



Escuela
Universitaria
Ingeniería
Técnica
Industrial
ZARAGOZA



Extracción de metales pesados presentes en cenizas volantes mediante microorganismos

Proyecto Fin de Carrera

Ingeniería Técnica Industrial Especialidad en Química Industrial

María Ceras Arrese

Septiembre de 2011

Directores del proyecto:

Michaela Kröppl y Jesús Vela Rodrigo

Agradecimientos

Quiero agradecer, en primer lugar, a Michaela Kröppl el haberme brindado la oportunidad de realizar este proyecto con ella. Ha sido un curso distinto que aseguro no olvidaré.

A Jesús Vela, director del proyecto, por hacer posibles mis planes.

A mis amigos; a los de un sitio y a los de otro. Por ser amigos de verdad.

A mis „österreich-amigos“, sobre todo a Michi y Adi, por todo lo que me han enseñado. ¡Y lo que he aprendido! Man weiss: „Zwischen Magen und Milz...“ Danke, Danke und Danke

Y cómo no, a mi familia, a mis padres, a mis hermanitos, que no son precisamente pequeñitos, a la „amiguica“ y a Antonia, por apoyarme de forma incondicional, incluso para volar.

A todos vosotros, gracias

Solo después de que el último árbol sea cortado.

Solo después de que el último río sea envenenado.

Solo después de que el último pez sea apresado.

Solo entonces nos daremos cuenta de que el dinero no se puede comer.

Proverbio indio

Resumen

El presente Proyecto Fin de Carrera trata sobre el uso de microorganismos (tanto unicelulares como no) para la biolixiviación de metales pesados.

Los metales pesados se encuentran en las cenizas producidas en una planta de biomasa que usa madera como combustible. El alto contenido en metales pesados de la fracción volante impide que ésta se pueda usar posteriormente tanto en la industria cementera como de abono para el campo. El objetivo de este Proyecto Fin de Carrera es la eliminación o reducción de la concentración de dichos metales de cara a que su posterior utilización sea posible. Una vez libres las cenizas de dichos metales, se mezclarán en una proporción a determinar con cenizas sedimentarias, que, en general, presentan concentraciones muy bajas de elementos tóxicos y se pelletizarán para facilitar su transporte y posterior distribución.

Los microorganismos empleados han sido utilizados anteriormente como biolixivantes para purificar, por ejemplo, tierra situada cerca de vertederos o agua contaminada. Tienen distintos mecanismos de funcionamiento. Por ejemplo, en el *Aspergillus niger* los metales se adhieren a su superficie, mientras que otros, como el *Acidithiobacillus thiooxidans*, oxidan los metales. Presentan un medio económico y ecológico para la extracción de metales.

Para la biolixiviación se emplean distintos microorganismos y se optimiza el pH de trabajo para conseguir el máximo rendimiento. El procedimiento a seguir consta de varios pasos. Primero se disuelven las cenizas en agua destilada y se llevan a distintos pHs, de 1 a 7, hasta que el pH se mantenga estable. Tras filtrar la disolución, el procedimiento de biolixiviación se lleva a cabo con la solución. Tras el proceso, se controla si los microorganismos siguen estando vivos o no. Una vez separada la biomasa, las muestras se miden con ICP-OES.

Se comparan los distintos métodos y pHs hasta encontrar el óptimo.

Por otra parte, se comienza el proceso de pelletar. Para ello se dispone de una máquina pelletizadora, un mezclador y un distribuidor. Aquí las variables a optimizar son la velocidad de giro de la máquina y la cantidad de humedad que tendrán los pellets.

Zusammenfassung

Die Diplomarbeit beschäftigt sich mit der Behandlung von Flugaschen durch Mikroorganismen zur Erreichung niedrigerer Schwermetallkonzentration. Durch die relativ hohen Schwermetallkonzentrationen in Flugaschen aus der Verbrennung von Biomasse, ist eine Verwertung als Dünger in der Landwirtschaft oder die Ablagerung in Reststoffdeponien nicht zulässig.

Während der Arbeit wurde versucht Schwermetalle mittels Mikroorganismen abzubauen und die Flugasche gleich wie die Rostasche, die einen geringeren bis keinen Schwermetallanteil besitzt, in Pellets pressen und einer geeigneten Verwertungsform zuzuführen.

Bei diesem Verfahren (Bioleaching) wurden vier verschiedene Mikroorganismen verwendet. *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida lipolytica*, *Acidithiobacillus thiooxidans* und *Aspergillus niger*. Diese Organismen sind bereits als Bioleaching-Organismen aus der Literatur bekannt. Zur Förderung des Bioleachings wurden die Aschen in verschiedensten organischen und anorganischen Säuren (Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure, Salzsäure und Salpetersäure) mit verschiedenen pH-Werten gelöst. Mittels ICP (induktiv gekoppeltes Plasma) und IC (ion Chromatographie) wurden die Schwermetallkonzentrationen gemessen und die verschiedenen Bedingungen verglichen.

Índice

Resumen.....	5
Zusammenfassung.....	6
Índice	7
3	Introducción.....10
3.1	Contexto10
3.2	Metales pesados10
3.3	Biomasa.....12
3.3.1	Procesos termoquímicos.....13
3.3.2	Composición y características17
3.4	Cenizas volantes.....20
3.4.1	Características generales.....20
3.4.2	Caracterización de las cenizas21
3.4.3	Procedencia22
3.4.4	Datos de producción.....24
3.5	Microorganismos24
3.5.1	Fundamento: Asimilación microbiana de metales.....24
3.5.2	Levaduras.....25
3.5.3	Medios de cultivo26
3.5.4	Esterilización26
3.5.5	Recuento de biomasa27
3.5.6	Ensayos de biomasa viable.....28
3.6	Pelletación29
3.7	Medidas analíticas.....29
3.7.1	Espectroscopía.....29
3.7.2	Cromatografía.....32
3.7.3	Cromatografía iónica33
4	Objetivos.....34
5	Parte experimental35
5.1	Materiales y reactivos.....35
5.1.1	Preparación de disoluciones.....35
5.1.2	Microbiología36
5.1.3	Pelletización37
5.2	Optimización de las condiciones para el crecimiento de los microorganismos.....38
5.2.1	Rhodotorula mucilaginosa.....38

5.2.2	Candida lipolytica	40
5.2.3	Aspergillus niger	44
5.2.4	Acidithiobacillus thiooxidans.....	44
5.3	Producción de biomasa para su uso como biolixiviante.	46
5.3.1	Rhodotorula mucilaginosa.....	46
5.3.2	Candida lipolytica	47
5.3.3	Aspergillus niger	49
5.3.4	Acidithiobacillus thiooxidans.....	49
5.4	Preparación de disoluciones con cenizas.....	50
5.5	Biolixiviación	53
5.5.1	Rhodotorula mucilaginosa.....	53
5.5.2	Candida lipolytica	53
5.5.3	Aspergillus niger	53
5.6	Ensayos de biomasa viable (Leben/Tod)	54
5.7	Toma de medidas.....	54
5.7.1	ICP-OES.....	54
5.7.2	IC	56
5.8	Ensayos de pelletización y resultados	57
5.8.1	Optimización de condiciones.....	58
5.8.2	Reactividad de las cenizas.....	60
6	Resultados	62
6.1	Rectas de calibrado de ICP-OES.....	62
6.2	Rectas de calibrado de IC.....	69
6.3	Digestión ácida.....	71
6.4	Cadmio.....	72
6.5	Cromo	75
6.6	Niquel	78
6.7	Manganeso.....	81
6.8	Cobalto.....	84
6.9	Cobre.....	87
6.10	Hierro.....	90
6.11	Plomo.....	93
6.12	Zinc	96
6.13	Potasio	99
7	Conclusiones	100
7.1	Composición de las cenizas	100
7.2	Digestión ácida.....	100
7.3	Biolixiviación	101
7.4	Pelletación	101

8	Bibliografía	103
	Anexos	I
	Anexo I Datos de los experimentos de digestión ácida con el cálculo posterior de la concentración final de minerales en la torta de filtrado.....	II
	Anexo II Biolixiviación con <i>Aspergillus niger</i> . Concentración de cada mineral tras el proceso.....	XXIV
	Anexo III Biolixiviación con <i>Rodothorula mucilaginosa</i> y <i>Candida lipolytica</i> . Concentración de cada mineral tras el proceso.....	XXIX

3 Introducción

3.1 Contexto

Este Proyecto Fin de Carrera (en adelante PFC) se ha realizado en la escuela técnica superior Fachhochschule Oberösterreich-Wels, en Austria. Se enmarca dentro de un proyecto dedicado a la purificación de cenizas procedentes de biomasa para que puedan ser recicladas en vez de desechadas a vertederos de residuos peligrosos. Con anterioridad se había estudiado la extracción de metales pesados presentes en las cenizas mediante destilación y extracciones sólido-gas. La novedad que presenta este PFC reside en el uso de distintos ácidos para la digestión ácida de los metales y el uso de microorganismos que los absorben, seguido de una fase de desorción para recuperar los metales. Además, se centra en el estudio de las cenizas volantes, que por sus características físicas y químicas presentan un contenido mucho mayor de contaminantes. Los microorganismos empleados tienen en común su relativo rápido crecimiento y barato y sencillo medio de cultivo, con el fin de resultar procesos económicamente viables. Además, también se estudiará el proceso de pelletización de las cenizas para su transporte y posterior distribución. La materia prima para la elaboración del presente PFC procede de la central de biomasa situada en Puchenau (Austria), y corresponde a las cenizas procedentes de un ciclón a día 4 de Mayo de 2010.

3.2 Metales pesados

Se denominan metales pesados a aquellos elementos químicos que poseen un peso atómico comprendido entre 63,55 (Cu) y 200,59 (Hg), y que presentan un peso específico superior a 4 (g/cm^3). Cabe destacar que en esta categoría entran prácticamente todos los elementos metálicos de interés económico. Por sus características, no pueden ser degradados ni química ni biológicamente.

