

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

REDUCCIÓN DEL CATIÓN PLATA PRESENTE EN LA
SOLUCIÓN REGENERANTE APLICADA AL HONGO
Cladosporium cladosporioides EMPLEADO EN EL
PROCESO DE BIORREMOCIÓN DEL TIOSULFATO DE
PLATA (STS) CONTENIDO EN EL AGUA RESIDUAL
PROVENIENTE DEL TRATAMIENTO EN POST-
COSECHA PARA FLORES SENSIBLES AL ETILENO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR

MARÍA JOSÉ ANRANGO PAVÓN

SANGOLQUÍ, septiembre del 2009

HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS

ELABORADO POR

María José Anrango Pavón

DIRECTOR DE LA CARRERA

Ing. Rafael Vargas

SECRETARIO ACADEMICO

Ab. Vinicio Zabala J.

Sangolquí, septiembre del 2009

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por la Srta. MARÍA JOSÉ ANRANGO PAVÓN como requerimiento parcial a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología.

Sangolquí, septiembre del 2009

Luis Cumbal, Ph.D.
DIRECTOR

Dra. Blanca Naranjo
CODIRECTORA

REVISADO POR

Ing. Rafael Vargas
DIRECTOR DE LA CARRERA

DEDICATORIA

A mi familia, especialmente a mis padres por darme su apoyo y su amor, aquí está el fruto de su sacrificio y lucha constante por hacer de su última hija alguien en esta vida, he culminado con éxito este sueño que es mío y de ustedes y se los dedico porque sinceramente se lo merecen....!!!!

María José Anrango P.

AGRADECIMIENTO

“Oh Dios, que nos entregaste a tu Hijo Jesucristo y a su madre la Virgen María para que por intersección de ellos creamos en el amor que le tienes al mundo, creo en ti y mi fe se va aumentando, he cumplido este sueño gracias al intelecto, la fortaleza y la salud con la que me has bendecido”.

A mis padres, ALFREDITO y CHELITA por confiar en mí y darme todo cuanto he necesitado.

A mis hermanos MARISOL, XAVIER, JACQUELINE, CRISTIAN Y PATY, CARLOS, con su ejemplo me han enseñado que las cosas se consiguen con lucha y perseverancia así seguiré mi vida profesional y personal.

A mis sobrinos GANDHI, FÁTIMA, ISAAC desde que llegaron a mi vida cautivaron mi corazón, con su inocencia siempre me robaron una sonrisa en momentos difíciles y son la alegría de toda la casa.

A mis mamitas, MARIANITA y ROSITA, gracias les doy infinitamente porque con sus oraciones y bendiciones siempre guiaron mi camino.

Al Dr. LUIS CUMBAL, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de investigadores y depositar en mí su confianza para llevar a cabo este trabajo, realmente ha sido un guía y un amigo.

A la Dra. BLANCA NARANJO por su amistad y la asesoría durante la realización de este trabajo, por sus sugerencias y el tiempo dedicado.

Al Dr. VICENTE DELGADO y a la Quím. ERIKA MURGUEITIO por su valioso aporte científico y su amistad, les considero mis amigos porque siempre estuvieron disponibles para escucharme y darme consejos tanto a nivel profesional como personal.

A mis amistades que hice durante mi estadía en el CEINCI, aquellos que ya se fueron y me dejaron grandes enseñanzas para continuar con mi trabajo: MARLENE, MA. DOLORES, DIANITA, MIGUEL, MAJO V y aquellos que están aquí conmigo dándome su apoyo: CARO, CHIQUI, MARCE, ROSITA, GABY, ANITA, GUSTAVO les agradezco por toda su ayuda, su compañía y el tiempo compartido.

Un especial agradecimiento a VALERIA, mi pasante quien me ayudó en la parte final de mi tesis, por su tiempo, su amistad y su apoyo incondicional.

Al Dr. AGUIRRE por su colaboración con los materiales, reactivos y equipos.

Al Ing. PEDRO ROMERO por sus recomendaciones en la elaboración del diseño experimental y asesoría en la aplicación de las pruebas estadísticas.

A JESSY MAISINCHO a TANNITA y DORIS porque siempre que necesité de su ayuda estuvieron prestas a colaborar y lo hicieron con buena voluntad y una sonrisa que les caracteriza.

A mis amigas que me acompañaron durante mi vida estudiantil ERIKITA, DAYSI, JACKY, KARLITA por todos esos buenos momentos compartidos.

Gracias infinitamente a todas las personas que en algún momento de la realización de este trabajo me brindaron su mano.

Que el Señor les bendiga por su don de gente y su buen corazón, yo los recordaré siempre !!!

MaJo

ÍNDICE DE CONTENIDOS

HOJA DE LEGALIZACION DE FIRMAS	II
CERTIFICACIÓN	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO	V
LISTADO DE CUADROS	XI
LISTADO DE TABLAS	XII
LISTADO DE FIGURAS	XIII
LISTADO DE ANEXOS	XV
ABSTRACT	XVII
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	- 1 -
1.1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	- 1 -
1.2 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	- 3 -
1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	- 5 -
1.3.1 Objetivo general del proyecto	- 5 -
1.3.2 Objetivos específicos	- 5 -
1.4 MARCO TEÓRICO.....	- 6 -
1.4.1 Plata	- 6 -
1.4.2 Elementos traza	- 6 -
1.4.3 Inmovilización de metales por microorganismos	- 7 -
1.4.4 Características generales de <i>Cladosporium cladosporioides</i>	- 10 -
1.4.5 Desorción	- 11 -
1.4.6 Mecanismos para la reducción de plata.....	- 12 -
1.4.6.1 Electrólisis.....	- 12 -
1.4.6.2 Fotocatálisis	- 17 -
CAPITULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS	- 28 -
2.1 PARTICIPANTES	- 28 -
2.1.1 Escuela Politécnica del Ejército	- 28 -
2.1.2 Personas	- 28 -
2.2 ZONA DE ESTUDIO	- 28 -

2.2.1	Campo	- 28 -
2.2.2	Laboratorio	- 29 -
2.3	PERÍODO DE INVESTIGACIÓN	- 29 -
2.4	DISEÑO ESTADÍSTICO	- 29 -
2.4.1	Diseño para la adsorción de plata en pellets del hongo	- 29 -
2.4.2	Diseño para la desorción de plata empleando diferentes soluciones regenerantes.....	- 29 -
2.5	MATERIALES Y METODOLOGÍA	- 30 -
2.5.1	Obtención de la cepa fúngica.....	- 30 -
2.5.2	Preparación de medios de cultivo	- 31 -
2.5.2.1	Medio sólido para cultivo de esporas.....	- 31 -
2.5.2.2	Medio líquido para formación de pellets	- 31 -
2.5.3	Propagación de esporas de <i>C. cladosporioides</i>	- 32 -
2.5.4	Formación de pellets de <i>C. cladosporioides</i>	- 32 -
2.5.5	Adsorción del catión plata por pellets de <i>C. cladosporioides</i>	- 32 -
2.5.5.1	Preparación de soluciones con plata	- 32 -
2.5.5.2	Preparación de la biomasa	- 33 -
2.5.5.3	Ensayos de Adsorción	- 33 -
2.5.5.4	Cuantificación de plata mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica	- 34 -
2.5.6	Desorción del catión plata contenido en pellets del hongo <i>C. cladosporioides</i>	- 35 -
2.5.6.1	Preparación de las soluciones regenerantes	- 35 -
2.5.6.2	Ensayos de desorción.....	- 35 -
2.5.6.3	Elección del regenerante óptimo.....	- 36 -
2.5.7	Electrólisis de la solución regenerante.....	- 36 -
2.5.7.1	Construcción de una celda electrolítica	- 36 -
2.5.7.2	Proceso electrolítico.....	- 37 -
2.5.8	Fotorreducción con luz UV de la solución regenerante	- 37 -
2.5.8.1	Lámpara de luz UV	- 37 -
2.5.8.2	Activación del catalizador.....	- 38 -
2.5.8.3	Preparación de las muestras	- 38 -
2.5.8.4	Proceso de fotorreducción	- 38 -
2.5.9	Prototipo a nivel de laboratorio para el tratamiento del STS proveniente de la Industria Florícola	- 39 -
2.5.9.1	Recolección y análisis del agua residual	- 39 -
2.5.9.2	Biooxidación del STS por biomasa bacteriana.....	- 39 -
2.5.9.3	Bioadsorción	- 40 -
2.5.9.4	Desorción de plata contenida en pellets del hongo.....	- 40 -
2.5.9.5	Fotorreducción con luz UV.....	- 41 -
CAPITULO 3: RESULTADOS		- 42 -
3.1	BIOMASA FÚNGICA.....	- 42 -
3.1.1	Cultivo del hongo <i>C. cladosporioides</i>	- 42 -

3.1.2	Formación de pellets del hongo	- 42 -
3.2	ADSORCIÓN DEL CATIÓN PLATA POR PELLETS DEL HONGO.....	- 43 -
3.2.1	Diseño Completamente al Azar (DCA) aplicado al proceso de adsorción	- 45 -
3.2.1.1	Contraste de Levene para la homogeneidad de varianzas.....	- 45 -
3.2.2	Análisis de varianza ANOVA aplicado al proceso de adsorción.....	- 46 -
3.2.2.1	Prueba de Tukey aplicada al proceso de adsorción	- 46 -
3.3	DESORCIÓN DEL CATIÓN PLATA CONTENIDO EN PELLETS DEL HONGO.....	- 47 -
3.3.1	Modelo 2 – factorial dispuesto en un Diseño Completamente al Azar (DCA) ..	- 48 -
3.3.1.1	Contraste de Levene para la homogeneidad de varianzas.....	- 49 -
3.3.1.2	Análisis de varianza del modelo 2 – factorial 4x3	- 50 -
3.3.1.3	Medias marginales de los porcentajes de desorción	- 51 -
3.3.1.4	Prueba de Tukey aplicada al proceso de desorción	- 52 -
3.3.1.5	Gráfico de perfil.....	- 53 -
3.4	REGENERACIÓN DE PELLETS DEL HONGO	- 54 -
3.5	REDUCCIÓN DEL CATIÓN PRESENTE EN LA SOLUCIÓN REGENERANTE	- 56 -
3.5.1	Electrólisis de la solución regenerante.....	- 56 -
3.5.2	Fotorreducción con luz UV de la solución regenerante	- 58 -
3.6	PROTOTIPO A NIVEL DE LABORATORIO PARA EL TRATAMIENTO DEL STS PROVENIENTE DE LA INDUSTRIA FLORÍCOLA.....	- 61 -
3.6.1	Caracterización del agua residual de florícola	- 61 -
3.6.2	Biooxidación del tiosulfato de plata (STS) con Tungurahua 1	- 62 -
3.6.3	Adsorción del catión plata en pellets del hongo.....	- 62 -
3.6.4	Desorción del catión plata contenido en pellets del hongo con HNO ₃ – 4N.....	- 63 -
3.6.5	Fotorreducción con luz UV de la solución regenerante	- 64 -
	CAPITULO 4: DISCUSIÓN.....	- 66 -
4.1	BIOMASA EN PELLETS DEL HONGO <i>C. CLADOSPORIODES</i>	- 66 -
4.2	ADSORCIÓN DEL CATIÓN PLATA POR PELLETS DEL HONGO.....	- 66 -
4.2.1	Análisis estadístico aplicado al proceso de adsorción.....	- 68 -
4.3	DESORCIÓN DEL CATIÓN PLATA CONTENIDO EN PELLETS DEL HONGO.....	- 68 -
4.3.1	Análisis Estadístico del modelo 2 – factorial dispuesto en un Diseño Completamente al Azar para la desorción	- 71 -
4.4	MÚLTIPLES CICLOS DE ADSORCIÓN – DESORCIÓN DE LOS PELLETS DEL HONGO ...	- 72 -
4.5	REDUCCIÓN DEL CATIÓN PLATA DISUELTO EN LA SOLUCIÓN REGENERANTE ...	- 72 -
4.5.1	Electrólisis de la solución regenerante.....	- 72 -
4.5.2	Fotorreducción con luz UV de la solución regenerante	- 73 -
4.6	PROTOTIPO A NIVEL DE LABORATORIO PARA EL TRATAMIENTO DEL STS PROVENIENTE DE LA INDUSTRIA FLORÍCOLA	- 75 -

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES	- 77 -
CAPITULO 6: RECOMENDACIONES	- 79 -
BIBLIOGRAFÍA	- 80 -
ANEXOS	- 92 -

LISTADO DE CUADROS

Cuadro 1.1 División Taxonómica del género *Cladosporium*..... - 10 -

LISTADO DE TABLAS

Tabla 2.1	Descripción de los tratamientos utilizados en la etapa de regeneración	30 -
Tabla 3.1	Bioadsorción de plata por pellets del hongo.....	44 -
Tabla 3.2	Estadística descriptiva de los datos aplicados al proceso de adsorción.....	45 -
Tabla 3.3	Contraste de Levene para la homogeneidad de varianzas.....	45 -
Tabla 3.4	ANOVA para el DCA con los porcentajes de adsorción de plata	46 -
	efectuado por pellets del hongo.	46 -
Tabla 3.5	Prueba de Tukey para la comparación de medias en el	46 -
	proceso de adsorción.	46 -
Tabla 3.6	Estadística Descriptiva de los datos aplicados al diseño 2 factorial.	49 -
Tabla 3.7	Contraste de Levene para la homogeneidad de varianzas.....	49 -
Tabla 3.8	ANOVA para el experimento 2- Factorial realizado con los porcentajes de	50 -
	desorción del catión plata contenido en hongos pelletizados.....	50 -
Tabla 3.9	Medias estimadas del porcentaje de desorción del catión plata	51 -
	contenido en hongos pelletizados.....	51 -
Tabla 3.10	Medias estimadas del porcentaje de desorción del catión plata	51 -
	contenido en hongos pelletizados para el tipo de regenerante.	51 -
Tabla 3.11	Medias estimadas del porcentaje de desorción del catión plata	52 -
	contenido en hongos pelletizados para la interacción: concentración - regenerante.....	52 -
Tabla 3.12	Prueba de Tukey para la similitud de medias evaluando el porcentaje de	52 -
	desorción del catión plata contenido en hongos pelletizados.....	52 -
Tabla 3.13	Prueba de Tukey para la similitud de medias evaluando el porcentaje de desorción del catión plata contenido en hongos pelletizados aplicando diferentes regenerantes.....	53 -
Tabla 3.14	Desorción con HNO ₃ – 4N.....	54 -
Tabla 3.15	Adsorción del catión plata por <i>C. cladosporioides</i> durante dos ciclos	55 -
Tabla 3.16	Caracterización del agua residual proveniente de la Finca La Mora, Esmeralda Hilsea Investment.....	61 -
Tabla 3.17	Concentración del catión plata Ag ⁺ , en cada proceso del tratamiento del agua contaminada con STS	65 -

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1 Principios básicos involucrados en la eliminación/recuperación de metales de soluciones acuosas por biomasa microbiana	- 2 -
Figura 1.2 Mecanismos de Interacción entre metales pesados y microorganismos.	- 8 -
Figura 1.3 Componentes de la pared celular en el género <i>cladosporioides</i>	- 11 -
Figura 1.4 Electrodeposición de plata	- 17 -
Figura 1.5 Procesos que ocurren en la interfaz semiconductor-electrolito bajo iluminación UV	- 20 -
Figura 1.6 Niveles electrónicos resultante del enlace entre átomos idénticos (A) Orbitales moleculares resultantes del solapamiento de dos átomos, cada uno con un único orbital atómico (B) Cadenas de 4, 6 y n átomos (C) Densidad de estados de energía (DEE) para una cadena infinita de átomos	- 23 -
Figura 1.7 Estructura de bandas y distribución de electrones (A) Metal a 0K (B) Semiconductor intrínseco a 0 K (C) Esquema simplificado para semiconductor intrínseco a 0K y (D) A T » 0K. El griseado indica los estados ocupados por electrones	- 24 -
Figura 1.8 Posición relativa de los bordes de la banda de conducción y de valencia de algunos semiconductores	- 26 -
Figura 2.1 Cepa pura de <i>Cladosporium cladosporioides</i>	- 31 -
Figura 2.2 Formación de pellets del hongo <i>Cladosporium cladosporioides</i>	- 32 -
Figura 2.3 (A) Proceso de filtrado(B) Recolección de pellets del hongo en tubos eppendorf - 33 -	- 33 -
Figura 2.4 Medición de plata en el Espectrofotómetro de AA.	- 35 -
Figura 2.5 Celda electrolítica	- 37 -
Figura 2.6 Etapa de activación del TiO ₂	- 38 -
Figura 2.7 Prototipo para el tratamiento del agua residual de florícola	- 41 -
Figura 3.1 (A) Cultivo en medio PDA inclinado. (B) Vista al estereoscopio del cultivo sembrado en estriado.	- 42 -
Figura 3.2 (A) Formación de pellets del hongo en erlenmeyers.	- 43 -
(B) Estructura de pellets del hongo vista al estereoscopio	- 43 -
Figura 3.3 Isotherma de Adsorción del catión plata por <i>C. cladosporioides</i>	- 43 -
Figura 3.4 Eficiencia de adsorción del catión plata con <i>C. cladosporioides</i>	- 44 -
Figura 3.5 Perfil de desorción de plata contenida en pellets del hongo	- 47 -
<i>C. cladosporioides</i>	- 47 -
Figura 3.6 Porcentajes de desorción del catión plata contenido en pellets del hongo	- 48 -
aplicando cuatro soluciones regenerantes.	- 48 -
Figura 3.7 Gráfico de perfil del tratamiento: concentración – regenerante para la	- 54 -
desorción de plata contenida en pellets del hongo	- 54 -

Figura 3.8 (A) Pellets del hongo en el proceso de adsorción. (B) Pellets del hongo luego de aplicar la solución regenerante $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$	55 -
Figura 3.9 Electrólisis aplicando diferente intensidad de corriente directa.	56 -
Figura 3.10 Cinética de electrólisis de la solución regenerante.	57 -
Figura 3.11 Electrodeposición de plata en el electrodo de grafito	57 -
Figura 3.12 Porcentajes de reducción del catión plata a través de electrólisis	58 -
Figura 3.13 Efecto de la luz UV y del catalizador TiO_2 , en la reducción del catión plata contenido en la solución regenerante	59 -
Figura 3.14 Cinética de fotorreducción empleando diferentes cantidades de TiO_2	59 -
Figura 3.15 Cinética de fotorreducción con luz UV de la solución regenerante	60 -
a diferentes concentraciones de plata.	60 -
Figura 3.16 Porcentajes de reducción del catión plata presente en la solución regenerante mediante fotorreducción con luz UV.	61 -
Figura 3.17 Biooxidación del STS en el tratamiento del agua residual en un RCM.....	62 -
Figura 3.18 Variación de la concentración del catión plata en el proceso de adsorción del tratamiento del STS proveniente de la Industria Florícola.	63 -
Figura 3.19 Variación de la concentración del catión plata en el proceso de desorción del tratamiento del STS proveniente de la Industria Florícola.	63 -
Figura 3.20 Variación de la concentración de plata en el proceso de fotorreducción del tratamiento del STS proveniente de la Industria Florícola	64 -
Figura 4.1 Bioadsorción del catión plata sobre la pared celular de <i>C. cladosporioides</i>	67 -
en forma de pellets	67 -
Figura 4.2 Mecanismo de desorción del catión plata efectuado en la pared celular del hongo <i>C. cladosporioides</i> en forma de pellets con diferentes soluciones como regenerantes (A) $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} - 0,02\text{N}$ y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 1\text{N}$ (B) $\text{NaCl} - 1\text{N}$ (C) $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$	70 -

LISTADO DE ANEXOS

Anexo A: Medios para el cultivo de <i>C.cladosporioides</i>	- 92 -
Anexo B: Prototipo para el tratamiento del agua residual de florícola.....	- 93 -
Anexo C: Medio de cultivo para la bacteria Tungurahua 1	- 93 -
Anexo D: Población muestreada en el proceso de Adsorción.....	- 95 -
Anexo E: Factores intersujetos	- 96 -
Anexo F: Población muestreada en el proceso de Desorción	- 97 -

RESUMEN

La industria florícola en el Ecuador utiliza el tiosulfato de plata (STS) con el fin de conservar las flores de verano, pues este agente químico retarda el envejecimiento de las flores al inhibir la producción de etileno. Este proceso es fundamental en la comercialización de las flores ya que cerca del 88% de la producción se destina para la exportación. Sin embargo, el STS es un potente productor de daños ambientales. Por este motivo, es necesario buscar un tratamiento innovador para la eliminación del STS proveniente de las aguas de post-cosecha. El tratamiento consiste de tres etapas. La primera etapa comprende la biooxidación del STS usando bacterias nativas. En la segunda etapa, se emplean pellets del hongo *C. cladosporioides* para capturar el catión plata. El presente estudio investiga la tercera etapa del tratamiento e incluye la evaluación de la eficiencia de regeneración de los pellets del hongo y el proceso abiótico para recuperar la plata en su estado elemental desde la solución regenerante gastada. Mediante ensayos de equilibrio se ha establecido que la máxima adsorción del catión plata es de 16 mg/g de hongo húmedo. Mientras que aplicando el análisis estadístico ANOVA – 2 factorial, se determinó que el $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$, es la solución regenerante con la que se logra recuperar un 70% de la plata contenida en pellets del hongo. En la reducción de la plata elemental se utilizaron dos procesos: electrólisis y fotorreducción con óxido de titanio y luz ultravioleta. Los resultados obtenidos con ambos procesos muestran que la plata es reducida en el 70,7% con electrólisis y 83,5% con fotorreducción. El escalamiento del tratamiento en un prototipo de laboratorio se llevó a cabo usando biorreactores grandes y empleando agua residual de florícola. La eficiencia total del proceso es bastante buena de manera que basado en estos resultados, se podría recomendar el dimensionamiento, construcción, instalación y operación de una planta prototipo en una florícola que utilice el STS en la etapa de post- cosecha.

ABSTRACT

In Ecuador, the flower industry uses silver thiosulfate (STS) in order to preserve summer flowers because this chemical has the ability to delay flower oldness as it inhibits ethylene production. This process is needed for flowers' commercialization because almost 88% of its production goes to exportation. Nevertheless, STS is a powerful producer of environmental damages. For this reason it is necessary to search for a novel treatment for STS elimination. The proposed treatment contains three steps. The first deals with the biooxidation of STS using native bacteria. In the second step, pellets of fungi *C. cladosporioides* are used to capture silver ion. In this study, the third phase of the treatment is investigated. It includes the assessment of the regeneration efficiency of fungi pellets as well as the abiotic process to recover metallic silver from the spent regeneration solution. Through equilibrium tests, it has been established that the maximum silver adsorption capacity is 16 mg/g of wet fungi (16 mg/g). While by applying statistical analysis: ANOVA – 2 factorial, it was determined that with a solution of 4N-HNO₃, 70% desorption of silver, retained within fungi pellets, is reached. In the reduction of metallic silver were used two processes: electrolysis and fotoreduction with titanium oxide and ultraviolet light. The results of both processes show that silver is reduced in 70.7% with electrolysis and 83.5% with fotoreduction. The scaling of the treatment in a laboratory prototype was performed using large bioreactors with residual water from the flower industry. The whole process efficiency is good so that based on these results; it would be excellent idea to recommend the sizing, construction, installment and operation of a prototype plant in any flower industry that uses STS in the post-harvest stage.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Formulación del problema

¿Cómo solucionar el problema generado por la dispersión de contaminantes químicos en el medio ambiente? La respuesta es lo que llamamos biorremediación. Para definir este término podemos decir que es el uso intencional de microorganismos para la descontaminación y detoxificación de contaminantes químicos vertidos con conocimiento o accidentalmente en el medio ambiente.

La industria florícola en el Ecuador utiliza el tiosulfato de plata (STS) en la etapa de post – cosecha para prolongar la vida de las flores de verano, que son sensibles al etileno, una hormona que es responsable de la senescencia de la flor. La plata que forma parte del tiosulfato de plata, actúa inhibiendo la producción de dicha hormona. Este proceso es indispensable para una mejor longevidad floral, ya que cerca del 88% de la producción se destina para la exportación; sin embargo los tratamientos anti-etilénicos con el catión plata implican contaminación (Superintendencia de Bancos y Seguros, 2006).

En el Centro de Investigaciones Científicas de la ESPE, se está trabajando en un proyecto para biorremover el STS desde las aguas residuales proveniente del tratamiento en post – cosecha para flores sensibles al etileno, empleando microorganismos. Las dos primeras etapas del proyecto han logrado biooxidar el tiosulfato de plata con bacterias nativas y bioadsorber la plata en el hongo *Cladosporium cladosporioides*; sin embargo todavía no se ha resuelto el problema de contaminación con plata, porque este catión ha sido únicamente inmovilizado temporalmente en pellets del hongo y con el peligro de que ocurra una desorción del catión, si los hongos son abandonados a la intemperie sin ningún confinamiento seguro se hace necesario la aplicación de una tercera etapa, en la que se pretende recuperar la plata acumulada en los hongos empleando una solución regenerante y reducir el catión plata al estado elemental (Cumbal *et al.*, 2008).

El tratamiento integral de estas aguas residuales, Figura 1.1 es una alternativa biotecnológica bastante prometedora ya que muchas empresas florícolas ecuatorianas a pesar de estar afiliadas a FlorEcuador, un programa de autogestión que busca alcanzar el cumplimiento de normas sociales y ambientales en fincas florícolas del Ecuador, no cuentan con una planta de tratamiento para este tipo de aguas; sin embargo las mismas empresas que comercializan el químico sugieren la precipitación y posterior separación utilizando filtros de vehículos hasta saturarlos. Esto no resuelve el problema ya que la plata únicamente pasa de una fase líquida a una sólida; en consecuencia es necesaria la búsqueda de métodos de eliminación de la plata como contaminante. Por ejemplo, provocar el cambio en su estado de oxidación de +1 a 0 ya que esta forma es inocua para el ambiente.

