002).
Biomedicina	<ul style="list-style-type: none"> -Membrana de hemodiálisis (Peter y Hoagland, 1996). -Suturas biodegradables (Peter y Hoagland., 1996). -Agente cicatrizante en quemaduras (Peter y Hoagland., 1996). -Liberadores sistemáticos de fármacos (Peter y Hoagland .,1996) -Inhibición y crecimiento de células cancerosas (Benavides., 2000).

	-Disminuye los niveles de colesterol y los triglicéridos (Benavides., 2000).
Agricultura y ganadería	-Recubrimiento de semillas (Sabina et al., 2001). -Sistemas liberadores controlados de fertilizante (Sabina et al., 2001).
Industria de papel y otras aplicaciones	-Fabricación de papel para fotografía (Knorr., 1991). -Fabricación de pinturas biodegradables(Knorr., 1991).
Tratamiento de agua	-Agente floculante (Konovalova et al., 2001) -Agente coagulante. -Tratamientos de flotación para la remoción de aceites. - Remoción de metales (Leung et al., 2000).

En las aplicaciones descritas en la Tabla 1, la interacción entre el adsorbato-adsorbente juega un rol importante en el éxito del proceso de adsorción, para evaluar el desarrollo y la efectividad de esta interacción se utilizan modelos teóricos de isothermas de adsorción (Benaissa y Benguella., 2002).

2.5. MODELOS TEÓRICOS DE ISOTERMAS DE ADSORCIÓN.

Las isothermas de *Langmuir* (1915) y *Freunlich* (1939) son los dos modelos teóricos más extensamente utilizados para la describir la adsorción de un único componente. Ambos modelos son validos solamente bajo unas condiciones y sus resultados no pueden ser extrapolados cuando se varían las condiciones del medio (Davis et al., 2003).

2.5.1 Isotherma de Langmuir. El modelo de Langmuir fue originariamente desarrollado para representar la adsorción gas sólido con carbón activo. En este modelo la atracción entre los iones de metal y la superficie del material sorbente se basa principalmente en fuerza físicas (fuerzas electrostáticas o de *Van der Waals*) y no se tienen en cuenta las agrupaciones moleculares ni las variaciones de energía de la interacción con el material. Para aplicar la isoterma de adsorción de *Langmuir* hay que tener en cuenta las siguientes hipótesis (Fiol et al., 2003):

- La superficie de adsorción es uniforme
- La adsorción de soluto por el sorbente se produce sobre una monocapa.
- La energía de adsorción es constante y la afinidad de cada lugar de interacción por las moléculas de soluto es la misma.
- Las moléculas de soluto adsorbidas están localizadas, y por tanto, no se mueven sobre la superficie.

La ecuación de *Langmuir* se define de la siguiente forma (Ecuación 1):

$$\frac{x}{m} = \frac{abC_e}{1 + bC_e} \quad \text{Ec 1}$$

Donde x/m es la cantidad adsorbida por peso unitario de adsorbente, C_e es la concentración en equilibrio de adsorbato en solución después de la adsorción, a y b son constante empíricas. Las constantes se pueden determinar graficando

$C/(x/m)$ frente a C empleando la Ecuación 2, expresada de la siguiente forma (ecuación 2) (Esposito et al., 2002):

$$\frac{C_e}{x/m} = \frac{1}{ab} + \frac{1}{a}C_e \quad \text{Ec 2}$$

Una representación gráfica de la isoterma de adsorción de *Langmuir* es la que se muestra a continuación (Figura 4):

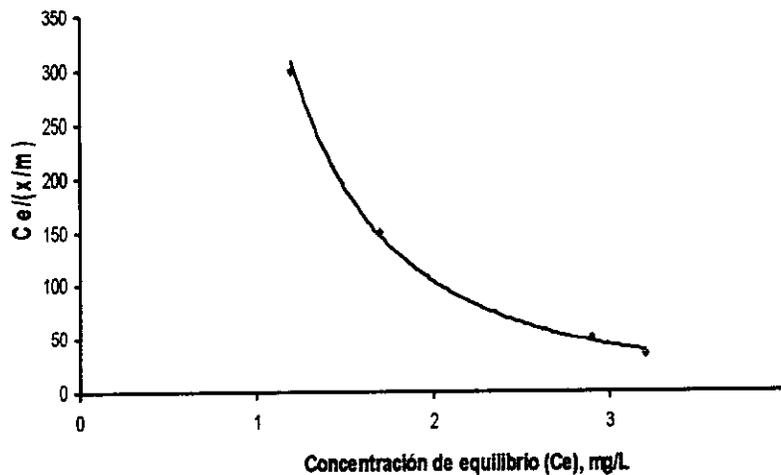


Figura 4. Isoterma de *Langmuir*

2.5.2 Isoterma de *Freundlich*. La isoterma de *Freundlich* tiene un origen empírico e igual que la isoterma de *Langmuir* la adsorción es función de la concentración de equilibrio, sin tener en cuenta la presencia de otros iones en disolución o variaciones de pH.

El modelo de *Freundlich* supone que la superficie del adsorbente es heterogénea y que las posiciones de adsorción tienen distintas afinidades, en primer lugar se

ocupan las posiciones de mayor afinidad y posteriormente se van ocupando el resto (Davis et al., 2003). Para aplicar la isoterma de *Freundlich* hay que tener en cuenta las siguientes hipótesis (Fiol et al., 2003):

- No hay asociación de moléculas después de ser adsorbidas en la superficie del material.
- No hay quimiosorción.

Por lo tanto, la isoterma de *Freundlich* será válida cuando la adsorción sea solamente un proceso físico y no haya un cambio en la configuración de las moléculas cuando han sido adsorbidas (Metcalf y Hedi., 1998).

La ecuación empírica de *Freundlich* se define como (Ecuación 3):

$$\frac{x}{m} = K_f C_e^{1/n} \quad \text{Ec 3}$$

donde x/m es la cantidad adsorbida por peso unitario de absorbente, C_e es la concentración de equilibrio del adsorbato en solución después de la adsorción, K_f y n son constantes empíricas que se determinan representando gráficamente la relación entre (x/m) y C y empleando la Ecuación 4 (Daughney et al., 1998) la cual queda reescrita de la siguiente forma:

$$\log \frac{x}{m} = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e \quad \text{Ec 4}$$

La Figura 5 representa esta ecuación.

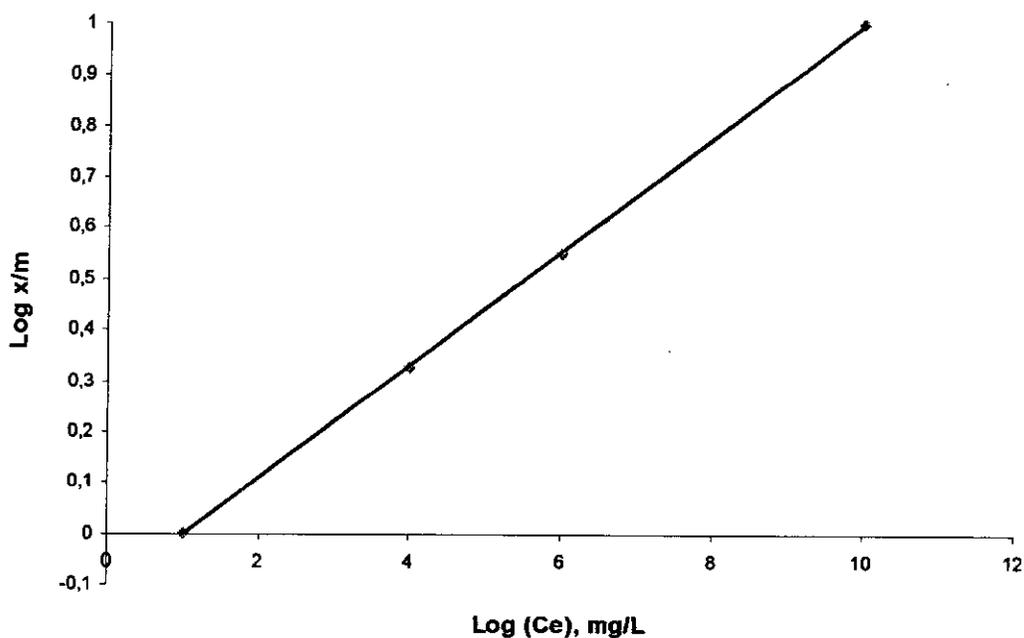


Figura 5. Isoterma de Freundlich.

2.6. PARÁMETROS QUE INFLUYEN EN EL PROCESO DE ADSORCIÓN.

La eliminación de sustancias mediante procesos de extracción sobre sólidos adsorbentes requiere un conocimiento previo de las condiciones más favorables en que se produce este fenómeno (Rowseil et al., 2009). En todos los casos, los procesos de adsorción dependen de la naturaleza de la sustancia a extraer (adsorbato/sorbato), de la estructura y características del sólido adsorbente y de

las condiciones experimentales como el pH, la concentración de metal, la competencia con otros iones y del tamaño de partícula (Khamis et al, 2009).

Para conocer si un material determinado puede ser usado como extractor de metales es necesario conocer las condiciones óptimas para conseguir la máxima extracción, por tanto se deben estudiar los principales parámetros que afectan a la adsorción en el sistema adsorbato-adsorbente (Zeng et al., 2008). Los principales parámetros de este estudio son los siguientes:

Tiempo de equilibrio. El tiempo de equilibrio es el instante a partir del cual se satura el adsorbente y por más que se mantenga en contacto el metal y el material sorbente no aumentará la cantidad de metal extraída. Algunos estudios han observado que el mecanismo de extracción de metal es un proceso que se desarrolla en cuatro pasos (Horsfall et al., 2003):

- (i) migración de los iones de metal desde la solución a la superficie del sorbente;
- (ii) difusión a través la capa superficial de la biomasa;
- (iii) fijación en el grupo activo;
- (iv) difusión intra-partícula hacia el interior de la biomasa.

Por lo tanto, para cada sistema metal-adsorbente se establecen unos equilibrios específicos y el tiempo de adsorción dependerá fundamentalmente de la naturaleza de esta relación (Wu et al., 2009). Para altas concentraciones

de metal la difusión intra-partícula es el mecanismo predominante, en cambio para bajas concentraciones el mecanismo principal de la adsorción es fijación superficial (Niu et al., 2003).

Efecto del pH. Los metales en disolución acuosa se encuentran en forma de diferentes especies químicas en función del pH de la disolución, de aquí la fuerte dependencia que existirá entre el pH de la disolución y la posibilidad de extracción del metal, ya que según la especie química los mecanismos de adsorción varían (Gao et al., 2009). También hay que considerar que para valores bajos de pH la concentración de protones es elevada y éstos pueden competir con los iones de metal por unirse al material (Villaescusa et al., 2004).

En la mayoría de los estudios de extracción de metales con biosorbentes se ha observado que las interacciones entre las especies metálicas y el material no son de una única naturaleza, sino que coexisten diferentes mecanismos de adsorción como el intercambio iónico, la complejación, la adsorción superficial y la quimisorción (Fiol et al., 2003). Todos estos procesos se realizan a través de diferentes grupos funcionales que se encuentran en la superficie del material, principalmente grupos polares como ácidos carboxílicos, alcoholes, aldehídos, cetonas, etc., según el tipo de material adsorbente. Por tanto, una variación de pH puede provocar modificaciones en estos grupos y alterar su capacidad de interacción con las especies metálicas (Kratochvil y Volesky., 1998).

Efecto del medio iónico. El medio en que se encuentra la disolución metálica es un factor importante que debe considerarse cuando se quiere eliminar metales de los efluentes industriales, porque la presencia de otras especies orgánicas e inorgánicas en la disolución puede interferir en la extracción del metal. Las sales son residuos que suelen generarse habitualmente junto con los metales, y una de las sales que se encuentra más comúnmente es el NaCl (Yun et al., 2001).