Lo que hace tóxicos a los metales pesados no son en general sus características esenciales, sino las concentraciones en las que pueden presentarse, y el tipo de especie que forman en un determinado medio. Su toxicidad proviene de la interacción de los metales con proteínas (enzimas) y de que inhiben procesos metabólicos. Los seres vivos necesitan en pequeñas concentraciones a muchos de éstos elementos para funcionar adecuadamente. Algunos ejemplos de metales

Introducción

requeridos por el organismo son el cobalto, cobre, hierro, hierro, manganeso, molibdeno, vanadio, estroncio o zinc.¹²

Tabla 3-1: Elementos esenciales y/o tóxicos para vegetales y/o animales

	Esencial		Tóxico		Forma predominante en el suelo
	Vegetal	Animal	Vegetal	Animal	
As	NO	NO	SI	SI	AsO ₄ ⁻³
Cd	NO	NO	SI	SI	Cd ²⁺
Cr	NO	SI	NO	NO	Cr ³⁺ , CrO ₄ ²⁻
Cu	SI	SI	SI	SI	Cu ²⁺
Hg	NO	NO	SI	SI	Hg ²⁺ , (CH ₃) ₂ Hg
Mo	SI	SI	SI	SI	MoO ₄ ²⁻
Ni	SI	SI	SI	NO	Ni ²⁺
Pb	NO	NO	SI	SI	Pb ²⁺
Se	NO	NO	SI	SI	SeO ₄ ²⁻
Zn	SI	SI	SI	SI	Zn ²⁺
Co	SI	SI	NO	NO	Co ²⁺
Sn	NO	NO	NO	SI	Sn ⁴⁺

Fuente: Ref³

¹ www3.uva.es/cc_agrof/eq23Metalpes.doc. (27/01/2011)

² Biological leaching of heavy metals from a contaminated soil by *Aspergillus niger*. Wan-Xia Ren, Pei-Jun Li, Yong Geng, Xiao-Jun Li

³ J. Boixadera y M. R. Teira (eds). 2001. "Aplicación agrícola de residuos orgánicos". Universidad de Lérida

en torno al 10%.⁵ Sin embargo, la fracción líquida de la biomasa, los biocombustibles, tienen la ventaja de que se pueden almacenar fácilmente.

Un proceso habitual para la obtención de energía a partir de biomasa es la quema y posterior aprovechamiento energético de restos de paja y otros desechos procedentes del campo, a veces incluso cultivos energéticos. Sin embargo, en este punto se plantea una importante contradicción tanto ecológica como moral. Por un lado, si la energía procedente de biomasa resulta verdaderamente limpia cuando la materia prima se transporta, a veces, a más de 100 Km (sirva de ejemplo la central de Acciona en Sangüesa (Navarra) que, en parte, se abastece de paja procedente de Lleida). Por otro, la sustitución de campos de cereal por otros de cultivo energético, donde el combustible deja de ser un desecho para ser el producto producido en el campo, dejándose así de producir alimentos. No obstante, este tema no entra dentro del estudio de este PFC.

La bioenergía tiene un papel muy importante en zonas en vías de desarrollo. Por ejemplo, en países como Nepal o Bután representa un 97 y un 86% respectivamente de la energía total demandada. El mayor uso que en este caso se le da es el de quemar biomasa para cocinar y calentar.^{2,6}

En Europa, la procedencia de la mayor parte de la biomasa es la siguiente: madera y desechos de la madera (64%), otros desechos sólidos (24%), desechos procedentes de la agricultura (5%) y gases procedentes de vertederos (5%).⁷

3.3.1 Procesos termoquímicos

La biomasa se puede convertir por procesos termo y bioquímicos en energía útil (calor o electricidad) o en vector energético (combustible sólido, tipo carbón; fracción líquida, o biocombustible; y fracción gaseosa). En forma gaseosa consiste en metano, hidrógeno y monóxido de carbono (CO). La fracción líquida, el biocombustible, está compuesta por metanol y, principalmente, etanol.

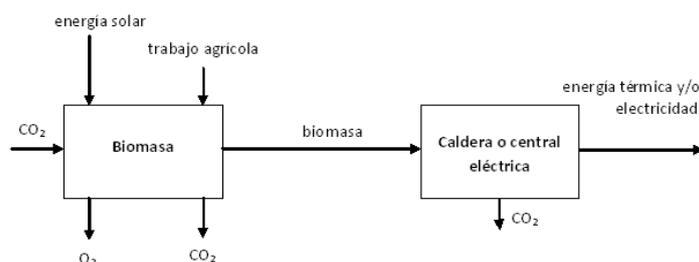
Entre los procesos de conversión bioquímicos se encuentra la fermentación alcohólica y la digestión anaerobia, empleada para la producción de fracción gaseosa enriquecida en metano.

Los procesos termoquímicos engloban la pirólisis, gasificación, combustión directa y licuación. La biomasa empleada como materia prima para el presente PFC se ha tratado con un proceso de conversión termoquímica: la combustión.⁸

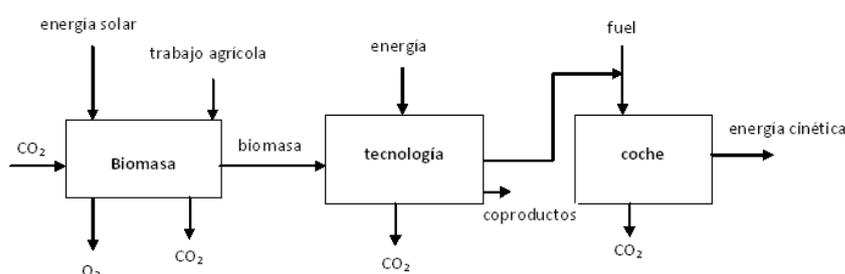
⁵ Peter Mizsey, Laslo Racz. *Cleaner production alternatives: Biomass utilisation options*.

⁶ M. Fatih Demirbas, Mustafa Balat, Havva Balat. *Potential contribution of biomass to the sustainable energy development*.

⁷ Ayhan Demirbas. *Potential applications of renewable energy sources, biomass combustion problems in boiler power systems and combustion related environmental issues*.

Fig. 3:2: Esquema de utilización directa de biomasa⁹

En el presente esquema se observa como el balance de CO₂ es neutro y la energía térmica y electricidad se obtienen directamente tras la quema de la biomasa.

Fig. 3:3: Esquema de utilización indirecta de biomasa⁶

En la utilización indirecta ya se requiere de distintos procesos tecnológicos para obtener el combustible.

El proceso de la combustión de biomasa comprende factores físico-químicos de gran complejidad. La naturaleza del proceso depende tanto de las características del combustible como de las aplicaciones que se le quiera dar al producto.

Todo proceso de combustión a partir de un combustible sólido comprende las etapas de secado, pirólisis o gasificación y combustión. Aunque también puede ser llevado a cabo por lotes, en el caso que nos ocupa, la planta de Puchenu es un proceso continuo. Como consecuencia de este modo de operación es necesaria la utilización de una corriente de aire por convección forzada.

3.3.1.1 Proceso de secado

La humedad se evapora a temperaturas inferiores a 100°C. Como la vaporización usa energía destinada al proceso de combustión, ésta reduce la temperatura de la cámara de combustión, lo que ralentiza el proceso. La madera mojada requiere tanta energía para evaporar la humedad que contiene y, para más tarde, calentar el vapor

8 S.V. Loo and J. Koppejan, *Handbook of Biomass Combustion and Co-firing*, Twente University Press, The Netherlands (2003).

⁹ *Cleaner production alternatives: Biomass utilization options*. Peter Mizsey, Laszlo Racz

de agua, que la temperatura puede llegar a reducirse por debajo de la mínima requerida para mantener la combustión. Por lo tanto, la humedad es un parámetro muy importante en el proceso.

3.3.1.2 Pirólisis

La pirólisis se define como la degradación térmica que tiene lugar en ausencia de agentes externos oxidantes. Los productos de la pirólisis son, principalmente, alquitrán, que posteriormente se convierte en combustible para motores de alto peso molecular o se quema para producir calor o electricidad y el carbón, que se puede convertir en carbón activo, y puede ser usado en la industria metalúrgica, como combustible doméstico para cocinar, o para la barbacoa. Además, se forman gases de bajo peso molecular, donde destacan por su importancia el CO y el CO₂. Estos se emplean en la producción de calor o energía o bien son sintetizados para producir metanol o amoníaco.

3.3.1.3 Gasificación

La gasificación se define como la degradación térmica que tiene lugar en presencia de un agente oxidante externo, en contraste con la pirólisis. La diferencia con la pirólisis radica en que mientras esta última está enfocada a la obtención de las fracciones líquida (alquitrán) y sólida (carbón), la gasificación optimiza la fracción gaseosa. La temperatura de operación se encuentra en el rango de 1073 a 1373 K, y se lleva a cabo con aire, oxígeno, vapor de agua o CO₂ como agentes oxidantes. El gas de síntesis contiene principalmente CO, CO₂, H₂O, H₂, CH₄ y otros hidrocarburos. A partir de este gas se puede o bien producir metanol, o puede ser quemado en una caldera para obtener agua caliente, o vapor, o bien en una turbina de gas producir electricidad, o en motores de combustión interna.

3.3.1.4 Combustión

La combustión se define como la oxidación completa del combustible. Los gases calientes de la combustión pueden ser usados para calentar agua directamente, para generar electricidad o como fuente de calor. En todos los casos de combustión con un combustible sólido, los procesos de secado y de pirólisis o de gasificación tendrán que ir siempre en primer lugar.

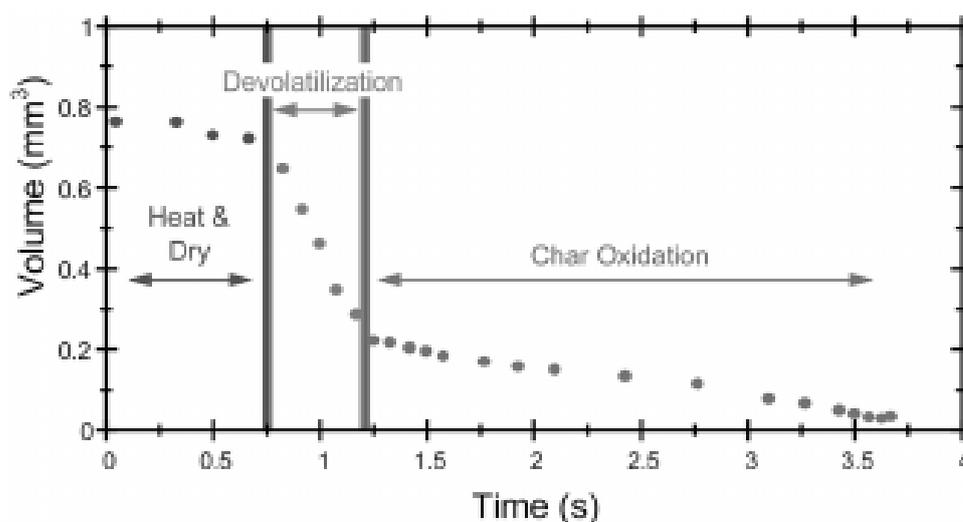


Fig. 3:4: Combustión de una partícula de biomasa durante las distintas etapas

3.3.1.5 Licuación

La licuación se define como un proceso de conversión termoquímica en la fase líquida que tiene lugar a bajas temperaturas (523-623 K) y a altas presiones (100-200 bar). Normalmente se lleva a cabo con altas presiones parciales de hidrógeno y un catalizador, para aumentar la conversión y mejorar la selectividad del proceso. La fracción líquida resultante tiene un poder calorífico superior al líquido resultante de la pirólisis.