Por otra parte, la Legislación Ambiental Ecuatoriana sugiere que los límites máximos de descarga de agua contaminada con plata proveniente de la Industria Florícola, sea 0,5 mg/L para alcantarillado y para otros causas de agua 0,1 mg/L (FlorEcuador, 2008).

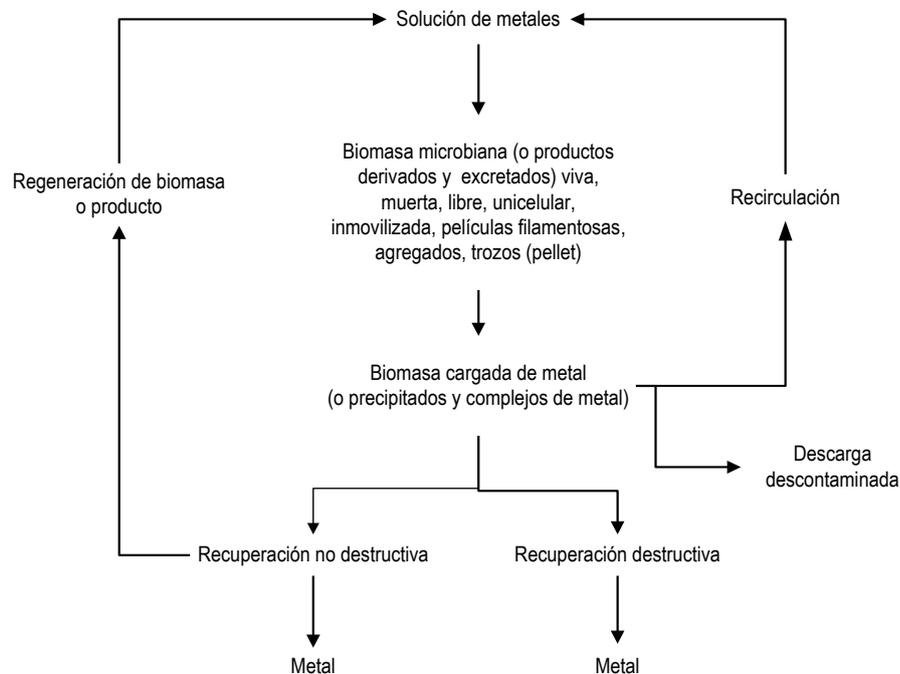


Figura 1.1 Principios básicos involucrados en la eliminación/recuperación de metales de soluciones acuosas por biomasa microbiana (Cañizares, 2000).

1.2 Justificación del problema

En estado catiónico (Ag^+) la plata es liberada al medio ambiente como resultado de las actividades naturales y antropogénicas, puede viajar grandes distancias a través del aire y del agua. La lluvia arrastra los compuestos de plata que se encuentran en los suelos hasta llegar a contaminar agua superficial y subterránea. Debido a la recalcitrancia de la plata y su permanencia en medios sólidos y acuáticos, ha provocado la contaminación de aguas de consumo humano (Cañizares, 2000).

En las florícolas ecuatorianas, la plata forma parte del tiosulfato de plata ($\text{S}_2\text{O}_3\text{Ag}_2$) compuesto que es muy utilizado en la etapa de post – cosecha de las flores, principalmente para la conservación de gypsophila, en donde actúa retardando el envejecimiento de la flor y además confiere ciertas características importantes de comercialización (Verdugo *et al.*, 2003).

Los compuestos de plata pueden teñir de gris o de gris azulado algunas partes de la piel o de los tejidos del cuerpo, esta enfermedad se llama "argiria" y ocurre en personas que ingieren o inhalan compuestos de plata durante mucho tiempo (varios meses o muchos años). No obstante solo se considera un problema cosmético. Un estudio con animales reporta que la exposición prolongada (125 días) a niveles moderadamente altos de nitrato de plata en el agua para beber puede tener un ligero efecto en el cerebro, ya que los animales que estuvieron expuestos se comportaban de una manera menos activa que aquellos que tomaron agua sin plata. Otro estudio encontró que algunos de los animales que bebieron agua con niveles moderados de plata durante la mayor parte de sus vidas (9 meses o más) tenían el corazón más grande que lo normal. No se sabe todavía si estos efectos ocurrirían en los seres humanos. Algunos estudios en los sitios de trabajo indican que la plata causa problemas en los riñones, pero se necesita estudiar a más personas expuestas a la plata para determinar si este metal es el causante de esos efectos (ATSDR, 1990; Sánchez & Barahona, 2000).

La oxidación del STS empleando bacterias nativas logra en primera instancia la ruptura del quelato. Por una parte, el tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$), se oxida a sulfato o azufre elemental, por la otra, el catión plata (Ag^+), es liberado a la fase acuosa. Empleando el hongo *Cladosporium cladosporioides* dicha plata es capturada de la solución mediante un proceso netamente físico, la bioadsorción. A fin de complementar el tratamiento del agua residual que contiene el tiosulfato de plata, es necesario transformar el catión plata contenido en los hongos a su estado elemental. Este proceso emplea una solución regenerante que causa la desorción del catión desde los hongos y por medio de dos mecanismos: la electrólisis y la fotorreducción se obtiene plata en su estado elemental.

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general del proyecto

Reducir el catión plata presente en la solución regenerante aplicada al hongo *Cladosporium cladosporioides* empleado en el proceso de biorremoción del tiosulfato de plata (STS) contenido en el agua residual proveniente del tratamiento en post – cosecha para flores sensibles al etileno.

1.3.2 Objetivos específicos

1.3.2.1.1 Mantener la cepa fúngica del hongo *Cladosporium cladosporioides*.

1.3.2.1.2 Pelletizar hongos de *Cladosporium cladosporioides* para la bioadsorción del catión plata.

1.3.2.1.3 Encontrar una solución regenerante que permita recuperar de los hongos bioadsorbentes la mayor cantidad de plata.

1.3.2.1.4 Diseñar y experimentar un sistema basado en el concepto de electrólisis para reducir el catión plata.

1.3.2.1.5 Diseñar y experimentar un sistema basado en la oxidación fotocatalítica de la plata utilizando luz UV.

1.4 Marco Teórico

1.4.1 Plata

En el grupo Ib de la tabla periódica se sitúa la plata, de símbolo Ag, un metal de transición de color blanco brillante. Se encuentra en la naturaleza formando parte de distintos minerales generalmente en forma de sulfuro o como plata libre, si bien es cierto que es un elemento básico que conforma nuestro planeta, no obstante es escaso, su presencia representa una parte en diez millones de corteza terrestre, de este modo su producción se la obtiene como subproducto del tratamiento de las minas de cobre, zinc, plomo y oro. Desde el punto de vista químico es un metal muy dúctil y maleable, posee una de las más altas conductividades eléctricas y térmicas, por ello es considerado un conductor por excelencia, posee el color más blanco y el mayor índice de refracción. Desde el punto de vista comercial es uno de los metales más útiles, de la producción mundial de plata aproximadamente el 70% se emplea en Orfebrería, el resto se lo utiliza en la Industria Fotográfica, Química, Medicina y Eléctrica (Monge *et al.*, 2008; Baird, 2001).

1.4.2 Elementos traza

Entre los elementos traza potencialmente tóxicos se encuentran: cromo Cr y plata Ag (metales de transición), arsénico As (metaloide) y selenio Se (no metal). Estos elementos y algunos contaminantes orgánicos son considerados como tal ya que tienen la capacidad de permanecer en los ecosistemas, es decir, aunque dejen de ser adicionados, la cantidad ingresada no disminuye (Revenga *et al.*, 2005).

La característica principal de los elementos traza es que, desde que alcanzan un ecosistema, hasta que ejercen efectos en los organismos sufren procesos complejos, regulados por múltiples variables frecuentemente interconectadas. Dichos procesos tienen lugar en el interior y exterior de los organismos. En las aguas naturales pueden asociarse a ligantes orgánicos e inorgánicos para formar complejos. La calidad y cantidad de las especies

químicas están influidas por factores físicos (temperatura del agua, presión atmosférica) y químicos (dureza, alcalinidad, pH) y condicionan, a su vez la biodisponibilidad (susceptibilidad para ser absorbidos por los organismos) y la toxicidad de un elemento (Revengea *et al.*, 2005).

La principal fuente de contaminación con plata es la Industria Fotográfica, en el proceso de revelado fotográfico, fijación, estabilización, blanqueado, se generan residuos líquidos que contienen plata en distintas formas y concentraciones. Diferente configuración de plata promueven diferentes grados de toxicidad, la plata soluble en agua y que no está unida a ningún otro átomo mientras está en solución, es la forma más tóxica, por lo contrario los compuestos que no producen una concentración considerable de plata sin unión en el agua son de muchos órdenes y de magnitud menos tóxica (Kodak, 1999).

1.4.3 Inmovilización de metales por microorganismos

Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y microorganismos tolerantes a metales. Los resistentes se caracterizan por poseer mecanismos de detoxificación codificados genéticamente, inducidos por la presencia del metal. En cambio, los tolerantes son indiferentes a la presencia o ausencia de metal. Tanto los microorganismos resistentes como tolerantes son de particular interés como captadores de metales pesados en sitios contaminados, debido a que ambos pueden extraer los contaminantes. La resistencia o tolerancia experimentada por microorganismos es posible gracias a la acción de diferentes mecanismos (Vullo, 2003).

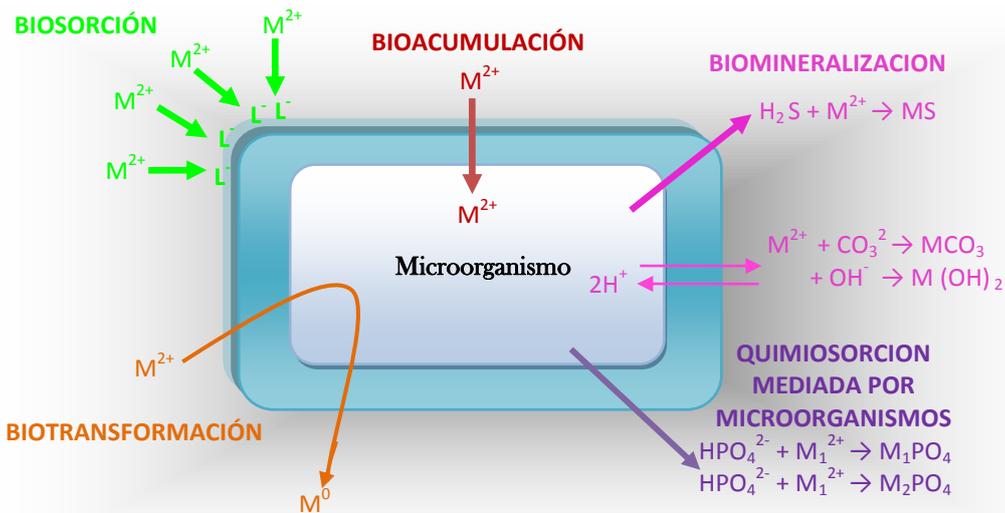


Figura 1.2 Mecanismos de Interacción entre metales pesados y microorganismos (Vullo, 2003).

La bioacumulación, involucra un sistema de transporte de membrana que internaliza al metal presente en el entorno celular con gasto de energía. Este consumo energético se genera a través del sistema $H^+ - ATPasa$. Una vez incorporado el metal pesado al citoplasma, éste es secuestrado por la presencia de proteínas ricas en grupos sulfhidrilos llamadas metalotioneínas o también puede ser internalizado dentro de una vacuola, como ocurre en hongos (Fernández, 2006; Lovley, 2000).

En la biomineralización, los microorganismos son capaces de precipitar metales y radionúclidos como carbonatos e hidróxidos, mediante un mecanismo de resistencia codificado en plásmidos. Este mecanismo aparece por el funcionamiento de una bomba que expulsa el metal tóxico presente en el citoplasma hacia el exterior celular en contracorriente a un flujo de H^+ hacia el interior celular. Esto produce una alcalinización localizada sobre la superficie celular externa y por lo tanto la precipitación del metal. Otra forma de precipitar los metales es a través de la formación de sulfuros o fosfatos, como resultado de alguna actividad enzimática celular (Soto, 2003; Sharma *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 1997).

La quimiosorción mediada por microorganismos, es un término que se utiliza para describir aquella clase de reacciones en donde los microorganismos biomineralizan un metal, formando un depósito primario. Este depósito primario funciona como núcleo de cristalización con la subsecuente deposición del metal de interés, promoviendo y acelerando así el mecanismo de mineralización (Lovley, 2000).

La biotransformación, es un proceso que involucra un cambio químico sobre el metal, como por ejemplo en el estado de oxidación o metilación. Esta transformación biológica de los metales pesados que resultan tóxicos mediada por enzimas microbianas puede dar como resultado compuestos poco solubles en agua o bien compuestos volátiles (Srinath *et al.*, 2002).

La biosorción se refiere a la sorción pasiva de los iones de metal por los grupos funcionales presentes en la superficie celular. Los microorganismos utilizados como biosorbentes, retienen los metales pesados a intervalos de tiempo relativamente cortos al entrar en contacto con soluciones de dichos metales (Gelber, 2004; Monge *et al.*, 2008; Vullo, 2003).

Los mecanismos de biosorción generalmente se basan en interacciones físico – químicas, como: interacciones electrostáticas, intercambio iónico, enlaces covalentes, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals con ligandos involucrados que incluyen grupos: carboxilo, hidroxilo, amino, fosfato y sulfhidrilos pertenecientes a componentes de la pared celular. El proceso es independiente del metabolismo ya que se trata de una naturaleza física, es un mecanismo de cinética rápido y reversible, requiere un mínimo de energía para la activación, 21 kJ/mol, no presenta una alta dependencia con la temperatura y en muchos casos puede estudiarse en detalle mediante la construcción de los modelos de isotermas de Langmuir y Freundlich (Navarro *et al.*, 2006; Vullo, 2003; Cartaya *et al.*, 2009).

1.4.4 Características generales de *Cladosporium cladosporioides*

Es un hongo cosmopolita, posee conidióforos de hasta 50 x 3 – 6 μm con cadenas ramificadas elipsoides o cilíndricas de extremos redondeados, se forman por gemación sucesiva del conidio anterior. Es de crecimiento lento, las colonias son planas, finamente vellosas, aterciopeladas de color verde oliva a pardo oliva, al reverso presentan un color negro oliva con una cicatriz. La temperatura óptima de crecimiento varía entre 18 y 28°C y se reproducen a valores de pH entre 4 – 8. Los conidios de *cladosporium* se encuentran en el aire libre en las zonas templadas del planeta y pueden encontrarse en la atmosfera a lo largo del año (Aira *et al.*, 2003; Allegrucci *et al.*, 2007; Zdybel *et al.*, 2005).

Cuadro 1.1 División Taxonómica del género *Cladosporium*

Reino:	Fungi
Phylum:	Ascomycota
Clase:	Dothideomycetes
Subclase:	Dothideomycetidae
Orden:	Capnodiales
Familia:	Mycosphaerellaceae
Género:	<i>Cladosporium</i>
Especie:	<i>C. cladosporioides</i>

Fuente: MycoBank, 2008

La pared celular fúngica está compuesta por sustancias químicas de diversa naturaleza, las cuales se describen a continuación:

- Sales orgánicas e inorgánicas:* Se encuentran en baja proporción, las sales orgánicas pueden encontrarse constituidas tanto por cationes como por aniones unidos a aniones o cationes inorgánicos respectivamente.
- Pigmentos:* Son de tipo melanina, suelen estar asociados a la quitina y están relacionados con la resistencia a la lisis celular.
- Lípidos:* Se encuentran en una proporción del 2 – 10%, son los encargados de dotar de flexibilidad y textura a la pared celular.
- Proteínas:* En general son glicoproteínas con una parte glucídica unida por medio de enlaces O – glucosídicos ó N – glucosídicos.

- e) *Glúcidos*: Constituyen más del 80% en peso de la pared celular. La composición química de estos polímeros, o sus combinaciones cambia según el grupo taxonómico de los diferentes hongos. (Castillo *et al.*, 2003; Neuro, 1995; Vega, 2006).

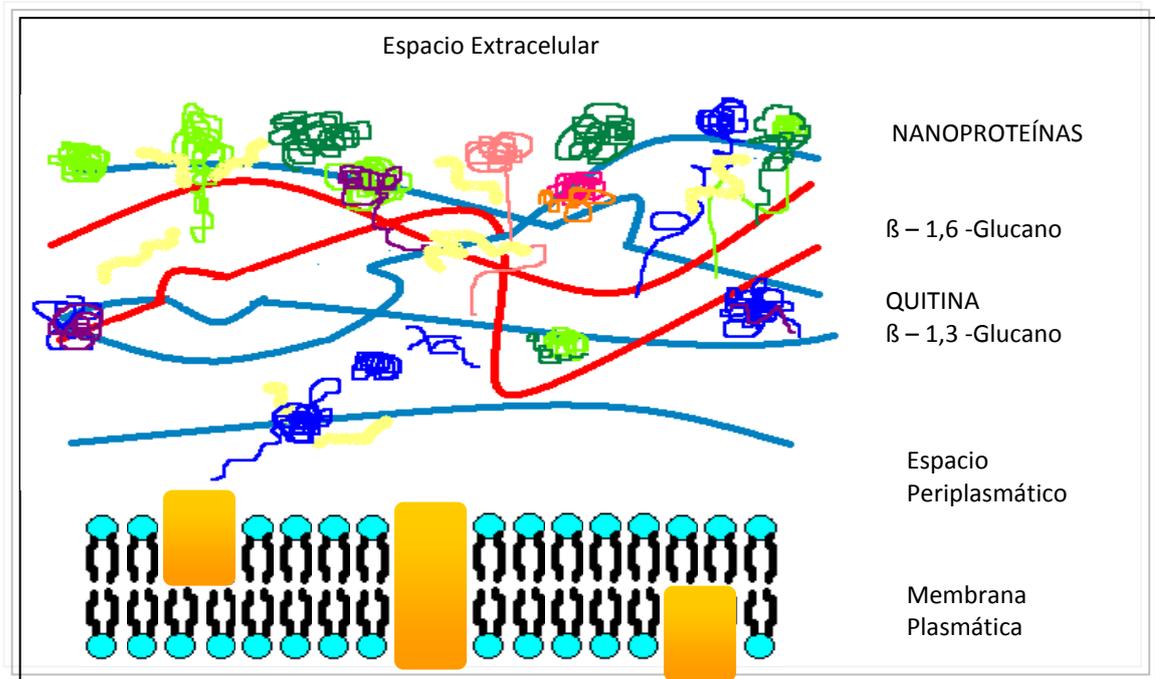


Figura 1.3 Componentes de la pared celular en el género *cladosporioides* (Castillo *et al.*, 2003)

1.4.5 Desorción

La desorción es el proceso contrario a la adsorción, es la eliminación de materia desde un medio adsorbente usualmente para recuperar el material adsorbido (Parra & Espinoza, 2007).

En las interacciones metal – biomasa las paredes externas de los microorganismos captan los metales hasta un punto de saturación y puede darse reversibilidad de las reacciones de adsorción frente a diferentes fenómenos, de ahí que se tiene una idea de la fuerza de asociación del metal con la superficie celular (Sánchez *et al.*, 2003).

1.4.6 Mecanismos para la reducción de plata

1.4.6.1 Electrólisis

La electrólisis es un método de separación de los elementos que forman un compuesto a través de una reacción química en la que uno de los agentes reactivos es la electricidad. El proceso consiste en disolver una sustancia de un determinado disolvente, con el fin de que los iones que constituyen dicha sustancia estén presentes en la disolución, posteriormente se aplica una corriente eléctrica a un par de electrodos conductores sumergidos en la disolución. El electrodo cargado negativamente se conoce como cátodo y el cargado positivamente como ánodo (Senent, 1991).

1.4.6.1.1 Celda electrolítica

Una celda electrolítica es un recipiente que consta de un líquido conductor llamado solución electrolítica; además de dos electrodos de composición similar. La celda como tal no sirve como fuente de energía eléctrica, pero puede conducir corriente desde una fuente de poder externa. Al hacer pasar la corriente eléctrica cada electrodo atrae los iones de carga opuesta, es decir los iones positivos de la solución se mueven hacia el cátodo y los iones negativos hacia el ánodo. La reducción ocurre en el cátodo y la oxidación en el ánodo (Blog Electrónica, 2008).

Por ejemplo, en la electrólisis de una solución de cloruro de sodio NaCl, el número de oxidación del cloro pasa de -1 a 0 en el ánodo, y en el cátodo el número de oxidación del sodio pasa de +1 a 0. Cuando se da la oxidación de manera simultánea se da la reducción, mediante este proceso se obtiene sodio metálico y gas cloro (Senent, 1991; Blog Electrónica, 2008).

1.4.6.1.2 Leyes de la electrólisis

El cambio químico efectuado por la electrólisis tiene grandes analogías con las reacciones químicas normales por lo que se puede considerar que es un balance de materia, un balance de energía y un proceso que se desarrolla con un determinado mecanismo (Senent, 1991).

Las leyes que regulan el balance y la estequiometría del proceso las formuló Michael Faraday en el año 1833, la Primera Ley establece que “La masa de un producto obtenido o de reactivo consumido durante la reacción en un electrodo es proporcional a la cantidad de carga que ha pasado a través del circuito”, en la Segunda Ley se establece que “La cantidad de sustancia transformada, a igualdad de intensidad y tiempo, depende de la naturaleza de la misma y es proporcional a su equivalente electroquímico”. Con estos dos enunciados se puede calcular la cantidad de energía para reducir un equivalente gramo de una sustancia (Requeijo *et al.*, 2002; Bustos, 2000; Cantos, 2001).

El equivalente electroquímico es la masa de sustancia que se transforma al paso de un coulombio de electricidad y se puede determinar como el cociente entre el equivalente químico de la misma y el número de Faraday ($F = 96.490$ coulombios). Desde el punto de vista molecular esta cantidad de electricidad equivale a la que aporta un número de electrones igual a la constante de Avogadro y es la carga que debe existir en el equivalente gramo de cualquier especie iónica (Requeijo *et al.*, 2002; Mantell & Fernández, 1980; Donald *et al.*, 1984).

$$\text{Equivalente químico} \frac{\text{masa atómica}}{\text{valencia}} = \left[\frac{g}{\text{Equi} - g} \right] \quad (\text{Ecuación 1.1})$$

$$\text{Equivalente electroquímico} = \frac{\text{equivalente químico}}{96.500} = \left[\frac{g}{\text{Equi} - g \times C} \right] \quad (\text{Ecuación 1.2})$$

La unidad eléctrica que se emplea en física es el coulombio (C). Un coulombio se define como la cantidad de carga que atraviesa un punto determinado cuando se hace pasar un amperio de corriente durante un segundo (Garritz & Chamizo, 2001; Donald *et al.*, 1984).

$$\text{Intensidad (A)} = \text{Coulombio} = \text{Amperio} \times \text{segundo} \quad (\text{Ecuación 1.3})$$

Para que se produzca electrólisis hay que consumir una cierta cantidad de energía en forma de energía eléctrica, igual al producto de la cantidad de electricidad suministrada por la diferencia de potencial aplicada entre los electrodos. Aunque el circuito electroquímico tiene una determinada resistencia y parece lógico que la intensidad aumente con la tensión aplicada entre los electrodos, normalmente se observa, que no existe proporcionalidad entre ambas, lo que indica que en el conductor electroquímico no se cumple la ley de Ohm, sino que para tensiones bajas no se produce paso perceptible de corriente ni electrólisis y que es necesario aplicar una tensión determinada en cada caso para que este paso ya sea apreciable (Senent, 1991).

Al valor mínimo de la tensión de electrólisis se le llama tensión de descomposición y la razón de que exista este mínimo se debe al fenómeno de polarización que se produce tanto en el electrolito (polarización de concentración) como en los electrodos. La existencia de la polarización motiva a que la electrólisis se produzca siempre con un rendimiento energético no completo, porque mientras la cantidad de sustancias transformadas depende de la cantidad de electricidad (o sea, del producto de la intensidad por el tiempo), la energía consumida depende del producto de esta cantidad de electricidad por el voltaje aplicado, el cual será más alto cuanto mayor sea el grado de polarización. Ésta es la razón por la cual debe realizarse la electrólisis mediante polarización lo más baja posible, agitando el líquido, empleando electrodos de gran superficie y en algunos casos sustancias llamadas despolarizantes (Senent, 1991).

1.4.6.1.3 Fundamentos de la electrólisis de una solución de plata

Con un ejemplo se explica el fundamento de electrólisis de una solución de plata, en el que se calcula los coulombios necesarios para depositar en el cátodo 30 g de plata cuando se hace pasar una corriente de 0,5A, a través de una solución de nitrato de plata $\text{AgNO}_3 - 0,1\text{M}$, durante 2 horas (Pau, 2002).