La presencia de sodio en la disolución de metal puede provocar variaciones en el proceso de extracción. Este efecto ha sido estudiado por (Low et al., 2000) y en todos los casos se ha observado que la presencia de Na⁺ en las disoluciones de metal provoca una disminución de la extracción a causa de la competencia del sodio y del metal por interaccionar con los huecos activos del material adsorbente (Villaescusa et al., 2004).

Los iones cloruro afectan a los metales presentes en la disolución, ya que muchos metales forman cloro-complejos, especies neutras o con carga con características físicas y químicas diferentes que hacen variar las condiciones de disponibilidad del metal para ser sorbido por el material.

Efecto de la concentración inicial del metal. Para conocer la efectividad de un material adsorbente hay que conocer cual es la cantidad máxima de metal (la capacidad máxima) que puede extraer (Patlolla et al., 2009). Los materiales establecen diferentes equilibrios de extracción cuando se ponen en contacto con concentraciones distintas de metal. Estos equilibrios dependen en todos los casos

de las condiciones experimentales y son diferentes para cada temperatura, son equilibrios isotérmicos (Helfferich, 1995).

Idealmente los modelos teóricos que se utilizan para describir los resultados experimentales deben ser capaces de predecir los procesos de adsorción a bajas y altas concentraciones, además de permitir una interpretación física del mecanismo de adsorción (Davis y Volesky., 2003).

Influencia de otros metales en la disolución. La presencia de otros iones metálicos en la disolución puede provocar un efecto sobre la extracción del metal debido a la competitividad que se establece entre los iones por unirse al adsorbente (Ciardullo et al., 2008). Actualmente no se sabe con certeza porque unos metales tienen mayor afinidad por material que otros. Algunas propiedades químicas de los iones, como el radio iónico, la carga eléctrica y potencial iónico, han sido señaladas como factores que influyen en la selectividad del material por unos o otros iones (Malla et al., 2002). No obstante la superficie irregular y heterogénea de la mayoría de biosorbentes dificulta la comprensión y modelización de estos mecanismos (Palma et al., 2003).

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la capacidad de adsorción del quitosano extraído del caparazón de camarón (*Litopenaus vanamei*) para remover cromo (III) proveniente de las aguas residuales de la industria de curtiembres.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diseñar una metodología para extraer y purificar quitosano del caparazón de camarón (*Litopenaus vanamei*).
- Caracterizar el quitosano obtenido por análisis de espectroscopia infrarroja y viscosidad capilar.
- Determinar las condiciones óptimas (pH, tiempo de contacto) para el proceso de adsorción de Cr(III) de una muestra de Cromosal B-A por quitosano.
- Evaluar el comportamiento cinético del proceso de adsorción de cromo (III) de una muestra de cromosal B-A sobre el quitosano a través del estudio y análisis de isotermas de adsorción.
- Comparar los procesos de adsorción de una muestra de cromosal B-A con una muestra de agua residual de una industria de curtiembres.

4. PARTE EXPERIMENTAL

En este proyecto fue evaluada la capacidad del quitosano, obtenido a partir del exoesqueleto del camarón, para adsorber cromo. El quitosano fue caracterizado por espectroscopía IR y viscosidad capilar, y su capacidad de adsorción examinada optimizando condiciones de pH, concentración de cromo y tiempo de adsorción. La metodología empleada en cada proceso es descrita a continuación.

4.1. MATERIALES Y REACTIVOS.

Una muestra de 10 kg de conchas de camarón de cultivo (*Litopenaus vanamei*), fue obtenida de la planta procesadora de camarones OCEANOS S.A, ubicada en el sector industrial de Mamonal, en la ciudad de Cartagena (Bolívar, Colombia). Los exoesqueletos fueron llevados al Laboratorio de Investigaciones Agroquímicas de la Universidad de Cartagena, donde fueron lavados, secados y molidos.

Una muestra de quitosano grado comercial fue empleada para calibrar el equipo infrarrojo. Las características de la misma son mostradas en la Tabla 2.

Tabla 2. Especificaciones de quitosano grado reactivo.

Quitosano (Sigma-Aldrich)	
Nombre del producto	Quitosano
Producto número	C3646
Número CAS	9012-76-4
ESPECIFICACIONES	
Análisis	Lote 117K3526
Apariencia (color)	Blanco
Apariencia (forma)	Polvo
Grado de desacetilación	82%

Los reactivos utilizados: H_2SO_4 , HCl, HNO_3 , NaOH, CH_3COOH , NaCl, KBr, éter de petróleo, $CH_3(CO)CH_3$ fueron de grado analítico. La solución patrón de $Cr_2(SO_4)_3$ empleada en los ensayos fue preparada a partir del compuesto Cromosal BA suministrado por la industria de curtiembres *Mateucci* (Albornoz Cr 56 2A-31, Cartagena, Colombia). Este es el compuesto usado por la empresa curtidora en su proceso, y las características generales del mismo son mostradas en la Tabla 3. El rango de concentraciones empleado en los diferentes ensayos osciló entre 240 y 260 ppm.

Tabla 3. Especificaciones de reactivo Cromosal B-A

Cromosal B-A	
Nombre del producto	Cromosal B-A
DATOS ANALÍTICOS	
Apariencia (color)	Verde claro
Apariencia (forma)	Polvo
Contenido de óxido cromo	aprox. 25,2 - 26,2 %
Basicidad teórica:	aprox. 33 % Schortemmer

El agua de desecho de la industria de curtiembres fue obtenida en la salida del proceso de curtición sin ningún tratamiento, excepto una filtración a través de un papel filtro de poro 0.45 μm . El contenido de Cr(III) fue determinado por espectroscopia de absorción atómica (AAF).

3.2. Equipos e instrumentos. La determinación del contenido de cromo (III) en la solución fue determinada empleando un espectrómetro de absorción atómica de llama (AAF) modelo 969 (Unicam) a una longitud de onda de 357.9 nm y 15 mA, usando una llama de aire-acetileno, el flujo de la llama fue ajustado hasta obtener una llama oxidante. Las curvas de calibración se obtuvieron en un rango 0.2–5.0 mg L⁻¹ in 0.5% v/v de ácido clorhídrico. El límite de cuantificación fue calculado de la ecuación $LOQ = 10(S_{BL}/b)$; donde S_{BL} fue la desviación estándar de 10 soluciones patrón y b fue la pendiente de la curva de calibración (Monteiro et al., 2002).

El grado de desacetilación del quitosano fue determinado utilizando un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FT- IR 84005). La viscosidad capilar fue determinada por un viscosímetro Ubbelohde (Wang et al., 1991).

4.3. PROCEDIMIENTOS.

4.3.1. Obtención de quitina y quitosano. Los exoesqueletos de camarón, molidos y tamizados, fueron sometidos a un proceso de despigmentación química (Cárdenas et al., 2002) con una mezcla de solventes: éter de petróleo, agua y acetona en proporción 15/10/75 en un matraz provisto de agitación magnética, por dos horas a temperatura ambiente (Parada et al., 2004). Posteriormente, se filtró el producto en un embudo Buchner, se secó en una estufa eléctrica a 50°C durante 6 horas. El producto obtenido en la fase anterior se sometió a una descalcificación mediante tratamiento con ácido clorhídrico 1 M durante tres horas

a temperatura ambiente, en un matraz con agitación constante. La relación masa de exoesqueleto molido/volumen de disolución ácida fue 1/10. Finalmente, se procedió a filtrar en un embudo Buchner, haciendo lavados con agua destilada hasta alcanzar la neutralidad del medio. El tratamiento siguiente fue la desproteínización química (Parada et al., 2004), la cual se llevó a cabo en un matraz equipado con condensador de reflujo, mediante el empleo de hidróxido de sodio al 4,5%, con una relación masa/volumen de disolución básica de 1/15. El proceso se realizó durante 3 horas, a 65°C y con agitación constante. El producto obtenido se purificó filtrando en un embudo Buchner y realizando lavados con agua destilada caliente hasta lograr la eliminación del exceso de base.

Obtención de quitosan. Este es un proceso de modificación química de la quitina, en el cual las unidades acetilo son eliminadas, para ello se agregaron 10 g de la quitina obtenida en un matraz de 250 mL de capacidad, provisto de un refrigerante para reflujo. Una solución de hidróxido de sodio al 50% (100 mL) fue adicionada a una temperatura de 95°C. El sistema se mantuvo en reflujo, con agitación en una atmósfera de aire, durante 3 horas. El producto se purificó por filtrado en un embudo Buchner, realizando lavados con agua destilada, hasta lograr eliminar la alcalinidad del medio (Taboada et al., 2003).

Al quitosan se le hicieron, por triplicado, los siguientes análisis:

Humedad: Secado en estufa a 105 °C por 4 horas (A.O.A.C. 1990)

Cenizas: Secado en estufa y calcinación en mufla a 550°C por 3 horas (A.O.A.C., 1990)

4.3.2. Purificación del quitosano. El quitosano obtenido fue purificado de acuerdo con el siguiente procedimiento. 18 gramos se diluyeron en ácido acético diluido y la solución centrifugada. El sobrenadante fue basificado con NaOH hasta pH 12.5, para terminar con un proceso de neutralización hasta pH 6.5 y una centrifugación para separar las sustancias suspendidas (Weska et al., 2006).

3.3.3. Caracterización de quitosano

3.3.3.1. Determinación del grado de desacetilación por el método potenciométrico. Este análisis fue realizado por el método de titulación potenciométrico (Tolaimate *et al.*, 2000). El quitosano fue disuelto en un exceso conocido de ácido clorhídrico. Esta solución se tituló con una solución 0.1 M de hidróxido de sodio, una curva con dos puntos de inflexión fue obtenida, cuyos valores se determinaron según el criterio de la primera derivada (Parada *et al.*, 2004). La diferencia entre los volúmenes de cada punto de inflexión, corresponde a la cantidad de ácido consumida para la neutralización de los grupos amino y así determinar el grado de desacetilación del quitosano, a través de la Ecuación 5:

$$\%NH_2 = 16.1(V_2 - V_1) \times M_b / W \quad (\text{Ecuación 5});$$

Donde (V_1) y (V_2) son los volúmenes de la base referidos al primero y segundo punto de inflexión, respectivamente, en mL, (M_b) es la molaridad de la base en g/mol, y (W) es el peso del polímero en g.

Los resultados de porcentaje de desacetilación del patrón de quitosano se determinaron por el método potenciométrico, luego se compararon, por medio del análisis estadístico One-Sample T, con el valor reportado por los laboratorios de Sigma-Aldrich en los Estados Unidos para la muestra patrón.

Cuatro patrones de quitosano, obtenidos en el laboratorio, con grado de desacetilación de 82%, 86,24%, 89.67%, y 93.1% se utilizaron para realizar la curva de calibración del espectrofotómetro infrarrojo (Dong et al., 2002).

4.3.3.2. Determinación del grado de desacetilación por espectroscopía infrarroja. Las muestras de quitosano fueron preparadas en forma de pastillas con bromuro de potasio (KBr): aproximadamente 40-60 mg de quitosano en polvo y 120 mg de KBr fueron mezclados y triturados en un mortero por 10 min. A 40 mg de esta mezcla se le realizó un proceso de compactación usando un pistón hidráulico con una presión de 8 toneladas por 60 segundos. La pastilla fue dispuesta en un horno a 80°C por 16 horas antes de realizar el análisis en el laboratorio de Ciencias Químicas de la Universidad de Cartagena. (Sabnis y Block, 1997; Tanveer y Hung., 2002). Se utilizó un espectrofotómetro FTIR-84005.

El uso del infrarrojo requirió la construcción de una curva de calibración usando la relación de la absorbancia de una banda exploratoria (BE), que varía su intensidad de acuerdo con el grado de desacetilación, con una banda de referencia (BR) que no cambia su intensidad *versus* los valores del grado de desacetilación de los

patrones analizados por el método potenciométrico (Khan et al., 2002; Osman y Arof., 2003).

Las relaciones de bandas analizadas en este trabajo corresponden a los mejores radios de absorbancia (A_{BE}/A_{BR}) para el quitosano encontrados por Duarte et al, 2002; las cuales corresponden a: A_{1626}/A_{2877} ; $A_{1663} + A_{1626}/A_{2877}$; A_{1561}/A_{1074} ; A_{1561}/A_{1025} ; $1550/2870$.