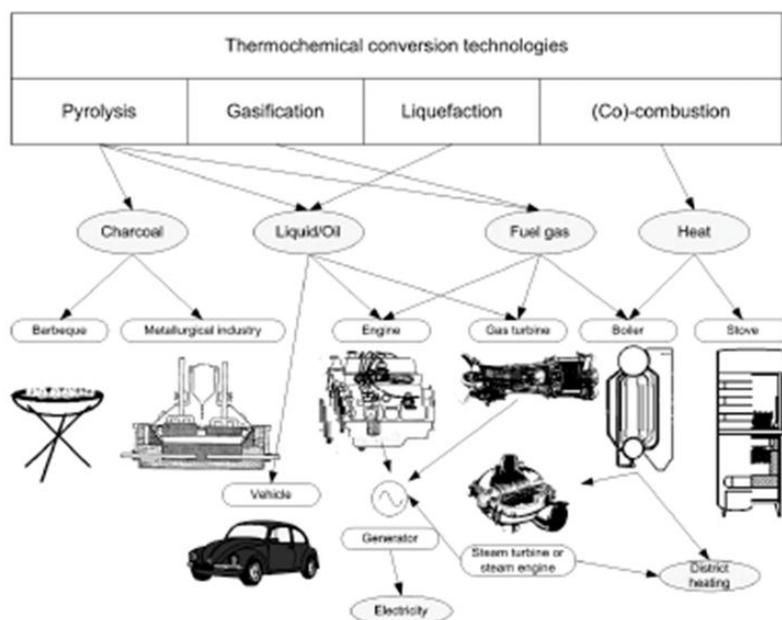


Fig. 3:2: Procesos de conversión termoquímica y principales aplicaciones⁵

3.3.2 Composición y características

La composición de la biomasa depende bastante según su origen, sobre todo en sus constituyentes inorgánicos. Esto supone un problema a la hora de prever la cantidad y caracterización de los desechos generados. Por ejemplo, el contenido de cenizas varía desde menos de 1 a más del 16% y el contenido de O de menos de 35 a más de 43% (Tabla 3-3).⁵

Tabla 3-3: Humedad, cenizas y poder calorífico superior (PCS) de combustibles para biomasa

Materia prima	Humedad [%]	Cenizas [%]	PCS (MJ/kg. daf)
Cáscara almendra	7,5	2,9	19,8
Madera de haya	6,5	0,6	19,6
Cáscara nuez	7,2	1,4	19,5
Madera de roble	6,0	1,7	19,8
Corteza de roble	5,6	9,1	22,1
Hueso de aceituna	7,0	1,8	22,1
Piel de aceituna	6,8	2,1	21,8
Cáscara pistacho	8,1	1,3	19,9
Madera de abeto	6,7	0,5	20,5
Paja de trigo	6,4	8,1	19,3

Fuente:Ref³

Las propiedades de la biomasa también varían con respecto a las del carbón, ya que aunque los dos se usen para quemar y producir energía, tienen distintas características. Ambos tienen origen en la materia orgánica, y prácticamente los mismos constituyentes. Sin embargo, la biomasa se considera una fuente de energía renovable mientras que al carbón se le considera fuente de energía fósil. Como combustible para biomasa basta con obtener materia orgánica, la cuál es ilimitada y se obtiene fácilmente. En contraposición, el carbón está constituido por materia orgánica que se fue descomponiendo y que ha dado origen a la formación de unas rocas sedimentarias muy ricas en carbono. Se cree que la mayor parte del carbón se formó en el periodo llamado carbonífero, hace entre 360 y 300 millones de años, por lo que se trata de una fuente limitada.¹⁰

⁵ S.V. Loo and J. Koppejan, Handbook of Biomass Combustion and Co-firing, Twente University Press, The Netherlands (2003).

³ M. Fatih Demirbas , Mustafa Balat, Havva Balat. Potential contribution of biomass to the sustainable energy development.

¹⁰ Kalac P, Svoboda L, Havliekova B. Contents of detrimental metals mercury, cadmium and lead in wild growing edible mushrooms: a review. Energy Edu Sci Technol 2004;13:31-8.

Introducción

En cuanto a la composición y características, tal y como se refleja en las tablas, los combustibles para biomasa contienen, como norma general, menos carbón, aluminio y hierro, y más oxígeno, sílice y potasio. Se caracterizan por un menor poder calorífico, densidad y resistencia a la rotura y un mayor contenido de humedad.⁶ A continuación se presenta una tabla de comparación entre los elementos constituyentes de las cenizas del carbón y de típicos combustibles empleados para la biomasa.

Tabla 3-4: Análisis elemental de cenizas de biomasa y carbón (% en base seca).

	<i>C</i>	<i>H</i>	<i>N</i>	<i>O(diff)</i>	<i>S</i>	<i>Cl</i>	<i>Cenizas</i>
<i>Carbón</i>	81,5	4,0	1,2	3,30	3	0,3	7,0
<i>Lignito</i>	65,2	4,5	1,3	17,5	4	0,4	7,4
<i>Madera de abeto</i>	51,4	6,1	0,3	41,2	0	0,1	0,9
<i>Cáscara de avellana</i>	50,8	5,6	1,0	41,1	0	0,2	1,3
<i>Paja de trigo</i>	42,8	5,5	0,7	35,5	0	1,5	16
<i>Hoja de tabaco</i>	41,2	4,9	0,9	33,9	0	0,3	19
<i>Cáscara de almendra</i>	47,9	6,0	1,1	41,7	0	0,1	3,3
<i>Cáscara de nuez</i>	53,6	6,6	1,5	35,5	0	0,2	2,8

Fuente: ref^{6,11}

A continuación se representa una tabla comparativa entre las propiedades físicas y los constituyentes del carbón y la biomasa.

⁶ Kalac P, Svoboda L, Havliekova B. Contents of detrimental metals mercury, cadmium and lead in wild growing edible mushrooms: a review. *Energy Edu Sci Technol* 2004;13:31-8.

¹¹ Liukkonen-Lilja H, Kuusi T, Laaksovirta K, Lodenius M, Piepponen S. The effect of lead processing works on the lead, cadmium and mercury contents of fungi. *Z Lebens Unters Forsch* 1983;A177:257-60.

Tabla 3-5: Propiedades físicas y químicas de biomasa y carbón

<i>Propiedad</i>	<i>Biomasa</i>	<i>Carbón</i>
<i>Densidad del combustible</i>	<i>~ 500</i>	<i>~ 1300</i>
<i>Tamaño de partícula (mm)</i>	<i>~ 3</i>	<i>~ 100</i>
<i>Contenido en C (% en comb. seco)</i>	<i>42 - 54</i>	<i>65 - 85</i>
<i>Contenido en O (% en comb. seco)</i>	<i>35 - 45</i>	<i>2 - 15</i>
<i>Contenido en S (% en comb. seco)</i>	<i>Max 0,5</i>	<i>0,5 - 7,5</i>
<i>Contenido en SiO₂ (% en comb. seco)</i>	<i>23 - 49</i>	<i>40 - 60</i>
<i>Contenido en K₂O (% en comb. seco)</i>	<i>4 - 48</i>	<i>2 - 6</i>
<i>Contenido en Al₂O₃ (% en comb. seco)</i>	<i>2,4 - 9,5</i>	<i>15 - 25</i>
<i>Contenido en Fe₂O₃ (% en comb. seco)</i>	<i>1,5 - 8,5</i>	<i>8 - 18</i>
<i>Temperatura de ignición (K)</i>	<i>418 - 426</i>	<i>490 - 595</i>
<i>Friability</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>
<i>Poder calorífico (MJ/kg)</i>	<i>14 - 21</i>	<i>23 - 28</i>

Fuente: ref²

La biomasa presenta algunos problemas debido a su naturaleza. Estos son principalmente:

- La presencia de cloro. El cloro facilita el desplazamiento de muchos compuestos inorgánicos en reacciones indeseadas durante la combustión en los hornos y calderas. Los elementos alcalinos y alcalino-térreos, en combinación con otros elementos presentes en la biomasa como la sílice o el sulfuro, facilitan la presencia del mismo. Además, el cloro produce corrosión en las paredes de los reactores.
- Los depósitos de ceniza. Estos no solo reducen la transferencia de calor sino que también producen una corrosión importante si se opera a altas temperaturas, por lo que es altamente recomendable evitar que se produzca esta situación.¹

¹² Demirbas A. Combustion characteristics of different biomass fuels. *Progress Energy Combust Sci* 2004;30:219-30.

¹ Ayhan Demirbas. *Potential applications of renewable energy sources, biomass combustion problems in boiler power systems and combustion related environmental issues.*

3.4 Cenizas volantes

Las cenizas volantes (CV) son un subproducto producido al quemar compuestos orgánicos como la biomasa.

3.4.1 Características generales

Los componentes mayoritarios de las cenizas son, como ya se ha indicado anteriormente: sílice (SiO_2), alúmina (Al_2O_3), óxido de hierro (Fe_2O_3), óxido de calcio (CaO) y, en menor proporción, óxido de magnesio (MgO), sulfatos (SO_4^{2-}), carbono (C) y óxidos de sodio (Na_2O) y de potasio (K_2O). Además presentan gran variedad de otros elementos en bajas o muy bajas concentraciones, como por ejemplo metales pesados como cadmio (Cd), arsénico (As) o Zinc (Zn).¹³

La concentración de estos últimos metales, sin embargo, es mucho más elevada que en cenizas no volantes, y suficiente para impedir que estas puedan ser reutilizadas en la industria cementera o como abono en el campo.

El objeto de este trabajo es la separación de estos metales pesados para que las cenizas volantes puedan ser reutilizadas en vez de acabar en vertederos de residuos peligrosos.

Las cenizas volantes presentan un aspecto de polvo grisáceo. Son partículas sólidas dispersadas de entre $1\mu\text{m}$ y 1 mm, bien lisas, o con forma esférica o bien esferas huecas, llamadas cenosferas. También pueden tener apariencia de fibras o de aglomerados.

Su superficie específica varía entre los 0,2 y los 25 m^2/g y su densidad es de entre 2,2 y 2,4 kilogramos por litro mientras que la densidad del conjunto es de entre 0,9 y 1,1 kilogramos por litro.^{14,15}

La toxicidad de las cenizas depende principalmente de la cantidad de metales pesados que tengan. Esto depende de la localización de las cenizas. Así, las cenizas volantes tienen mayor contenido en metales pesados y contaminantes orgánicos como dioxinas y furanos (PCDD/F) o hidruros policíclicos aromáticos (PAHs) que las sedimentarias. Por esta razón no se recomienda mezclar ambas cenizas.

Las concentraciones más relevantes de metales pesados, especialmente Cd y Zn, aumentan conforme disminuye la temperatura de precipitación y el tamaño de partícula. Este efecto es independiente del tipo de biocombustible empleado.