Cálculo del equivalente químico de la sustancia que se está transformando:

$$\text{Plata} = \frac{107,8\text{g}}{1\text{Equi} - \text{g}} = 107,8 \text{ g / Equi} - \text{g} \quad (\text{Ecuación 1.4})$$

De acuerdo con las leyes de la electrólisis, si 96.500 coulombios depositan 107,8 g/Equi – g, con 30 gramos de plata, cuántos coulombios se requerirá aplicar al sistema:

$$\begin{aligned} 96.500 \text{ C} &\rightarrow 107,8 \text{ g / Equi} - \text{g} \\ 30 \text{ g} &\rightarrow 26.855,2\text{C} \end{aligned} \quad (\text{Ecuación 1.5})$$

Si se hace pasar una corriente de 0,5 A, a través de 1L de disolución de $\text{AgNO}_3 - 0,1\text{M}$ durante 2 horas. La masa de plata que se deposita en el cátodo, donde se produce la reducción es:



La cantidad de carga eléctrica que ha circulado por el sistema se calcula de la siguiente manera:

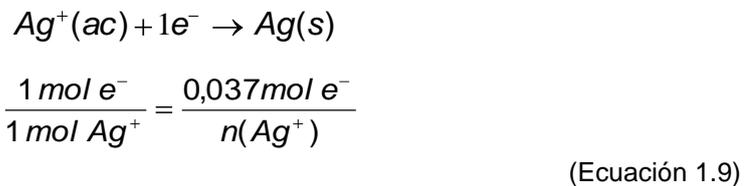
$$\begin{aligned} I &= 0,5\text{A} \\ A &= 0,5 \frac{\text{C}}{\text{s}} \\ t &= 2\text{h} \rightarrow 7200\text{s} \\ Q &= I \times t \\ Q &= 0,5 \frac{\text{C}}{\text{s}} \times 7200\text{s} \\ Q &= 3600\text{C} \end{aligned} \quad (\text{Ecuación 1.7})$$

$Q = 3600C$ esta carga eléctrica es transportada por una cantidad de sustancia de electrones $n(e^-)$; por otra parte $1F$ (Faraday) es la carga eléctrica que corresponde a una cantidad de sustancia de $1mol$.

$$\frac{mol e^-}{96500C} = \frac{n(e^-)}{3600C} \quad \text{(Ecuación 1.8)}$$

$$n(e^-) = 0,037mol e^-$$

La semireacción de reducción que ocurre en el sistema, permite realizar un cálculo químico, para determinar la cantidad de sustancia de plata que se deposita en el cátodo:



$$n(Ag^+) = 0,037mol Ag^+$$

Esta es la cantidad de plata que se deposita en el cátodo expresada en gramos:

$$n(Ag^+) = 4,00g Ag^+ \quad \text{(Ecuación 1.10)}$$

La concentración del catión plata que se queda en disolución cuando se finaliza la electrólisis, se determina tomando en cuenta la concentración del catión plata inicial en la reacción de disociación de la sal de nitrato de plata.



Si inicialmente se tiene $0,1 mol/L$ de nitrato de plata también se tiene $0,1 mol/L$ del catión plata y $0,1 moles$ del ión nitrato ya que la sal está totalmente disociada.

$$M(AgNO_3) = M(Ag) = 0,1 mol Ag / L \quad \text{(Ecuación 1.12)}$$

La concentración del catión plata que ha reaccionado y se ha depositado en el cátodo es:

$$M(\text{Ag}^+) = 0,037 \text{ mol Ag}^+ / \text{L} \quad (\text{Ecuación 1.13})$$

Al final del proceso electrolítico quedan especies sin reaccionar en la disolución:

$$\begin{aligned} M(\text{Ag}^+) &= (0,1 - 0,037) \text{ mol Ag}^+ / \text{L} \\ M(\text{Ag}^+) &= 0,063 \text{ mol Ag}^+ / \text{L} \end{aligned} \quad (\text{Ecuación 1.14})$$

Electrodeposición de plata llevada a cabo en una celda electrolítica, al aplicar una corriente de 0,5A en una solución de nitrato de plata $\text{AgNO}_3 - 0,1\text{M}$ durante 2 horas (Figura 1.4).

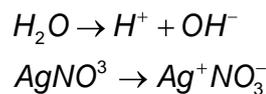
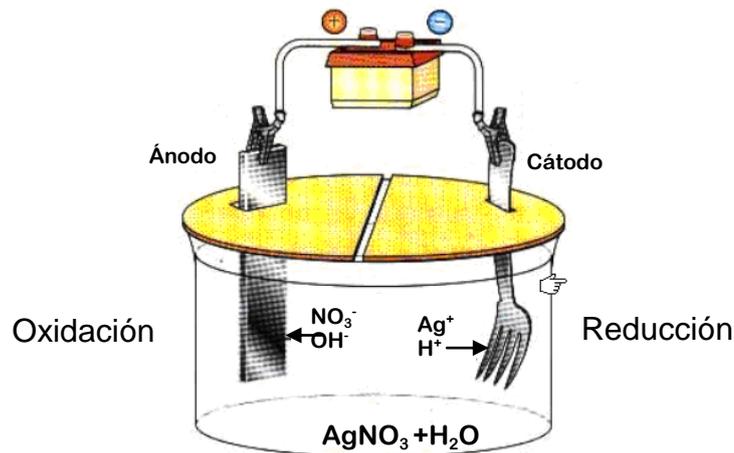


Figura 1.4 Electrodeposición de plata (Pau, 2002).

1.4.6.2 Fotocatálisis

La fotocatálisis se basa en procesos físico – químicos capaces de producir cambios profundos en la estructura química de los contaminantes, este proceso forma parte de las nuevas tecnologías avanzadas de oxidación TAO's (Soriano *et al.*, 2005; Rubiano & Laguna, 2004).

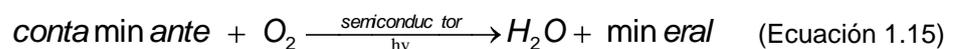
La fotocátalisis ha sido estudiada desde 1976, pero hasta mediados de los años 80 se plantea la posibilidad de aplicar estos procesos al tratamiento de aguas contaminadas. Desde ese momento dicho proceso se ha constituido en una excelente alternativa para el tratamiento de aguas contaminadas con compuestos orgánicos. Entre sus ventajas se encuentran:

- ✓ La facilidad para el tratamiento de mezclas de compuestos (el método no es selectivo).
- ✓ Los tiempos cortos para la remoción.
- ✓ La obtención de efluentes de óptima calidad.
- ✓ Sus bajos costos de operación.
- ✓ La fácil adaptación a diferentes condiciones.

Actualmente los estudios se enfocan en la búsqueda de valores óptimos para los diferentes parámetros que afectan el proceso fotocatalítico, siendo éstos: pH, temperatura, intensidad de radiación, diseño del reactor, naturaleza y concentración del contaminante y agentes oxidantes que puedan mejorar la reacción; además se estudia a detalle la cinética de reacción (Rubiano & Laguna, 2004).

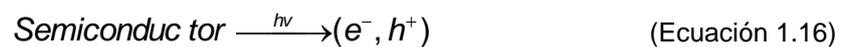
1.4.6.2.1 Fundamentos de la fotocátalisis heterogénea

Cuando se habla de fotocátalisis se hace referencia a una reacción catalítica que involucra la absorción de luz por parte de un catalizador o sustrato. En este caso se habla de fotocátalisis heterogénea porque las fotorreacciones transcurren en la superficie del catalizador (en la interfase líquido – sólido ó gas – sólido, respectivamente). La fotocátalisis heterogénea permite la degradación e incluso la mineralización de gran variedad de compuestos (Berny *et al.*, 2006).



El proceso se basa en la excitación de un sólido fotocatalizador sumergido en una solución, mediante la absorción de energía radiante (visible o ultravioleta), que origina unas reacciones simultáneas de oxidación y reducción en diferentes zonas de la región interfacial existente entre las dos fases del semiconductor (Peiró, 2003).

La etapa inicial del proceso consiste básicamente en la generación de pares (electrón – hueco) en las partículas de semiconductor. Cuando un fotón con una energía $h\nu$ que iguala o supera la energía del salto de banda del semiconductor, incide sobre éste, se promueve un electrón (e^-), de la banda de valencia (BV) hacia la banda de conducción (BC), generándose un hueco (h^+), en esta última banda (Peiró, 2003; Soriano *et al.*, 2005).



Los electrones que llegan a la banda de conducción pueden desplazarse dentro de la red del semiconductor. Así mismo, también se desplazan los lugares vacíos (huecos) que han quedado en la banda de valencia. La excitación puede ser directa o indirecta según la absorción se produzca directamente sobre el catalizador o las moléculas de algún compuesto depositado en la superficie de este, siendo el primer caso el más general y de mayor aplicabilidad, cuyo mecanismo se describe en el esquema de la Figura 1.5 (Rubiano & Laguna, 2004; Villaseñor, 2005).

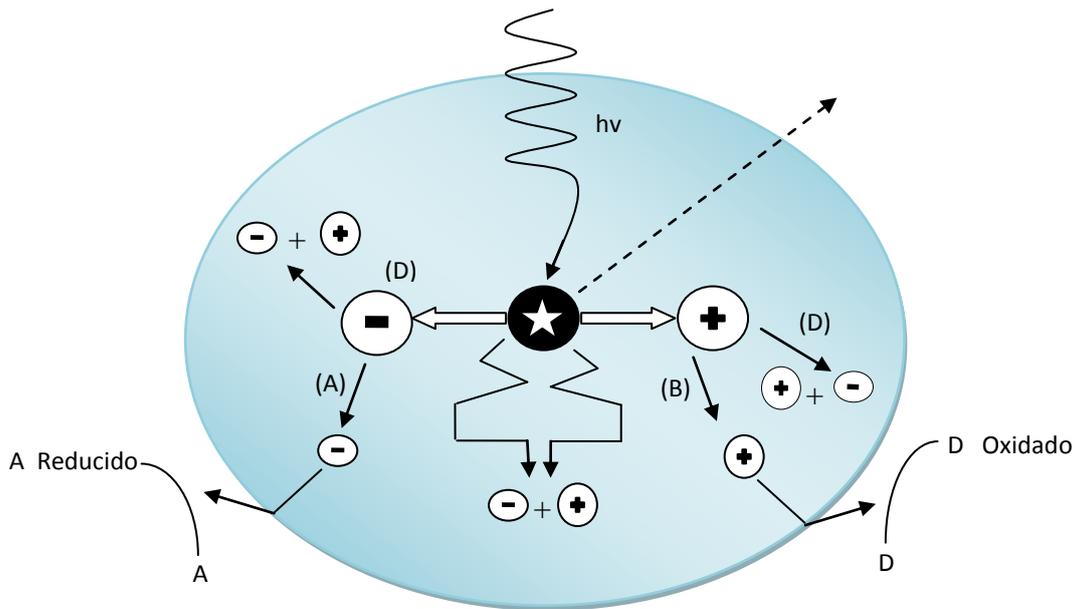


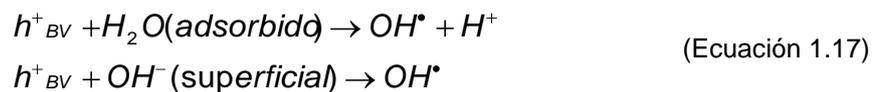
Figura 1.5 Procesos que ocurren en la interfaz semiconductor – electrolito bajo iluminación UV (Rubiano & Laguna, 2004).

Al absorberse un haz de luz suficientemente energético, se crean pares hueco – electrón, ellos deben migrar hacia la superficie y reaccionar con las especies allí adsorbidas, siguiendo diferentes caminos (Figura 1.5 A y B), en el transcurso de su corto tiempo de vida medio (dada su inestabilidad), después del cual, los pares que no logren reaccionar seguirán un proceso de recombinación acompañado de disipación de energía en forma de calor, que puede ocurrir tanto en la superficie como en el seno de la partícula (Figura 1.5 C y D). La fuerza impulsora del proceso de transferencia electrónica en la interfaz, es la diferencia de energía entre los niveles del semiconductor y el potencial redox de las especies adsorbidas (Rubiano & Laguna, 2004; Villaseñor, 2005).

Es importante señalar que la recombinación es perjudicial para la eficiencia de este proceso, dado que reduce el número de electrones y huecos que pueden ser transferidos a las especies adsorbidas en la superficie del semiconductor (Berny *et al.*, 2006).

La captura de un electrón por parte de una especie A genera un anión (A⁻); mientras que la captura de un hueco por parte de una especie D genera un catión (D⁺). Estos radicales son muy reactivos y pueden reaccionar entre ellos o con otros adsorbidos e incluso pueden difundirse desde la superficie del semiconductor hacia el interior de la solución y participar en la reacción química en el seno de la fase acuosa (Peiró, 2003).

En la aplicación del método al tratamiento de aguas, los huecos fotogenerados pueden oxidar al contaminante por contacto directo de este con la superficie del catalizador, o pueden reaccionar primero con especies como el agua y el radical OH⁻ dando lugar a la formación del radical OH•, que posteriormente oxidará al contaminante (Peiró, 2003; Soriano *et al.*, 2005).



Al mismo tiempo, los electrones generados reaccionan con algún agente oxidante, generalmente el oxígeno dado que el proceso fotocatalítico se lleva normalmente a cabo en ambientes aerobios, aunque se pueden agregar otras especies como el peróxido para favorecer esta reacción y la eficiencia global del proceso (Peiró, 2003; Soriano *et al.*, 2005; Doménech, 2001).



Si las aguas contienen iones, tales como los metálicos nobles o pesados, los electrones pueden reducirlos a un estado de oxidación más bajo, e incluso precipitarlos como metales sobre el semiconductor (Peiró, 2003; Soriano *et al.*, 2005; Doménech, 2001).



Como puede deducirse, el proceso completo implica por lo menos una reacción de oxidación y una de reducción, por lo que es necesario la presencia de ambos tipos de especies, oxidante y reductora (Peiró, 2003; Soriano *et al.*, 2005; Doménech *et al.*, 2001).

1.4.6.2.2 Semiconductores

Los semiconductores de interés en fotocátalisis son sólidos generalmente óxidos, entre los más utilizados se encuentran: TiO₂, ZnO, CdS, óxidos de hierro, WO₃, ZnS, entre otros, los cuales son económicamente asequibles, fácilmente detectables en la naturaleza y pueden excitarse con luz de no muy alta energía, $\lambda > 310$ nm (Doménech *et al.*, 2001).

Aunque cada aplicación de fotocátalisis debe tratarse como un caso particular, en general las situaciones para las cuales la técnica tiene mayores posibilidades de aprovechamiento presentan las siguientes características:

- ✓ *Concentración máxima:* Los procesos de fotodegradación son razonablemente eficientes cuando la concentración del contaminante es baja o media, hasta unos pocos cientos de mg/L, si bien el límite varía con la naturaleza de los contaminantes, la fotocátalisis no es normalmente una opción conveniente si las concentraciones superan el valor de 1 g/L (a menos que se recurra a una etapa previa de dilución).
- ✓ *Contaminantes no biodegradables:* Este método es una buena alternativa para tratar este tipo de contaminantes ya que los tratamientos biológicos, aún siendo más económicos, no pueden trabajarse en estos casos.
- ✓ *Contaminantes peligrosos presentes en mezclas de orgánicos complejos:* Cuando se trabaja con mezclas complejas, las ventajas comparativas del método aumentan al aprovechar su característica de escasa o nula selectividad.
- ✓ *Contaminantes cuyo tratamiento convencional es difícil:* El método representa una alternativa novedosa en casos donde los métodos convencionales son complejos y/o costosos (Anderson *et al.*, 2000).

1.4.6.2.3 Naturaleza de un semiconductor

El proceso de fotocatalisis se basa en la transferencia de carga a través de la interfaz formada entre un semiconductor iluminado y una solución acuosa. En la interfaz: semiconductor – solución hay una densidad local de carga diferente a la del seno de ambas fases, produciéndose un campo eléctrico que actúa como fuerza impulsora en el proceso de transferencia de carga. La interfaz tiene como rasgo distintivo la redistribución de carga que se extiende significativamente tanto del lado de la solución como del lado del semiconductor (Rubiano & Laguna, 2004).

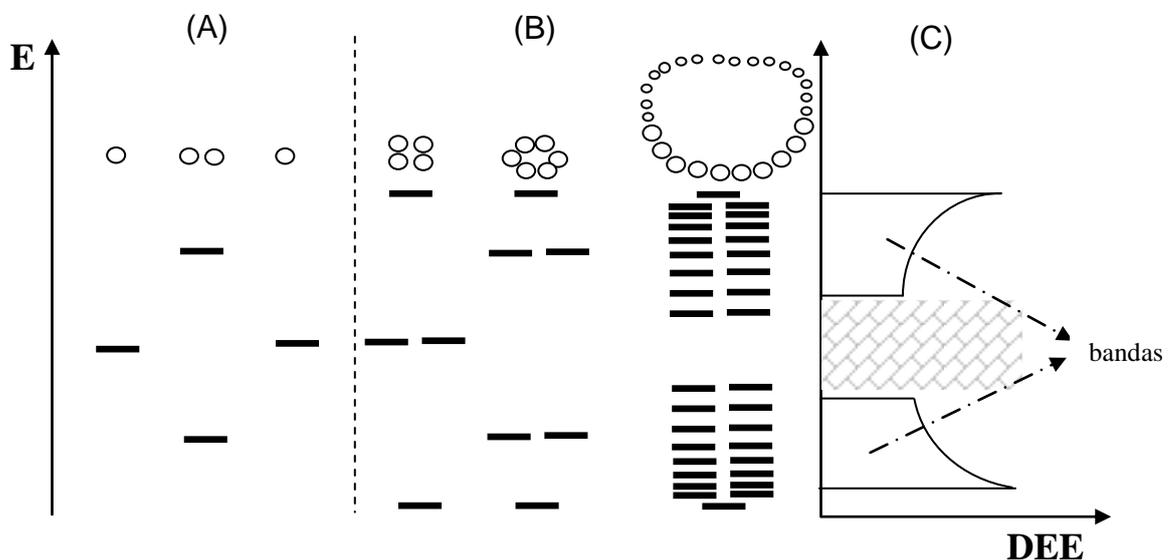


Figura 1.6 Niveles electrónicos resultante del enlace entre átomos idénticos (A) Orbitales moleculares resultantes del solapamiento de dos átomos, cada uno con un único orbital atómico (B) Cadenas de 4, 6 y n átomos (C) Densidad de estados de energía (DEE) para una cadena infinita de átomos (Rubiano & Laguna, 2004).

En los semiconductores los átomos constituyen una red tridimensional infinita. El solapamiento de los orbitales atómicos va más allá de los primeros vecinos, extendiéndose por toda la red, resulta entonces una configuración de estados deslocalizados muy próximos entre sí que forman bandas de estados electrónicos permitidos. La construcción de la configuración electrónica se esquematiza en la Figura 1.6. Entre las bandas, hay intervalos de energía en

los cuales no hay estados electrónicos “permitidos”; cada uno de estos intervalos es una “banda de energía prohibida” o gap. A los fines de la fotocatalisis y de la mayoría de las propiedades químicas y físicas de los sólidos, las bandas que limitan el gap de interés son la banda de valencia, de menor energía, y la banda de conducción, de mayor energía. Ambas bandas surgen del solapamiento de los niveles atómicos de los electrones de valencia y según su grado de ocupación contienen los niveles ocupados más altos y los niveles desocupados más bajos (Soriano *et al.*, 2005; Rubiano & Laguna, 2004).

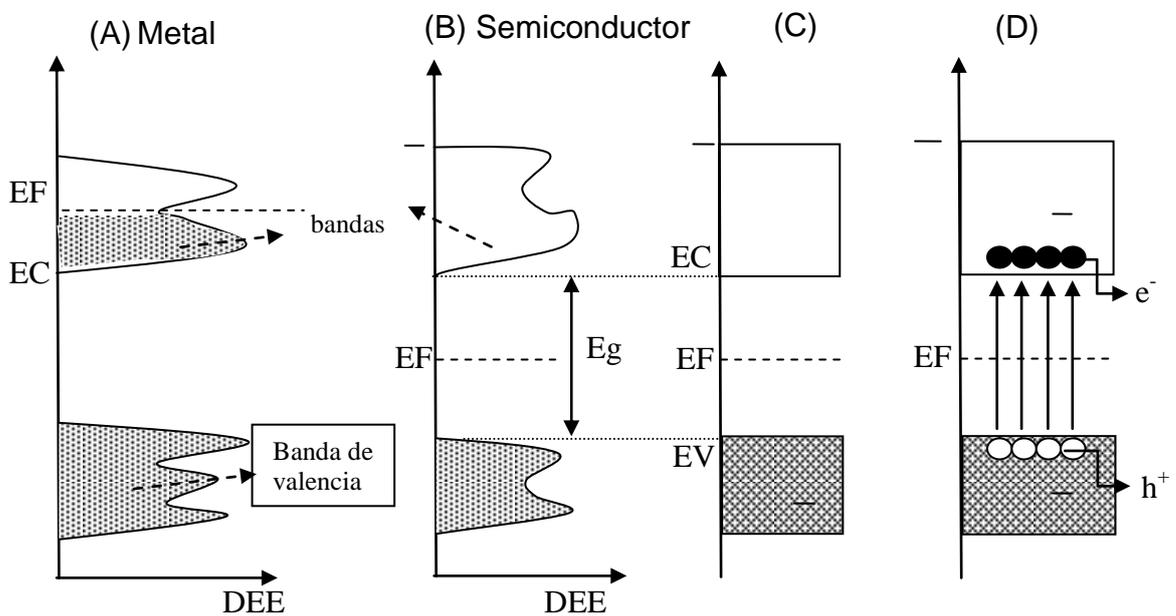


Figura 1.7 Estructura de bandas y distribución de electrones (A) Metal a 0K (B) Semiconductor intrínseco a 0 K (C) Esquema simplificado para semiconductor intrínseco a 0K y (D) A $T \gg 0K$. El griseado indica los estados ocupados por electrones (Rubiano & Laguna, 2004).

En el estado fundamental y a temperatura 0K, los electrones ocupan estos estados electrónicos (dos electrones con spin opuesto por cada estado) hasta un determinado valor de energía de Fermi (E_F), quedando los estados con energía mayor que E_F desocupados, como se esquematiza en la Figura 1.7. La E_F , coincide a 0K con el potencial químico de los electrones, a temperaturas mayores, la excitación térmica promueve electrones a niveles por encima de E_F y la fracción de estados ocupados se extiende hasta $E_F + kBT$

(k_B es la constante de Boltzmann y T la temperatura). Consecuentemente, se desocupa una fracción equivalente de estados en el intervalo $E_F - k_B T$ (Soriano *et al.*, 2005; Rubiano & Laguna, 2004).

La posición de E_F con respecto a las bandas de valencia y de conducción distingue a los metales de los semiconductores y aislantes. Para los primeros, E_F cae dentro de la banda de conducción mientras que para semiconductores y aislantes, cae en la banda de energía prohibida. La diferencia entre un semiconductor y un aislante está dada por el ancho de la banda de energía prohibida (E_g). Para los semiconductores E_g es suficientemente pequeño como para que sea posible excitar (térmicamente, con luz o con descargas eléctricas) electrones de la banda de valencia a la de conducción (Rubiano & Laguna, 2004).

La conductividad de un material está directamente relacionada con la existencia de portadores de carga, estos portadores en los metales son los electrones en la banda de conducción parcialmente llena (Figura 1.7 A) en los semiconductores los portadores son los electrones en la banda de conducción y los huecos en la banda de valencia (D) Los electrones (e_{bc-}) y los huecos (h_{bv+}) tienen cargas opuestas y por lo tanto, son acelerados en direcciones opuestas en presencia de un campo eléctrico. Por convención, la energía de las cargas negativas (electrones) aumenta hacia arriba; consecuentemente, la energía de las cargas positivas (huecos) aumenta hacia abajo (Rubiano & Laguna, 2004; Anderson *et al.*, 2000).

La Figura 1.8 muestra los potenciales de banda en electrolito acuoso a $pH = 1$ de los semiconductores más utilizados (Rubiano & Laguna, 2004).

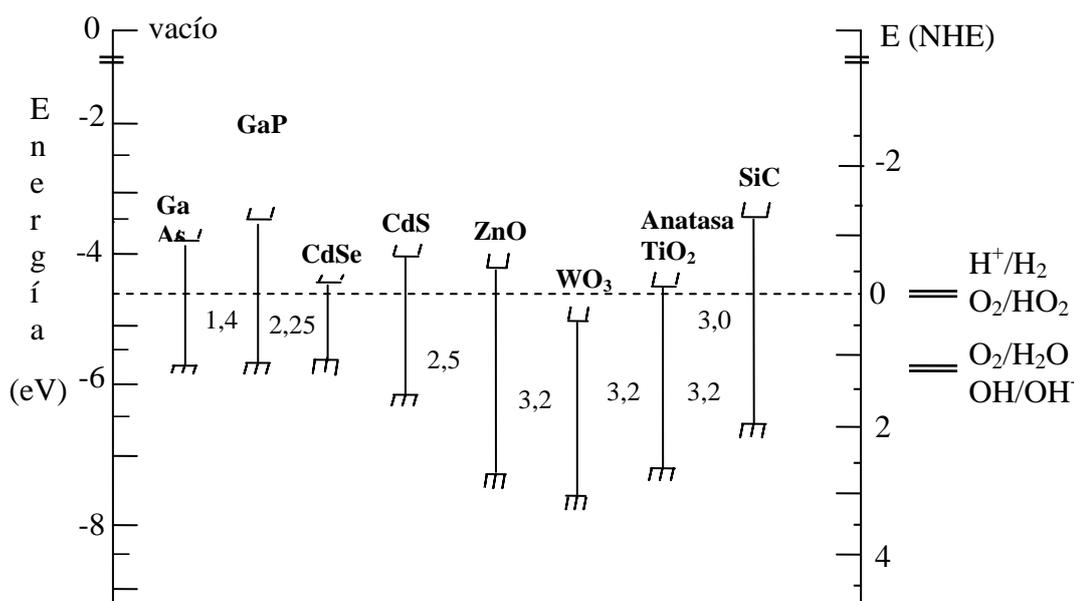


Figura 1.8 Posición relativa de los bordes de la banda de conducción y de valencia de algunos semiconductores (Rubiano & Laguna, 2004).

1.4.6.2.4 Dióxido de titanio como catalizador

Un catalizador es una sustancia que está presente en una reacción química en contacto físico con los reactivos y acelera, induce o propicia dicha reacción sin actuar en la misma (Brown *et al.*, 2004; Sánchez, 2004).

La fotocatalisis con dióxido de titanio (TiO₂) como fuente de excitación resulta ser una opción bastante demandada en aplicaciones ambientales ya que este catalizador es un óxido semiconductor con alta estabilidad en ambientes químicos agresivos, bajo irradiación y tiene un bajo grado de toxicidad. La eficacia del TiO₂ para la oxidación de orgánicos y reducción de especies metálicas ha sido ampliamente estudiada (Rodríguez, 2003).