La evaluación estadística de todas las bandas calculadas se realizó por un modelo de regresión lineal simple. El criterio aplicado para encontrar la mejor relación de las bandas para desarrollar una ecuación que determine el grado de desacetilación del quitosano analizado por el espectrofotómetro IR fue el coeficiente de determinación R^2 .

4.3.3.3. Determinación del peso molecular por viscosidad capilar. Las muestras de quitosano fueron disueltas en un solvente constituido por ácido acético (0.1 M), y cloruro de sodio (0.2 M). La viscosidad de las muestras fue medida en un viscosímetro capilar tipo *Ubbelohde* (25 mL) en cinco concentraciones diferentes (0.001029 hasta 0.000596 g/mL), a una temperatura de 25 °C (Parada et al., 2004).

El viscosímetro fue llenado con 25 mL de muestra, la cual paso a través del capilar dos veces antes de medir el tiempo de flujo de las soluciones. Cada muestra fue medida tres veces. Con el tiempo obtenido de flujo de las soluciones, del solvente

sin quitosano a través del capilar y la constante nominal del equipo se calcula la viscosidad cinemática del quitosano a diferentes concentraciones (Chen et al., 1998). La relación entre la viscosidad dinámica y cinemática se muestra en la Ecuación 6.

$$v = \frac{\eta}{d} \quad \text{Ec 6}$$

Donde (v) es la viscosidad cinemática en stokes, (η) es la viscosidad dinámica en poise, y (d) es la densidad en g/mL. Los ensayos se realizaron por triplicado; las viscosidades de las soluciones y el solvente fueron usados para calcular la viscosidad específica (η_{sp}), usando la Ecuación 7:

$$\eta_{sp} = (\eta_{\text{solution}} - \eta_{\text{solvent}}) / \eta_{\text{solvent}} \quad \text{Ec 7}$$

La ecuación de *Huggins* (Ecuación 8) fue usada para estimación de la viscosidad intrínseca.

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k[\eta]^2 c \quad \text{Ec 8}$$

Donde (η_{sp}/c) es la viscosidad reducida en mL/g, (c) es la concentración de la solución en g/mL, (k) es una constante validada para cada polímero en g/mL y $[\eta]$ es la viscosidad intrínseca en mL/g.

Una gráfica (η_{sp}/c) con relación a la concentración de la solución (c) proporciona la viscosidad intrínseca de la solución por extrapolación de la línea recta obtenida por regresión lineal para una $c = 0$, como fue presentado por (Alsarra et al., 2002)

El promedio del peso molecular viscosimétrico del quitosano (M_v) fue determinado por la ecuación empírica de *Mark-Houwink-Sakurada*, reportada por (Roberts, 1982) que relaciona la viscosidad intrínseca con el peso molecular de un polímero por medio de la Ecuación 9 (Wang y Bo., 1991).

$$n = KM^a \quad \text{Ec 9}$$

Donde (K) en mL/g, y (α) son constantes adimensionales que dependen de el sistema polímero-solvente. Para el quitosano a 25 C corresponde a $K= 1.81 \times 10^{-3}$ y $\alpha= 0.93$ (Parada et al., 2004).

4.3.4. Análisis de cromo

Todas las muestras analizadas en este trabajo por AAF se sometieron a un proceso de digestión con el fin de destruir la materia orgánica e eliminar interferencias que podrían afectar la medida de la concentración del Cr (III) por AAF. Para esto se siguió el siguiente procedimiento (Monteiro et al., 2002): 25 mL de la muestra fue mezclada con 5 mL de una mezcla de H_2SO_4 concentrado y HNO_3 concentrado (1:1). La solución fue calentada a 120 °C hasta que un vapor café de SO_3 apareció. Alícuotas de 5 mL de HNO_3 concentrado fueron adicionadas y calentadas hasta que la solución estuvo clara y no se observó gases café. La solución fue calentada hasta sequedad y 15 mL de 0.5% v/v HNO_3 fue adicionado y calentado para disolver las sales solubles. Después del calentamiento, la solución fue transferida a un balón aforado de 50 mL completado con 0.5% v/v HNO_3 (Monteiro et al., 2002). Las curvas de calibración fueron preparadas en un

rango 0.20–5.0 mg L⁻¹ in 0.5% v/v de ácido clorhídrico y analizadas por AAF a una longitud de onda de 357.9 nm y 15 mA, usando una llama de aire-acetileno, el flujo de la llama fue ajustado hasta obtener una llama oxidante.

4.3.4.2. Efecto del pH en el proceso de adsorción de cromo (III). La bioadsorción de Cr(III) se estudió por medio de experimentos, por triplicado, en discontinuo. El efecto del pH fue determinado de la siguiente manera: 0.2 g de quitosano fueron mezclados con 50 mL de una solución 250 mg L⁻¹ de Cr(III), a pH 2, 3, 4 y 5 respectivamente. Las soluciones fueron agitadas hasta alcanzar su estado de equilibrio, en un beaker, por 45 minutos. Después del tiempo de equilibrio las mezclas fueron filtradas y la concentración de cromo final fue determinada por AAF

4.3.4.2.1. Comparación de la influencia del pH utilizando una solución Buffer de acetato de sodio. 0.2 g de quitosano fueron mezclados con 50 mL de una solución 250 mg.L⁻¹ de Cr (III) preparada en una solución buffer de acetato de sodio a pH de 4.0. Las soluciones fueron agitadas hasta alcanzar su estado de equilibrio, en un beaker, por 40 minutos. Después del tiempo de equilibrio las mezclas fueron filtradas y la concentración de cromo final fue determinada por AAF. Este ensayo se realizó por triplicado.

4.3.4.3. Análisis de la cinética de adsorción. La rata de adsorción de cromo por quitosano se estudio, por triplicado, de la siguiente manera: Aproximadamente

0.2 g de quitosano fueron mezclados con 50 mL de solución de Cr(III) con una concentración de 250 mg L^{-1} , se ajustó al mejor pH de adsorción encontrado en el punto 3.3.4.2. Las mezclas fueron agitadas a 150 rpm. En intervalos de tiempo de 10 min., fue analizada cada muestra después de un proceso de filtración por AAF.

4.3.4.4. Isotermas de adsorción y efecto de la concentración de cromo (III).

Las isotermas de adsorción fueron determinadas en beakers de 100 mL.; la cantidad de cromo adsorbida (q_{eq}) como función de la concentración del metal fue determinada, por triplicado, de la siguiente manera: 0.2 g de quitosano fueron mezclados con 50 mL de una solución de Cr(III) con un rango de concentraciones de $20\text{--}400 \text{ mg L}^{-1}$, se ajustó al pH donde se observó el mayor porcentaje de adsorción. Cada mezcla fue agitada por 40 minutos. El resultado de la mezcla fue filtrado y la concentración de iones Cr(III) (C_{eq}) del sobrenadante en equilibrio se determinó por AAF.

4.3.4.5. Cálculos del porcentaje adsorbido de cromo (III). La cantidad de Cr(III) adsorbida fue calculada como la diferencia entre la cantidad presente en la solución inicial y la cantidad obtenida en la solución final después del tiempo de equilibrio con el quitosano, usando la Ecuación 10:

$$q_{eq} = \frac{(C_o - C_{eq})V}{M} \quad \text{Ec 10}$$

Donde q_{eq} ($mg\ g^{-1}$) es la cantidad del metal adsorbida, C_0 y C_{eq} son la concentración del metal en la solución al inicio y al final del proceso de adsorción, respectivamente, V (en litros) es el volumen de solución y M (g) es la masa de quitosano utilizada. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. Obtención y caracterización de quitosano. El quitosano obtenido a partir de las conchas de camarón (*Litopenaus vanamei*) presentó un porcentaje de humedad de 5,96 +/- 0.2% y un porcentaje de cenizas de 0.49+/- 0.03%.

5.1.1. Caracterización del quitosán obtenido. El quitosán genardo a partir del camarón fue caracterizado por análisis de IR. Las bandas características correspondientes a los espectros infrarrojo del quitosano patrón (*Sigma Chemical*) y del quitosano obtenido (Figura 6) después de 180 minutos de desacetilación son presentados en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Números de onda de onda características de absorción del quitosano por FT-IR.

NUMERO DE ONDA (cm ⁻¹)	GRUPO FUNCIONAL
3445	tensión del grupo-OH
3306	tensión del grupo N-H
2922 y 2872	tensión del grupo C-H
1652	Amida I
1550	doblaje del grupo -NH ₂
1313	Amida III
1152	tensión antisimétrica del puente C-O-C
1077 y 1032	Vibraciones del esqueleto propias de su estructura piranósica.

Las anteriores bandas son las vibraciones del esqueleto propias de su estructura piranósica (Silverstein *et al.*, 1991; Brugnerotto *et al.*, 2001).

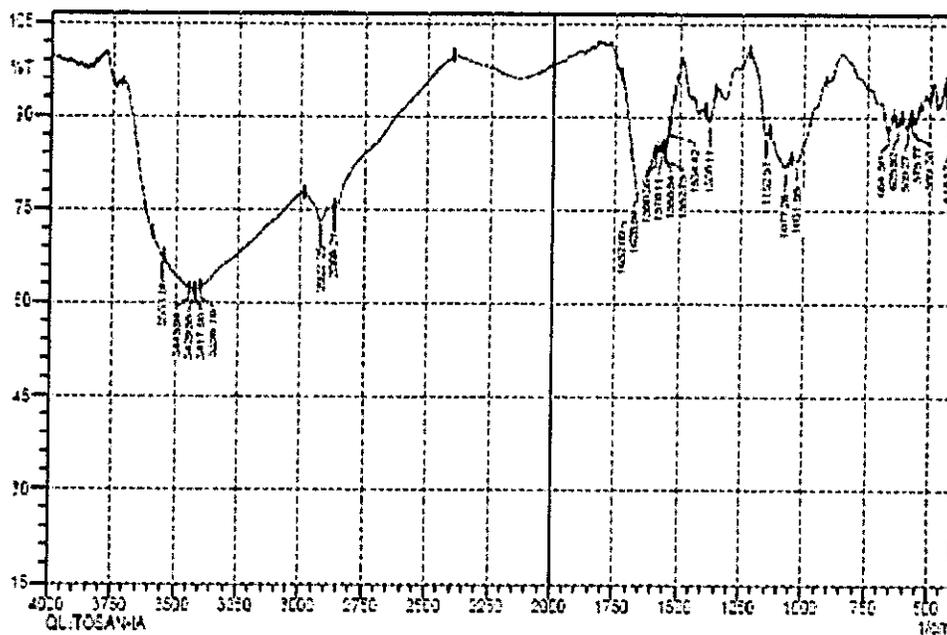


Figura. 6. Espectro infrarrojo del quitosano obtenido en el laboratorio

Determinación de la ecuación para encontrar el grado de desacetilación por el método del IR. Usando el modelo de regresión simple se construyeron las curvas de calibración A_{BE}/A_{BR} versus el grado de desacetilación de los patrones, se identificó el valor de R^2 más cercano a uno (1.0) (Tabla 5). En este caso corresponde a la relación de bandas A_{1550}/A_{2877} la cual se utilizó para seleccionar la ecuación.

Tabla.5. Coeficientes de determinación R^2 para los relación A_{BE}/A_{BR} .

A_{BE}/A_{BR}	R^2
A1626/A2877	0.97
A1663 + A1626/A2877	0.95
A1561/A1074	0.96
A1561/A1025	0.95
A1550/A2877	0.99

De acuerdo con la tabla anterior, la mejor relación de absorbancias se observó a A_{1550}/A_{2877} , siendo la función correspondiente presentada por la siguiente ecuación:

$$y = 100 - (A_{1550}/A_{2877}) \times 17.12 - 1.30.$$

El grado de desacetilación del quitosano obtenido a 3 horas de hidrólisis básica, analizado por infrarrojo correspondió a 79.3 % +/- 0.5, el cual se encuentra entre los parámetros exigidos para el quitosano comercial (Cárdenas et al., 2002)

5.1.2. Grado de desacetilación por el método potenciométrico. Aplicando el análisis One-Sample T, se concluyó con un 95% de confianza que no existen diferencias significativas entre las medias de los valores obtenidos del grado de desacetilación ($P \geq 0.05$) entre el valor reportado (Sigma-Aldrich) y el obtenido por el método potenciométrico.