¹³ H.-P.Bipp, P.Wunsch, K. Fischer, D. Bieniek and A. Kettrup. Heavy metal leaching of fly ash from waste incineration with gluconic acid and a molasses Hydrolysate.

¹⁴ bvk-online.com/bvk_smartm/html/f/4/index.html, 11.04.2011

¹⁵ Lutze, D.; Von Berg, W.; Handbuch Flugasche im Beton, Verlag Bau + Technik, 2008

3.4.2 Caracterización de las cenizas

Las cenizas procedentes de madera, como son las del objeto de este PFC, contienen generalmente más cantidad de As, Cd, Pb y Hg que las de residuos de agricultura, como la paja de trigo o las cáscaras de fruta. (Tabla 3-6). Comparados con las cenizas sedimentarias, las concentraciones de Pb y Cd en las cenizas volantes son 10-20 veces mayores (Tabla 3-6, Tabla 3-7).^{16, 17, 18}

Tabla 3-6: Metales pesados en cenizas no volantes de carbón y biomasa [mg/kg]

<i>Combustible</i>	<i>Arsénico</i>	<i>Cadmio</i>	<i>Cromo</i>	<i>Cobre</i>	<i>Plomo</i>	<i>mercurio</i>
<i>Carbón</i>	5,16	2,84	8,23	23,5	64,1	0,21
<i>Lignito</i>	8,54	6,18	9,4	72,8	80,7	0,43
<i>Madera de abeto</i>	3,48	0,92	2,56	42,7	33,2	0,12
<i>Madera de haya</i>	4,12	0,84	4,38	29,3	35	0,13
<i>Madera de roble</i>	1,98	1,06	3,51	37,9	28,4	0,09
<i>Basura sólida</i>	2,46	0,86	2,73	52,8	36,2	0,11
<i>Paja de trigo</i>	0,18	0,2	3,08	25,1	5,68	0,06
<i>Cáscara de avellana</i>	0,12	0,23	4,15	32,3	6,62	0,05
<i>Cáscara de nuez</i>	0,26	0,18	2,18	23,6	5,09	0,08
<i>Pipa de girasol</i>	0,06	0,1	0,95	13,3	1,63	0,03

Fuente: ref^{13,14,15}

¹⁶ Colombo U. Development and the global environment. In: Hollander JM, editor. The energy-environment connection. Washington: Island Press; 1992. p. 3-14.

¹⁷ Ruokojarvi P, Aatamila M, Ruuskanen J. Toxic chlorinated and polyaromatic hydrocarbons in simulated house fires. Chemosphere 2000;41:825-8.

¹⁸ Apuntes de la asignatura de ingeniería química

¹³ Colombo U. Development and the global environment. In: Hollander JM, editor. The energy-environment connection. Washington: Island Press; 1992. p. 3-14.

¹⁴ Ruokojarvi P, Aatamila M, Ruuskanen J. Toxic chlorinated and polyaromatic hydrocarbons in simulated house fires. Chemosphere 2000;41:825-8.

¹⁵ Apuntes de la asignatura de ingeniería química

Tabla 3-7: Metales pesados en cenizas volantes de carbón y biomasa [mg/kg]

<i>Combustible</i>	<i>Arsénico</i>	<i>Cadmio</i>	<i>Cromo</i>	<i>Cobre</i>	<i>Plomo</i>	<i>mercurio</i>
<i>Carbón</i>	9,84	12,4	21,6	66,2	260	0,43
<i>Lignito</i>	15,8	31,5	49,0	215	346	0,77
<i>Madera de abeto</i>	11,6	18,4	30,2	154	376	0,58
<i>Madera de haya</i>	12,8	16,3	26,8	90,6	531	0,61
<i>Madera de roble</i>	6,37	20,8	34,4	107	346	0,43
<i>Basura sólida</i>	7,22	17,5	28,6	158	658	0,52
<i>Paja de trigo</i>	1,24	4,68	7,68	76,9	104	0,32
<i>Cáscara de avellana</i>	0,74	4,96	8,16	95,2	137	0,26
<i>Cáscara de nuez</i>	1,35	3,68	6,06	67,1	102	0,41
<i>Pipa de girasol</i>	0,39	2,09	3,42	41,8	38,7	0,17

Fuente: ref^{13,14,15}

3.4.3 Procedencia

La hidrodinámica del horno influye en la fracción de cenizas recogidas. En un combustor de parrilla la cantidad de cenizas sedimentarias es predominante, mientras que en reactores de lecho fluidizado las predominantes son las cenizas volantes.

Dependiendo del tipo de sistema utilizado para la recogida de cenizas también se obtienen distintas concentraciones de metales. Así, las cenizas procedentes de un ciclón tienen menor concentración en metales pesados que las de un precipitador electrostático. Un precipitador electrostático es un dispositivo que se utiliza para atrapar partículas mediante su ionización, atrayéndolas por una carga electrostática inducida. Tiene un rendimiento mayor que el ciclón, que se usa como separador preliminar para reducir la carga a equipos de filtración posteriores como el precipitador electrostático. El ciclón se basa en la fuerza centrífuga. El gas ingresa por el conducto de entrada del ciclón a una velocidad determinada. Este conducto está formando una tangente al cuerpo del ciclón. Cuando el gas entra al barril comienza el movimiento en espiral descendente, y este cambio de dirección genera un campo centrífugo. Las partículas transportadas por el gas, debido a su inercia, se mueven alejándose del centro del ciclón alcanzando las paredes del mismo. Cuando esto ocurre, las partículas pierden cantidad de movimiento y se deslizan por la pared del barril hacia el cono y desde allí a la pierna del ciclón.

El gas en su movimiento descendente va liberándose de las partículas sólidas y al llegar a la base del cono, invierte su flujo, siguiendo una espiral esta vez ascendente. Al ascender, se considera que el gas está limpio.¹⁵

Introducción

Tabla 3-8: Comparación de concentraciones de metales según su procedencia

Elemento	Parrilla C[mg/g]	Ciclón C[mg/g]	Filtro electrostático C[mg/g]
As	n/d	n/d	n/d
Cd	2.7	41.5	104.0
Co	18.5	23.8	13.0
Cr	36.4	61.0	97.7
Cu	84.7	152.3	303.71
Fe	16546.4	16863.1	8191.7
K	5806608.3	7221815.6	43048856.0
Mg	18516.5	22534.1	13980.6
Mn	3370039.0	65403.8	17579.4
Ni	46.3	71.6	28.5
Pb	9.1	73.9	2843.8
Zn	246.4	3305.2	19128.7

Fuente: datos cedidos por la empresa

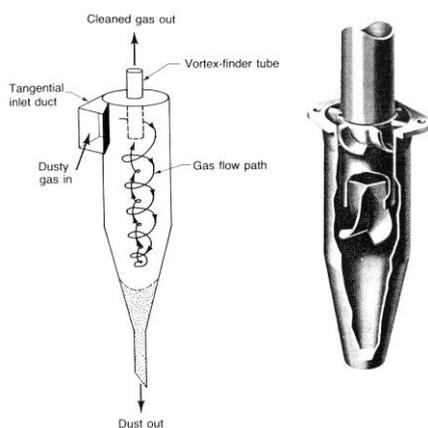


Fig. 3:5: Ciclón, funcionamiento.¹⁵

Las cenizas volantes utilizadas para el presente PFC provienen de un ciclón.

Debido al alto nivel de contaminantes presentes en las cenizas volantes, estas no se pueden reciclar en el medio ambiente y se deberían tratar como basura industrial siguiendo la normativa europea¹⁹, sin embargo el presente PFC trata de reducir los niveles de contaminantes para que estas cenizas puedan ser reutilizadas. Para ello se emplearán ácidos y microorganismos.

¹⁵ Apuntes de la asignatura de ingeniería química. Ciclones. Universidad de La Plata (Argentina)

¹⁹ Die Bestandsaufnahme der Abfallwirtschaft in Österreich- Statusbericht 2009, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien 2009

3.4.4 Datos de producción

La mayor parte de las cenizas producidas en Austria provienen de residuos de plantas de incineración, centrales térmicas y de biomasa, industria papelera, industria textil y de la madera.²⁰

El plan federal de desechos de Austria de 2006, actualizado en 2009, estima que el total de cenizas producidas es de 1,3 millones de toneladas en 2007 y de 1,27 millones de toneladas en 2008. En el año 2007 el 46,8% de esta cantidad fue reciclado para la industria cementera y usado como aditivo para el compost siguiendo la regulación establecida (Kompostverordnung BGBL.II Nr.292/2001).^{21, 16, 22}

3.5 Microorganismos

3.5.1 Fundamento: Asimilación microbiana de metales

Algunos microorganismos se pueden usar como bioacumuladores de metales en soluciones diluidas. Un gran número de bacterias, levaduras y algas acumulan iones metálicos en sus células hasta concentraciones varios órdenes de magnitud por encima de la concentración de ese metal en el medio. El mecanismo de acumulación puede incluir la absorción intracelular y el almacenado mediante un sistema de transporte activo de cationes, unión a la superficie y algunos mecanismos todavía no conocidos.²³

Las razones por las que estos microorganismos tienen capacidad adsorbente no están claras. Sin embargo, se cree que se debe a la composición de la pared celular. Por ejemplo, la pared celular de *Rhodotorula mucilaginosa* está compuesta por los polímeros manosa y quitina, con trazas del polisacárido D-glucosa, y se sabe que la quitina es muy buen adsorbente.

La adsorción de los metales es inhibida a pHs bajos, posiblemente como resultado de una alta densidad de cargas positivas en los sitios de enlace del metal debido a la alta concentración de protones de la disolución. Cuando se incrementa el pH, la densidad de carga negativa en la superficie del adsorbente incrementa debido a la desprotonización de los sitios de enlace, y hay un incremento en la biosorción.

²⁰ Christian Tscütscher. Possibilities of using different types of fly ashes in cement production

²¹ Bundes-Abfallwirtschaftsplan 2006, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien 2006

¹⁶ Die Bestandsaufnahme der Abfallwirtschaft in Österreich- Statusbericht 2009, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien 2009

²² Kompostverordnung BGBL. II Nr. 292/2001

²³ Removal of Cadmium and Lead from dilute aqueous solutions by *Rhodotorula rubra*. E. Salinas, M. Elorzade Orellano, I. Rezza, L.Martinez, E. Marchesvky, M. Sanz de Tosetti

Los microorganismos empleados en este PFC han sido previamente empleados como bioacumuladores. Son hongos unicelulares, levaduras, donde se encuentran *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida lipolytica* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Por otro lado se emplea el hongo pluricelular *Aspergillus niger*.