Diversos grupos en el mundo realizan investigación a fin de superar las dificultades que aún implica el uso de esta tecnología. Disminuir la alta recombinación de pares electrón – hueco, lograr que la absorción de energía por parte del catalizador sea corrida hacia la zona del espectro visible para un

mejor aprovechamiento de la irradiación y realizar la inmovilización del catalizador son algunos de los aspectos a superar para incrementar la actividad catalítica del TiO_2 , con la finalidad de facilitar su aplicación en procesos fotocatalíticos (Soriano *et al.*, 2005; Rubiano & Laguna, 2004).

La importancia del TiO_2 radica en que es biológica y químicamente inerte, económico, resistente a la corrosión química y la fotocorrosión, oxida generalmente tanto los compuestos tóxicos iniciales como los intermediarios generados en las reacciones de oxidación, no agota su fotoactividad tras una única utilización por lo que puede ser reutilizado durante un largo periodo de tiempo. También está disponible en formas alotrópicas con alta foto – actividad y puede ser colocado como una película fina sobre un soporte sólido (Rubiano & Laguna, 2004; Alberici, 1993).

CAPITULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Participantes

2.1.1 Escuela Politécnica del Ejército

La Escuela Politécnica del Ejército participó con el financiamiento del proyecto “BIORREMOCIÓN DEL TIOSULFATO DE PLATA (STS) PRESENTE EN EL AGUA RESIDUAL PROVENIENTE DEL TRATAMIENTO EN POST-COSECHA PARA FLORES SENSIBLES AL ETILENO”, aprobado en el año 2006.

2.1.2 Personas

El presente trabajo se desarrolló con la colaboración científico – técnica del Ing. Luis Cumbal, PhD y de la Dra. Blanca Naranjo asignados como Director y Codirector respectivamente además con la colaboración del Dr. Vicente Delgado investigador asociado del CEINCI.

En las dos primeras etapas del proyecto participaron la Ing. Marlene Tacuri y la Ing. Diana Flores quienes aislaron los cultivos bacterianos y el hongo que constituyó la materia prima para este trabajo.

2.2 Zona de estudio

2.2.1 Campo

Los microorganismos utilizados fueron aislados de localidades de la serranía ecuatoriana, los hongos se aislaron de las instalaciones del IASA en la parroquia Selva Alegre, Provincia de Pichincha y las bacterias del volcán Tungurahua.

El agua residual fue recolectada de la finca, La Mora perteneciente al Grupo Esmeralda Hilsea Investments, ubicado en la parroquia El Quinche Provincia de Pichincha.

2.2.2 Laboratorio

Los ensayos de este proyecto se desarrollaron en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigaciones Científicas (CEINCI) ubicado en la Escuela Politécnica del Ejército (ESPE), Sangolquí, Avenida El Progreso s/n.

2.3 Período de investigación

Este proyecto tuvo una duración de 16 meses; iniciando en Abril del 2008 y culminando en Julio del 2009.

2.4 Diseño Estadístico

La investigación que se llevó a cabo fue de tipo cuantitativo, debido a que se cuantificó los valores de plata remanente en el agua sintética y residual.

2.4.1 Diseño para la adsorción de plata en pellets del hongo

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar DCA, con cinco repeticiones y un blanco para el control.

2.4.2 Diseño para la desorción de plata empleando diferentes soluciones regenerantes

Se utilizó un Arreglo con 2 factores CxR, dispuesto en un Diseño Completamente al Azar, como se muestra a continuación:

C: Concentración

R: Regenerante

Tabla 2.1 Descripción de los tratamientos utilizados en el proceso de desorción del catión plata contenido en pellets del hongo.

Concentración mg Ag ⁺ /L	Regenerante
20	CaSO ₄ . 2H ₂ O – 0,02N (Sulfato de Calcio dihidratado)
50	NaCl – 1N (Cloruro de Sodio)
100	Ca (NO ₃) ₂ . 4H ₂ O – 1N (Nitrato de Calcio tetrahidratado)
	HNO ₃ – 4N (Ácido nítrico)

Este diseño se empleó con el fin de determinar si existe diferencias estadísticas entre las soluciones regenerantes aplicadas a los hongos cargados con el catión plata y poder escoger el mejor tratamiento para llevar a cabo la siguiente fase, oxidación de la plata contenida en dicho regenerante.

2.5 Materiales y Metodología

2.5.1 Obtención de la cepa fúngica

El hongo *Cladosporium cladosporioides* fue obtenido del cepario del Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigaciones Científicas (CEINCI) de la ESPE. Las cepas se encontraron en medio PDA en cajas petri, a partir de las cuales se cultivó esporas.



Figura 2.1 Cepa pura de *Cladosporium cladosporioides* (Anrango, 2009).

2.5.2 Preparación de medios de cultivo

Se utilizó dos medios de cultivo para el crecimiento del hongo, medio sólido para la propagación de esporas y medio líquido para la obtención de pellets (Anexo A).

2.5.2.1 Medio sólido para cultivo de esporas

Se utilizó el medio Agar – Papa – Dextrosa (PDA), reforzado con cloranfenicol, fue preparado disolviendo el agar junto con el cloranfenicol mediante agitación y calentamiento. El medio disuelto se enfrió a temperatura ambiente y se dispensó 5 mL del medio en tubos de ensayo con tampón de algodón, se procedió a autoclavar a 121 °C y una atmósfera de presión por 15 minutos. Finalmente se dejó enfriar en forma inclinada.

2.5.2.2 Medio líquido para formación de pellets

Se utilizó el medio Czapeck (Santana *et al.*, 2005), los reactivos fueron disueltos de manera consecutiva. Se ajustó el pH a $5,6 \pm 0,1$ con soluciones de $H_2SO_4 - 0,1N$ y $NaOH - 0.01N$. Luego se dispensó en erlenmeyers de 125 y 250 mL provistos de tapón de algodón, luego se autoclavó a 121 °C y una atmósfera de presión por 45 minutos. Se enfrió hasta temperatura ambiente.

2.5.3 Propagación de esporas de *C. cladosporioides*

En un ambiente estéril y utilizando un asa bacteriológica se inoculó esporas de hongo desde el medio de cultivo puro contenido en cajas petri hasta los tubos de ensayo con medio inclinado, se realizó la siembra en estriado y los tubos fueron sellados con parafilm, finalmente se incubó por siete días en una incubadora casera a 28 °C.

2.5.4 Formación de pellets de *C. cladosporioides*

Siguiendo el protocolo propuesto por Cumbal *et al.*, 2008 para la formación de pellets, se inoculó esporas obtenidas en la sección (2.5.1.2) en medio Czapeck, sección (2.5.2.2) los erlenmeyers inoculados permanecieron en una incubadora casera a 150 rpm y en un agitador orbital marca Barnstead Lab – Line a 28°C por once días.



Figura 2.2 Formación de pellets del hongo *Cladosporium cladosporioides* (Anrango, 2009)

2.5.5 Adsorción del catión plata por pellets de *C. cladosporioides*

2.5.5.1 Preparación de soluciones con plata

Para cada ensayo, se preparó 1L de solución de nitrato de plata (AgNO_3) a diferentes concentraciones 20, 50 y 100 mg Ag^+ /L en frascos ámbar y se ajustó el pH a $6 \pm 0,1$.

2.5.5.2 Preparación de la biomasa

De acuerdo a lo establecido por Cumbal *et al.*, 2008 los ensayos de adsorción se llevaron a cabo con biomasa muerta. Los pellets obtenidos en la sección (2.5.4) se autoclavaron a 121 °C y una atmósfera de presión por 40 minutos, se lavó con agua esterilizada para retirar el medio de cultivo y se pesó 0,25 g (peso húmedo) de pellets, para luego ser dispensados en las diferentes concentraciones de plata.

2.5.5.3 Ensayos de Adsorción

Los ensayos de adsorción se llevaron a cabo en lotes, Cumbal *et al.*, 2008 con cinco repeticiones y un blanco para cada concentración de plata. Se dispensó 100 mL de solución de plata en envases plásticos de 250 mL con tapa – contratapa, a continuación se resuspendió la biomasa, los frascos fueron sellados y etiquetados. Finalmente se colocó en un agitador rotatorio durante 3 días a 40 rpm y cada día se controló el pH.

Luego, el contenido se sometió a un proceso de filtrado, por una parte la solución de plata remanente se recogió en frascos ámbar para cuantificar por Espectrofotometría de Absorción Atómica y determinar mediante un balance de masa la cantidad de plata que el hongo ha podido bioadsorber y por otra, los hongos fueron lavados con agua desionizada, se recogieron en tubos eppendorf para llevarlos al siguiente proceso de desorción.

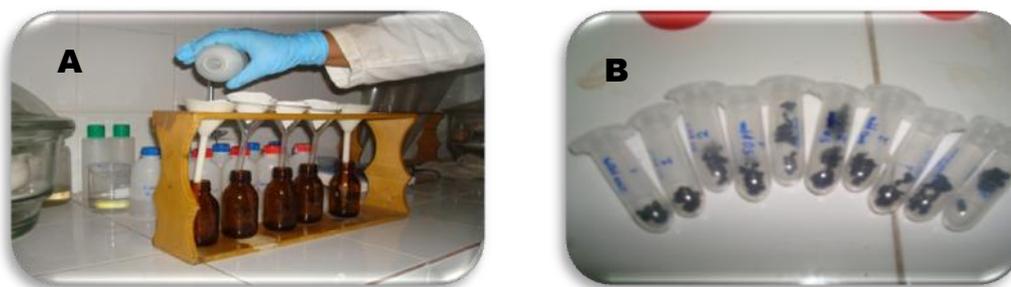


Figura 2.3 (A) Proceso de filtrado. (B) Recolección de pellets del hongo en tubos eppendorf (Anrango, 2009).

Aplicando un balance de masa en la interfase líquido – sólido se determinó el contenido de plata en la fase sólida (pellets del hongo).

$$V \cdot C_o = V \cdot C_f + m \cdot q_A \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

$$q_A = \frac{V}{m} (C_o - C_f)$$

$$\% \text{Adsorción} = \frac{C_o - C_f}{C_o} \times 100$$

(Ecuación 2.2)

Donde: V = Volumen, C_o = Concentración inicial, C_f = Concentración final, m = masa del hongo en pellets, q_A = capacidad de adsorción.

2.5.5.4 Cuantificación de plata mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica

La concentración de plata se midió utilizando el espectrofotómetro Perkin Elmer AA 100, con aire – acetileno como gas vehículo para la combustión en relación 2:6 y a una longitud de onda de $\lambda = 334.3$ nm. Previamente se calibró el equipo mediante una curva lineal de calibración, para ello se tomó en cuenta cuatro puntos: 2.50, 5.00, 8.00 y 10.00 mg Ag⁺/L de concentración de plata, partiendo de un estándar comercial, Silver Atomic Absorption Standard de 996 µg/mL de Ag en 1.0 wt % de HNO₃.

Para comprobar la sensibilidad del equipo se pasó la solución check 5.00 mg Ag⁺/L en la cual resultó una absorbancia de 0.168 nm, enseguida se enceró el equipo con HNO₃ al 5%, y a continuación se procedió a leer las muestras.



Figura 2.4 Medición de plata en el Espectrofotómetro de AA (Anrango, 2009).

2.5.6 Desorción del catión plata contenido en pellets del hongo *C. cladosporioides*

2.5.6.1 Preparación de las soluciones regenerantes

Se preparó 600 mL de cada solución regenerante: sulfato de calcio dihidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,02N), cloruro de sodio (NaCl - 1N), nitrato de calcio tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 1N) y ácido nítrico (HNO_3 - 4N), adicionalmente se midió el pH.

2.5.6.2 Ensayos de desorción

De igual manera como en los ensayos de adsorción estos ensayos se llevaron a cabo en lotes; es decir se dispensó 100 mL de cada solución regenerante en frascos plásticos con tapa - contratapa y se agregó los hongos cargados con plata, los frascos permanecieron en un agitador rotatorio a 40 rpm durante 24 horas.

Para cuantificar la cantidad de plata que se ha desorbido en cada una de las soluciones regenerantes, se procedió similar a lo descrito en la sección (2.5.5.4).

2.5.6.3 Elección del regenerante óptimo

Para continuar con el siguiente proceso que es la reducción de plata, fue necesario tener en el regenerante la mayor cantidad de plata disuelta desorbida de los pellets del hongo, de acuerdo con los valores de las mediciones en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica se calculó el porcentaje de adsorción empleando un balance de masa en la fase sólida (pellets del hongo).

$$V \cdot C_o + m \cdot q_A = V \cdot C_f + m \cdot q_D$$
$$q_D = \frac{m \cdot q_A - V \cdot C_f}{m} \quad (\text{Ecuación 2.3})$$

$$\% \text{Desorción} = \frac{q_A - q_D}{q_D} \times 100 \quad (\text{Ecuación 2.4})$$

Donde: V = Volumen, C_o = Concentración inicial, m = masa del hongo en pellets, q_A = capacidad de adsorción, C_f = Concentración final y q_D = capacidad de desorción.

Aplicando el Diseño experimental descrito en la sección (2.4.2) se determinó el porcentaje de desorción y el regenerante óptimo el cual se utilizó para los subsecuentes ensayos.

2.5.7 Electrólisis de la solución regenerante

2.5.7.1 Construcción de una celda electrolítica

La celda en la que se llevó a cabo la electrólisis se construyó utilizando un envase plástico de forma cilíndrica de 4,5 cm de largo y 3,0 cm de diámetro, en la tapa con dos orificios se introdujeron los electrodos de grafito reciclados de pilas Eveready usadas. La energía para el sistema la proporcionó una fuente de poder marca Agilent – 115V, conectada a 10 cm de alambre multifibra, amarillo (positivo) y verde (negativo), enlazados en paralelo por medio de un dispositivo (lagarto) para cada electrodo.

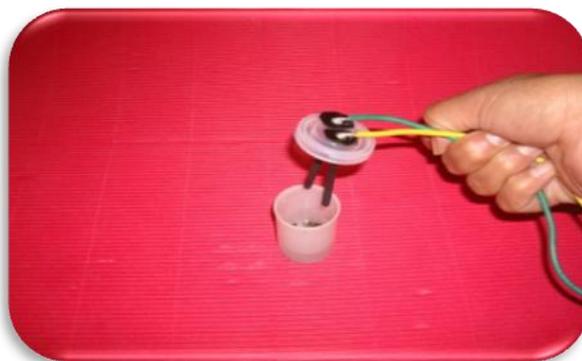


Figura 2.5 Celda electrolítica (Anrango, 2009).

2.5.7.2 Proceso electrolítico

En la celda electrolítica, se dispensó 50 mL de solución regenerante $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$, en la tapa se introdujo los electrodos de grafito de forma que queden paralelos y se hizo pasar una corriente de 6,0 V y 0,2 A durante 1 hora. Utilizando un multímetro marca EXTECH Instruments se comprobó el paso de energía. Finalmente se retiró los electrodos y aquel considerado como cátodo se secó al ambiente.

Para cuantificar la plata reducida se hizo dos mediciones en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica: una, de una alícuota de la celda electrolítica (plata remanente) y otra, de la digestión ácida con HNO_3 al 5% del electrodo que contiene plata, ambas se midieron por Espectrofotometría de Absorción Atómica para contrastar por diferencia la concentración inicial de la muestra.

2.5.8 Fotorreducción con luz UV de la solución regenerante

2.5.8.1 Lámpara de luz UV

Para la fotorreducción de plata contenida en la solución regenerante se utilizó una lámpara de luz ultravioleta de 254 nm, 15 W y 18 pulg., marca SYLVANIA, fue instalada en un cuarto con acceso restringido y oscuro.

2.5.8.2 Activación del catalizador

Se utilizó el TiO_2 como catalizador, según Rubiano & Laguna, 2004 necesita de una etapa de activación, de este modo en una caja petri se colocó una fina capa del compuesto para posteriormente someterlo a radiación UV durante 3 horas.

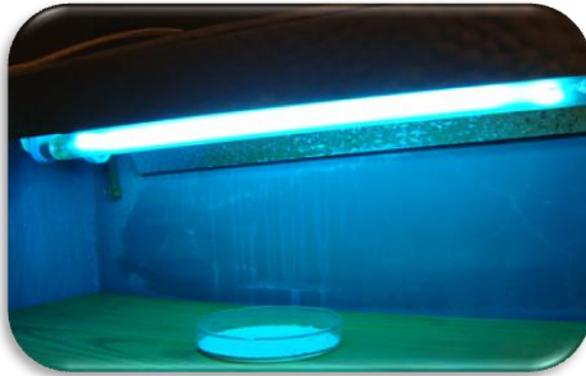


Figura 2.6 Etapa de activación del TiO_2 (Anrango, 2009).

2.5.8.3 Preparación de las muestras

De acuerdo con la concentración de plata contenida en la solución regenerante $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$, se procedió a pesar el TiO_2 pre – tratado en la sección (2.5.8.2) en concentración 0,5 g/L. Como agente estabilizante se utilizó el $\text{NaNO}_3 - 0,01\text{N}$. En un vaso de precipitación de 250 mL se disolvió el estabilizante al añadir 50 mL de solución regenerante e inmediatamente se agregó el TiO_2 .

2.5.8.4 Proceso de fotorreducción

Las muestras preparadas en la sección anterior fueron irradiadas con luz UV por 24 horas. Después se trasvasó a tubos falcom de 50 mL y se centrifugó a 1500 rpm en una centrifuga marca IEC HN – SII por 15 minutos.

Similar al proceso electrolítico para cuantificar la cantidad de plata que se ha reducido mediante este fenómeno se hicieron dos mediciones, una del sobrenadante se tomó una alícuota y otra del precipitado se hizo una digestión ácida con HNO₃ 5% ambas fueron cuantificadas en el Espectrofotómetro de AA.

2.5.9 Prototipo a nivel de laboratorio para el tratamiento del STS proveniente de la Industria Florícola

En la primera etapa del proyecto se construyó tres reactores para llevar a cabo el tratamiento del agua contaminada con STS (ANEXO B).

2.5.9.1 Recolección y análisis del agua residual

El agua contaminada con STS fue recolectada de la finca, La Mora perteneciente al Grupo Esmeralda Investment, la muestra fue colectada del área de post – cosecha para gypsophila.

En un frasco ámbar se tomó 1L de agua residual y se analizó la concentración de tiosulfato por el método Yodométrico, la concentración de sulfatos por el método Turbidimétrico y la concentración de plata mediante Espectrofotometría de AA, adicionalmente se midió el pH.

2.5.9.2 Biooxidación del STS por biomasa bacteriana

2.5.9.2.1 Cultivo de biomasa

Las cepa Tungurahua 1 fue obtenida del cepario del laboratorio de microbiología del CEINCI y se mantuvo subcultivando en medio sólido para su propagación y en medio líquido para ser utilizado en el proceso de biooxidación (Anexo C).

2.5.9.2.2 Biooxidación en el reactor

El proceso de biooxidación se lo llevó a cabo en el reactor R1- Biooxidación, con alimentación de oxígeno para la agitación proporcionado por un motor de pecera marca POWER_{TM} 500, en él se dispensó 1L de agua residual previamente analizada y se inoculó 25 mL de medio de cultivo con Tungurahua 1. Se incubó por 5 días a temperatura ambiente.

Diariamente se tomó una alícuota de 10 mL que fue centrifugada a 7500 rpm para sedimentar materia insoluble y en el sobrenadante se analizó la concentración de tiosulfato, sulfato y plata.

2.5.9.3 Bioadsorción

Al sexto día del proceso se trasladó el agua del reactor R1 – Biooxidación hacia el reactor R2 – Bioadsorción mediante una bomba peristáltica marca FLUID METERING INC, inmediatamente se procedió a regular el pH a 6 ± 0.1 , para entrar en contacto con 2,50 g de pellets del hongo, el medio circundante se agitó a 100 rpm con un agitador mecánico marca TALBOYS durante 3 días controlando el pH.

Finalmente se abrió el efluente para evacuar el agua ya tratada y se tomó una alícuota de muestra para cuantificar por Espectrofotometría de AA la cantidad de plata remanente.

2.5.9.4 Desorción de plata contenida en pellets del hongo

Se preparó 500 mL de HNO₃ – 4N y se dispensó en el reactor R2 – Bioadsorción, mediante agitación a 100 rpm nuevamente tomó contacto la biomasa cargada de plata con el regenerante, de este modo se llevó a cabo el proceso de desorción por 24 horas, al finalizar se tomó una alícuota para medir la cantidad de plata remanente.

2.5.9.5 Fotorreducción con luz UV

En la cuba de fotorreducción se colocó 0,250 g de TiO_2 , y se esparció en una fina capa, a continuación fue irradiado con luz UV durante 3 horas para su activación. Se abrió el efluente del reactor R2 – Bioadsorción para migrar la solución regenerante y se añadió NaNO_3 – 0,01M, se sometió bajo luz UV para dar inicio al proceso fotocatalítico durante 24 horas. Finalmente se tomó una alícuota para cuantificar la concentración de plata que no ha reaccionado.



Figura 2.7 Prototipo para el tratamiento del agua residual de florícola (Anrango, 2009).

CAPITULO 3: RESULTADOS

3.1 Biomasa fúngica

3.1.1 Cultivo del hongo *C. cladosporioides*

Se obtuvo cultivos nuevos del hongo *C. cladosporioides* en medio sólido a partir de los cultivos puros (Figura 3.1).



Figura 3.1 (A) Cultivo en medio PDA inclinado. (B) Vista al estereoscopio del cultivo sembrado en estriado (Anrango, 2009).

3.1.2 Formación de pellets del hongo

Al cabo de once días de inoculadas esporas en medio líquido se obtuvo la biomasa en forma de pellets de 3.0 mm de diámetro y 0,01 g aproximadamente, Figura 3.2 (A). En la Figura 3.2 (B) se observa la estructura de 0,25 g de hongos pelletizados, esta cantidad contiene alrededor de 20 pellets, estos fueron usados para los ensayos posteriores por sus buenas características en edad, tamaño y constitución.

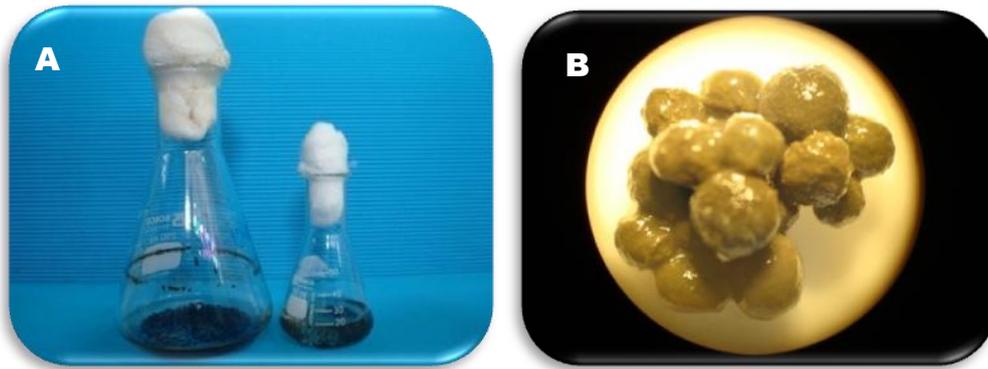


Figura 3.2 (A) Formación de pellets del hongo en erlenmeyers.
 (B) Estructura de pellets del hongo vista al estereoscopio (Anrango, 2009).

3.2 Adsorción del catión plata por pellets del hongo

Se dirigieron varios ensayos siguiendo la técnica de adsorción estandarizada por Cumbal *et al.*, (2008), con la finalidad de saturar los hongos con cationes plata. En la Figura 3.3 se observa la isoterma de adsorción, notar que la capacidad de adsorción llega hasta un valor de 16 mg Ag⁺/g de hongo.

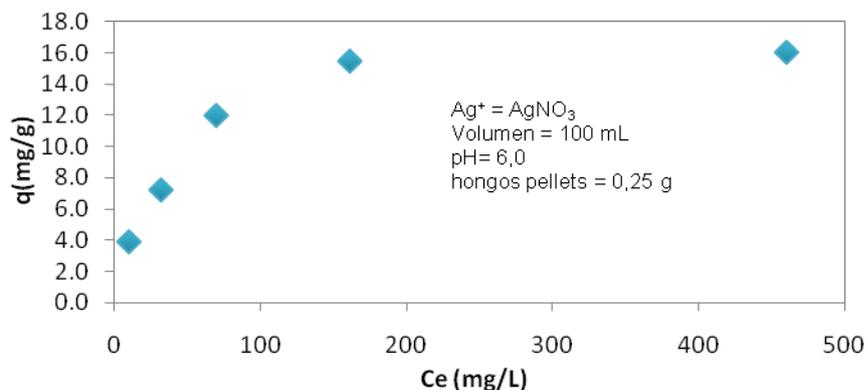


Figura 3.3 Isotherma de Adsorción del catión plata por *C. cladosporioides*.

Por los resultados obtenidos en la Figura 3.3, se eligió trabajar en los experimentos de adsorción únicamente con tres concentraciones de plata 20, 50 y 100 mg Ag⁺/L usando nitrato de plata (AgNO₃) como reactivo para preparar las diluciones. La Tabla 3.1, presenta las concentraciones de plata

medidas antes y después del proceso de adsorción. Aplicando un balance de masa en la interfase líquido – sólido, se determinó la capacidad de adsorción de plata (q_A), en la fase sólida (hongos pelletizados). Para una concentración de 20 mg Ag^+ /L la capacidad de adsorción es 4,05 mg Ag^+ /g, al aumentar la concentración de plata a 50 mg Ag^+ /L, se tiene un aumento en el valor de la capacidad de adsorción a 6,03 mg Ag^+ /g. Si se duplica la concentración de plata en la fase líquida 100 mg Ag^+ /L, la capacidad de adsorción también tiende a duplicarse (ver Ecuación 2.1).

Tabla 3.1 Bioadsorción de plata por pellets del hongo

Concentración (mg Ag^+ /L)	C. inicial (mg Ag^+ /L)	C. equilibrio (mg Ag^+ /L)	q_A (mg Ag^+ /g)
20	19,96	10,70	4,05
50	49,63	34,90	6,03
100	104,34	74,53	12,11

La Figura 3.4 muestra el porcentaje de adsorción en los tres tratamientos aplicados. Con una concentración de 20 mg Ag^+ /L el porcentaje de adsorción es 53,64% y para las concentraciones de 50 y 100 mg Ag^+ /L, el porcentaje de adsorción es 70,31% y 71,26% respectivamente (ver Ecuación 2.2).