El porcentaje de desacetilación por este método arrojó un resultado de 79.37 ± 0.5 % para el quitosano obtenido en el laboratorio (Figura 7). Los valores de los puntos de inflexión se determinaron según el criterio de la primera derivada. Al comparar los análisis del quitosano realizados a las muestras patrón por IR con los del método potenciométrico analizados por medio de Two-Sample *t*-Test concluimos que no hay diferencias significativas entre las medias de los datos obtenidos por IR y el método potenciométrico ($P \geq 0.05$), lo cual nos lleva a concluir que la muestra de quitosano obtenido en el laboratorio presenta una alta pureza y una baja concentración de aminoácidos que pudieran interferir en el proceso de adsorción del cromo (III) (Tanveer y Hung., 2002).

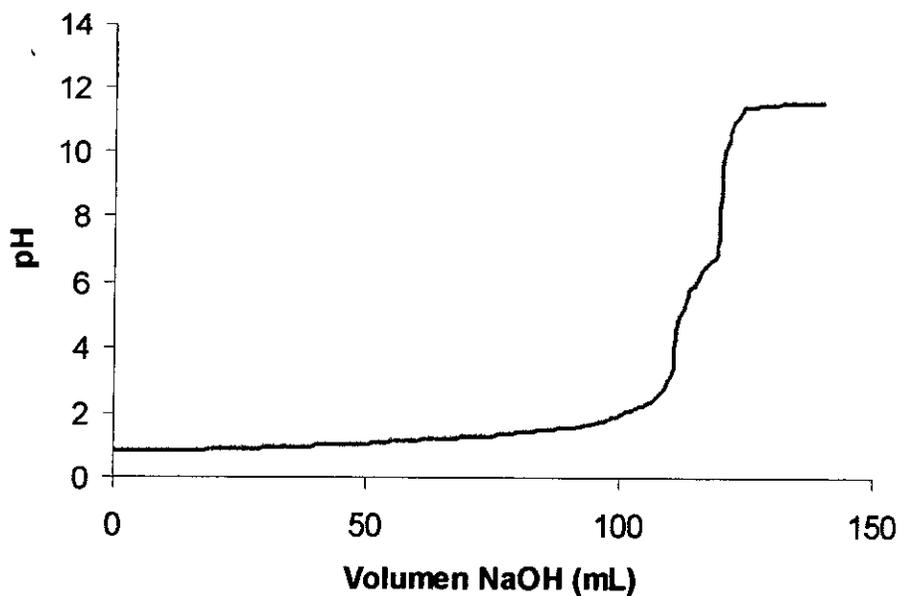


Figura 7. Curva de titulación ácido-base para el quitosano

5.1.3. Peso molecular por viscosimetría capilar.

La representación de *Huggins* para datos de viscosidad a 25°C de soluciones de quitosano en soluciones de ácido acético 0.1 M y cloruro de sodio 0.2 M como disolvente se muestra en la **figura 8**. Para las regresiones lineales los coeficientes de determinación fueron superiores a 0.97. El valor del intercepto corresponde a la viscosidad intrínseca (Alsarra *et al.*, 2002; Wang, 1991)

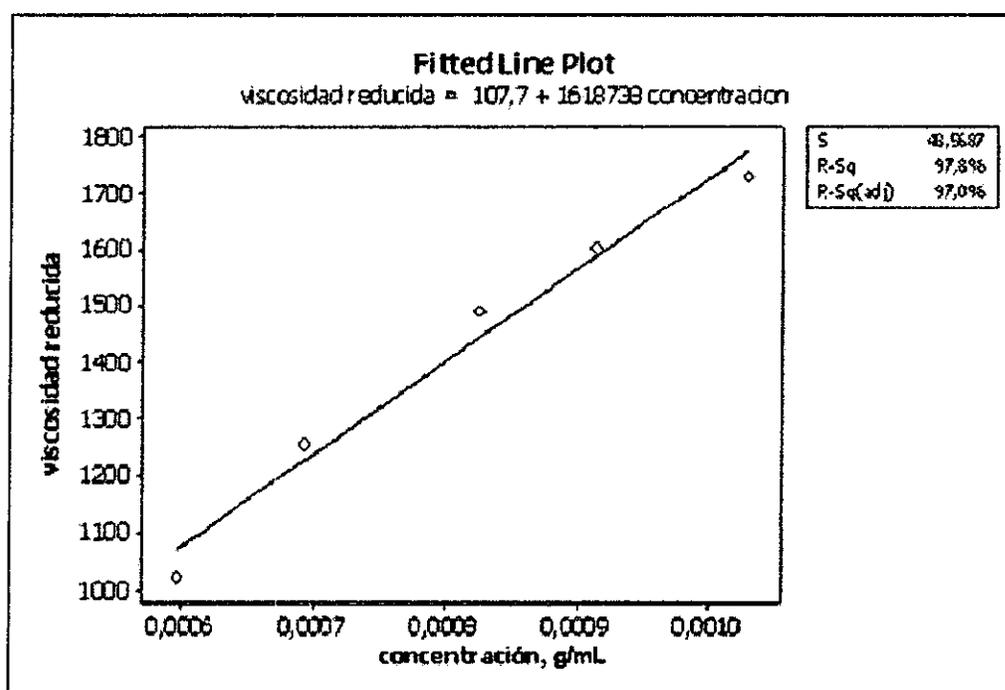


Figura 8. Representación de *Huggins* para el quitosano.

Con el valor de la viscosidad intrínseca, mediante la ecuación de *Mark-houwink* obtuvimos el valor del peso molecular del quitosano sintetizado en el laboratorio (Tabla 6).

Tabla 6. Relación entre la viscosidad intrínseca y el peso molecular del quitosano obtenido en el laboratorio.

Experimento	[η] mL/g	Mv (kDa)
1	108 +/- 2	136,5 +/- 0.5
2	110 +/- 3	139,5 +/- 0.8
3	108 +/- 2	136,5 +/- 0.5

Los análisis de varianza de una vía nos permite concluir que no hay diferencias significativas entre los pesos moleculares obtenidos en los tres experimentos (el valor de P fue mayor que 0.05).

5.2. Optimización del proceso de adsorción de cromo

5.2.1. Determinación del pH óptimo de adsorción. El pH es un parámetro importante que afecta la bioadsorción de metales pesados (Zhou *et al.*, 1998; Lia *et al.*, 2006). El efecto del pH en la bioadsorción del Cr(III) fue estudiado en un rango de 2–5, y la cantidad de cromo adsorbido por gramo de quitosán aparece reportada en la Tabla 7.

Tabla 7. Relación entre el pH y la adsorción de Cromo (III)

pH	Cantidad de cromo adsorbido (mg/g)
2	27 +/- 1
3	48 +/- 0.7
4	52,5 +/- 0.8
5	60 +/- 2

Este rango fue elegido basado en estudios reportados en la literatura (Vilar *et al.*, 2005) y en análisis efectuados en el laboratorio con la muestra cromosal B-A utilizada para estos ensayos, la cual precipitó un sólido de color verde a pH superiores a 4.8; lo cual nos lleva deducir que a pH de 5, además de un proceso de adsorción, existe un proceso de precipitación que se ve reflejado en la baja concentración de cromo (III) reportada por el espectrofotómetro de absorción atómica en el sobrenadante y nos podría llevar a incurrir en el error de creer que a pH de 5.0 el quitosano adsorbe altas concentraciones de Cr(III). La dependencia del pH ocurre cuando los iones metálicos y los protones compiten por los mismos sitios de unión (grupos hidroxilo y grupos amino) en la superficie del quitosano (Domnez y Aksu., 2002; Loukidou *et al.*, 2004).

El resultado de los efectos del pH en la solución de cromo se observa en la **Figura 9**. La capacidad de bioadsorción incrementa con el pH de 2 a 4. Teniendo en cuenta que a pH mayores de 4.8 se forma un precipitado de la sal cromosal B-A los resultados obtenidos a pH de 5 no reflejan el proceso de adsorción del Cr(III) por el quitosano. Para este ensayo, se decidió utilizar un pH de 4 para realizar los experimentos. Los análisis de varianza de una vía donde se relaciona la adsorción de cromo (III) *versus* el pH muestran diferencias significativas entre los procesos de adsorción a los diferentes pH utilizados en este ensayo ($P \leq 0.05$); la comparación entre los diferentes niveles de pH por el test de *Tukey* muestra diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

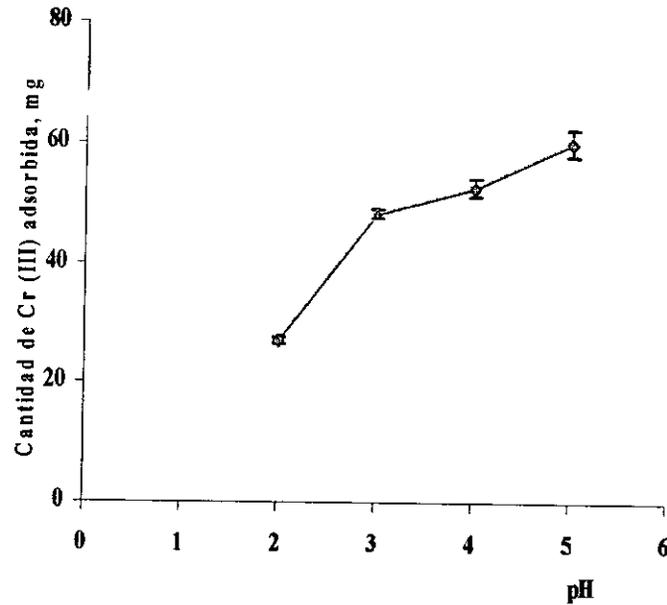


Figura 9. Efecto del pH en la adsorción de Cr (III) en quitosano.

El pH afecta la disponibilidad de iones metálicos en la solución. Para explicar la dependencia del pH en la bioadsorción de Cr(III) por parte del quitosano, es importante considerar los estados iónicos tanto de los grupos funcionales que componen la estructura del quitosano como las soluciones del metal a diversos valores de pH. El Cr(III) existe en solución como $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$ en un rango de pH 4–6 (Loukiduo et al., 2004; Matheickal y Yu., 1999), esto implica que la bioadsorción depende de la protonación y desprotonación de los grupos funcionales que componen la estructura del quitosano, relativo a su pK_a . El quitosano posee varios grupos funcionales los cuales actúan como sitios activos que unen iones metálicos. A un bajo pH, la protonación de los grupos funcionales da un rango

amplio de cargas positivas a las moléculas del quitosano las cuales son incapaces de adsorber cargas positivas $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, trayendo como consecuencia la baja capacidad de adsorción (Matheickal y Yu, 1999; Domnez y Aksu., 2002) . Al incrementar el pH se reduce la repulsión electrostática, exponiendo más ligandos portadores de carga negativa e incrementando la capacidad de adsorción (Zhou *et al.*, 1998; Lihan *et al.*, 2004). La reducción de la adsorción de los iones metálicos pH (>4.8) ha sido atribuida a la formación de complejos de hidróxido de cromo los cuales forman un precipitado dando resultados erróneos en la determinación del porcentaje de adsorción del Cr (III) (Zhou *et al.*, 1998).

5.2.1.2. Comparación del proceso de adsorción utilizando una solución buffer de acetato de sodio a pH 4. Una muestra de la solución de Cromosal B-A fue preparada en una solución buffer de acetato de sodio a pH 4.0; esta muestra se sometió a un proceso de adsorción por quitosano y los resultados obtenidos se compararon con el proceso de adsorción de una muestra de cromosal B-A preparada en agua desionizada. El análisis estadístico Two-Sample *t*-Test concluyó que no existen diferencias significativas entre las medias de los datos obtenidos por la muestra que fue preparada en la solución buffer y la muestra que fue preparada en agua desionizada ($P \geq 0.05$).