El *Aspergillus niger* produce ácidos orgánicos entre los que se encuentran el ácido glucónico y el ácido cítrico y otras sustancias que disuelven metales formando complejos metálicos solubles o quelatos.²⁴

3.5.2 Levaduras

Una levadura es un hongo unicelular con un único núcleo, que se reproduce de forma asexual por gemación y división transversal o por reproducción sexual mediante la formación de esporas. Cada yema que se separa puede crecer y convertirse en una nueva levadura, que se puede agrupar para formar colonias. En general, las levaduras son más grandes que las bacterias, varían mucho de tamaño, y suelen ser esféricas u ovoides.²⁵

Las levaduras prosperan típicamente en hábitat con azúcares, tales como frutos, flores y cortezas de árboles. Un buen número vive en simbiosis con animales, especialmente insectos, y algunas son patógenas para animales, incluido el hombre. La levadura más conocida es *Saccharomyces*, que se usa entre otras cosas, para la producción de pan y cerveza.²¹

Tabla 3-9: Clasificación de los microorganismos empleados

	Rodothorula mucilaginosa	Candida lipolytica	Acidithiobacillus thiooxidans	Aspergillus niger
Reino	Fungi	Fungi	Fungi	Eubacteria
Filo	Basidiomycota	Ascomycota	Ascomycota	Proteobacteria
Clase	Urediniomycetes	Saccharomycetes	Eurotiomycetes	Gammaproteobacteria
Orden	Sporidiales	Saccharomycetales	Eurotiales	Acidithiobacillales
Familia	Sporidiobolaceae	Dipodascaceae	Trichocomaceae	Acidithibacillaceae

²⁴ Biological leaching of heavy metals from a contaminated soil by *Aspergillus niger*. Wan-Xia Ren, Pei-Jun Li, Yong Geng, Xiao-Jun Li

²⁵ Brock. Biología de los Microorganismos (décima edición). Michael T. Madigan, John M. Martinko, Jack Parker Pearson Prentice Hall, 2001

3.5.3 Medios de cultivo

Para que los microorganismos puedan reproducirse, necesitan habitar un medio donde dispongan de todos los nutrientes que necesitarían en su hábitat natural. Todos los microorganismos necesitan fuentes de energía (normalmente azúcares), carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y otros minerales. La mayor fuente de carbono se obtiene a partir de monosacáridos como la glucosa y la fructosa, y de disacáridos, como la sucrosa y la maltosa. Algunos medios son útiles para cultivar gran variedad de microorganismos, los medios generales. Otros, favorecen el crecimiento de unos microorganismos determinados (medios selectivos).²⁶

3.5.4 Esterilización

La esterilización es un proceso que deja el objeto tratado libre de todo organismo vivo. Puede lograrse mediante exposición a agentes letales físicos o químicos o, en caso de disoluciones, por filtración.

El único criterio válido para determinar la muerte de un microorganismo es la pérdida irreversible de su capacidad reproductora. Cuando una población microbiana se expone a un agente letal, el número de supervivientes disminuye geométricamente con el tiempo. Para establecer los procedimientos de esterilización hay que tener en cuenta dos factores: la tasa de mortalidad y el tamaño de la población inicial. Como casi nunca se sabe a ciencia cierta qué microorganismos se encuentran en el objeto a tratar, se considera que están los más resistentes. Los procedimientos rutinarios de esterilización se plantean siempre de forma que proporcionen un amplio margen de seguridad. Normalmente se esteriliza por calor, radiación, tratamiento químico o filtración por membranas.²⁷ Los utilizados en el PFC son los siguientes:

- Calor. El calor es el agente más ampliamente utilizado. Los objetos pueden ser esterilizados por calor seco o por calor húmedo.

El calor seco se usa para esterilizar material de vidrio y otros materiales sólidos estables al calor. Se protegen normalmente con papel de aluminio y son expuestos durante 90 minutos a 170°C en un horno.

El tratamiento de esterilización por calor húmedo se lleva a cabo en un autoclave. Un autoclave es un recipiente metálico que puede llenarse de vapor a una presión superior a la atmosférica, así se logran temperaturas superiores a la de ebullición del

²⁶ Industrial Exploitation of Microorganisms. D. K. Maheshwari I.K. International Publishing House Pvt. Ltd. 2010

²⁷ Microbiología (séptima edición) de Prescott, Harley y Klein Willey Sherwood Woolverton. Mc Graw Hill, 2009

agua. Los autoclaves se emplean a una presión que corresponde a 120 °C, durante 20 minutos.²³



Fig. 3:6: Autoclave SysTec 3150 EL, FH OÖ, Campus Wels. Wels, Austria

- Filtración de membrana

Durante el filtrado, se hace pasar la solución a través de un filtro empleando vacío (o presión) mediante una jeringa, una bomba peristáltica o una botella de gas nitrógeno, y el líquido se recoge en recipientes previamente esterilizados. Los filtros de membrana eliminan los microorganismos mediante una selección similar a la de una criba que separa los granos grandes de arena de los pequeños. Estos filtros son empleados para esterilizar fármacos, soluciones oftálmicas, medios de cultivo, aceites, antibióticos y otras soluciones sensibles al calor.²³ En este trabajo se ha utilizado la filtración de membrana para soluciones sensibles al calor.

3.5.5 Recuento de biomasa

Para que la cantidad de biomasa añadida a las disoluciones sea lo suficientemente grande para resultar efectiva, se hace un cálculo aproximado de la cantidad presente en la solución. Hay distintos métodos, como por ejemplo medir la turbidez de la disolución. Sin embargo, hacer un recuento con una cámara de Thoma es mucho más exacto.

La cámara de Thoma es un instrumento que se usa exclusivamente en el recuento de levaduras, aunque tiene un funcionamiento similar a que las que se usan para otros microorganismos, como bacterias. Consiste en un portaobjetos grueso que contiene dos zonas a los laterales ligeramente hundidas y en cuyo centro se encuentran marcadas una o dos cruces. El centro de estas cruces está formado por una cuadrícula de dimensiones conocidas, compuesto por 400 pequeños cuadrados que a su vez forman 16 cuadrados mayores.

²³ Microbiología (séptima edición) de Prescott, Harley y Klein Willey Sherwood Woolverton. Mc Graw Hill, 2009

Introducción

La solución que contiene la biomasa, normalmente diluida, se hace pasar por capilaridad entre el portaobjetos y el cristal que cubre la cámara, ocupando así el espacio tallado.

A la hora de hacer el recuento, se cuentan de forma independiente un número determinado de cuadrados grandes (normalmente 4) y se hace la media. Luego se aplica la siguiente fórmula:

$$N = \frac{(\text{suma_total_de_las_células_contadas}) * 400 * 10^4}{\text{n}^\circ \text{_de_cuadrados_pequeños_contados}} * f$$

Siendo N el número de células/mL de solución y f el factor de dilución



Fig. 3:7 Cámara para recuento de biomasa

3.5.6 Ensayos de biomasa viable

Para estudiar la vitalidad de las células tras el proceso de biolixiviación se usa el procedimiento de la tinción simple con Eosina G. La Eosina es un colorante muy utilizado para determinar la viabilidad de biomasa. El uso de este colorante se basa en que es un colorante ácido, que no penetra en el interior celular a no ser que la membrana sea permeable, cosa que solo ocurre cuando la célula está muerta. De este modo, las células cuyo interior esté teñido constituirán la biomasa no viable (se hallarán muertas) y las que sólo tengan el entorno teñido formarán la biomasa viable (estarán vivas).

3.6 Pelletación

A la hora de transportar las cenizas es mucho más eficiente hacerlo en forma de pequeños núcleos llamados pellets, ya que la apariencia de polvo de estas hace que se pueda perder una parte de material debido a factores externos como el viento. Para su uso como abono, la distribución también será mucho más homogénea.

La formación de pellets se lleva a cabo en un plato de pelletizar. Puede ser un proceso continuo, aunque en este proyecto sólo se ha realizado por lotes. El equipo consiste en un plato unido a un eje que gira y al que se le da una inclinación determinada.

3.7 Medidas analíticas

La toma de medidas de los ensayos se lleva a cabo con instrumentos analíticos de alta precisión, cuyos límites de detección se encuentran a niveles de ppm y ppb. Estos son la espectroscopía de plasma acoplado por inducción, con emisión óptica (ICP-OES) y la cromatografía iónica (IC).

3.7.1 Espectroscopía

La espectroscopía engloba los métodos analíticos que se basan en la interacción de la radiación electromagnética y la materia, refiriéndose por materia al conjunto de pruebas analizables, que pueden ser tanto iones, átomos o moléculas. Los métodos espectroscópicos se clasifican según la región del espectro que esté implicada: radiofrecuencias, microondas, infrarrojo, visible, ultravioleta y rayos X y γ .

La energía de un fotón (E) depende de la frecuencia de la radiación electromagnética y se expresa como: $E=h \cdot \nu$, siendo h la constante de Planck, igual a $6,63 \cdot 10^{-34}$ julios*s, y ν el número de oscilaciones del campo por segundo. Así, cuanto menor sea la longitud de onda (λ), mayor será ν , y más energía tendrá el fotón. Por lo tanto, se puede decir que la energía de la radiación electromagnética depende de λ , y será mayor conforme más pequeña sea λ . La radiación de más energía son los rayos gamma, y la de menor, las radiofrecuencias. Las radiaciones de más energía conseguirán excitar más a los electrones de la muestra, mientras que las de menor solo lograrán hacerlos vibrar. Dependiendo de las especies que se quieran estudiar, se diferencia entre espectroscopía atómica o molecular, y dependiendo el proceso que se estudie, se diferencia entre espectroscopía de absorción o de emisión. En el presente PFC se estudia la espectroscopía de emisión atómica.

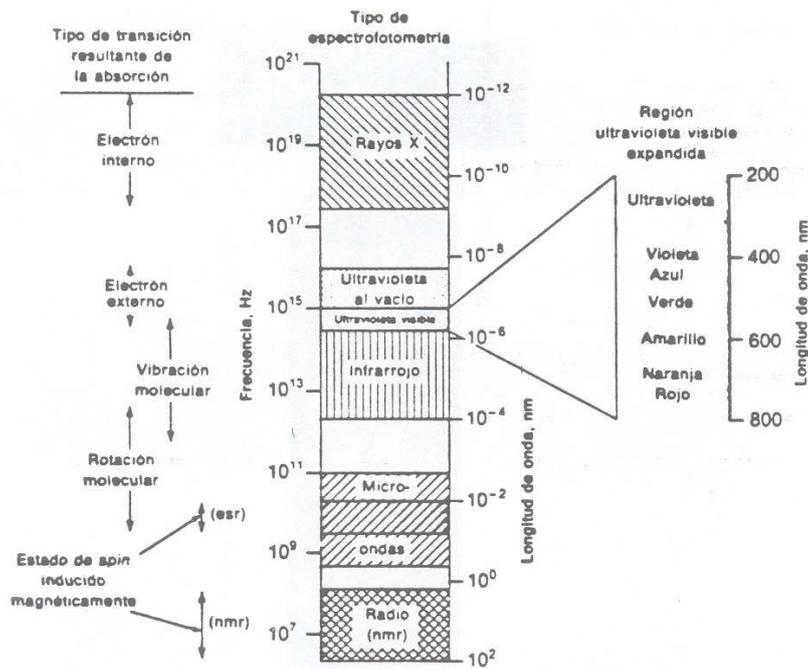


Fig. 3:8: Espectro electromagnético.[23]

3.7.1.1 ICP

Cuando la radiación pasa a través de una materia, átomos, iones o moléculas se excitan a uno o más niveles superiores de energía. El periodo de vida de la especie excitada es breve, y pronto vuelve a su estado fundamental que se produce liberando el exceso de energía en forma de radiación electromagnética, calor, o tal vez ambos. Se mide la energía liberada, recogiendo la información en los llamados espectros de emisión.