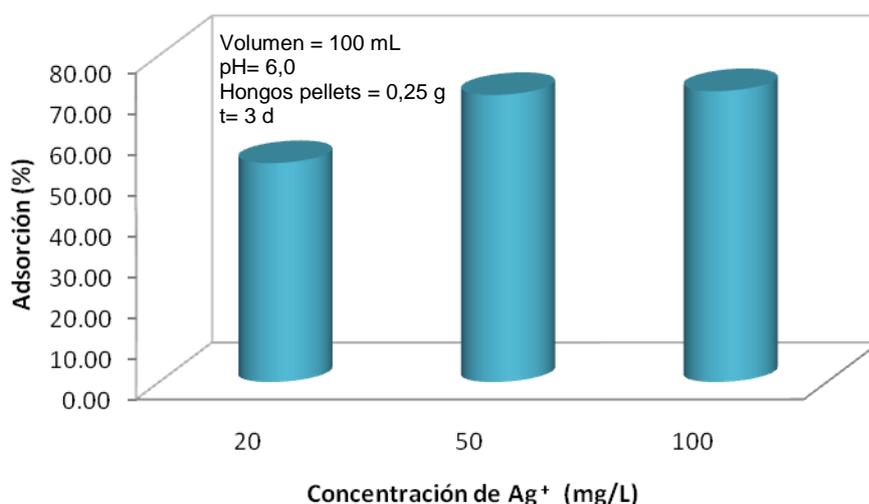


Figura 3.4 Eficiencia de adsorción del catión plata con *C. cladosporioides*.

3.2.1 Diseño Completamente al Azar (DCA) aplicado al proceso de adsorción

En el programa SPSS versión 15, se realizó un análisis de varianza con los resultados obtenidos. La Tabla 3.2 contiene la estadística descriptiva de la población muestreada: concentración de plata, N indica el número de repeticiones realizadas en cada tratamiento; a continuación las medias para los tres tratamientos y la desviación típica (Anexo D).

Tabla 3.2 Estadística descriptiva de los datos analizados en el proceso de adsorción.

Concentración mg Ag ⁺ /L	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Lím. Inferior	Lím. superior
20	5	53,638	3,844414	1,7192742	48,864529	58,411470
50	5	70,314	2,312959	1,0343867	67,442081	73,185918
100	5	71,262	7,502894	3,3553962	61,945926	80,578073
Total	15	65,071	9,592951	2,4768893	59,758934	70,383732

3.2.1.1 Contraste de Levene para la homogeneidad de varianzas

La Tabla 3.3 indica el valor de significancia 0,03 para la homogeneidad de varianzas, con lo cual se acepta la hipótesis nula y se comprueba que los datos son válidos para aplicar el ANOVA.

Tabla 3.3 Contraste de Levene para la homogeneidad de varianzas.

F Levene	gl1	gl2	Sig.
4,79030572	2	12	0,03

3.2.2 Análisis de varianza ANOVA aplicado al proceso de adsorción

En la Tabla 3.4 se observa el valor de significancia ($0,0001 < 0,05$). Con este resultado se rechaza la hipótesis nula, debido a que las medias de los tratamientos aplicados son diferentes, al existir estas diferencias es necesario establecer pruebas de comparación múltiple.

Tabla 3.4 ANOVA para el DCA con los porcentajes de adsorción de plata efectuado por pellets del hongo.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	982,65509	2	491,3275	19,28723	0,0001784
Intra-grupos	305,69088	12	25,47424		
Total	1288,3459	14			

3.2.2.1 Prueba de Tukey aplicada al proceso de adsorción

En la Tabla 3.5 se muestra la prueba de Tukey al 5% realizada mediante la comparación de medias entre los tratamientos. Existen dos subconjuntos bastante marcados. El valor de significancia $0,95 > 0,05$ indica que los valores de porcentaje que se encuentran en el subconjunto 1 son los mejores estadísticamente, en este caso pertenecen a las concentraciones de 50 y 100 mg Ag⁺/L con 70,31% y 71,26% respectivamente.

Tabla 3.5 Prueba de Tukey aplicada al proceso de adsorción de plata efectuado por pellets del hongo

Concentración mg Ag ⁺ /L	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1	2
20	5	53,638	
50	5		70,314
100	5		71,262
Sig.		1	0,95273416

3.3 Desorción del catión plata contenido en pellets del hongo

Varios ensayos se realizaron empleando diferentes soluciones regenerantes: sulfato de calcio dihidratado, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,02N, cloruro de sodio, NaCl – 1N, nitrato de calcio tetrahidratado, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0.1N y ácido nítrico, HNO_3 – 4N con el fin de eluir la mayor cantidad de plata contenida en pellets del hongo.

En la Figura 3.5 se observa la velocidad de desorción del catión plata partiendo de un contenido inicial de plata en los hongos de aproximadamente $q_A = 4 \text{ mg Ag}^+/\text{g}$. Con HNO_3 , se logra una notable disminución del catión plata $q_D = 1.0 \text{ mg Ag}^+/\text{g}$; mientras que con NaCl , no existe ninguna variación debido a que transcurridas 24 horas presenta un $q_D = 3,60 \text{ mg Ag}^+/\text{g}$; en cambio con $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, la desorción del catión plata es hasta $q_D = 2,66$ y $q_D = 2,85 \text{ mg Ag}^+/\text{g}$ respectivamente (ver Ecuación 2.3).

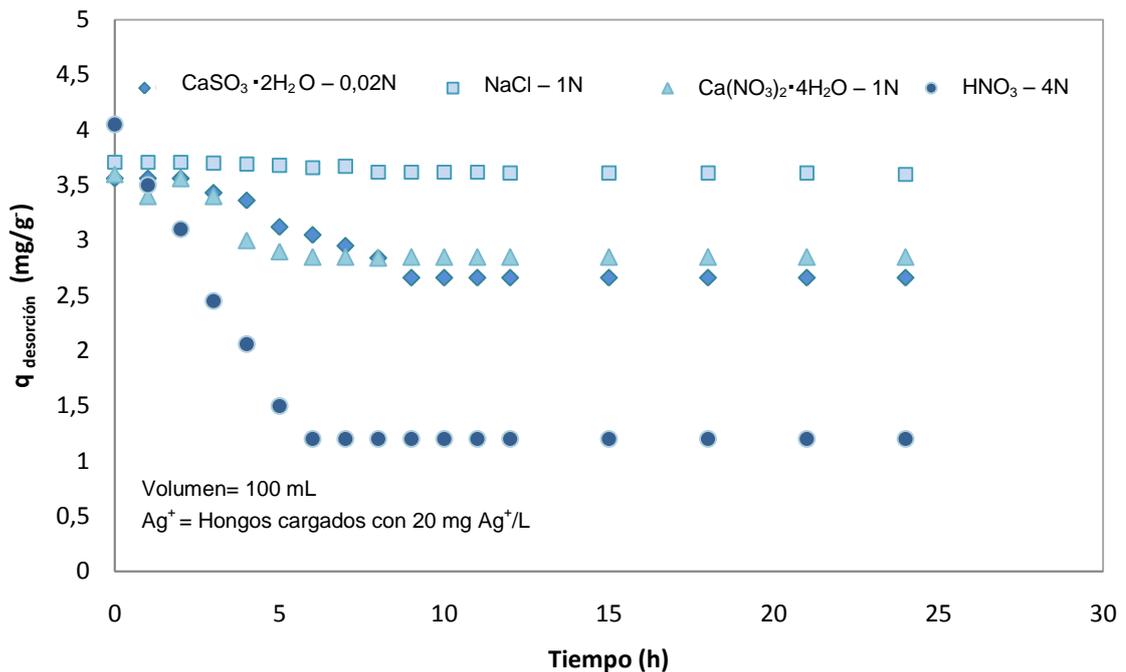


Figura 3.5 Perfil de desorción de plata contenida en pellets del hongo *C. cladosporioides*.

La Figura 3.6 representa la cantidad de plata desorbida de los pellets del hongo en porcentaje, en cada solución regenerante se presenta tres barras dependiendo de la capacidad de adsorción de los hongos. Para el NaCl en los tres casos el porcentaje es muy bajo, lo contrario sucede con el HNO₃ que para las tres concentraciones de plata en pellets del hongo, el porcentaje de desorción supera el 60%; en cambio para las soluciones con calcio el porcentaje es menor al 50% en todos los tratamientos (ver Ecuación 2.4).

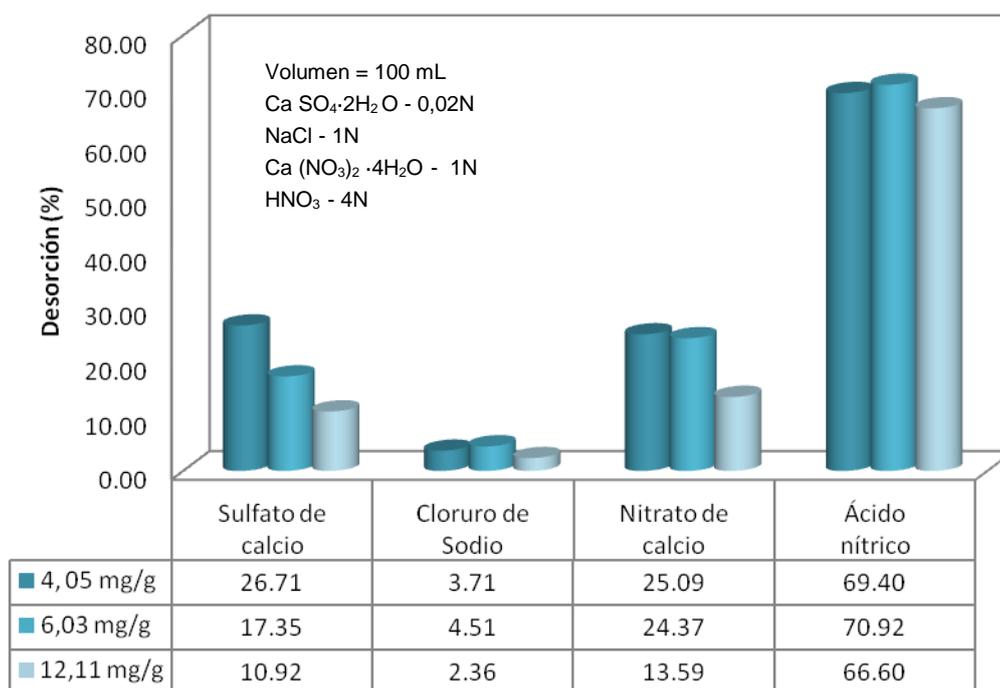


Figura 3.6 Porcentajes de desorción del catión plata contenido en pellets del hongo aplicando cuatro soluciones regenerantes.

3.3.1 Modelo 2 – factorial dispuesto en un Diseño Completamente al Azar (DCA)

Los factores intersujetos (Anexo E) son los primeros datos que proporciona el programa, en esta tabla se muestran los factores del diseño, la nominación que se adoptó para cada uno de ellos y que a posterior nos servirá para entender los resultados que se muestran a continuación.

En la Tabla 3.6 la media más alta es la del tratamiento: 50 mg/L – HNO₃ con un porcentaje de 72, 50 %; mientras que el valor más bajo corresponde al tratamiento: 50 mg/L – NaCl con un porcentaje de 2,65% (Anexo F).

Tabla 3.6 Estadística Descriptiva de los datos aplicados al diseño 2 factorial.

Concentración mg Ag ⁺ /g	Regenerante	Media	Desv. típ.	N
4,05	CaSO ₄	26,726	4,07026166	5
	NaCl	3,712	1,05067597	5
	Ca(NO ₃) ₂	32,732	7,7379726	5
	HNO ₃	69,82	1,79315365	5
	Total	33,2475	24,6944447	20
6,03	CaSO ₄	17,354	2,00038246	5
	NaCl	2,652	0,58942345	5
	Ca(NO ₃) ₂	29,712	3,16499131	5
	HNO ₃	72,502	2,54821899	5
	Total	30,555	26,802361	20
12,11	CaSO ₄	11,798	1,34416145	5
	NaCl	3,738	0,07981228	5
	Ca(NO ₃) ₂	28,158	3,4864122	5
	HNO ₃	67,998	4,10283073	5
	Total	27,923	25,5241467	20
Total	CaSO ₄	18,626	6,859556	15
	NaCl	3,36733	0,831104	15
	Ca(NO ₃) ₂	30,2006	5,225545	15
	HNO ₃	70,1066	3,354097	15
	Total	30,5751667	25,3441182	60

3.3.1.1 Contraste de Levene para la homogeneidad de varianzas

En la Tabla 3.7 se observa el valor de significancia (0,001 < 0,05) contrastado para la homogeneidad de varianzas en cada tratamiento: concentración – regenerante.

Tabla 3.7 Contraste de Levene para la homogeneidad de varianzas

F	gl1	gl2	Significación
3,41461217	11	48	0,00149126

3.3.1.2 Análisis de varianza del modelo 2 – factorial 4x3

En la Tabla 3.8 se muestra el ANOVA, el modelo corregido se refiere a todos los efectos del modelo tomados juntos (factores, interacción e intersección) el valor estadístico F ($p= 1,4641 \times 10^{-4} < 0,05$) indica que el modelo utilizado presenta una parte significativa de la variación observada en el porcentaje de desorción de plata contenida en los pellets del hongo.

Tabla 3.8 ANOVA para el experimento 2 - factorial realizado con los porcentajes de desorción del catión plata contenido en pellets del hongo.

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	37367,4411	11	3397,0401	307,8341	1,4641E-40
Intersección	56090,449	1	56090,449	5082,8228	2,3244E-50
Concentración	283,515203	2	141,757602	12,8458371	3,4021E-05
Regenerante	36688,9278	3	12229,6426	1108,22979	2,6584E-44
Concentración * Regenerante	394,998117	6	65,8330194	5,96567826	0,00010284
Error	529,69416	48	11,035295		
Total	93987,5843	60			
Total corregida	37897,1353	59			

Para el factor concentración de plata la significancia es ($3,4021 \times 10^{-05} < 0,05$) lo que indica que los grupos contenidos en este factor (4.05, 6.3, 12.11 mg Ag⁺/g) son significativamente distintos al evaluar el porcentaje de desorción. Del mismo modo para el factor regenerante la significancia es ($2,6584 \times 10^{-44} < 0,05$) esto indica que los grupos que conforman este factor (CaSO₄·2H₂O, NaCl, Ca (NO₃)₂·4H₂O y HNO₃) son significativamente diferentes al medir el porcentaje de desorción de plata.

En la misma tabla del ANOVA se hace referencia a la interacción: concentración – regenerante que presenta un valor de ($0,00010284 < 0,05$) esto significa que la interacción tiene un efecto significativo sobre el porcentaje de desorción de plata contenida en pellets del hongo. El error tabulado es un valor estimado de la varianza observada en las 60 muestras.

3.3.1.3 Medias marginales de los porcentajes de desorción

En la Tabla 3.9 se aprecia las medias de los porcentajes de desorción para el factor concentración de plata, para una concentración de 4,05 mg Ag⁺/g el porcentaje es de 33,24% siendo el valor más alto y 27,92% para una concentración de 12,11mg Ag⁺/g como el valor más bajo.

Tabla 3.9 Medias estimadas del porcentaje de desorción del catión plata contenido en pellets del hongo para la concentración.

Concentración mg Ag ⁺ /g	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Lím. Inferior	Lím. Superior
4,05	33,2475	0,74280869	31,753983	34,741017
6,03	30,555	0,74280869	29,061483	32,048517
12,11	27,923	0,74280869	26,429483	29,416517

La Tabla 3.10 describe las medias de los porcentajes de desorción del catión plata aplicando cuatro soluciones regenerante, notar que el porcentaje más bajo se presenta al aplicar la solución de NaCl – 1N y es de 3,36%, así mismo el valor más alto en porcentaje es 70,10%, que le corresponde a la solución de HNO₃ – 4N.

Tabla 3.10 Medias estimadas del porcentaje de desorción del catión plata contenido en pellets del hongo para el tipo de regenerante.

Regenerante	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Lím. Inferior	Lím. Superior
CaSO₄	18,626	0,85772159	16,9014352	20,3505648
NaCl	3,367	0,85772159	1,64276848	5,09189818
Ca(NO₃)₂	30,2006667	0,85772159	28,4761018	31,9252315
HNO₃	70,1066667	0,85772159	68,3821018	71,8312315

En la Tabla 3.11 se presentan las medias estimadas del porcentaje de desorción para la interacción: concentración – regenerante, la combinación 6,03 mg Ag⁺/g – HNO₃, presenta el mejor porcentaje de desorción.

Tabla 3.11 Medias estimadas del porcentaje de desorción del catión plata contenido en pellets del hongo para la interacción: concentración - regenerante.

Concentración mg Ag ⁺ /g	Regenerante	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Lím. Inferior	Lím. Superior
4,05	CaSO ₄	26,726	1,48561738	23,7389661	29,7130339
	NaCl	3,712	1,48561738	0,72496606	6,69903394
	Ca(NO ₃) ₂	32,732	1,48561738	29,7449661	35,7190339
	HNO ₃	69,82	1,48561738	66,8329661	72,8070339
6,03	CaSO ₄	17,354	1,48561738	14,3669661	20,3410339
	NaCl	2,652	1,48561738	-0,33503394	5,63903394
	Ca(NO ₃) ₂	29,712	1,48561738	26,7249661	32,6990339
	HNO ₃	72,502	1,48561738	69,5149661	75,4890339
12,11	CaSO ₄	11,798	1,48561738	8,81096606	14,7850339
	NaCl	3,738	1,48561738	0,75096606	6,72503394
	Ca(NO ₃) ₂	28,158	1,48561738	25,1709661	31,1450339
	HNO ₃	67,998	1,48561738	65,0109661	70,9850339

3.3.1.4 Prueba de Tukey aplicada al proceso de desorción

La Tabla 3.12 contiene los resultados de similitud entre las medias para el factor concentración de plata, notar que ninguna media se parece a la otra, al contrario cada una se ubica en un subconjunto distinto clasificado de acuerdo al valor mayor del porcentaje.

Tabla 3.12 Prueba de Tukey aplicada al proceso de desorción de acuerdo a la concentración de plata contenida en pellets del hongo

Concentración mg Ag ⁺ /g	N	Subconjunto		
		2	3	1
4,05	20	27,923		
6,03	20		30,555	
12,11	20			33,2475

La Tabla 3.13 muestra los resultados de similitud entre las medias por el tipo de regenerante, notar que existen cuatro subconjuntos, en el subconjunto 1 se ubica el regenerante con el más alto porcentaje de desorción 70,10%, cuyo valor corresponde al $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$.

Tabla 3.13 Prueba de Tukey aplicada al proceso de desorción del catión plata contenido en pellets del hongo de acuerdo al tipo de regenerante

Regenerante	N	Subconjunto				
		1	2	3	4	1
NaCl	15		3,36733333			
CaSO₄	15			18,626		
Ca(NO₃)₂	15				30,2006667	
HNO₃	15					70,1066667

3.3.1.5 Gráfico de perfil

En el gráfico se observa que con el regenerante ácido nítrico ($\text{HNO}_3 - 4\text{N}$) se obtiene la media marginal más alta en todas las concentraciones de plata al evaluar el porcentaje de desorción, de manera que este regenerante, es el óptimo para eluir en un alto porcentaje la plata contenida en pellets del hongo.

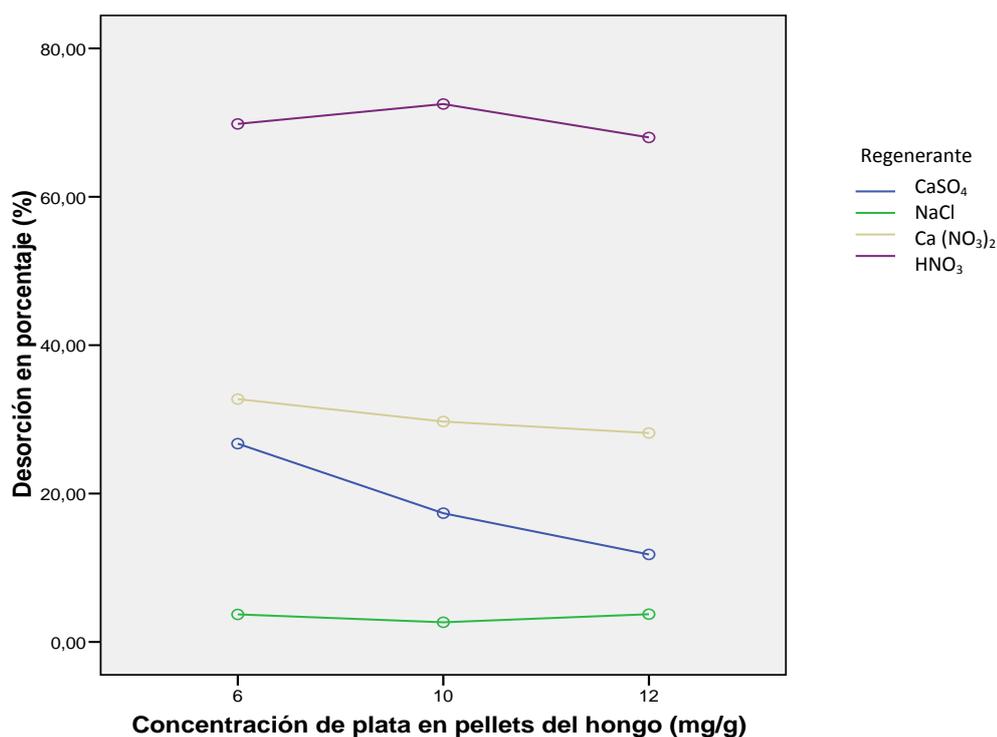


Figura 3.7 Gráfico de perfil del tratamiento: concentración – regenerante para la desorción de plata contenida en pellets del hongo

3.4 Regeneración de pellets del hongo

Encontrado el regenerante óptimo se realizaron varios ensayos de desorción para recuperar el catión plata desde los hongos pelletizados. En la Tabla 3.14, se observa la capacidad de adsorción (q_A) y la capacidad de desorción (q_D), notar que q_D siempre va a tener un valor más bajo en comparación con q_A ya que este parámetro es evaluado en la fase sólida es decir en los pellets del hongo (Ver ecuación 2.1).

Tabla 3.14 Desorción con HNO₃ – 4N

q_A (mg Ag ⁺ /g)	Ag ⁺ en HNO ₃ (mg/L)	q_D (mg Ag ⁺ /g)
4,05	6,25	1,20
6,03	10,13	1,74
12,11	20,64	4,22

Después del proceso de desorción se aprecia un cambio de coloración en los pellets del hongo, de verde oliva a anaranjado Figura 3.8. En la Tabla 3.15 se observa que la capacidad de adsorción de los hongos en un segundo ciclo no difiere considerablemente en las dos primeras concentraciones de plata, correspondientes a 19,49 y 50,92 mg Ag⁺/L, mientras que para 100,56 mg Ag⁺/L se observa que la disminución es cerca del 50%.

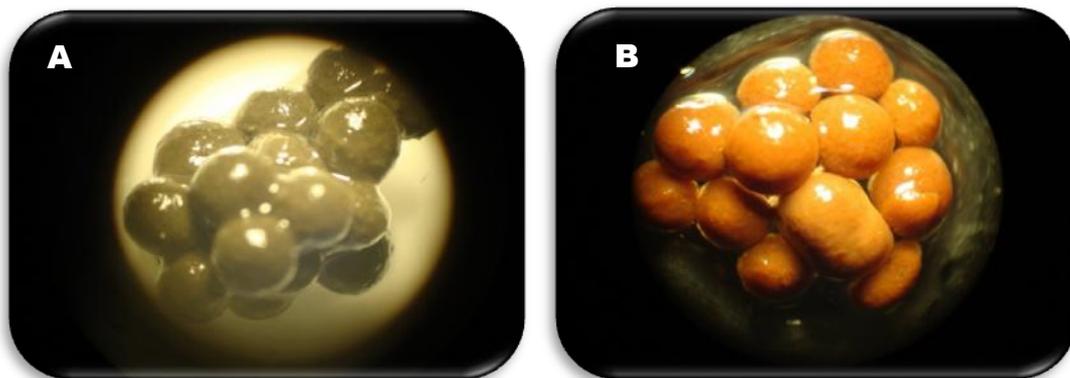


Figura 3.8 (A) Pellets del hongo en el proceso de adsorción. (B) Pellets del hongo luego de aplicar la solución regenerante HNO₃ – 4N (Anrango, 2009).

Tabla 3.15 Adsorción del catión plata por *C. cladosporioides* durante dos ciclos

Concentración (mg Ag ⁺ /L)	q _A 1 ^{ra} (mg Ag ⁺ /g)	q _A 2 ^{da} (mg Ag ⁺ /g)
19,49	4,05	3,76
50,92	6,03	5,95
100,56	12,11	7,91

3.5 Reducción del catión presente en la solución regenerante

3.5.1 Electrólisis de la solución regenerante

Se efectuaron ensayos de electrólisis preliminares con la finalidad de estandarizar una técnica que permita reducir la mayor cantidad de plata disuelta en el regenerante, para ello se probó diferente cantidad de corriente. En la Figura 3.9 se observa la cinética de reducción del catión plata en función del tiempo, partiendo de una concentración de 10 mg Ag^+ /L. Al aplicar 2V (voltios) y 0,01A (amperios), la reducción es mínima, llega hasta un valor de 5,6 mg Ag^+ /L, a los 150 minutos del proceso. En cambio para 8V y 0,5A, existe un marcado desgaste del electrodo aproximadamente a los 5 minutos de iniciado el proceso. Si se aplica 6V y 0,23A, se observa una cinética que decrece rápidamente hasta los 60 minutos y en adelante permanece constante hasta los 150 minutos, bajo estas condiciones la concentración de plata en solución es 1,85 mg/L al finalizar el proceso de electrólisis.