5.2.2. Isotermas de adsorción. Los resultados obtenidos de la bioadsorción de Cr (III) en quitosano son representados en la **Figura 10**. El Q_{max} (en la Ecuación 12) fue $52 \pm 1 \text{ mg.g}^{-1}$. La capacidad de bioadsorción de Cr se incrementa con el

aumento de la concentración inicial de Cr. Este incremento es atribuido a la competición por los sitios de unión disponibles. Una alta concentración provee la fuerza necesaria para superar la resistencia en la transferencia de masa del ión metálico entre la solución acuosa y la fase sólida (Lihan, *et al.*, 2004). Por esto una concentración inicial alta de Cr(III) incrementa la bioadsorción. Este efecto fue claramente demostrado en la Figura 10. El rendimiento en la remoción del Cr (III) a una baja concentración fue alto (>75%) debido a una mayor cantidad de sitios disponibles para la adsorción. Una menor adsorción a concentraciones altas de Cr(III) puede ser debido al hecho que los sitios disponibles para la adsorción en la superficie del quitosano se encuentran saturados(Vilar *et al.*, 2005).

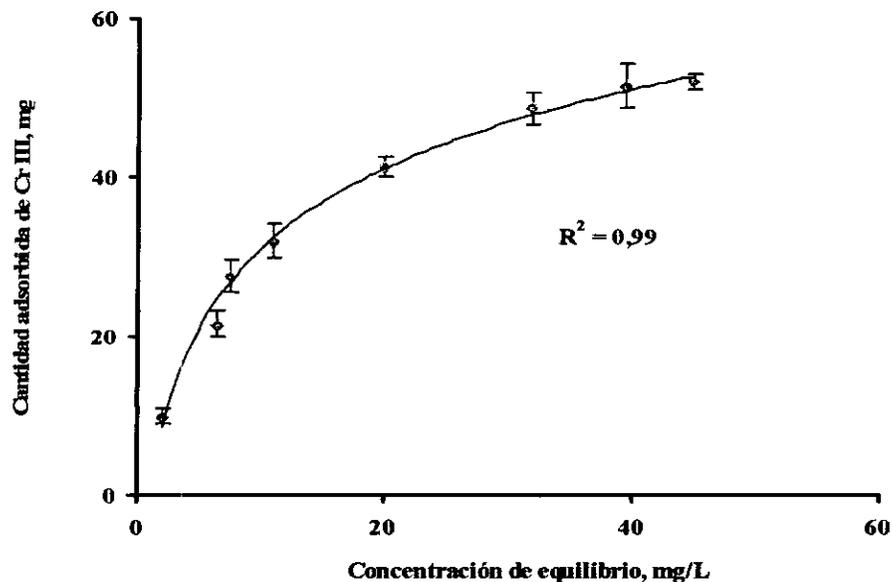


Figura 10. Efecto de la concentración de Cr (III) en el proceso de adsorción por quitosano a pH 4.

Los modelos de adsorción clásicos como *Langmuir* y *Freundlich* han sido usados para describir el equilibrio entre los iones del metal adsorbidos en la biomasa (q_{eq}) y la concentración del metal remanente en la solución (C_{eq}) a una temperatura constante. La ecuación de *Langmuir* se refiere a una adsorción de monocapa dentro de una superficie que contiene un número finito de sitios disponibles:

$$q_{eq} = \frac{bQ_{max}C_{eq}}{1 + bC_{eq}} \quad \text{Ec 12}$$

Donde Q_{max} es la cantidad máxima del ion metálico por unidad de peso de biomasa para formar una monocapa completa en la superficie ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), Donde b es una constante relacionada con la afinidad de los sitios de unión con los iones metálicos. Q_{max} representa la capacidad máxima de adsorción de la superficie del adsorbente (Domnez y Aksu., 2002).

La ecuación empírica de *Freundlich* explica la adsorción de superficies heterogéneas.

$$q_{eq} = K_f C^{1/n} \quad \text{Ec 13}$$

En la **Ecuación 13**, K_F es un indicador de la capacidad absorción y n indica el efecto de la concentración en la capacidad de absorción y representa la intensidad de absorción (Horsfall et al., 2003). Todos los otros símbolos tienen el mismo significado de la **Ecuación 12**. Los parámetros experimentales de las isotermas

de adsorción (para *Freundlich* y *Langmuir*) y los datos del coeficiente de correlación (R^2) para Cr (III) obtenido a un valor de pH óptimo, están dados en la

Tabla 8.

Tabla 8. Parámetros de las isothermas de adsorción del quitosano.

Freundlich		Langmuir	
K_f	8.17	Q_{max}	52 +/- 1
$1/n$	0.52	b	0.084
R^2	0.95	R^2	0.99

Las isothermas de adsorción obtenidas en la adsorción de iones Cr(III) por quitosano se encontró que la de *Langmuir* predice bien el estudio de la concentración del metal cromo en un rango de (20–400 mg L⁻¹). Esta observación implica que las condiciones heterogéneas predominan en los experimentos realizados en este proyecto. La bioadsorción de cromo por quitosano procede por más de un mecanismo y existen más de un sitio de unión disponible. Para llegar a esta resultado se analizaron los resultados de correlación R^2 obtenidos para todas las isothermas.

5.2.3. Tiempo óptimo de adsorción y cinética química. La cinética de adsorción describe la rata de adsorción de un soluto la cual gobierna el tiempo de la reacción que define la eficiencia de la adsorción (Naja et al., 2005) (Tabla 9).

Tabla 9. Relación entre el tiempo y la absorción de cromo (III)

Tiempo (min.)	Cantidad de Cr (III) (mg/g)
10	41+/- 0.6
20	46 +/- 1
30	50 +/- 0.3
40	53 +/- 0.6
50	52,8 +/- 1
60	52,7 +/- 0.6

La cinética de remoción de Cr(III) por quitosano se obtuvo al graficar la bioadsorción como una función del tiempo y el resultado se muestra en la **Figura 11**.

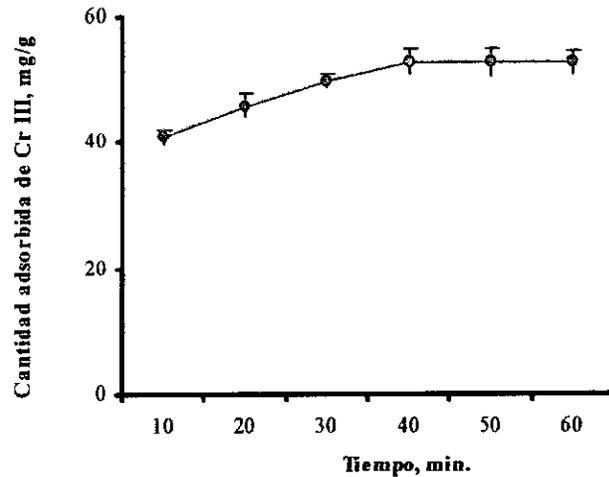


Figura 11. Cinética de adsorción del cromo por quitosano.

La adsorción del metal fue rápida y el 90% de la adsorción total ocurre en 40 min. Después de 40 min., había una disminución tendiendo al equilibrio. La fase inicial de adsorción es rápida en los primeros 10 min. debido a procesos de adsorción físicos o a intercambio iónico con los grupos funcionales que componen la superficie del quitosano; la subsecuente fase lenta del proceso de adsorción puede involucrar otros mecanismos tales como la complejación, micro-precipitación o saturación de los sitios de unión. (Mohan et al., 2006). El análisis estadístico de ANOVA de una vía muestra diferencias significativas entre los diferentes tiempos de adsorción ($P \leq 0.05$).

5.3. COMPARACIÓN DE LOS PROCESOS DE ADSORCIÓN DE UNA MUESTRA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA DE CURTIEMBRES Y UNA MUESTRA DE CROMOSAL BA

5.3.1. Bioadsorción de cromo (III) de las aguas residuales de la industria de curtiembres. La concentración de cromo en los efluentes de la industria de curtiembres fue determinado, por triplicado, en el laboratorio de prestación de servicios de la Universidad de Cartagena, el valor reportado fue de 1266 mg.L^{-1} (Tabla 7). El cual esta por encima de los valores permitidos de cromo en las aguas residuales por las normas ambientales colombianas; esta muestra se diluyo en agua desionizada hasta una concentración de 244 ppm de cromo (III) y se procedió a la adsorción con quitosano, adecuando el proceso a los parámetros óptimos obtenidos con el análisis de la solución de Cromosal BA.

Tabla 10. Composición química del agua residual de la industria de curtiembres

Parámetro	Valores
pH	3.7 – 4.2 +/- 0.1
TOC (mg/L)	27000-41000
TKN (mg/L)	160-245
Cr (III) (mg/L)	1000-1300

Los análisis TOC y TKN fueron realizados por Cardique.

El resultado de la bioadsorción de cromo se muestra en la **Figura 12**.

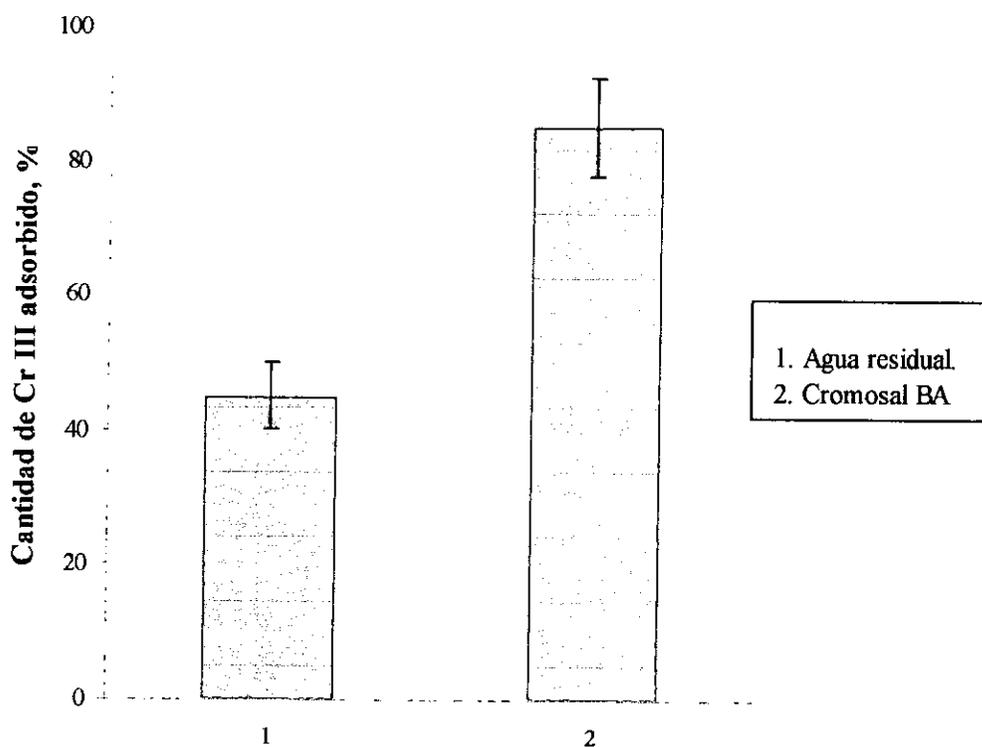


Figura 12. Resultados obtenidos de los porcentajes de adsorción del quitosano en Cromosal BA y Aguas de desecho de curtiembre.