El ICP es un tipo de espectroscopía de emisión atómica basada en atomización en plasma; siendo el plasma una mezcla gaseosa conductora de la electricidad que contiene una concentración significativa de cationes y electrones. En el plasma empleado, de argón, los iones de argón y los electrones son las principales especies conductoras, a los que también hay que añadir los cationes presentes en la muestra. El OES hace referencia a es una espectroscopía de emisión óptica. El modelo usado para los análisis es: ULTIMA 2, HORIBA JOBIN YVON. Este modelo usa como fuente de alimentación campos de radiofrecuencias, que tienen muy buena relación con la sensibilidad y la ausencia de interferencias. La fuente de plasma acoplado inductivamente, al que se le llama antorcha, está constituido por tres tubos concéntricos de cuarzo por los que fluye el argón. La muestra se introduce dentro del plasma caliente por el extremo inferior mediante un flujo de argón a través del tubo de cuarzo central. En el exterior de la parte superior del tubo externo se encuentra una bobina de inducción alimentada por un generador de

radiofrecuencia. La ionización del argón se inicia por una chispa procedente de una bobina de Tesla.²⁸

El plasma utilizado tiene un color blanco azulado que termina en una cola en forma de llama. La llama es de color azul, aunque este puede cambiar según los elementos que esté analizando. Así pues, se torna naranja intensa, e incluso aumenta de tamaño cuando analiza muestras con alto contenido en nitratos.

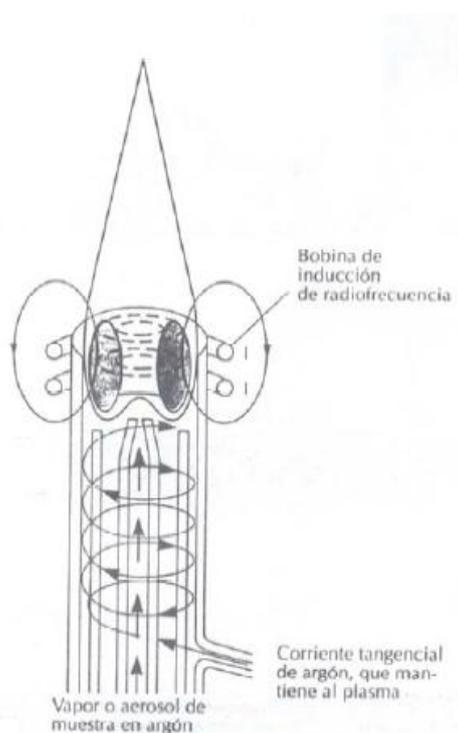


Fig. 3:9:Esquema de la antorcha en ICP

Los átomos permanecen aproximadamente dos minutos a una temperatura de unos 8000 K en un entorno inerte. Al ser la temperatura del plasma tan elevada, se hace necesario el aislarlo del tubo exterior de cuarzo, por lo que se hace circular una corriente tangencial de argón alrededor de las paredes del tubo. Para que las medidas presenten mayor precisión, el flujo de argón debe ser constante, de aproximadamente 12 l/min.

Tras la atomización, la radiación entra en el monocromador, que se usa como seleccionador de longitud de onda. Aquí se refleja el haz en una serie de espejos cóncavos y una rendija rotatoria que actúa como elemento dispersivo, que consiguen seleccionar un rango de longitudes de onda determinado.

²⁸ Apuntes química analítica. Universidad de Zaragoza. Angélica Fernández Castel

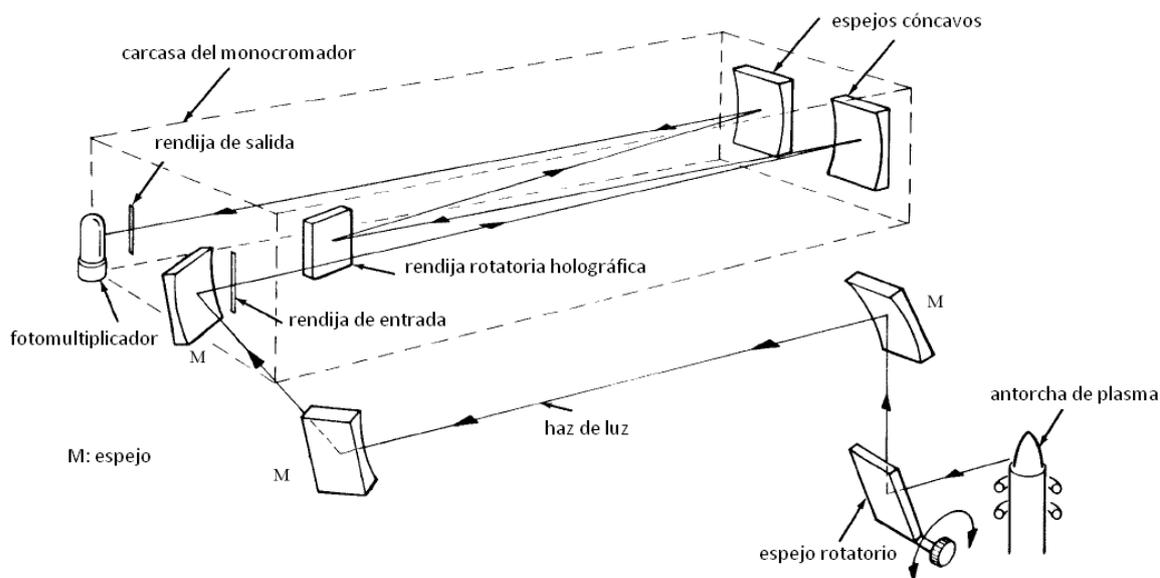


Fig. 3:10: Esquema de funcionamiento de ICP-OES

3.7.2 Cromatografía

La cromatografía es una técnica usada para separar, determinar e identificar compuestos de mezclas químicas. Se basa en las distintas afinidades de los componentes a separar con los eluentes utilizados en la técnica. Cuentan con una fase estacionaria y una fase móvil. Los componentes de la solución pasan a través de la fase estacionaria arrastrados por la fase móvil. La fase móvil pasa a través de la estacionaria por presión, gravedad o capilaridad. La fase estacionaria se puede encontrar dentro de una columna o sobre una placa. La fase móvil puede ser líquida, gaseosa o bien un fluido supercrítico. Dependiendo de la polaridad de los compuestos, unos se eluirán antes que otros. Un cromatograma representa alguna función de la concentración del soluto en función del tiempo de elución. Conforme el detector detecte solutos a la salida de la fase estacionaria, generará un pico proporcional a la concentración del soluto. Para que la separación de los componentes de la muestra sea buena y eficiente se tienen que considerar distintos factores: Que los picos producidos por los solutos no sean muy anchos, que todos los picos estén bien separados entre sí y que el tiempo de dilución sea el menor posible. Para que todo esto sea posible, antes de realizar los análisis hay que estudiar el orden de salida de los solutos y, si se puede programar el disolvente, o variar la temperatura durante el análisis. Dependiendo de los compuestos a separar, se elige el tipo de cromatografía más eficiente. En el presente PFC el objetivo es separar cationes, por lo que se decide emplear la cromatografía iónica.

3.7.3 Cromatografía iónica

La cromatografía iónica es un tipo de cromatografía líquida de alta resolución. Se caracteriza porque la fase estacionaria consiste en una resina de intercambio iónico. El modelo utilizado es: Dionex ICS 1000. Para los análisis se ha usado una resina de intercambio iónico catiónica IonPac®.

La resina contiene un ácido, que con la disolución forma un equilibrio responsable de la detención:

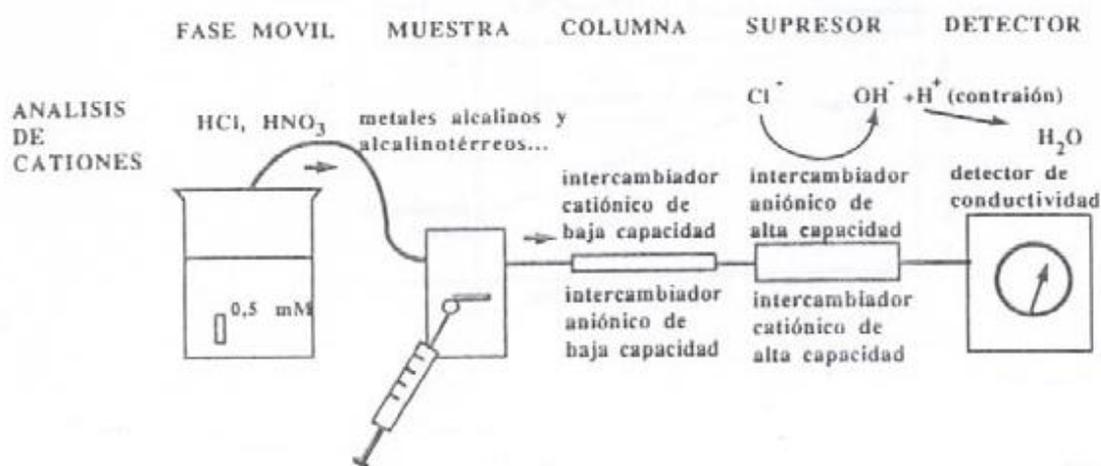
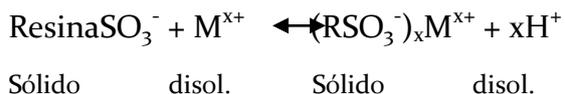


Fig. 3:11: Esquema de funcionamiento de IC

4 Objetivos

El objetivo general de este proyecto es el estudio de la viabilidad del uso de microorganismos para la reducción de la concentración de metales pesados presentes en cenizas volantes de cara a que estas puedan ser utilizadas.

Para ello se estudiarán los siguientes parámetros:

- Selección del ácido con el que se consigue mayor solubilidad de metales.
- Selección del pH óptimo de trabajo.
- Selección del microorganismo que mejor realiza la biolixiviación en las condiciones de trabajo.
- Optimización de los parámetros más relevantes a la hora de pelletar.