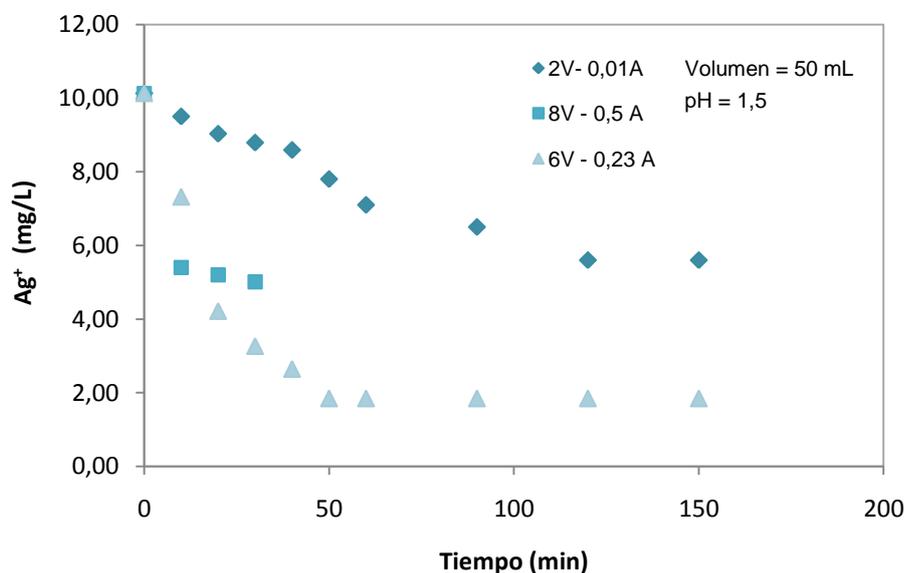


Figura 3.9 Electrólisis aplicando diferente intensidad de corriente directa.

Estandarizado el proceso electrolítico (6V y 0,2A) se ejecutó la cinética de reducción del catión plata para lo cual se utilizaron diferentes concentraciones de plata en el regenerante. En la Figura 3.10, se observa que: para 6,25 mg Ag⁺/L el contenido de plata decrece hasta 2,21 mg Ag⁺/L, en cambio para la concentración de 10,12 mg Ag⁺/L, la disminución de plata en solución es hasta 2,65 mg Ag⁺/L y para 20,64 mg Ag⁺/L la concentración de plata remanente es 1,25 mg Ag⁺/L.

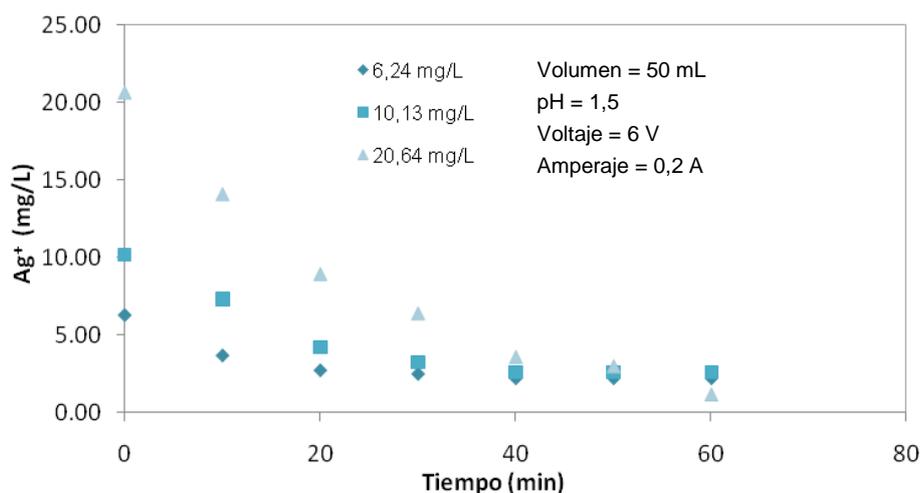


Figura 3.10 Cinética de electrólisis de la solución regenerante.

Finalizado el proceso electrolítico, el electrodo en el que se deposita la plata reducida a su estado elemental presenta una leve coloración plateada en sus alrededores y el electrodo considerado como ánodo se desgasta dejando en la solución regenerante restos de grafito, de manera que la solución electrolítica se vuelve de una coloración negra – pálida.



Figura 3.11 Electrodeposición de plata en el electrodo de grafito (Anrango, 2009).

Para cuantificar este fenómeno se redisolvió el carbón considerado como cátodo en una solución de HNO_3 al 0,5% y se determinó que las concentraciones de plata en solución ácida fueron elevadas. En la Figura 3.12 se observa el porcentaje de reducción del catión plata, siendo la concentración de 20,64 mg Ag^+ /L en el regenerante gastado, la que alcanza un porcentaje del 81,88% de reducción del catión plata. Notar que todos los tratamientos sobrepasan el 50% de transformación a plata metálica.

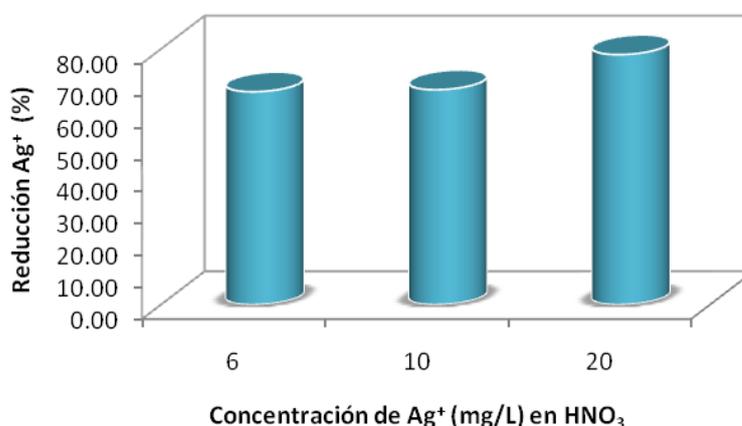


Figura 3.12 Porcentajes de reducción del catión plata a través de electrólisis

3.5.2 Fotorreducción con luz UV de la solución regenerante

Diversos ensayos se llevaron a cabo con la finalidad de estandarizar la técnica para la reducción de plata contenida en la solución regenerante mediante luz UV como fuente de irradiación. En la Figura 3.13 se observa la influencia de la concentración del catalizador, óxido de titanio (TiO_2) y el efecto de la luz UV en la reducción del metal para 4, 6 y 10 mg Ag^+ /L de plata contenida en la solución regenerante. La cinética de fotorreducción para la combinación catalizador – luz UV muestra ser efectiva en la reducción del metal (la plata disuelta en el regenerante disminuye a 0,8 mg Ag^+ /L en el transcurso de 24 horas y el resto se reduce a plata elemental) Es importante notar que cuando se aplica únicamente luz UV el tratamiento, la plata no se reduce. Lo mismo sucede cuando sólo se añade TiO_2 al proceso (0,5 mg/L).

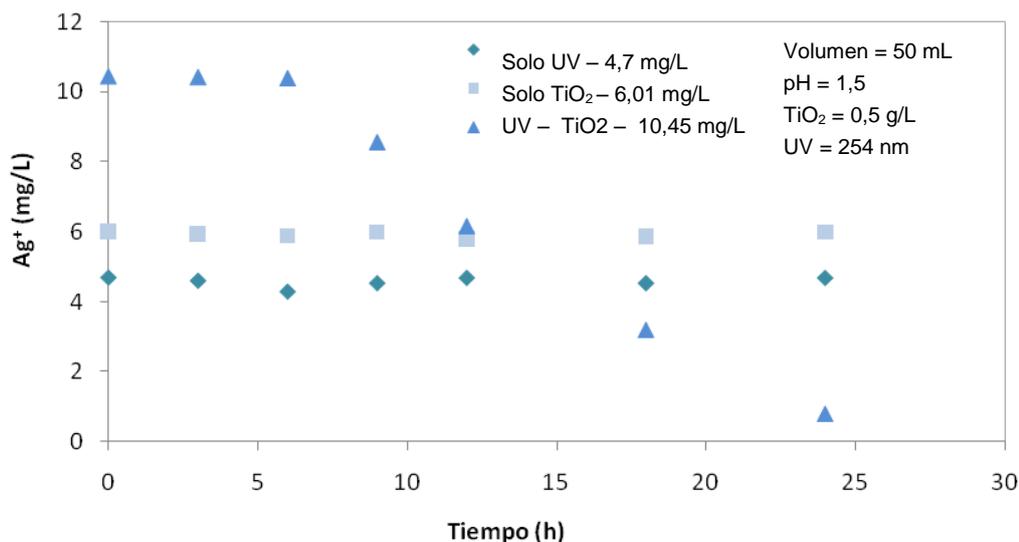


Figura 3.13 Efecto de la luz UV y del catalizador TiO₂, en la reducción del catión plata contenido en la solución regenerante

Se evaluó la cantidad necesaria del óxido de titanio para lograr un alto porcentaje de reducción, en la Figura 3.15 se observa la cinética de reducción del catión plata empleando soluciones regenerantes con diferentes concentraciones de plata. Cuando la cantidad de TiO₂ es baja 0,01g/L la reducción no es eficiente, pero si se aplica cantidades mayores o iguales a 0,5 g/L de TiO₂, notar que la cinética de reducción de plata llega hasta valores de 0,8 y 0,57 mg Ag⁺/L respectivamente.

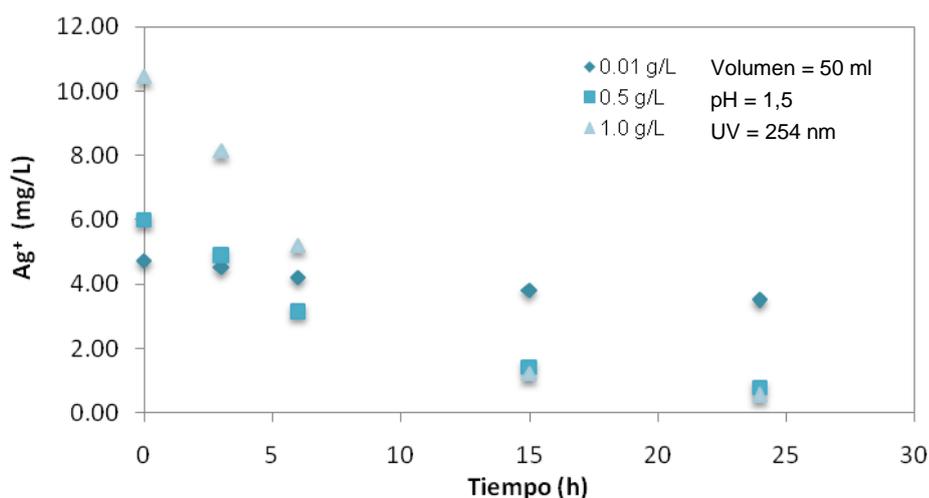


Figura 3.14 Cinética de fotorreducción empleando diferentes cantidades de TiO₂

Según lo descrito en las Figuras 3.13 y 3.14 se estandarizó la técnica que facilitaría este proceso. Partiendo de concentraciones de plata colectadas en la solución regenerante y al cabo de 24 horas de irradiación con luz UV, la reducción del metal tiende a cero. En la Figura 3.15 se observa que a una concentración de 6,25 mg Ag⁺/L la reducción es hasta 0,01 mg Ag⁺/L, para 10,13 mg Ag⁺/L es 0,06 mg Ag⁺/L y para 20,64 mg Ag⁺/L es 0,21 mg Ag⁺/L.

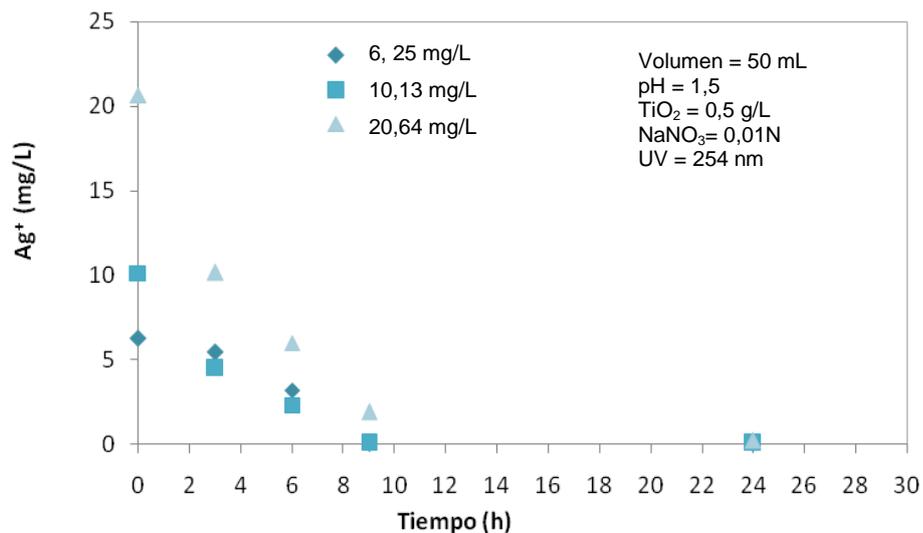


Figura 3.15 Cinética de fotorreducción con luz UV de la solución regenerante a diferentes concentraciones de plata.

Similar el proceso electrolítico para cuantificar este fenómeno, se redisolvió el TiO₂ con plata reducida en HNO₃ al 5%, y se obtuvo valores de concentración de plata altos, en efecto, se produce reducción del catión plata y esto se lo visualiza en la Figura 3.16, donde se observa el porcentaje de fotorreducción para las tres concentraciones de plata, en los tres casos el porcentaje supera el 80%.

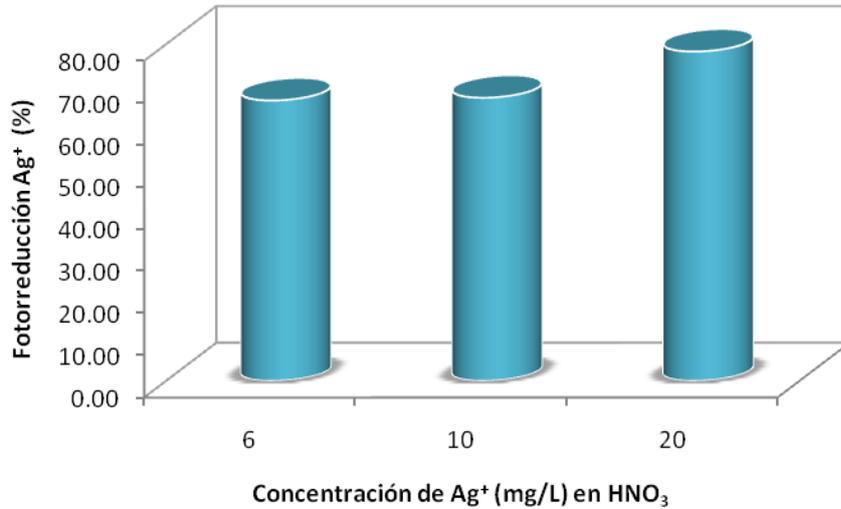


Figura 3.16 Porcentajes de reducción del catión plata presente en la solución regenerante mediante fotorreducción con luz UV.

3.6 Prototipo a nivel de laboratorio para el tratamiento del STS proveniente de la Industria Florícola.

3.6.1 Caracterización del agua residual de florícola

El agua colectada de la post – cosecha de la finca florícola presentó los componentes que se detallan en la Tabla 3.16

Tabla 3.16 Caracterización del agua residual proveniente de la Finca La Mora, Esmeralda Hilsea Investment.

Parámetros	(mg/L)
Sulfatos (SO ₄) ⁻²	5,065
Tiosulfato (S ₂ O ₃) ⁻²	145,85
Ag ⁺	106,50
pH	5,24

3.6.2 Biooxidación del tiosulfato de plata (STS) con Tungurahua 1

En la Figura 3.17 se observa la variación en la concentración de sulfatos durante cinco días, notar que la concentración aumenta hasta un valor de 171,14 mg/L, en cambio la variación en la concentración del tiosulfato disminuye hasta un valor de 85,36 mg/L.

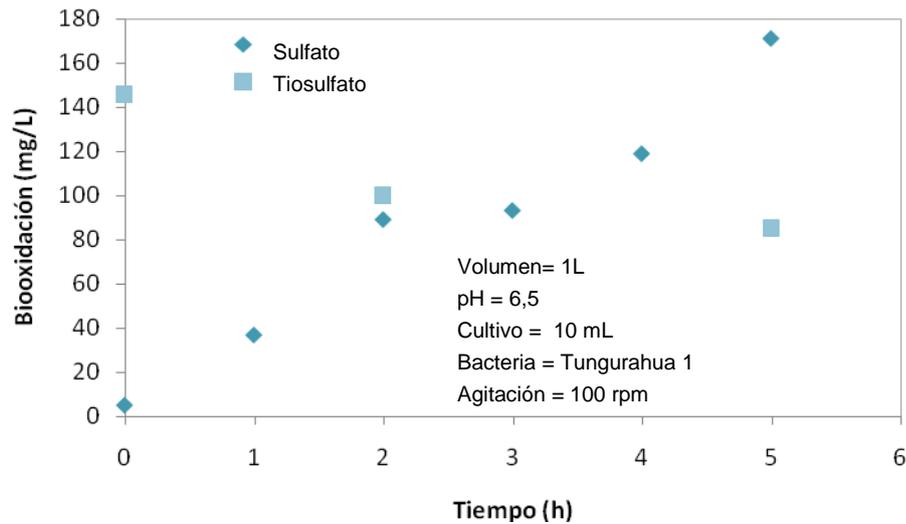


Figura 3.17 Biooxidación del STS en el tratamiento del agua residual en un RCM

3.6.3 Adsorción del catión plata en pellets del hongo

En la Figura 3.18 se observa la adsorción del catión plata por pellets del hongo, partiendo de una concentración de 103,90 mg Ag⁺/L al cabo de 3 días se llega hasta una concentración de 7,58 mg Ag⁺/L.

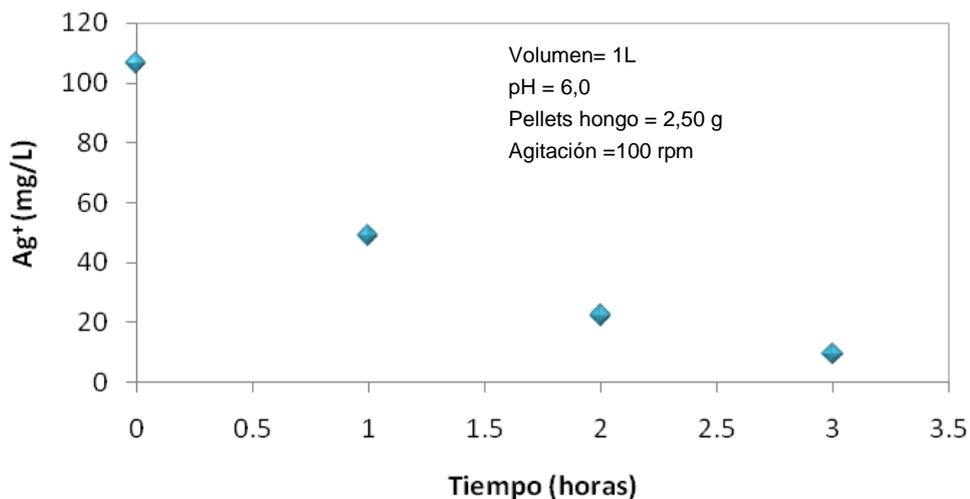


Figura 3.18 Variación de la concentración del catión plata en el proceso de adsorción del tratamiento del STS proveniente de la Industria Florícola.

3.6.4 Desorción del catión plata contenido en pellets del hongo con $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$.

La desorción de catión plata contenido en los pellets del hongo describe una cinética bastante regular. En la Figura 3.19 se observa que al cabo de 24 horas la concentración de plata aumenta en la solución regenerante hasta una concentración de 96,50 mg Ag^+/L .

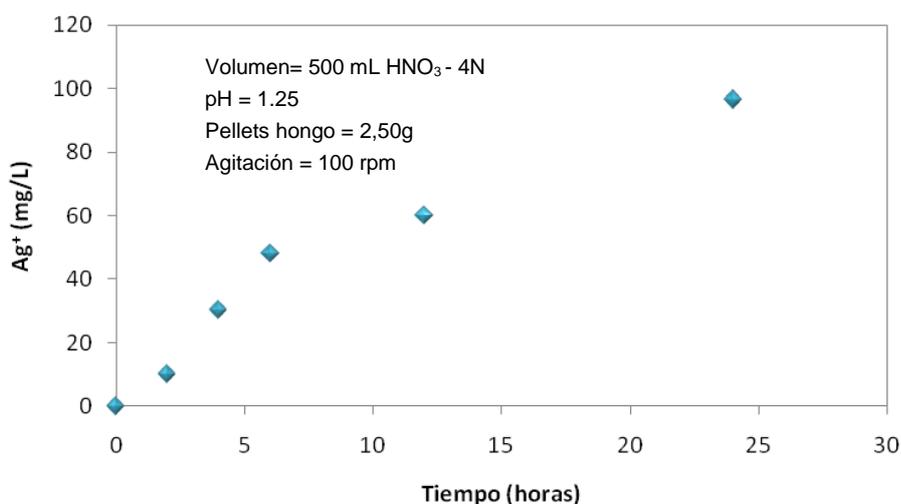


Figura 3.19 Variación de la concentración del catión plata en el proceso de desorción del tratamiento del STS proveniente de la Industria Florícola.

3.6.5 Fotorreducción con luz UV de la solución regenerante

Con el catión plata disuelto en la solución regenerante se condujo el ensayo de reducción de plata. En la Figura 3.20 se observa la variación de la concentración del catión plata durante el proceso de fotorreducción, se observa además que al término de 24 horas el catión plata a logrado reducirse en la superficie del TiO_2 empleado como catalizador y en la solución únicamente queda una muy baja concentración del catión de aproximadamente 8,17 mg Ag^+/L teniendo en cuenta que se partió de una concentración de 96,5 mg Ag^+/L .

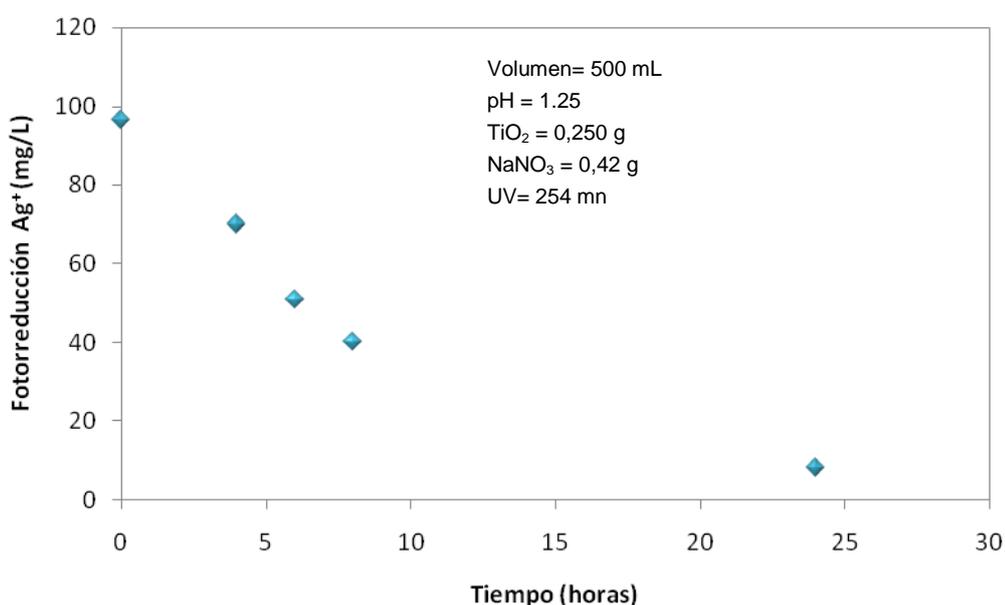


Figura 3.20 Variación de la concentración de plata en el proceso de fotorreducción del tratamiento del STS proveniente de la Industria Florícola

En la Tabla 3.17 se resumen los valores de los parámetros medidos en cada fase de tratamiento del STS presente en el agua residual de post – cosecha para flores sensibles al etileno.

Tabla 3.17 Concentración del catión plata Ag^+ , en cada proceso del tratamiento del agua contaminada con STS

	Biooxidación			Adsorción (mg Ag^+ /L)	Desorción (mg Ag^+ /L)	Fotorreducción (mg Ag^+ /L)
	Sulfato (mg/L)	Tiosulfato (mg/L)	Plata (mg Ag^+ /L)			
Afluente	5,065	145,85	106,5	103,5	0	95,1
Efluente	117,14	85,36	103,5	7,58	95,1	2,17
Eficiencia	95,67%	41,47%	2,44%	92,67%	98,73%	97,71%

CAPITULO 4: DISCUSIÓN

4.1 Biomasa en pellets del hongo *C. Cladosporioides*

En la Figura 3.2 (B) se presenta la estructura del hongo en forma de pellets. El mecanismo de pelletización está dado por dos fenómenos claves, la adhesión y la cohesión de partículas. Las uniones formadas entre las esporas del hongo para formar el pellet pueden ser fuertes ó débiles, dependiendo del tiempo de agitación, según Cumbal *et al.*, 2008, el tiempo óptimo para la formación de pellets es 11 días a 150 rpm, debido a que las uniones deben ser lo suficientemente fuertes para prevenir la desintegración del pellet en ambientes ácidos (regeneración) y permitir su posterior uso. La magnitud de estas fuerzas de cohesión – adhesión están determinadas por el tamaño de partícula, la estructura del gránulo, el contenido de humedad y la tensión superficial del líquido (Palma & Allemandi, 2005). El propósito de tener gránulos de 1 a 3 mm radica en que los tamaños más pequeños de partícula proveen mayor área adsorbente (Flores, 2001).