La cantidad adsorbida en las aguas residuales de la industria de curtiembres fue del 45%. Este porcentaje de adsorción fue menor comparado con el obtenido de las soluciones patrón de cromosal B-A. La diferencia entre los porcentajes de adsorción pueden ser atribuidos a la presencia de interferencias en la matriz (cationes), en el caso del agua residual de la industria de curtiembres, los cuales compiten con el cromo por los sitios disponibles de unión en la molécula del quitosano (Loukido et al., 2004). Si se analiza el proceso de curtido de pieles se pueden encontrar diversas sustancias empleadas en cada etapa del proceso que

pueden dar origen a cationes de Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+3} , Cu^{+2} , Pb^{+2} , Ni^{+2} los cuales disminuyen la eficiencia de la adsorción del quitosano (Kiptoo y Ngila., 2005). La composición de efluentes de la industria de curtiembres contiene principalmente Cr, Ca, Mg y sustancias orgánicas de origen animal (Monteiro et al., 2002). Los bajos niveles de adsorción pueden también ser atribuidos a la presencia de otros materiales orgánicos (ver Tabla 10) adsorbentes tales como ligandos capaces de adsorber el cromo fuertemente, haciendo que el metal no este disponible para el quitosano (Loukido et al., 2004). En la **Figura 13** se muestra la foto de la solución de cromosal BA y una solución de aguas residuales de la industria de curtiembres.



Figura 13. Solución de Cromosal B-A y de agua residual de la industria de curtiembres

La contaminación de los sistemas acuáticos es una consecuencia de la rápida expansión y muchas veces sin planificación previa de las áreas urbanas y del asentamiento de numerosas industrias, desde donde se vierten aguas residuales que contienen contaminantes como los metales pesados que son tóxicos para los organismos que hacen parte de numerosos ecosistemas y para los seres humanos.

Podríamos definir contaminación ambiental como el proceso por el cual se producen alteraciones de las propiedades físicas, químicas y biológicas del aire, el agua y el suelo, por acción de procesos naturales o artificiales (Velea et al., 2008).

Entre los aportes realizados por las industrias, es de destacar la gran cantidad de metales pesados contenidos en sus aguas residuales (arsénico, cadmio, mercurio, cromo, plomo, zinc). El término metal pesado se aplica para aquellos elementos que tienen una densidad mayor a cinco, denominándose a los de densidad inferior, metales ligeros (Sunar et al., 2009).

El cromo es sumamente importante en los cuerpos de agua, en su forma iónica Cr (III) poco soluble y muy estable por ser un elemento traza esencial y como Cr (VI) menos estable pero más soluble, por ser un contaminante ambiental tóxico, cancerígeno. Es esencial para mantener los niveles correctos del metabolismo de la glucosa, lípidos y proteínas, entre 50 y 200 µg Cr (III) /día (Tobin y Roux., 1998; Armienta y Rodríguez., 1995).

Los problemas ecológicos con el Cr(VI) están relacionados con el desarrollo industrial en general y con la industria de las curtiembres en particular. Esta forma del cromo, puede alterar seriamente el equilibrio biológico causando efectos tóxicos tanto en plantas como en animales, ya que es rápidamente absorbido por las membranas biológicas, produciendo lesiones en la piel, enfermedades pulmonares y varias formas de cáncer (Demirbas et al., 2004; Park et al., 2004). Sin embargo, este problema no está restringido únicamente a los operarios de la industria del cromo. Durante el proceso de producción una gran cantidad de este elemento es liberada a la atmósfera, suelos y ríos, pudiendo el Cr(III), forma menos tóxica, oxidarse a Cr (VI) por acción de la materia orgánica (Das et al., 2000; Solicio et al., 2000), convirtiéndose en una amenaza para el resto de la población.

Por esto se hace indispensable desarrollar tecnologías o procesos con el fin de evitar que el cromo (III) que se utiliza en el proceso de curtición de las pieles, alcance los cuerpos de agua como la bahía de Cartagena donde coexisten infinidad de ecosistemas y poblaciones de personas (pescadores) que utilizan los recursos de la bahía para su sustento.

Este proyecto tiene como fin desarrollar un proceso económico y efectivo para la adsorción de cromo (III) de una industria de curtiembres.

6. CONCLUSIONES

1. El proceso de obtención de quitosano a partir del exoesqueleto del camarón (*Litopenaus vanamei*) dio como resultado un quitosano de aproximadamente 79.3% de grado de desacetilación y un peso molecular de 136,5 KDa, parámetros que están acordes con el quitosano obtenido a nivel comercial.
3. Los análisis por FT-IR reveló la presencia de grupos amino e hidroxilos que pueden actuar como sitios de unión, además confirmaron que el procedimiento de obtención del quitosano fue efectivo con un grado de desacetilación alto y un grado de pureza comparable con el del quitosano comercial.
4. El pH juega un rol importante en la capacidad de adsorción de cromo (III) por el quitosano. El pH óptimo fue de 4.0.
5. Los modelos de adsorción de *Freundlich* y *Langmuir* confirmaron la presencia de más de un sitio de unión. La adsorción del cromo (III) por quitosano procede por más de un mecanismo y existen más de un sitio de unión disponible.
6. La adsorción de cromo en la muestra de cromosal BA fue rápida (>90% Cr en la solución inicial) en los primeros 40 min, debido a procesos de adsorción físicos o a intercambio iónico con los grupos funcionales que componen la superficie del quitosano.
7. El quitosano extraído a partir del exoesqueleto del camarón (*Litopenaus vanamei*) obtenido de la industria Océanos S.A de la ciudad de Cartagena

demostró una alta capacidad de absorción de cromo (III) en las soluciones patrón de cromosal BA en agua desionizada (85%) y un porcentaje de remoción aceptable en las aguas residuales de la industria de curtiembres (45%) diferencias debidas a la complejidad de las matriz e interferencias en las aguas de desecho.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta, I; Gutiérrez, C; Nava, V; Moctezuma, M. (1995). Eliminación de metales pesados y flúor en solución por la biomasa celular de algunos hongos filamentosos. *Rev. Asociación de Ingenieros de Minas, Metalurgistas y Geólogos de México*. **35**:1-15.
2. Alsarra, I. A; Betigeri, S.S ; Zhang, H ; Evans, B.A; Neau, S.H. (2002). Molecular weight and degree of deacetylation effects on lipase-loaded chitosan bead characteristics, *Biomaterials* **23**: 3637–3644.
3. Aksu, Z. (2002). Determination of the equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters of the batch biosorption of nickel (II) ions onto *Chlorella vulgaris*. *Process Biochem.* **38**: 89–99.
4. Al-Asheh, S; Duvnjak, Z. (1998). Binary Metal Sorption by Pine Bark: Study of Equilibria and Mechanisms. *Sep Sci and Tech.* **33**(9):1303-1329.
5. Agnoletti, G; Marini, D; Ou, P; Vandrell, M.C ; Boudjemline. Y; Bonnet, D. (2009) Cheatham platinum (CP) and Palmaz stents for cardiac and vascular lesions treatment in patients with congenital heart disease. *EuroIntervention.***4**(5):620-5.
6. Armienta-Hernández, M; Rodríguez, Castillo. (1995). Environmental exposure to Chromium compounds in the valley of León, México. *Environ, Health Persp.* **103**: 47- 51.
7. A.O.A.C. (1990). Official Methods of Analysis Association of official Analytical Chemist. Edition 15. Ohio (USA). 20-25p.

8. Atkinson, B ; Bux, F; Kasan H. (1998). Considerations for application of biosorption technology to remediate metal-contaminated industrial effluents. *Water S.A.* **24**(2): 151-164.
9. Auzély-Velty, Rachel y Rinaudo, Marguerite. **2001**. Chitosan derivatives bearing pendant cyclodextrin cavities: Synthesis and Inclusion Performance. *Macromolecules*, **34** (11): 3574–3580
10. Babel, S; Kumiawan, A. (2003). Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a rev. *J. Hazard. Mat.*, **97**:219-243.
11. Barisic, D; Lulic, S; Miletic, P. (1992). Radium and Uranium in phosphate fertilizers and their impact on the radioactivity of waters. *Wat research.* **26** (5): 607-611.
12. Baytak, S; Turker, R. (2005). The use of *Agrobacterium tumefaciens* immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent for the column preconcentration of Iron (III), Cobalt (III), Manganese (II) and Chromium (III). *Tal.* **64**(4): 938-945.
13. Benaissa, H; Benguella, B. (2002). Effect of anions and cations on cadmium sorption kinetic by chitin. *Proceedings of international symposium an environmental pollutions control and waste Managent.* Tunis. 815-822 p.
14. Beiger, K; Jemelov, A. (1986). General aspect of specific data on ecological effects of metals, en handbook on the toxicology of metals. *Elsevier Science Publishers.* Michigan. USA. 389 p.
15. Benavides, M. (2000). Aplicaciones Terapéuticas de la Quitina Quitosán. *Primer Simposio Latinoamericano de Quitina y Quitosán.* La Habana. 456 p.

16. Brugnerotto, J; Lizardi, F.M; Goycoolea, W; Argüelles, J; Desbrie, M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer.*, **42**: 3569-3580.
17. Cardenas, T; Sanzana L; Innocentini M.L. (2002). Synthesis and characterization of Chitosan-PHB Blends. *Bol. Soc. Chil. Quim.*, **47** (4): 529-535.
18. Cano, I; Nicasio, M.C; Pérez, P.J. (2009). Nitrene transfer reactions catalysed by copper(I) complexes in ionic liquid using chloramine-T. *Dalton Trans.* **28**(4):730-4.
19. Cañizales, J; Villanueva R, O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Rev. Latinoam. de Microbiología.* **42** (3): 131-143.
20. Castellan, G. (1999). Físicoquímica, Fondo Educativo Interamericano S.A. México. 341-344 p.
21. Cervantes, C.J; Campos-García, S; Devars, F; Gutiérrez-Corona, H; Loza-Tavera, J.C; Torres-Guzmán R; Moreno-Sánchez. (2001). Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiology Review.* **25**: 333-347.
22. Chen, R; Tsaih. M.L. (1998). Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution, *Inter Journal of Biolog Macromolecules* **23**: 135–141.

23. Chen, J.P; Lie, D; Wang, L; Wu, S; Zhang, B (2002). Dried waste activated sludge as biosorbents for metal removal: adsorptive characterization and prevention of organic leaching. *J.Chem. Techn. Biotechn.*, **77** (6):657-662.
24. Cheng, X; Huang, X; Wang, X; Zhao, B; Chen, A; Sun D.(2009) Phosphate adsorption from sewage sludge filtrate using zinc-aluminum layered double hydroxides.1: *J Hazard Mater.* **19**(1): 232-235
25. Ciardullo, S; Aureli, F; Coni, E; Guandalini, E; Iosi, F; Raggi, A; Rufo, G; Cubadda, F. (2008). Bioaccumulation potential of dietary arsenic, cadmium, lead, mercury, and selenium in organs and tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a function of fish growth. *J Agric Food Chem.* **56**(7):2442-2451.
26. Crinnion, W.J.(2009). The benefits of pre- and post-challenge urine heavy metal testing: part 1. *Altern Med Rev.* **14**(1):3-8
27. Connell, W; Miller, J. (1984). Chemistry and ecotoxicology of pollution. *John Wiley & Sons*, New York. 220 p.
28. Cooper, M.J; Rediske, R,R; Uzarski, D,G; Burton, T.M.(2009) Sediment contamination and faunal communities in two subwatersheds of mona lake, michigan. *J Environ Qual.* **38**(3):1255-65.
29. Dambies L; Dambies, A; Roze, J; Roussy., Guibal, E.(1999). As (V) removal from dilute solutions using MICB (molybdate-impregnated chitosan beads). In: R. Amils and A. Ballester (Editors). Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century (Part B). *Intern. Biohydrometal. Sympos. Proceedings. Elsevier*, Amsterdam, p. 277–287.
30. Das, D; Mahapatra, R; Pradhan,J; Das, N; Thakur, S. (2000). Removal of Cr(VI) from aqueous solutions using activated cow dung carbon. *J. Colloid. Interfaced. Sci.* **232** (2):235-240.