5 Parte experimental

5.1 Materiales y reactivos

Tabla 5-1> Caracterización de las cenizas utilizadas para los los análisis

	Ciclón
Elemento	C[mg/g]
As	n/d
Cd	41.53
Co	23.84
Cr	61.01
Cu	152.27
Fe	16863.15
K	7221815.56
Mg	22534.1
Mn	65403.77
Ni	71.57
Pb	73.87
Zn	3305.17

5.1.1 Preparación de disoluciones

Material

- Matracas aforados
- Papel de filtro
- Fiolas para la filtración a vacío
- Kitasato
- Soporte con nuez y pinzas
- Bureta
- Buchner
- Gradillas
- Pipetas
- Embudos de decantación
- Vasos de precipitados
- Varilla de agitación
- Tubos Greiner de 50 mL

Instrumentación

- Balanza de precisión
- Placa calefactora

Reactivos

- H₂SO₄
- HNO₃
- HCl
- HCOOH
- Ácido acético
- Ácido lactic

5.1.2 Microbiología

Microorganismos

- Rhodotorula mucolaginososa
 - DSM 9463
- Candida lipolytica
 - DSM 3286
- Acidithiobacillus thiooxidans
 - DSM 9463
- Aspergillus niger
 - Cultivo propio de la universidad procedente de DSM 823

Material

- Placas Petri
- Pipetas desechables
- Portaobjetos y cubreobjetos para el análisis con microscopio
- Gradillas
- Agujas de inoculación
- Pipetas automáticas
- Papel de aluminio
- Erlenmeyers
- Botellas para autoclave

Instrumentación

- Microscopio
- Armario incubador
- Autoclave
- Cámara de Tommer para contar microorganismos
- Baño de agua
- Agitador
- Mechero Bunsen

Reactivos

- Para el medio de cultivo de Aspergillus niger
 - Sucrosa
 - NaSO₃
 - KH₂PO₄
 - MgSO₄·7H₂O
 - KCl
 - Extracto de levadura

Parte experimental

- Para el medio de cultivo de *Rhodotorula rubra* y de *Candida lypolitica*
 - Glucosa
 - Extracto de levadura
 - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
 - FeSO_4
 - $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 - KH_2PO_4
- Para el medio de *Acidithiobacillus thiooxidans*
 - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
 - KH_2PO_4
 - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 - CaCl_2
 - $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
- Para los medios universales
 - Sabouraud
 - Dextrosa
 - Peptona
 - Agar
- YGC
 - Dextrosa
 - Extracto de levadura
 - Agar
 - Cloranfenicol (Antibiótico)
- Extracto de malta y peptona
 - Extracto de malta
 - Peptona de soja
 - Agar

5.1.3 Pelletización

Reactivos

- Cenizas
- Agua

Instrumentación

- Máquina de pelletar ER WEKA AR 403
- Distribuidor de reactivo
- Armario de secado

5.2 Optimización de las condiciones para el crecimiento de los microorganismos

Los microorganismos necesitan para crecer nutrientes que le aporten energía y elementos químicos para la síntesis de sus constituyentes celulares. Los microorganismos están compuestos principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno.

La elaboración de medios de cultivo requiere proporcionar estos los elementos en una forma asimilable. Así, por ejemplo, el C debe estar en forma de carbono orgánico; el N en forma de NH_4 , de NO_3 o de NO_2 o en forma de aminoácidos a los que se pueda tomar su grupo amino; el P debe estar en forma de PO_4^{3-} ; el S procede de aminoácidos sulfurados o de SO_4^{2-} , etc.²⁹ Por otra parte, los medios de cultivo pueden ser generales, si sirven para un gran número de microorganismos, o selectivos, si contienen los nutrientes que favorecen sólo a un reducido grupo.

Para el cultivo de microorganismos en este PFC se usan ambos tipos de cultivos.

5.2.1 Rhodotorula mucilaginosa

Para *Rhodotorula mucilaginosa* se preparan 2 tipos de medios de cultivo.

5.2.1.1 Medio líquido selectivo "Sprungelemente"

Este medio contiene minerales además de los nutrientes esenciales. Este medio se compone de: 5 g/L de glucosa; 0,05 g/L de extracto de levadura; 0,5 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,005 g/L de FeSO_4 ; 0,2 g/L de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 0,2 g/L de KH_2PO_4 .

Se prepara un litro del medio siguiendo los siguientes pasos:

- Se tara una botella de microbiología de un litro de capacidad con una balanza.

- Se añaden los reactivos en las cantidades indicadas. Hay que tener en cuenta que el FeSO_4 se encuentra como $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, y a una concentración muy baja, por lo que se calcula la concentración equivalente de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y se prepara una disolución intermedia de 0,5 g/L. Para ello se tiene en cuenta que:

$$\text{PM FeSO}_4 = 166,2$$

$$\text{PM FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 278,02$$

²⁹ Apuntes de laboratorio de microbiología. Universidad de Navarra

Parte experimental

$$n = \frac{n^{\circ} \text{ gramos}}{p.m.} ; n = \frac{0,5}{166,2} = 0,003008 \text{ moles}$$

$$n^{\circ} \text{ gramos} = n * p.m. ; n^{\circ} \text{ gramos} = 0,003008 * 278,02 = 0,836g \text{ de } FeSO_4 \cdot 7H_2O$$

- Se enrasa el medio a un litro con agua destilada.
- Se pega a la botella la tira térmica que cambia de color cuando se alcanza la temperatura para la esterilización, y que sirve para comprobar que ésta realmente se ha producido.
- Se mete al autoclave en el programa de esterilizar.
- Para el crecimiento de las levaduras, se toma en un Erlenmeyer de 250 ml 200 ml del medio más levaduras procedentes de un cultivo anteriormente preparado. Las levaduras son incubadas a 28°C y agitadas a 200 r.p.m. durante 3 días.

Tras el periodo de incubación las levaduras se observan con el microscopio.

Se observa que han crecido de forma abundante; sin embargo, se identifican unos puntos blancos más intensos en el medio como bacterias.

Una vez pasado el periodo de incubación se procede a centrifugar la biomasa. Para ello se divide el contenido del Erlenmeyer en cuatro tubos Greiner (es importante que todos los tubos contengan el mismo volumen de disolución y pesen igual para el correcto funcionamiento de la centrifugadora) y se meten en la centrifugadora durante 11 minutos a 3000 r.p.m. El líquido sobrante se deshecha y se conservan los pellets. Cada pellet se diluye en 1 mL de agua corriente (no destilada) esterilizada y se juntan en un solo tubo.

- Tras hacer las diluciones correspondientes, se hace un recuento de la biomasa existente en la disolución concentrada valiéndose de una cámara de Thoma.

5.2.1.2 Medio líquido Sabouraud.

Como con el medio anterior se desarrolla una infección, se decide probar a cultivar la biomasa con el medio universal compuesto de: 40 g/L de dextrosa y 10 g/L de peptona.

Ahora se observa cómo *Rhodotorula mucilaginosa* crece bien y sin infecciones. Se elige por lo tanto este medio para su posterior uso.

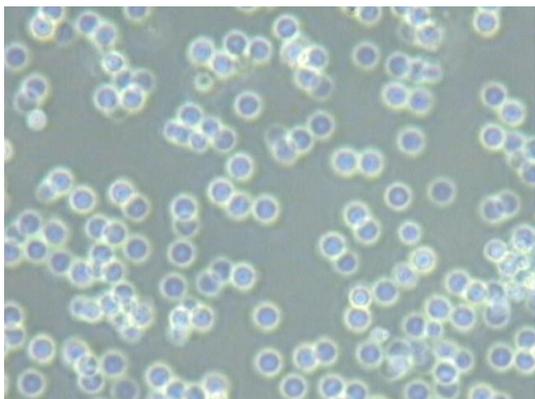


Fig. 5:1. *Rhodotorula mucilaginosa*. 40 aumentos

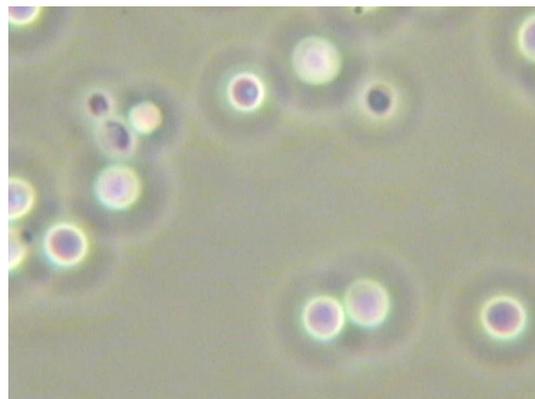


Fig. 5:2. *Rhodotorula mucilaginosa*: 100 aumentos

5.2.2 *Candida lipolytica*

Para la obtención de esta levadura se han probado 4 medios de cultivo diferentes:

5.2.2.1 Medio sólido "Sprungelemente".

Se sigue el mismo procedimiento que con *Rhodotorula mucilaginosa*, y tras el periodo de incubación, se observa al microscopio.



Fig. 5:3: medio con agar de "Sprungelemente". 100 aumentos



Fig. 5:4: medio con agar de "Sprungelemente". 100 aumentos.

Se aprecia que no hay mucha biomasa; además, se forman hifas (forma alargada en vez de ovalada como es esta levadura sana). Esto puede ser debido a que las condiciones a las que han sido expuestas las levaduras no son las adecuadas, y formar hifas es la única manera que tienen para sobrevivir. Las posibles causas son que no tengan los nutrientes necesarios o que la temperatura sea demasiado elevada. (El agitador térmico, aunque programado a 23 °C, opera a 27 °C.)

Parte experimental

Como este es un medio específico para *Candida*, es sorprendente que crezca mal. Como alternativa se prepara un nuevo medio, pero esta vez líquido y se inoculan levaduras procedentes del cultivo original. Los resultados tras el tiempo de incubación tampoco son satisfactorios ya que, aunque aumenta la biomasa, se siguen produciendo hifas.



Fig. 5:5. Medio líquido de "Sprungelemente". 100 aumentos

Se vuelve a probar, esta vez tomando biomasa del cultivo líquido e inoculándolo en un nuevo medio de Sprungelemente para descartar fallos en la preparación del primer medio.



Fig. 5:6; medio con agar de "Sprungelemente" procedente del cultivo líquido de "Sprungelemente". 100 aumentos



Fig. 5:7. medio con agar de "Sprungelemente" procedente del cultivo líquido de "Sprungelemente". 100 aumentos

Como antes se ha dicho, este es el medio específico para el crecimiento de *Candida lipolytica*, y a pesar del gran número de levaduras, se observa la presencia de hifas, por lo que se descarta su uso para la posterior producción de levaduras.