Es útil destacar que con la pelletización se consigue un estado de inmovilización natural, la biomasa así acondicionada presenta uniformidad en tamaño y estructura, la ventaja de la pelletización es que la biomasa puede ser reutilizada por su fácil manipulación, lo manifiesta Flores, 2001 y Cañizares, 2000. En esta investigación los pellets del hongo *C. cladosporioides* son usados como sorbentes en los ensayos de adsorción, por tal motivo siempre se buscó tener pellets con buenas características.

4.2 Adsorción del catión plata por pellets del hongo

En la Figura 3.3 se observa que el catión plata es removido del agua sintética y es inmovilizado en la biomasa pelletizada. También se observa que la capacidad de remoción que tienen los hongos no varía luego de alcanzar 16 mg Ag⁺/g de hongo en peso húmedo; es decir, que los grupos funcionales de

los hongos que atrapan la plata se saturan. La saturación de materiales que remueven sustancias se produce porque sus grupos reactivos son ocupados en su totalidad. La pared celular fúngica está estructurada con macromoléculas de β -glucano, quitina y manoproteínas dispuestas en capas (Fernández, 2006). En la región más externa (aspecto fibrilar y muy electrodensa) está presente la quitina asociada a gluco-proteínas que contienen grupos funcionales tales como: carboxilos, fosfatos, amidas, tioles e hidroxilos con pKa en el rango de 4 a 5, es decir que a pH mayor a 5 poseen predominantemente carga negativa (Navarro *et al*, 2006), de manera que a pH = 6, valor estandarizado por Cumbal *et al*, 2007, la superficie de los hongos exhiben sitios ligantes para iones metálicos monovalentes, divalentes y hasta trivalentes según señala Sánchez *et al.*, 2006.

La plata es un catión monovalente consecuentemente va ha ser ligado por fuerzas electrostáticas a la superficie de los hongos pelletizados, esto implica un fenómeno netamente superficial como se observa en la Figura 4.1.

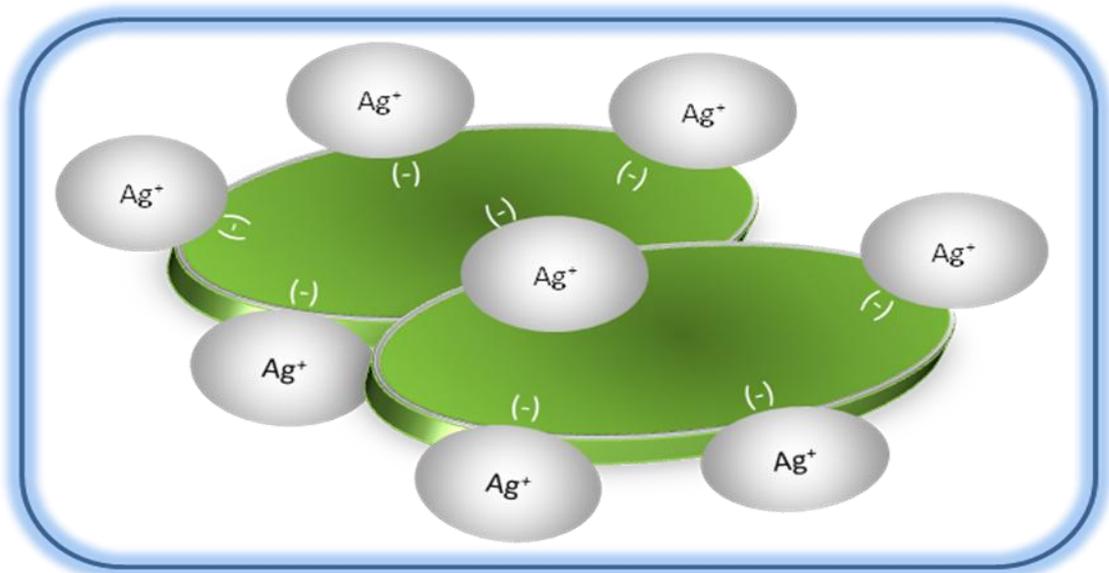


Figura 4.1 Bioadsorción del catión plata sobre la pared celular de *C. cladosporioides* en forma de pellets (Anrango, 2009).

4.2.1 Análisis estadístico aplicado al proceso de adsorción

Una forma de validar la aplicación del análisis de varianza es mediante el contraste de Levene (Martínez, 1995), de acuerdo al supuesto para la homogeneidad de varianzas de los tratamientos aplicados, con un valor mayor a 0,05 contrastado por Levene se acepta la hipótesis nula, misma que indica no existir diferencia entre los tratamientos y que los resultados de la muestra son producto exclusivamente de azar. Con los resultados obtenidos en el proceso de adsorción se tiene un valor de significancia $0,03 < 0,05$ (Tabla 3.3); sin embargo, se acepta la hipótesis nula porque este valor difiere en un 2% y está considerado dentro del rango normal.

Bajo la hipótesis nula para el análisis de varianza, la variabilidad entre grupos no deberá superar la variabilidad intra grupos. La Tabla 3.4 presenta un valor de significancia de $0,0001 < 0,05$, por lo que se rechaza la hipótesis nula debido a que las medias de los grupos no son iguales, de este modo existe al menos una diferencia entre las medias de los tratamientos aplicados y para determinar esta diferencia se aplicó la prueba de Tukey.

Mediante la prueba de Tukey (Tabla 3.5) se determinó que a concentraciones de 50 y 100 mg Ag^+/L , se consigue un alto porcentaje de adsorción 70,31 y 71,26%, respectivamente. Estudios realizados por Novelo *et al.*, 2008 y Navarro *et al.*, 2006, acerca de la remoción metales pesados por microorganismos indican que el porcentaje de adsorción varía entre 37 y 97%, dependiendo del biosorbente empleado.

4.3 Desorción del catión plata contenido en pellets del hongo

La Figura 3.5 representa la velocidad de desorción del catión plata (Ag^+) en función del tiempo con cada solución regenerante. Empleando $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$, la disminución del catión plata en los hongos pelletizados llega hasta una concentración de 1.0 mg Ag^+/g , un estudio acerca de la cinética de adsorción – desorción de metales indica que empleando ácidos o bases concentradas se

logra un alto porcentaje de desorción debido a que en el proceso de desorción se da una reacción estequiométrica molar, es decir una mol del contaminante por una mol del regenerante, además, teniendo en cuenta que tanto la adsorción como la desorción son fenómenos de superficie donde intervienen cargas electrostáticas (Barahona *et al*, 2005).

Utilizando NaCl – 1N como regenerante, no se logra disminución del catión plata contenido en los pellets del hongo, esta tendencia está asociada al equilibrio heterogéneo del ión común (Kotz, 1990). Al poner en contacto iones cloruro Cl^- con cationes Ag^+ da como resultado el AgCl (precipitado) un sólido que puede permanecer adherido a la misma pared del hongo o si se encuentra en solución forma una fase insoluble debido a su constante de solubilidad, $K_{ps} = 1.8 \times 10^{-10}$.

Con las soluciones regenerantes preparadas a partir del calcio: $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,02N y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 1N, la desorción de plata no es tan significativa, este comportamiento se atribuye a la escasa concentración de iones calcio en la solución regenerante, el sulfato de calcio es casi insoluble en agua, $K_{ps} = 2,6 \times 10^{-5}$ a 25°C, de manera que existe muy poca posibilidad de desplazar al catión plata por la ausencia de cationes calcio en solución.

Por otra parte, el desplazamiento de un ión por otro está en función de su dimensión, carga electrostática, estructura, pH y temperatura (Battaner, 1993). Al momento de evaluar la competencia de iones por un cierto sitio de afinidad en un sustrato, es muy importante tener en cuenta el radio atómico del elemento para que ocurra un desplazamiento entre los iones competidores (Leyva, 2005). En la Figura 4.2 se observa una interpretación de lo que ocurre en la pared celular del hongo cuando se emplea soluciones que contienen iones monovalentes y divalentes que podrían desplazar al catión plata ligado a la superficie celular del hongo.

Cuando la competencia es con el calcio la desorción se puede esquematizar como se presenta en la Figura 4.2 (A), el radio atómico del calcio es 2.23 Å mucho mayor al radio atómico de la plata, que es 1.75 Å, de este

modo los cationes plata no pueden ser desplazados por el calcio porque son mayores en tamaño. En la parte (B), se observa en cambio la competencia de los cationes plata con el sodio, mismo que tiene un radio atómico de 2,23 Å, similar a lo que ocurre con el calcio, la diferencia de tamaño es el inconveniente para este fenómeno, dado que puede haber desplazamiento; sin embargo el sodio viene de la disolución de la sal: NaCl, donde el Cl⁻ y Ag⁺ forman un compuesto insoluble de manera que es imposible cuantificar la plata en solución. Finalmente en el apartado (C) se observa que el catión plata es fácilmente desplazado por el hidrógeno el cual tiene un radio atómico de 0,79 Å y al estar presente en demasía se hace fácil el desplazamiento, a pesar de que ambos son cationes monovalentes.

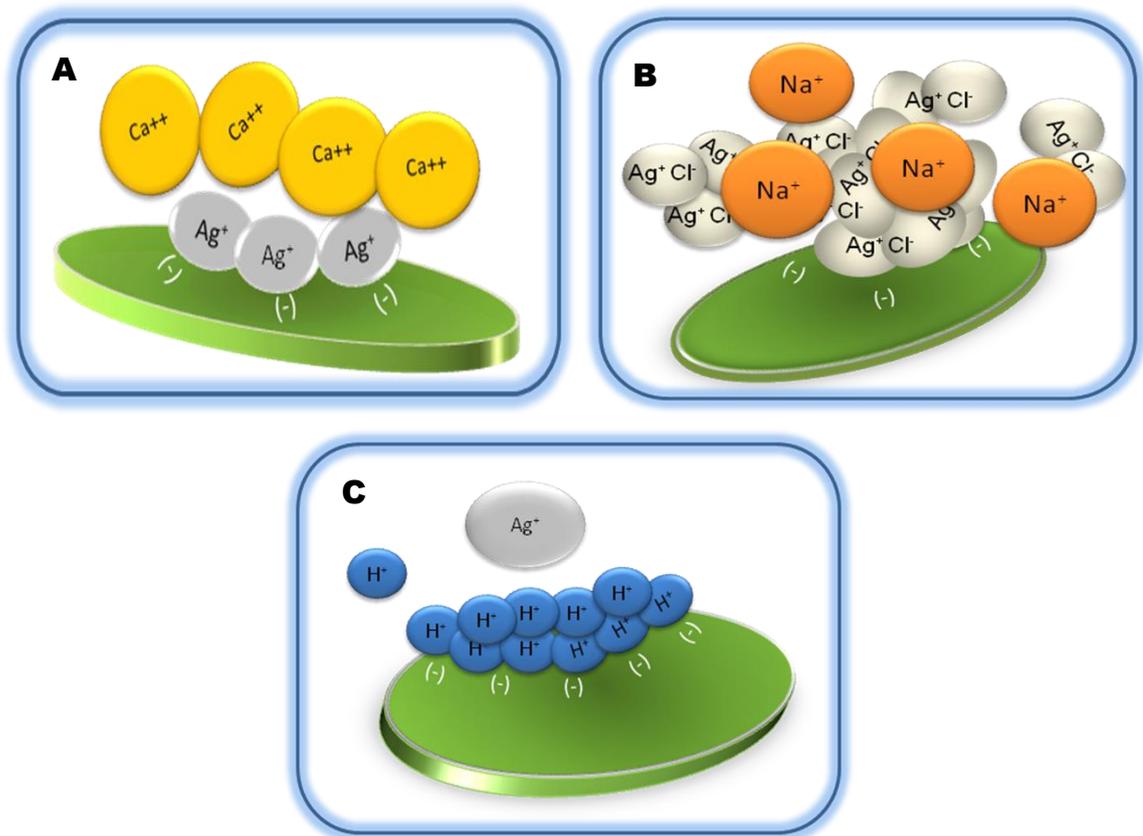


Figura 4.2 Mecanismo de desorción del catión plata efectuado en la pared celular del hongo *Cladosporioides* en forma de pellets con diferentes soluciones como regenerantes (A) $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} - 0,02\text{N}$ y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 1\text{N}$ (B) $\text{NaCl} - 1\text{N}$ (C) $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$ (Anrango, 2009).

Estudios realizados por Sánchez *et al.*, 2008; Ramírez *et al.*, 2002; Parra & Espinoza, 2007 han demostrado que la pared celular de hongos pueden bioadsorber metales reversiblemente y actuar de forma similar a como lo hacen las resinas de intercambio iónico. Dada la importancia del metal a recuperar la plata, esta investigación se enfocó en buscar una solución regenerante con la que se pueda eluir la mayor cantidad de plata bioadsorbida por pellets del hongo. En la Tabla 3.6, se indica que utilizando una solución de HNO₃ – 4N, se logra un 70% de desorción del catión plata desde los pellets del hongo cargados con diferentes concentraciones del metal.

4.3.1 Análisis Estadístico del modelo 2 – factorial dispuesto en un Diseño Completamente al Azar para la desorción

En la Tabla 3.6 se presenta la estadística descriptiva del modelo aplicado al proceso de desorción de plata contenido en pellets del hongo. Mediante el contraste de Levene (Tabla 3.7) con el valor de significancia 0,001 se rechaza la hipótesis nula para la homogeneidad de varianzas, sin embargo con los resultados que se muestran a continuación se puede afirmar que es válido aplicar el diseño factorial a los datos de porcentaje de adsorción obtenidos.

En el ANOVA aplicado al diseño 2 – factorial 4x3 (Tabla 3.8), se describe los valores de significancia para los tres efectos incluidos en el modelo:

1. Concentración de plata en el hongo
2. Regenerante
3. Concentración de plata en el hongo – Regenerante

Al haber encontrado que los datos estadísticos del nivel crítico (F), correspondientes a los efectos principales resultan significativos, es decir existen diferencias entre los tratamientos, es de vital importancia realizar comparaciones, con el fin de conocer las diferencias entre las medias de los tratamientos y determinar aquella que sea óptima.

En las Tablas 3.9, 3.10 y 3.11 se aprecian las medias estimadas del porcentaje de desorción de los factores y la interacción. Con estas medias se realiza la Prueba de Tukey. En la Figura 3.7 se verifica que la solución regenerante con la que se libera la mayor cantidad de plata contenida en pellets del hongo, es el $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$.

4.4 Múltiples ciclos de adsorción – desorción de los pellets del hongo

En la Tabla 3.15 se muestra la capacidad de adsorción en el primero y segundo ciclo de adsorción. A una concentración inicial de plata 100, 56 mg/L, la capacidad de adsorción en el segundo ciclo baja (7,91 mg/g). En cambio la magnitud de desorción a esta misma concentración es moderadamente alta (4,22 mg/g) (Tabla 3.14). Esto último explica el porqué la capacidad de adsorción en el segundo ciclo es baja, pues se cree que quedan varios sitios reactivos ocupados con plata y que para una segunda adsorción no están disponibles (Monge *et al*, 2008; Navarro *et al*, 2006 y Leyva *et al*, 2005).

Entonces si los hongos van a ser reutilizados en otros ciclos de adsorción es necesario conducir nuevos ensayos de biosorción a fin de verificar que el biosorbente (pellets del hongo) regenerados mantienen su capacidad de adsorción. En esta investigación, se comprobó que la capacidad de adsorción en un segundo ciclo, no es afectada drásticamente en concentraciones menores a 50 mg Ag^+/L ; mientras que para concentraciones mayores la disminución es cerca del 50%.

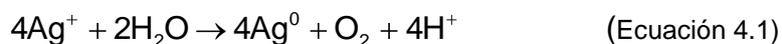
4.5 Reducción del catión plata disuelto en la solución regenerante

4.5.1 Electrólisis de la solución regenerante

En la Figura 3.9 se observa que la electrólisis es un proceso eficiente para reducir el catión plata a plata elemental contenido en la solución regenerante cuando aplica 6V y 0,23A durante 60 minutos. Mientras que

cuando se aplica una intensidad de corriente más baja el proceso se hace lento y se logra muy poca reducción del catión en solución (Pérez, 1991). Por otra parte Netto, 2008 reporta que el HNO₃ – 4N empleado como solución electrolítica es un buen conductor de corriente eléctrica. El catión plata que se reduce a plata elemental está disuelto en un exceso de ácido y al aplicarse una alta intensidad de corriente existe desgaste del electrodo, dificultando la cuantificación del metal, pues la solución se mezcla con los finos del grafito, haciéndose necesario filtrar la muestra para poder analizar la plata que queda en solución.

En esta investigación, la reducción del catión plata a plata elemental mediante la aplicación del proceso electrolítico es bastante bueno (>60%). La plata se acumula en el cátodo como depósitos sólidos y es similar a la cantidad de plata que se produciría estequiométricamente (ver Ecuación 4.1) con esto se afirma que mediante electrólisis se remueve plata elemental en forma de depósitos que se acumulan en el cátodo.



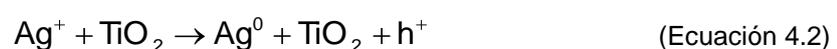
4.5.2 Fotorreducción con luz UV de la solución regenerante

En la Figura 3.13 se observa el efecto de la luz UV y el catalizador en la reducción del catión plata. Es evidente que cuando estos dos elementos actúan por separado, no se consigue reducir el catión plata presente en la solución regenerante. Además para que se produzca un cambio profundo en la estructura química del contaminante, es necesario activar al catalizador por medio de luz ultravioleta para generar el par electrón – hueco (e⁻, h⁺) según, lo reporta Doménech, 2001. Los electrones libres pueden reducir fácilmente los iones metálicos que se encuentran en solución acuosa y los puntos de carga positiva, huecos reaccionan con las moléculas de agua y de oxígeno para producir radicales OH, que a su vez reaccionan fácilmente con los compuestos orgánicos (Soriano *et al*, 2005).

El TiO_2 empleado tiene una banda prohibida con una energía aproximada de 3.9eV, la cual puede activarse con luz ultravioleta a longitudes de onda $\lambda < 365 \text{ nm}$ (Soriano *et al.*, 2005). El TiO_2 que se utilizó para los ensayos es una mezcla entre las dos fases cristalinas: anatasa – rutilo y en la experimentación se utilizó una longitud de onda de radiación de 254 nm. Además el tiempo estimado para la activación del TiO_2 fue determinado empíricamente, manejando como criterio principal, la reducción total de la plata en solución. Como se observa en la Figura 3.13 a las 3 horas de iniciado el proceso empieza a darse la reducción de la plata. Este comportamiento en la reducción de la plata sugiere que el catalizador necesita de una etapa previa de activación (Rubiano & Laguna, 2004).

Adicionalmente, fue muy importante establecer la cantidad de TiO_2 necesaria para lograr un alto porcentaje de reducción. En la Figura 3.15 se observa que a cantidades mayores a 0,5 g/L de TiO_2 , se logra una reducción completa del catión plata. De acuerdo con Soriano *et al.*, 2005, el proceso de fotorreducción es efectivo con una concentración de 2 g/L de TiO_2 . Para una solución de 250 mL de AgNO_3 . Por consiguiente la concentración de TiO_2 no es un factor que influye en el mejoramiento del proceso, esto se evidencia al final del proceso de fotorreducción, pues en este estado, existe un conglomerado de partículas de color rojizo (TiO_2 que reaccionó) y aquella parte de catalizador que no reaccionó presenta su color blanco normal.

Por otra parte el pH juega un papel muy importante en el proceso fotorreductor, como lo manifiesta Soriano *et al.*, 2005, el valor de pH óptimo para este proceso se encuentra en el rango de 0 – 8, ya que la mayor cantidad de plata en este rango de pH se encuentra en forma iónica y consecuentemente existe mayor factibilidad de reducción a plata metálica. La ecuación 4.2 describe el proceso de fotorreducción:



Aplicando los siguientes parámetros: concentración de $\text{TiO}_2 = 0,5 \text{ g/L}$ y 24 horas de exposición a luz UV, fue posible estandarizar la técnica para la fotorreducción de la plata contenida en la solución regenerante, como se lo indica en la Figura 3.15.

4.6 Prototipo a nivel de laboratorio para el tratamiento del STS proveniente de la Industria florícola

En la Figura 3.17, se muestra la fase de biooxidación del STS presente en el agua residual de florícola. En la figura se observa la variación en la concentración de sulfatos y tiosulfato como función del tiempo. Notar que el aumento en la concentración de sulfatos es generado por la oxidación del tiosulfato, mediado por la bacteria *Tungurahua 1*, según lo establecido por Cumbal *et al.*, 2008.

La segunda fase del tratamiento consistió en la bioadsorción del catión plata usando pellets del hongo *C. cladosporioides*. Este proceso se lo condujo en un biorreactor acoplado un agitador mecánico que proporcionó al reactor una velocidad de rotación de aproximadamente 100 rpm. Con este sistema se logró un porcentaje de adsorción del 92,67%, el cual es mayor al logrado con los ensayos en lotes. La diferencia de porcentajes radica en la agitación, pues con los ensayos en lote la velocidad de agitación fue de 40 rpm.

En la desorción, tercera fase del tratamiento se obtiene un porcentaje de recuperación del catión plata del 98,73%, Esta elevada recuperación del catión ocurre por la mayor agitación provocada al reactor. En consecuencia, se comprueba que la agitación es un parámetro importante para estos dos procesos de adsorción y desorción de la plata. Al existir movimiento de la fase líquida con velocidades elevadas ($>100 \text{ rpm}$), se reduce el espesor de la película del líquido en la interfase formada entre el seno del líquido y el sólido (pellets del hongo), de manera que se elimina la resistencia en la película del líquido y los cationes plata pueden fácilmente alcanzar o liberarse de la pared celular superficial del hongo.

Finalmente con la fotorreducción del catión plata a su estado elemental, se alcanza una eficiencia del 97,71%. Los estudios realizados sobre reducción de plata por fotocatalisis demuestran que se logra una reducción del 100% para una concentración 100 mg Ag^+ /L (Soriano *et al.*, 2005). Los resultados obtenidos con el prototipo de laboratorio son similares a los logrados con pruebas en matraces, validando consecuentemente este prototipo.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

✓ La pelletización de las esporas del hongo *Cladosporium cladosporioides* es una forma de acondicionar a la biomasa que será utilizada como biosorbente en los procesos de adsorción – desorción de plata.

✓ La ventaja de utilizar pellets del hongo es por la uniformidad en tamaño, estructura, fácil manipulación y su reutilización.

✓ La remoción de plata mediante biomasa pelletizada es un fenómeno netamente físico dado por fuerzas electrostáticas entre grupos funcionales de las proteínas de la pared celular fúngica y el catión plata.

✓ El pH es una variable determinante en el proceso de adsorción, debido a que el pKa de los grupos funcionales de la asociación quitina – glucoproteínas está en el rango de 4 a 5; es decir que a pH mayor a 5 se exhibe con predominancia carga negativa y de esta manera se da la captura del catión plata.

✓ La pared celular fúngica se satura del contaminante cuando ha alcanzado una capacidad de adsorción de 16 mg Ag⁺/g de hongo en peso húmedo y mediante un análisis estadístico se determinó que la mayor adsorción de plata por pellets del hongo se consigue con concentraciones de 100 mg Ag⁺/L, presentando un porcentaje de adsorción del 71, 26%.

✓ La desorción de plata contenida en pellets del hongo ocurre debido al desplazamiento del catión plata por los iones monovalentes (H⁺, Na⁺) y divalentes (Ca⁺⁺) presentes en las soluciones regenerantes.

✓ Diferentes comportamientos se encontraron al aplicar cuatro soluciones regenerantes en la desorción del catión plata contenido en pellets del hongo, mediante el análisis estadístico se determinó que el HNO₃ – 4N, es

el regenerante óptimo, con el que se logra liberar la mayor cantidad de plata bioadsorbida por pellets del hongo.

✓ Aplicando el $\text{HNO}_3 - 4\text{N}$ a la biomasa cargada con diferentes concentraciones de plata se logra un porcentaje de recuperación del metal de aproximadamente 70%, debido a que los iones hidrógeno tiene un radio atómico pequeño y al estar presente en alta concentración desplazan con facilidad al catión plata.

✓ Los pellets del hongo mantienen su capacidad de adsorción tras su regeneración para concentraciones menores a 50 mg Ag^+/L ; mientras que para concentraciones mayores la capacidad disminuye en un 50%, esto ocurre porque no se logra una desorción completa a concentraciones de 100 mg Ag^+/L , es decir aún quedan sitios reactivos ocupados por cationes plata.

✓ Las mejores condiciones experimentales para la reducción del catión plata mediante electrolisis son: 6V – 0,2A y 60 minutos. Con estas condiciones el porcentaje de reducción de plata es del 70,37%.

✓ Durante el proceso electrolítico el electrodo (cátodo) en el cual se deposita la plata elemental presenta una leve coloración plateada en su alrededor para cuantificar el fenómeno de transformación es necesario diluir el electrodo en ácido nítrico al 5%.

✓ El proceso de fotorreducción consigue reducir el catión plata a plata elemental, bajo las siguientes condiciones: longitud de onda ($\lambda = 254\text{nm}$), sólido semiconductor ($\text{TiO}_2 = 0,5 \text{ mg/L}$), tiempo de exposición (24 horas) y se logra un porcentaje de reducción del catión plata del 85,47%.

✓ La intervención de un sólido semiconductor TiO_2 , en el proceso electrolítico es con finalidad de activar el par (electrón – hueco), los electrones libres reducen al catión metálico y los huecos reaccionan con el agua y el oxígeno para producir radicales OH.