31. Daughney, J; Daughney, B; Fein, Y; Nathan, C. (1998). A comparison of the thermodynamics of metal adsorption onto two common bacteria. *Chem. Geo.* **144**: 161–176.
32. Davis, A; Volesky, B; Mucci, A. (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by *brown algae*. *Wat Res.* **37**:4311-4330.
33. Dean, A; Tobin, M. (1999). Uptake of Chromium cations and anions by millet peat. *J. Resource, Conservation and Recycling.* **27** (1-2):151-156.
34. Deguillaume, L; Leriche, M; Chaumerliac, N.(2005). Impact of radical versus non-radical pathway in the Fenton chemistry on the iron redox cycle in clouds. *Chemosphere.* **60**(5):718-724.
35. Deng, S; Ting, P. (2005). Polyethylenimide-Modified fungal biomass as a high capacity biosorbent for Cr (VI) anions: sorption capacity and uptake mechanisms. *J. Environ. sci Techno.* **39** (21):8490-8496.
36. Demirbas, E; Kobya, M; Senturk, E; Ozkan, T. (2004). Adsorption Kinetics for the removal of Chromium (VI) from aqueous solutions on the activated carbons prepared from agricultural wastes. *Water S. A.* **30**(4):533-539.
37. Deshpande, A; Kawai, H; Metherate, R; Glabe, C.G; Busciglio, J. (2009). A role for synaptic zinc in activity-dependent Abeta oligomer formation and accumulation at excitatory synapses. *J Neurosci.* **29**(13):4004-4015.
38. Dong, C; Xu, J, Wang; Y Wu; M. Wang y Y. Ruan (2002). Influence of degree of deacetylation on critical concentration of chitosan/dichlorocatic acid liquid crystalline solution, *Journal of Applied Polymer Science* **83** (6) (2002), pp. 1204–1208.

39. Dundar M; Nuhoglu C; Nuhoglu Y.(2008). Biosorption of Cu(II) ions onto the litter of natural trembling poplar forest. *J Hazard Mater.* **151**(1):86-95.
40. Dickson, R. (1999). Química y enfoque ecológico. Editorial Limusa, México. 460 p.
41. Doménech, X. (1995). Química del suelo. El impacto de los contaminantes, *Niguaramo S.A.* Madrid. 653 p.
42. Domnez, G; Aksu, Z. (2002). Removal of chromium from saline wastewater by *Dunaliella* species, *Process Biochem.* **38**: 751–762.
43. Duarte, M.L; Ferreira, M.C; Marvao,M.R; Rocha, J. (2002). "An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy". *Journal of Biological Macromolecules.* 31(1-3): 1-8
44. Erlinch, L. (1997). Microbes and Metals. *J. Applied Microbiol. Biotechnol.* **48** (6):687-692.
45. Esposito, A; Paganelli, F; Vegliom F. (2002). pH related equilibria models for biosorption in single metal systems. *J. Chem. Eng. Sci.* **57**:307–313.
46. Fiol, N; Poch, J; Miralles, N (2003). Biosorption of Cr (VI) using low cost sorbents. *Environmental chemistry Letters.* **1** (2):135-139.
47. Foster, L.J; Chan, Q.W. (2007). Lipid raft proteomics: more than just detergent-resistant membranes. *Subcell Biochem.* **43**:35-47.
48. Galvao, L.A.C; Corey, G. (1987). *Cromo. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Mundial de la Salud, Mextepec, México.* p. 102.

49. Gao, L; Cao, Y; Zhou, S.L; Zhuang, T.T; Wang, Y; Zhu, J.H.(2009) Eliminating carcinogenic pollutants in environment: Reducing the tobacco specific nitrosamines level of smoke by zeolite-like calcosilicate. *J Hazard Mater.* 19(1): 120-125
50. Gavrilesco, M. (2004). Removal of heavy metals from the environment by biosorption. *J. Eng. in life Sci.* 4(3):219-232.
51. Grunberg-Etkovitz, N; Lev, N; Ickowicz, D; Avital, A; Offen, D; Malik, Z.(2009) Accelerated Proteasomal Activity Induced by Pb²⁺, Ga³⁺, or Cu²⁺ Exposure Does Not Induce Degradation of alphasynuclein. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 28(1):5-24.
51. Gupta, V.K; Shrivastava, A.K; Jain, N (2001). Biosorption of Chromium (VI) from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species. *Water Res.* 35 (17): 4079-4085.
52. Hall, T.J; Ragsdale, R.L; Arthurs, W.J; Ikoma, J; Borton, D.L; Cook, D.L.(2008) A Long-term Multi-trophic Level Study to Assess Pulp and Paper Mill Effluent Effects on Aquatic Communities in 4 U.S. Receiving Waters: Characteristics of the Study Streams, Sample Sites, Mills, and Mill Effluents.: *Integr Environ Assess Manag.* 8:101-106.
53. Hamadi, K; Chen, D; Farid, M; Lu, Q. (2001). Adsorption Kinetics for the removal of Chromium (VI) from aqueous solutions by adsorbents derived from used tyres and sawdust. *Chem. Eng Journal.* 84 (2):95-105.
54. Hamilton, H., Wetterhahn, E. (1987). Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds. *Marcel Dekker, Inc.* New York. p 78.
55. Harvey, D. (2002). Química Analítica. Moderna.McGraw-Hill / Interamericana. Madrid. p. 256.

56. Hattis, D. (1976). Industrial Properties of Chitin from Seafood Wastes. *MIT Sea Grant Report* MIT, Cambridge. p. 42.
57. Helfferich, F. (1995). Ion exchange, *Dover Publications. Inc*, New York. p. 86.
58. Horsfall, M; Abia, A; Spiff, A. (2003). Removal of Cu (II) and Zn(II) ions from wastewater by cassava (*Manihot esculenta*) waste biomass, *Afr. J. Biotechnol.* **10**: 360–364.
59. Jain, R; Sikarwar, S. (2008). Adsorptive removal of Erythrosine dye onto activated low cost de-oiled mustard. *J Hazard Mater.* **30**; 164(2-3):627-633.
60. Jeon, C; Höll, W. (2003). Chemical Modification of Chitosan and Equilibrium Study for Mercury Ion Removal. *Wat Res.*, **37**(19): 4770–4780.
61. Jaleel, M.A; Noreen, R; Baseer, A. (2001). Concentration of heavy metals in drinking water of different localities in district east Karachi. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* **13**(4):12-15.
62. Khan, T.A; K, K. Peh; Ch'ng, H.S. (2002). Reporting degree of deacetylation values of chitosan: The influence of analytical methods, *Journal of Pharm and Pharmcet Science* **5** (3) 205–212.
63. Khamis, M; Jumean, F; Abdo, N. (2009). Speciation and removal of chromium from aqueous solution by white, yellow and red UAE sand. *J Hazard Mater.* **1**(4) 32-35

64. Kolev, S.D; Baba, Y; Cattrall, R.W; Tasaki, T; Pereira, N; Perera, J.M; Stevens, G.W.(2008). Solid phase extraction of zinc(II) using a PVC-based polymer inclusion membrane with di(2-ethylhexyl)phosphoric acid (D2EHPA) as the carrier. *Talanta*.**78**(3):795-799.
65. Lankford, W; Eckenfelder, W. (1992). Toxicity Reduction in Industrial Effluents. *Van Nostrand Reinhold*, New York. p. 18-34, 98-125.
66. Liu BL; Fu YP; Wang ML. (2009). Magnetic and catalytic properties of copper ferrite nanopowders prepared by combustion process. *J. Nanosci Nanotechnol.*, **9** (2):1491-1495.
67. Loukido, M; Zouboulis, T; Karapantsios., Matis, K (2004). Equilibrium and kinetic modeling of Chromium (VI) bioadsorption by *Aeromonas caviae*, *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* **242**. 93-104.
68. Kennish, J. (1992). Ecology on Estuaries: Anthropogenic effects. *CRC Pres, Inc*, Boca Ratón (Florida). p. 25.
69. Kiptoo, J.K; Ngila, J.C. (2005). Voltammetric evaluation of binding habiliteís of tannery effluents by competing ligand Exchange method using syntethic Solutions of Cr (VI), Ni(II), Cu(II) y Pb(II), *Chem. Spec. Bioavail.* **17**(3) 103-108.
70. Konovalova, N; Vasilevskii, P; Bereza I. (2001). Polymers. *Russian J. Appl. Chem.* **74**(3):449.

71. Kratochvil, D; Volesky B. (1998). Advances in the biosorption of heavy metals. *TIBTECH*. **16**:291- 300.
72. Krishna, A,K; Satyanarayanan, M; Govil, P.K. (2009).Assessment of heavy metal pollution in water using multivariate statistical techniques in an industrial area: A case study from Patancheru, Medak District, Andhra Pradesh, India. *J Hazard Mater*. **9**(2). 21-26.
73. Knorr, D. (1991). Recovery and Utilization of Chitin and Chitosan in Food Processing waste Management. *Food Technology*. **40**:114-22.
74. Kushner, I; Kushner, S. (1994). Water and Waste Control For The Plating Shop. Gardner Publications inc., Cincinnati, USA. p. 63.
75. Lee, Y; Park, M; Yang, W. (1997). Microprecipitation of lead on the surface of crab shell particles. *J. Process Biochem*. **32** (8):671–677.
76. Leung, C; Wong, F; Chua, H; Yu, F; Leung, K. (2000). Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal waste water. *Water sci. Techno*. **41** (12): 233-240.
77. Lia, S; Y. Guo and Li, L. (2006). Study on the process, thermodynamical isotherm and mechanism of Cr(III) uptake by *Spirulina platensis*, *J. Food Eng*. **75**: 129–136.
78. Lihan, M; Nourbakhsh, S; Kilicarslan., Ozdag, H. (2004). Removal of chromium, lead and copper from industrial waste by *Staphylococcus saprophyticus*, *Turk. Electron. J. Biotechnol*. **2**: 50–57.
79. Losi, E; Amrhein, C; Frankenberger, T. (1994). Environmental biochemistry of Chromium. *J. Environ. Contam. Toxicol*. **136**:91-131.

80. Loukidou, M; Zouboulis, T; Karapantsios, B ; Matis, K. (2004). Equilibrium and kinetic modeling of chromium (VI) biosorption by *Aeromonas caviae*, *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* **242**: 93–104.
81. Low K. S; Lee C. K; Liew, C. (2000). Sorption of cadmium and lead from aqueous solutions by spent grain. *Proces. Biochemistry.* **36**:59-64.
82. Malla, E; Álvarez, B; Batistoni, A. (2002). Evaluation of sorption and desorption characteristics of cadmium, lead and zinc on Amberlite IRC-718 iminodiacetate chelating ion exchanger. *Tal.* **57**:277–287.
83. Malysa K; Krasowska M; Krzan M. (2005). Influence of surface active substances on bubble motion and collision with various interfaces. *Adv Colloid Interface Sci.*, 30;114-115:205-25.
84. Matheickal, T; Yu, Q. (1999). Biosorption of lead (II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae, *Bioresour. Technol.* **69** : 223–229.
85. Markai S; Markai, Y; Andres, G; Montavon, I; Grambow , B. (2003). Study of the interaction between europium(III) and *Bacillus subtilis*: fixation sites, biosorption modelling and reversibility. *J. Colloid Interface Sci.* **262**:351–361.
86. Metcalf., Hedi (1998). *Ingeniería de Aguas Residuales*. Ed. McGraw Hill, Tercera Edición. Madrid. 480 p.
87. Mieiro, C.L; Pacheco, M; Pereira, M.E; Duarte, A.C. (2009).Mercury distribution in key tissues of fish (*Liza aurata*) inhabiting a contaminated estuary-implications for human and ecosystem health risk assessment. *J Environ Monit.* **11**(5):1004-1012.

88. Min, S; Han, J; Shin, E; Park, J. (2004). Improvement of Cadmium ion removal by base treatment of juniper fiber, *Water research*. **38**(5): 1289-1295.
89. Mohan, D; Singh, K; Singh, V. (2006). Trivalent chromium removal from wastewater using low cost activated carbon derived from agricultural waste material and activated carbon fabric cloth, *J. Hazard. Mater.* **B135**: 280–295.
90. Monteiro, C; Fraga, S; Yallouz, V; Oliveira, M; Ribeiro, H. (2002). Determination of total chromium traces in tannery effluents by electrothermal atomic absorption spectrometry, flame atomic absorption spectrometry and UV–visible spectrophotometric methods. *Tal*, **58** (4): 629-633.
91. Muzzarelli, C; Muzzarelli, A; Cosani., Terbojevich, M. (1999). 6-Oxychitins, novel hyaluronan like regiospecifically carboxylated chitins. *Carbohydr. Polym.* **39** (4): 361–367.
92. Naja, G; Mustin, C; Volesky, B; Berthelin, J. (2005). A high-resolution titrator: a new approach to studying binding sites of microbial biosorbents, *Water Res.* **39**: 579–588.
93. Nadeem-ul-Haq; Arain, M,A; Haque, Z; Badar, N; Mughal, N.(2009). Drinking water contamination by chromium and lead in industrial lands of Karachi. *J Pak Med Assoc.* **59**(5):270-274.
94. Niu, H; Volesky, B. (1999). Characteristics of gold biosorption from cyanide solution. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **74** (8):778–784.
95. Niu, H; Volesky B. (2003). Biosorption mechanism for anionic metal species with waste crab shells. *Eur. J. Miner. Proc. Environ. Prot.* **3** (1):75–87.
96. Ozdes, D; Gundogdu, A; Kemer B; Duran, C; Senturk, H.B; Soylak, M.(2008) Removal of Pb(II) ions from aqueous solution by a waste mud from

copper mine industry: Equilibrium, kinetic and thermodynamic study. *J Hazard Mater.* **24**(10)

97. Osman, Z; Arof, A.K. (2003). FTIR studies of chitosan acetate based polymer electrolytes, *Electrochimica Acta* **48** (3):993–999.

98. Pagnanelli, F; Papini, M.P; Toro, L; Trifoni, M; Veglio, F (2000). Biosorption of metal ions on *Arthrobacter* sp biomasa characterization and biosorption modelling. *J. Environ. Sci. technol.* **34** (13): 2773-2778.

99. Pagnanelli, F; Mainelli, S; Angelis, S.D; Toro, L. (2005). Biosorption of protons and heavy metals onto olive pomace: modelling of competition effects. *Water Research.* **39** (8):1639-1651.

100. Palma G; Freer J; Baeza J. (2003). Removal of metal ions by modified *Pinus radiata* bark and tannins from water solutions. *Wat Res.* **37**:4974–4980.

101. Parada, G; Crespín, G.D; Miranda, R; Katime, I. (2004). Caracterización de Quitosano por Viscosimetría Capilar y Valoración Potenciométrica. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, **5**(1): 1-16.

102. Park, D; Yun, S; Joa, H; Park, J. (2005). Mechanism of hexavalent Chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*. *Water Research.* **39** (4):533-540.

103. Park, D; Yun, S; Park, J. (2004). Reduction of hexavalent Chromium with the brown seaweed *Ecklonia* biomass. *J. Environ. Sci. technol.* **38** (18): 4860–4864.

104. Patlolla, A.K; Barnes, C; Hackett, D; Tchounwou, P.B. (2009). Potassium dichromate induced cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress in human liver carcinoma (HepG2) cells. *Int J Environ Res Public Health.* **6**(2):643-53.

105. Peter, P; Hoagland, P. (1996). *J. Agric. Food Chem.* 44:1915.
106. Pehlivan, E; Yanik, B.H; Ahmetli, G; Pehlivan, M. (2007). Equilibrium isotherm studies for the uptake of cadmium and lead ions onto sugar beet pulp. *Bioresour Technol.* 99(9):3520-3527.
107. Raji, C; Anirudhan, S. (1998). Batch Cr (VI) removal by polyacrylamide-grafted sawdust: kinetics and Thermodynamics. *Water Research.* 32 (12):3772-3780.
108. Reddad, Z ; Gérente, C ; Andrés, Y ; Ralet, M.C; Thibault, J.F; Lecloires, P. (2002). Ni(II) y Cu(II) binding properties of native and modified sugar beet pulp, carbohydrate. *Polymer.* 49 (1):23-31.
109. Robertson, O; Dreishbach, R. (1998). *Toxicología clínica. Editorial Manual Moderno, México.* 72 p.
110. Roberts, G.A.F; Domszy, J.G. (1982). Determination of the viscosimetric constants for chitosan, *International Journal of Biological Macromolecules* 4: 374-377.
111. Roberts, F. (1992). *Chitin Chemistry, Macmillan, London, UK.* 230p.
112. Rowsell VF; Pang DS; Tsafou F; Voulvoulis N. (2009). Removal of steroid estrogens from wastewater using granular activated carbon: comparison between virgin and reactivated carbon. *Water Environ Res.* 81(4):394-400.
113. Sabina, P; Strand. Maname, S; Vandvik; Kjell, M. Varun; Kjetell, O. (2001). *Biomacromolecules.* 2:126.

114. Sabnis, S; Block, L. (1997). Improved infrared spectroscopic method for the analysis of degree of *N*-deacetylation of chitosan. *Polym Bull.*, **39**: 67-71.
115. Selvi, K; Pattabhi, S; Kadirvelu, K. (2001). Removal of Cr (VI) from aqueous solution by adsorption onto activated carbon. *Biores. Technol.*, **80**(1):87-89.
116. Silverstein, R. M; Clayton, G; Morrill, T.(1991). Spectrometric identification of organic compounds. John Wiley & Sons, New York, pp. 97-165.
117. Singh, K; Tiwari, .N (1997). Removal and Recovery of Chromium (VI) from industrial waste water. *J Chem. Technol. Biotechnol.* **69** (3):376-382.
118. Solicio, C; Lodi, A; Converti, A; Broghi, D. (2000). The effect of acid pre-treatment on the biosorption of chromium (III) by *Aphaerotilus natans* from industrial Waste Water. *Water Research.* **34**(12):3171-3178.
119. Srivastava, S; Thakur, S. (2006). Biosorption potency of *Aspergillus Niger* for removal of Chromium (VI). *Current Microbiology.* **53** (3):232-237.
120. Sunar, F; Baltaci, A.K; Ergene, N; Mogulkoc, R.(2009). Zinc deficiency and supplementation in ovariectomized rats: their effect on serum estrogen and progesterone levels and their relation to calcium and phosphorus. *Pak J Pharm Sci.* **22**(2):150-4.
121. Tabeada. E; Cabrera. G; Cardenas. G. (2002). Retention Capacity of Chitosan for copper and mercury ions. *J. Chilean Chem. Soc.* **5**: 5-9.
122. Tabeada, E., Cabrera, G., Cardenas, G. (2003). Retention Capacity of Chitosan for copper and mercury ions. *J.Chilean Chem Soc.*, **48** (1): 7-12.

123. Tanveer, K; Hung, C. (2002). Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **5** (3): 205-212.
124. Tarley, C; Arruda, M. (2004). Biosorption of heavy metals using rice milling by products. Characterisation and application for removal of metals from aqueous effluents. *Chemosphere*. **54** (7): 987-995
125. Tobin, J.M; Roux, J.C. (1998). Mucor biosorbent for Chromium removal from tanning effluent. *Wat Res*. **32**(5):1407-1416.
126. Tolaimate, A; Desbrieres, J; Rhazi, M; Alagui, A; Vincendon, M; Vottero, P. (2000). On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristic of chitosan from squid chitin. *Polymer*. **41**: 2463-2469.
127. Tsezos, M. (2001). Biosorption of metals. The experience accumulated and the outlook for technology development. *Hydrometallurgy*. **59** (2-3):241-243.
128. Ucum, H; Bayhan, K; Kaya, Y; Calcini, A; Algur, F. (2002). Biosorption of Chromium (VI) form aqueous solution by cone biomasa of *Pinus sylvestris*. *J. Biores. Technology*. **85**(2):155-158.
129. Vega de Kuyper, C. (1999). Manejo de Residuos de la Industria Química y Afín, Alfa Omega. Madrid. 57 p.
130. Veglio F; Beolchini F. (1997). *Removal of metals by biosorption: a review*. *Hydrometallurgy*. **44**: 301-316.

131. Velea, T; Gherghe, L; Predica, V; Krebs, R. (2008) Heavy metal contamination in the vicinity of an industrial area near Bucharest. *Environ Sci Pollut Res Int.* 20(10).
132. Vilar, M; Cidália A; Boaventura S (2005). Influence of pH, ionic strength and temperature on lead biosorption by *Gelidium* and agar extraction algal waste, *Process Biochem.* 40: 3267–3275.
133. Velásquez C. (2003). *Revista Iberoamericana de Polímeros.* 4(2): 5-29.
134. Vilchez, R. (2005). Eliminación de metales pesados en aguas mediante sistemas de lechos sumergidos: Estudio microbiológico en las biopelículas. Tesis doctoral, Universidad de Granada, Granada (España).
135. Villaescusa I; Fiol N; Martínez M; Miralles N; Poch J; Serarols J. (2004). Removal of copper and nickel ions from aqueous solutions by grape stalks wastes. *Water Research.* 38:992-1002.
136. Volesky, B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy.* 59:203-216.
137. Volesky, B; Holan, Z.R. (1995). Biosorption of heavy metals. *J. Biotechnol. Prog.* 11: 235–250.
138. Wang, S; Bo, Q; Li, Q. (1991). Determination of the Mark–Houwink equation for chitosan with different degrees of deacetylation, *International Journal of Biological Macromolecules,* 13: 281–285.
139. Weska, R; Moura, J; Batista,L; Rizzi, L; Pinto, A. (2006). Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp waste: Use of response surface methodology. *Journal of Food Engin,* 80: 749-753.

140. Willians, C.J; Aderhold, D; Edyvean, R.G.J (1998). Comparison between biosorbents for the removal of metal ions from aqueous solutions. *Water Research*. **32**(1): 216-224.
141. Wu, P; Wu, W; Li, S; Xing, N; Zhu, N; Li, P; Wu, J; Yang, C; Dang, Z.(2009) Removal of Cd(2+) from aqueous solution by adsorption using Fe-montmorillonite. *J Hazard Mater*.14(4).
142. Yun, Y.S; Yun, H; Niu, H; Volesky, B. (2001). The effect of impurities on metal biosorption. V.S.T. Ciminelli and J.O. Garcia, Editors. *Biohydrometallurgy: Fundamentals, Technology and Sustainable Development: Part B. Biosorption and Bioremediation*, Elsevier, Amsterdam. 181–187p.
143. Zeng, X; Fan, Y; Wu, G; Wang, C; Shi, R. (2008). Enhanced adsorption of phenol from water by a novel polar post-crosslinked polymeric adsorbent. : *J Hazard Mater*. **19**(4).
144. Zheng, X; Tong, J; Li, H; Chen, Y.(2009). The investigation of effect of organic carbon sources addition in anaerobic-aerobic (low dissolved oxygen) sequencing batch reactor for nutrients removal from wastewaters. *Bioresour Technol*. 2009 **100**(9):2515-20.
145. Zhang, Y; Banks, C (2005). A comparison of the properties of Polyurethane immobilised Sphagnum moss, seaweed, sunflower waste and maize for the biosorption of Cu, Pb, Zn and Ni in continuous flow packed columns. *Water Research*. **40**(4):788-798.
146. Zhou, D; Zhang, L; Guo, S (2005). Mechanisms of lead biosorption on cellulose/chitin beads. *Water Research*. **39** (16):3755-3762.
147. Zhou, P.L; Haung, L; Lin, P. (1998). Sorption and desorption of Cu and Cd by macroalgae and microalgae, *Environ. Poll*. **101**: 67–75.

148. Zhou, Q; Xiao, J; Wang, W; Liu, G; Shi, Q; Wang, J.(2006). Determination of atrazine and simazine in environmental water samples using multiwalled carbon nanotubes as the adsorbents for preconcentration prior to high performance liquid chromatography with diode array detector. *Tal.* **68**(4):1309-15.

149. Zouboulis, I; K, Kydros; Matis A. (1995). Removal of hexavalent Chromium anions from solutions by pyrite fines. *Water Res.* **29** (7):1755-1760.

Zwolak I, Zaporowska H.(2009). Preliminary studies on the effect of zinc and selenium on vanadium-induced cytotoxicity in vitro. *Acta Biol Hung.* **60**(1):55-67.