CAPITULO 6: RECOMENDACIONES

- ✓ Las bacterias y los hongos que fueron aisladas de la serranía ecuatoriana deben ser mantenidas en un cepario para posteriores aplicaciones o para pruebas de un potencial prototipo a nivel industrial.
- ✓ Durante el proceso de pelletización del hongo, se debe tener muy en cuenta el grado de agitación y el volumen de medio que se va a agitar a fin de evitar una aglomeración heterogénea de esporas.
- ✓ La plata es un elemento fotosensible a la luz visible de manera que es recomendable trabajar en condiciones de obscuridad para evitar la precipitación de cualquier composición del metal.
- ✓ Durante los ensayos de adsorción, el control del pH es de vital importancia ya que a un pH mayor a 9 la plata tiende a precipitar en cambio a pH ácido la plata compite con los iones H^+ .
- ✓ Tener en cuenta las medidas de bioseguridad durante la manipulación de reactivos en especial del ácido nítrico, esto evitará problemas de contaminación por inhalación de vapores o por contacto cutáneo.
- ✓ La exposición del personal de laboratoristas a los rayos ultravioletas debe ser mínima y se debe proteger principalmente la vista con gafas adecuadas y mascarilla debido a que en el ambiente se produce ozono que es muy perjudicial para la salud.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, I., Moctezuma, M., Cárdenas, J., Gutiérrez, C. (2007). Bioadsorción de Cadmio (II) en Solución Acuosa por Biomásas Fúngicas. Revista Scielo Información Tecnológica. Extraído el 26 de mayo del 2009 de: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642007000100003&lng=es&nrm=iso.

Aira, M., Piontelli, E., Jato, V., Toro, M. (2003). Concentración Atmosférica Invernal de Propágulos Fúngicos en un Mercado Interior de Abastos en Valparaíso (Chile). Departamento de Botánica, Facultad de Farmacia. Universidad de Valparaíso. Boletín Micológico. Volumen 18: 20 – 37. Extraído el 25 de marzo del 2009 de: http://www.uv.cl/servicios/externos/lab_micologia/boletines/micologia%202003/1.4mercado_cardonal.pdf

Alberici, R., Jardim, W. (1993). Photocatalytic Degradation of Phenol and Chlorinated Phenols using Ag-TiO₂ in a Slurry Reactor. Extraído el 22 de marzo del 2009 de: [//www.monografias.com/trabajos21/fotocatalisis-heterogenea/fotocatalisis-heterogenea.shtml](http://www.monografias.com/trabajos21/fotocatalisis-heterogenea/fotocatalisis-heterogenea.shtml)

Allegrucci, N., Elíades, L., Bucsinszky, A., Cabello, M., Arambarri, A. (2007). Diversidad de Anamorfos de Ascomycota en bosques nativos de Celtis tala (Ulmaceae) en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Instituto Botánica Spegazzini, Facultad de Ciencias Naturales y Museo. La Plata. Argentina. I Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica. Extraído el 19 de octubre del 2008 de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/bsab/v42n1-2/v42n1-2a11.pdf>

Anderson, P., Kim, B., O'Connor, C. (2000). Photocatalytic Process for Silver Recovery and Wash Water Reuse. Department of the Interior Bureau of Reclamation. Illinois Institute of Technology Chicago, Illinois. Desalination Research and Development Program. Report N.50. Extraído el 14 de octubre del 2008 de: <http://www.usbr.gov/pmts/water/media/pdfs/report050.pdf>

ASTDR. (1990). Reseña Toxicológica de la Plata. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, División de Toxicología. Atlanta. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU. Extraído el 15 de enero del 2009 de: http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs146.pdf.

Barahona, X., Flores, C., Benavente, M. (2005). Estudio de la Bioadsorción de Plomo en Quitosano. Facultad de Ingenierías Química. Universidad Nacional de Ingeniería. Programa UNI – Asdi/SAREC – FIQ. Extraído el 15 de junio del 2009 de: www.fiq.uni.edu.ni/carrera/MARTHAben.ppt

Barrionuevo, D. (1995). Presencia de *Candida albicans* y su relación con los valores de CD4+ en pacientes con infección por VIH. Universidad de Granada. Facultad de medicina. Departamento de cirugía y sus especialidades. Extraído el 23 de febrero del 2009 del sitio web: <http://hera.ugr.es/tesisugr/16448704.pdf>

Benenger, A. (2002). Recuperación / Eliminación de metales pesados en aguas residuales mediante tecnología electroquímica. Departamento de Química – Física. Universidad de Alicante. Extraído el 15 de octubre del 2008 de: http://www.ua.es/otri/es/areas/ttot/docs/Recuperacion_elimination_metales_pesados_ESP.pdf

Berny O., Gutiérrez R., Flores, S., Córdova, I., Valenzuela M. (2006) Síntesis Foto-Asistida del 2-Fenil-1,3-Dioxolano. Laboratorio de Catálisis y Materiales. Instituto Politécnico Nacional Zacatenco, México. Revista Mexicana de Ingeniería Química. Extraído el 22 de marzo del 2009 de:

BlogElectronica. (2008). Celda Electrolítica. Disponible en el Website: AskGraphics.com. Extraído el 22 de noviembre del 2008 de: <http://www.electronica2000.info/2008/01/04/celda-electrolitica/>.

Baird, C. (2001). Química Ambiental. Universidad Autónoma de Barcelona. España. ISBN: 84 – 291 – 7902 – X .Editorial Reverté. Extraído el 15 marzo 2009 de: <http://books.google.com.ec/books?id=bgUaHUqGPYIC&pg=PA391&dq=plata+un+metal+pesado#v=onepage&q=plata%20un%20metal%20pesado&f=false>

Brown, T., Eugene, H., Escalona, H., Bursten, J., Burdge, R. (2004). Equilibrio Químico. Química Pearson Educación. Extraído el 22 de noviembre del 2008 de: <http://books.google.com.ec/books?id=43qKhqwAoLgC&pg=PA601&dq=catalizador>.

Bustos, O. (2000). Leyes de la Electrólisis. Relaciones Públicas. Centro de capacitación profesional EPEC. Extraído el 22 de junio del 2009 de: <http://molet.osvaldobustos.com.ar/educativo/Fichas/ficha%20faraday.pdf>.

Cantos, O. (2001). Aplicación de la electrolisis y las leyes de Faraday en la restauración de los metales. Universidad de la Rioja. Boletín auriense. Extraído el 22 de junio de: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1258009>.

Castillo, L., Martínez, A., Garcera, A., Moreno, I., Maicas, S., Elorza, V., Valentín, E., Sentandreu, R. (2003). Respuesta transcripcional global de *C. albicansal* estrés producido por la eliminación de la pared celular (protoplastos) o de una de sus proteínas (Ssr1). Universidad de Valencia. Extraído el 20 de febrero del 2009 de: <http://www.uv.es/rvgp/2reunion/2.%20Luis%20Castillo.pdf>

Cañizares, R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, San Pedro Zacatenco, México. Revista Latinoamericana de

Microbiología. Extraído el 2 de octubre del 2008 del sitio web: <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2000/mi003f.pdf>.

Cartaya, O., Peniche, C., Reynaldo, I. (2009). Polímeros Naturales Recolectores de Iones Metálicos. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas y Centro de Biomateriales. Universidad de La Habana, Cuba. Revista Iberoamericana de Polímeros Extraído el 22 de marzo del 2009 de: <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/MAR09/cartaya.pdf>.

Cumbal, L., Koch, A., Tacuri, M. (2008). Biorremediación del tiosulfato de plata (STS) presente en el agua residual proveniente del tratamiento en post-cosecha para flores sensibles al etileno. Memoria: Tercer Congreso de Ciencia y Tecnología. Centro de Investigaciones Científicas, Escuela Politécnica del Ejército. Extraído el 20 de marzo del 2008.

Doménench, X., Litter, M., Mansilla, H. (2005). Remoción de Contaminantes metálicos. Centro Atómico Constituyentes de la CNEA. CNEA-CAC-UAQ #95-Q_03_05. M.I.L. Extraído el 25 de noviembre del 2008 de: <http://www.cnea.gov.ar/xxi/ambiental/cyted/12cap06.pdf>.

Donald G., Fink, H., Wayne, B., John M., Carroll, A. (1984). Electricidad en el Transporte. Manual práctico de electricidad para ingenieros. Editorial Reverté. Extraído el 22 de Junio del 2009 de: http://books.google.com.ec/books?id=0MvCfacWoLcC&pg=PA23&lpg=PA23&dq=equivalente+electroqu%C3%ADmico&source=bl&ots=GIG2be6DAq&sig=TpfBSYNRHyYTvNbnmBF7atuW6il&hl=es&ei=UJfStDoINe_tgfFqJngAw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=9.

Garritz, A. & Chamizo, J. (2001). Hallazgos sobre la electricidad y el magnetismo. Tú y la Química. Extraído el 22 de noviembre del 2008 de: <http://books.google.com.ec/books?id=a1ehXOQV3gcC&pg=PA303&dq=coulombio>.

Gelber, A., Rivas, B., Gutiérrez, S., Merino, F. (2004). Biorremoción de Metales Pesados en Solución por *Pseudomonas fluorescens* M1A-4S

aisladas de Ambientes Mineros. Departamento de Microbiología y Biotecnología Microbiana de la Facultad de C.C.B.B. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú. Extraído el 14 de junio del 2009 de: http://espanol.geocities.com/ii_sct_2004/bioremocion_rivas_blas.htm.

Fernández, A. (2006). Las sustancias químicas tóxicas presentes en el ambiente acaban acumuladas en los seres vivos. Fundación Consumer Eroski. Extraído el 25 de Agosto del 2009 de: http://www.consumer.es/web/es/medio_ambiente/urbano/2006/02/03/149100.php.

FlorEcuador. (2000). Tabla de Parámetros de Análisis de Aguas Residuales Descargadas a un Cuerpo de Agua Dulce o Alcantarillado. Certificado Socioambiental de Expoflores. Extraído el 18 marzo del 2009 de: http://florecuador.soho.ec/images/archivos_recursos/parametros_aguas_residuales.pdf.

Flores, J., Martha, L., Tapia, N., Maldonado, H. (2001). Biorremediación de Metales Tóxicos en Efluentes Mineros Aplicando Biosorción. Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas. Instituto de Investigación. Lima, Perú. Extraído el 20 de febrero del 2009 de: http://sisbib.unmsm.edu.pe/Bibvirtual/Publicaciones/geologia/v04_n7/biore_metal.htm

Frangie, S., Hermida, L., Borinsky, M., Puellas, M., Lelli, D., Alvarez, R., Lagomarsino, A. (2002). Evaluación de un equipo de retención de plata para químicos provenientes de la Industria Fotográfica. Centro de Investigación y Desarrollo en Química y Petroquímica. Extraído el 24 de Junio del 2009 de: <http://www4.inti.gov.ar/GD/4jornadas2002/pdf/cequipe-116.pdf>

KODAK. (1999). El destino y las consecuencias de la plata en el medio ambiente. Servicios Medioambientales. Extraído de publicaciones de Kodak el 2 de octubre del 2008 de:

http://www.kodak.com/eknec/documents/49/0900688a802c2649/J-216_LAR-ES.pdf

Leyva, R., Medellín, A., Guerrero, M., Berber, M., Aragón, A., Jacobo, A. (2005). Intercambio Iónico de Plata (I) en solución acuosa sobre clinoptilolita. Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México. Extraído el 15 de enero del 2009 de: http://www.atmosfera.unam.mx/editorial/contaminacion/acervo/vol_21_4/4.pdf

Lovley, D. (2000). Environmental Microbe – Metal Interactions. Department of Biological Sciences, University of Dundee, Washington. American Society for Microbiology. Extraído el 26 de julio del 2009 de: http://books.google.com.ec/books?id=-4Gh0T_3ZXMC&pg=PA237&lpg=PA237&dq=Environmental+Microbe-Metal+Interactions&source=bl&ots=cO-zPq0f36&sig=OPLqIbPCEXZpq07GleGa5J2btZM&hl=es&ei=8fSCSojONaKu tgeM7MjWCg&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1#v=onepage&q=&f=false.

Mantell, C. & Fernández, J. (1980). Unidades Eléctricas y Leyes de Faraday. Centro de Estudios de Energía Solar. Ingeniería Electroquímica. Editorial Reverté. Extraído el 22 de Junio del 2009 de: http://books.google.com.ec/books?id=RdC9M__eMEkC&pg=PA22&lpg=PA22&dq=equivalente+electroqu%C3%ADmico&source=bl&ots=yFS8mV-SPK&sig=Uac1Wf50_q4HLI376wKvamzAbGo&hl=es&ei=UJfStDoINe_tgfFqJngAw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6.

Méndez, R., Novelo, A., Coronado, V., Castillo, E., Sauri, M. (2008). Remoción de materia orgánica y metales pesados de lixiviados por flotación con aire disuelto. Artículo de Investigación Extraído el 20 de julio del 2009 de: http://www.ingenieria.uady.mx/revista/volumen12/remosion_de_materia.pdf.

Monge, O., Valenzuela, J., Acedo, E., Certucha, M., Almendariz, F. (2008). Biosorción de Cobre en Sistema por Lote y Continuo con Bacterias Aerobias Inmovilizadas en Zeolita Natural (Clinoptilolita). Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia y Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Universidad de Sonora, México. Extraído el 22 de febrero del 2009 de la Revista Internacional de Contaminación Ambiental del sitio web: http://www.atmosfera.unam.mx/editorial/contaminacion/acervo/vol_24_3/2.pdf.

Mycobank, (2008). Fungal Database Nomenclature and Species Bank. Online Taxonomic Novelties Submission. Extraído el 5 de marzo del 2009 del sitio web: <http://www.mycobank.org/>.

Navarro, A., Ramos, K., Agapito, R., Cuizano, N. (2006). Propiedades Ácido – Básicas de *Lentinus edodes* y cinética de Biosorción de Cadmio (II). Departamento Académico de Química. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Ingeniería, Lima, Perú. Revista Latinoamericana de Recursos Naturales. Extraído el 24 de Noviembre del 2008 de: http://www.itson.mx/drn/Revista/Vol_2_2006/Art_9_Navarro%20et%20al.pdf

Netto, S (2000). Conductores de Corriente Eléctrica. Electrólitos. Ionización. Extraído el 22 de junio del 2009 de: http://www.fisicanet.com.ar/quimica/electrolisis/ap01_electrolisis.php.

Neuro, O. (1995). Estudio Bioquímico de β – 1 – 3 – Glucanasas de *Aspergillus nidulans* para el Control Biológico de *Fusarium lycopersici* raza 2. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Complutense de Madrid. Extraído el 25 de noviembre del 2008 de:

Parra, J & Espinoza, L. (2007). Acumulación de Pb, Cd y Zn en sedimentos Asociados a *Rhizophora mangle* en el Río de Sevilla, Ciénega Grande de Santa Martha, Colombia. Revista Académica Colombiana. Ciencia: Volumen XXXI, Número 120. Extraído el 23 de octubre del 2008 de:

Pau, J. (2002). Electrólisis. Ejercicio de selectividad resuelto. Oxidación - Reducción Tema 7. Extraído el 5 de mayo del 2009 de: <http://www.slideshare.net/profeblog/t7-oxidacion-reduccion-electrlisis>

Peiró, A. (2003). Nuevas Aportaciones al Desarrollo de Metodologías en Química Verde: Eliminación Fotocatalítica de Contaminantes Fenólicos – Preparación de Fotocatalizadores Mediante Procesos Químicos Suaves. Universidad Autónoma de Barcelona. España. Extraído el 22 de marzo del 2009 de: <http://biblioteca.universia.net/ficha.do?id=19712>

Pontón, J. (2008). La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la Anidulafungina. Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco, Leioa, Vizcaya, España. Extraído el 24 de Junio del 2009 de la Revista Iberoamericana de Micología: <http://www.reviberoammicol.com/2008-25/078082.pdf>.

Requeijo, D., Irazábal A., Mahan, B. (2002). Electroquímica. Gran Enciclopedia Ilustrada del proyecto Salón Hogar. Fundación Educativa Héctor A García. Extraído el 22 de junio del 2009 del sitio web:http://www.salonhogar.net/Quimica/Nomenclatura_quimica/Electroquimica.htm.

Revenga, J., Campbell, L., Arribere, M. (2005). Abundancia y Distribución de Elementos Traza Potencialmente Tóxicos en los Lagos Norpatagónicos. Universidad Nacional del Comahue. Extraído el 25 de marzo del 2009 del sitio web:<http://jorge.e.revenga.googlepages.com/MicrosoftWord-Abundanciaydistribuci.pdf>.

Rodríguez, V. (2003). Fotocatálisis de Semiconductores Nanoestructurados de Titanio TiO₂: Evaluación en la Degradación de Contaminantes de Tipo Pesticida y Compuestos Volátiles en Solución. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Instituto Mexicano del Petróleo, México. Extraído

el 8 de octubre del 2008 de:
<http://www.dacb.ujat.mx/materialacademico/descarga/conferencia03.pdf>

Rubiano, C., Laguna, W. (2004). Estudio Sobre las Posibilidades de Aplicación de la Fotocatálisis Heterogénea a los Procesos de Remoción de Fenoles en Medio Acuoso. Facultad de Ingeniería Química y Petróleos. Escuela de Procesos y Energía. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. Extraído el 22 de mayo del 2009 de:
<http://www.monografias.com/trabajos21/fotocatalisis-heterogenea/fotocatalisis-heterogenea.shtml>

Santana, A., Costa, L., Méndez, A., Morales, C., Gómez, M., Perez, M. (2005). Sucrose Hydrolysis catalysed by auto – immobilized invertase into intact cells of *Cladosporium cladosporioides*. Electronic Journal of Biotechnology Vol. 8.

Santander, M., Pavez, O., Ariles, A. (2005). Biosorción de Iones Cobre en Biomasa Vegetal Deshidratada. Departamento de Metalurgia. Facultad de Ingeniería. Universidad de Atacama, Copiapó. Extraído el 25 de marzo del 2009 de: <http://www.revistaingenieria.uda.cl/Publicaciones/190002.pdf>

Sánchez, E., Garza, M., Almaguer, V., Sáens, I., Liñán, A. (2008). Estudio Cinético e Isotermas de Adsorción del Ni (II) y Zn (II) utilizando Biomasa del Alga *Chlorella sp.* Inmovilizada. Facultad de Ciencias Químicas. Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, México. Extraído el 12 de junio de la Revista: Ciencia UANL, disponible en el sitio web: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/402/40211208.pdf>.

Sánchez, L. (2003). Estudio de la fotodegradación de compuestos orgánicos mediante microextracción en fase sólida, cromatografía de gases y espectrofotometría de masas. Universidad Santiago de Compostela. Extraído el 25 de julio del 2009 de:

<http://books.google.com.ec/books?id=ij6B1p6gG28C&pg=PT66&dq=catalizador%2BTiO2>

Sánchez, S. & Barahona M. (2000). Riesgo Toxicológico Medioambiental de Compuestos Activos Utilizados para la Desinfección de Torres de Refrigeración. Línea 300. Editorial Complutense S.A ISBN: 84 – 7491 – 687 – 9. Extraído el 25 de Julio del 2009 de: <http://books.google.com.ec/books?id=zD3cknx88AgC&pg=PA45&dq=metales+pesados+plata#>

Senent, S. (1991). Electrólisis. Enciclopedia GER. Ediciones Rialp S.A. Edición digital Canal Social. Extraído el 22 de junio del 2009 de: http://www.canalsocial.net/GER/ficha_GER.asp?id=10413&cat=quimica.

Sharma, P., Balkwill, D., Frenkel, A., Vairavamurthy, A. (2000). A new *Klebsiella planticola* Strain (Cd-1) Grows Anaerobically at High Cadmium Concentrations and Precipitates Cadmium Sulfide. Applied and Environmental Microbiology. Extraído el 20 de Julio del 2009 de: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/metales/metales.htm>

Soto, A. (2003). Introducción a los Biominerales y Biomateriales. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Programa de Doctorado en Ciencias de la Ingeniería. Universidad de Chile. Extraído el 12 de marzo del 2009 de: <http://cabierta.uchile.cl/revista/22/articulos/pdf/edu1.pdf>

Soriano, S., Alonso, A., Moctezuma, E., Alonso, P. (2005). Reducción de Plata por Fotocatálisis. Facultad de ciencias Químicas. Centro de Investigación y Estudios de Posgrado. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. III Encuentro: Participación de la Mujer en la Ciencia. Extraído el 22 de marzo del 2009 de: http://www.cio.mx/3_enc_mujer/files/posters/.../BYQ19.doc

Srinath, T., Verma, T., Ramteke, P., Garg, S., (2002). Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria.

Environmental Microbiology Section, Industrial Toxicology Research. Chemosphere. Extraído el 22 de julio del 2009 de: <http://www.ingentaconnect.com/content/els/00456535/2002/00000048/00000004/art00089>

Superintendencia de Bancos y Seguros. (2006). Análisis de la Industria Florícola y su Comportamiento Crediticio. Subdirección de Estudios. República del Ecuador. Extraído el 2 de octubre del 2008 de: http://www.superban.gov.ec/downloads/articulos_financieros/Estudios%20Sectoriales/analisis_industria_floricola.pdf

Villaseñor, J. (2005). Reducción de Cromo (VI) por Catálisis Fotoasistida. Instituto de Química de Recursos Naturales, Universidad de Talca, Chile. Extraído el 28 de Octubre del 2008 de: <http://www.icp.csic.es/cyted/Monografias/MonografiasTeneria/capituloviii.pdf>

Vega, S. (2006). Catastro de Hongos Endofitos Miceliales Cultivables en Hojas de la Hierba Marina *Thalassia testudinum* la playa Buye, Cabo Rojo, Puerto Rico. Universidad de Puerto Rico. Recinto Universitario de Mayaguez. Extraído el 20 de enero del 2009 de: <http://grad.uprm.edu/tesis/malavevega.pdf>.

Verdugo, G., Araneda, L., Riffo, M. (2003). Efecto de Inhibidores de Etileno en Post-cosecha de Flores Cortadas de Liliun. Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Extraído el 15 de octubre del 2008 de: <http://www.rcia.puc.cl/Espanol/pdf/30-2/gverdugo.pdf>

Vullo, D. (2003). Microorganismos y Metales Pesados: Una interacción en Beneficio del Medio Ambiente. Departamento de química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de General Sarmiento. Buenos Aires, Argentina. Revista Química Viva. Volumen 2. Extraído el 2 de octubre del 2008 del sitio web: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/metales/metales.htm>.

Wang, C., Michels, P., Dawson, S., Kitisakkul, S., Baross, J., Keasling, J., Clark, D., (1997). Cadmium Removal by a new strain of *Pseudomonas aeruginosa* in Aerobic Culture. *Applied and Environmental Microbiology*.
Extraído el 20 de julio del 2009 de:
<http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/metales/metales.htm>

Zdybel, M., Wilczyński, S., Witoszyńska, T., Brotoń, B., Pilawa, B., Buszman, E. (2005). Epr Studies of Spin –Lattice Interactions in *Cladosporium cladosporioides* and *Cladosporium herbarum* melanins. Department of Medical Physics and Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, Medical University of Silesia. Extraído el 5 de mayo del 2009 de: http://www.ifj.edu.pl/conf/mrj/mrj05/Zdybel_M.pdf

ANEXOS

Anexo A: Medios para el cultivo de *C.cladosporioides*

Medio sólido para el cultivo de esporas

Nutriente	Cantidad (g/L)
PDA	30.0
$C_{11}H_{12}N_2Cl_2O_5$	0,50
Agua destilada	1.0 L

Medio líquido para formación de pellets

Nutriente	Cantidad (g/L)
$NaNO_3$	3.00
KCl	0,50
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.50
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,01
K_2HPO_4	0,10
$C_{12}H_{22}O$	1.00
Agua destilada	1.0 L

Anexo B: Prototipo para el tratamiento del agua residual de florícola

1^{ra} Etapa: Biooxidación



2^{da} Etapa: Bioadsorción



3^{ra} Etapa: Desorción



4^{ta} Etapa: Fotorreducción



Anexo C: Medio de cultivo para la bacteria Tungurahua 1

Nutriente	Cantidad (mg/L)
Na_2HPO_4	1,2
KH_2PO_4	1.8
$\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,1
CaCl_2	0,03
FeCl_3	0,02
MnSO_4	0,02
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	10,0
Agua destilada	1,0 L

Anexo D: Población muestreada en el proceso de Adsorción

Concentración (mg Ag ⁺ /L)	Porcentaje Adsorción (%)
20	53,16
20	47,86
20	57,94
20	56,21
20	53,02
50	66,33
50	71,88
50	71,1
50	71,88
50	70,38
100	65,98
100	61,28
100	73,66
100	75,56
100	79,83

Anexo E: Factores intersujetos

	(mg/L)	Etiqueta del valor	N
Concentración	20		20
	50		20
	100		20
Regenerante	1	CaSO ₄ ·2H ₂ O	15
	2	NaCl	15
	3	Ca (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	15
	4	HNO ₃	15

1 = Sulfato de calcio heptahidratado

2 = Cloruro de Sodio

3 = Nitrato de calcio

4 = Ácido nítrico

Anexo F: Población muestreada en el proceso de Desorción

Concentración (mg Ag ⁺ /L)	Regenerante	Porcentaje Desorción (%)
20	1	28,09
20	1	29,76
20	1	30,76
20	1	21,21
20	1	23,81
20	2	2,13
20	2	3,41
20	2	4,35
20	2	3,77
20	2	4,9
20	3	33,33
20	3	41,25
20	3	20,78
20	3	37,29
20	3	31,01
20	4	72,67
20	4	69,59
20	4	70,04
20	4	67,85
20	4	68,95
50	1	19,38
50	1	19,33
50	1	14,71
50	1	16,88
50	1	16,47
50	2	1,74
50	2	3,33
50	2	2,53
50	2	2,93
50	2	2,73
50	3	33,57
50	3	26,36
50	3	26,67
50	3	30,12
50	3	31,84
50	4	70,58
50	4	76,38
50	4	70,04
50	4	73,48
50	4	72,03
100	1	10,12
100	1	13,5
100	1	10,91
100	1	12,65

100	1	11,81
100	2	3,64
100	2	3,85
100	2	3,74
100	2	3,69
100	2	3,77
100	3	23,75
100	3	32,57
100	3	28,16
100	3	25,95
100	3	30,36
100	4	62,86
100	4	73,68
100	4	68,27
100	4	65,56
100	4	69,62