Parte experimental

5.2.2.2 Medio líquido Sabouraud.

Se prueba con este medio universal compuesto de: 40 g/L de dextrosa y 10 g/L de peptona

Se sigue el mismo procedimiento que con *Rhodotorula mucilaginosa*.

Tras el periodo de incubación se observa a microscopio.



Fig. 5:8. : medio líquido Sabouraud. 40 aumentos



Fig. 5:9. : medio líquido Sabouraud. 40 aumentos

Con este medio, las levaduras crecen bien y son numerosas. Sólo se observa alguna hifa.

5.2.2.3 Medio YGC

Posteriormente se prueba con otro medio universal, el YGC. Éste está compuesto de 20 g/L de dextrosa; 5 g/L de extracto de levadura y 12 g/L de agar.

Se sigue el mismo procedimiento que con *Rhodotorula mucilaginosa*.

Tras el periodo de incubación se observa a microscopio.

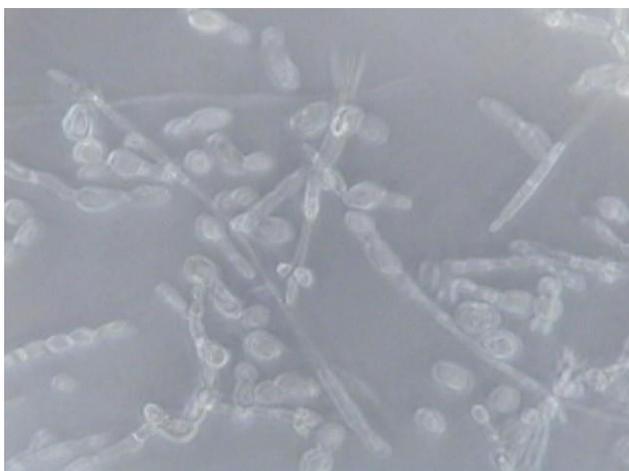


Fig. 5:10. Medio YGC 10 aumentos

Parte experimental

Se observa que han crecido muchas levaduras, en parte bien, en parte como hifas. Por otra parte se puede apreciar alguna bacteria. Contra esto se añade antibiótico al medio. En este caso se opta por cloranfenicol. Sin embargo la infección persiste.

5.2.2.4 Malta y peptona de soja

Este medio consta de 3,0 g/L de extracto de levadura; 3,0 g/L de extracto de malta; 5,0 g/L de peptona de soja; 10,0 g/L de glucosa y 15 g/L de agar.

Se sigue el mismo procedimiento que con *Rhodotorula mucilaginosa*.

Tras el periodo de incubación se observa a microscopio.

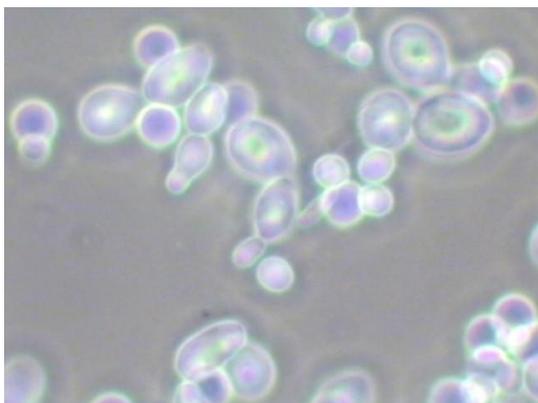


Fig. 5:11. Medio Malta y peptona de soja. 10 aumentos

Con este medio la biomasa ha aumentado mucho y, además, crece sana. Sin embargo, existen bacterias en el medio que también son resistentes a los antibióticos.

Se concluye que como mejor crece la levadura *Candida lipolytica* es con el medio de Sabouraud sin agar, por lo que se decide utilizarlo a la hora de producir las levaduras para su posterior uso en la biolixiviación.

5.2.3 *Aspergillus niger*

Para la obtención de este microorganismo se parte de un cultivo sólido preparado con anterioridad en el departamento. Tras comprobar que se encuentra en buen estado, se inocula la cepa a Erlenmeyers que ya contienen el medio específico del *Aspergillus*. Este medio consiste en 100 g/L de sucrosa; 1,5 g/L de NaNO_3 ; 0,5 g/L de KH_2PO_4 ; 0,025 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,025 g/L de KCl y 1,6 g/L de extracto de levadura. Este hongo crece muy bien y rápido.



Fig. 5:12. Cultivo de *Aspergillus niger*

5.2.4 *Acidithiobacillus thiooxidans*

Para la obtención de esta levadura se han probado 3 medios de cultivo diferentes. Todos ellos se basan en el medio de crecimiento específico para el *acidithiobacillus*, sólo que con pequeñas variantes llevadas a cabo para corregir fallos en el crecimiento de estos microorganismos.

5.2.4.1 Medio específico para *acidithiobacillus thiooxidans*

Los resultados obtenidos una primera vez con este medio no son satisfactorios, pero se llega a la conclusión de que puede ser debido al largo periodo de tiempo que pasa desde que el medio se prepara hasta que se utiliza. Por esta razón se prepara un nuevo medio. Sin embargo, esta vez el azufre elemental con apariencia de polvo que contiene se compacta formando un gran núcleo. Lo mismo pasa al repetir nuevamente el proceso. Esterilizando el azufre en seco, se funde, por lo que tampoco es posible utilizarlo así.

El medio específico consiste en 0,3 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,5 g/L de KH_2PO_4 ; 0,5 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 10 g/L de azufre elemental.

5.2.4.2 Medio específico con tiosulfato de sodio y agar

Como alternativa al azufre elemental se prueba con azufre en forma de tiosulfato de sodio. Además, se añade agar a la disolución y se prueba con el cultivo en placa. Esta vez sí que crece biomasa.

5.2.4.3 Medio específico con tiosulfato de sodio

Para producir más biomasa que en medio sólido se vuelve a repetir el medio con la variante del tiosulfato, pero esta vez en medio líquido. Se obtienen buenos resultados.

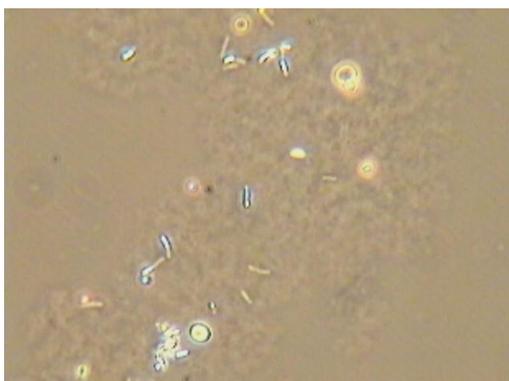


Fig. 5:13: Medio específico con tiosulfato de sodio y agar

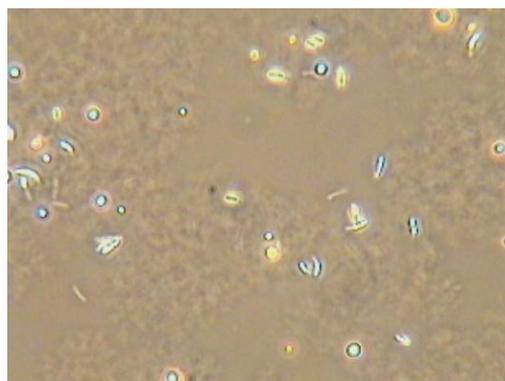


Fig. 5:14: Medio específico con tiosulfato de sodio y agar

5.3 Producción de biomasa para su uso como biolixivante.

Para su uso como biolixivante, debido al gran número de soluciones preparadas (los experimentos se llevan a cabo por duplicado, con un rango de pHs del 1 al 7), hace falta gran cantidad de biomasa.

5.3.1 *Rhodotorula mucilaginosa*.

Se prepara en 10 Erlenmeyers de 250 mL medio de cultivo Sauboraud y se incuban durante 3 días. Tras el centrifugado durante 11 minutos a 3000 r.p.m., donde previamente se divide el contenido del erlenmeyer en tubos Greiner (es importante que todos los tubos contengan el mismo volumen de disolución), el líquido sobrante se deshecha y se conservan los pellets. Cada pellet se diluye en 1 ml de agua corriente (no destilada) esterilizada y se juntan en un solo tubo. A continuación se recuenta la biomasa con una cámara de Thoma, obteniéndose una cantidad de aproximadamente de $1,9^9$ levaduras/mL. El procedimiento a seguir a la hora de realizar el recuento de biomasa es el siguiente: primero se diluye la solución 1:10; sin embargo, sigue habiendo demasiadas células que impiden llevar a a cabo el recuento. Se vuelve a hacer una nueva dilución 1:10, por lo que la inicial resulta 1:100.



Fig. 5:16: *Rhodotorula mucilaginosa* en placa petri



Fig. 5:15: *Rhodotorula mucilaginosa* concentrada tras la centrifugación

Parte experimental

Las medidas realizadas con la cámara de Thoma han sido las siguientes:

- Cuadrado grande 1: 70
- Cuadrado grande 2: 83
- Cuadrado grande 3: 90
- Cuadrado grande 4: 65

Suma total de células= 308

$$N = \frac{(\text{suma_total_de_las_células_contadas}) * 400 * 10^4}{n^\circ_de_cuadrados_pequeños_contados} * f$$

$$N = \frac{308 * 400 * 10^4}{4 * 16} * 100 = 1,925 * 10^9 \text{ células / mL}$$

Según la literatura²⁰, se toma medio gramo de biomasa, pero se prefiere coger 1 mL para saber exactamente de cuántas células se dispone.

Un mililitro de esta disolución se calienta a 90°C durante una hora en un baño de agua para matar a las levaduras. Estas levaduras van a ejercer de prueba de control o en blanco y constituyen la biomasa no viable.

5.3.2 Candida lipolytica

Para el cultivo extensivo de esta levadura se sigue el mismo procedimiento que con *Rhodotorula mucilaginosa*. A la hora de hacer el recuento también pasa lo mismo. Primero se diluye la solución 1:10; sin embargo, sigue habiendo demasiadas células que impiden llevar a cabo el recuento. Se vuelve a hacer una nueva dilución 1:10, por lo que la inicial resulta 1:100.



Fig. 5:18: Candida lipolytica en placa petri



Fig. 5:17: Candida lipolytica concentrada tras la centrifugación

Parte experimental

Las medidas realizadas con la cámara de Thoma han sido las siguientes:

- Cuadrado grande 1: 55
- Cuadrado grande 2: 46
- Cuadrado grande 3: 31
- Cuadrado grande 4: 43

Suma total de células= 175

$$N = \frac{(\text{suma_total_de_las_células_contadas}) * 400 * 10^4}{n^\circ_de_cuadrados_pequeños_contados} * f$$

$$N = \frac{175 * 400 * 10^4}{4 * 16} * 100 = 1,094 * 10^9 \text{ células / mL}$$

5.3.3 Aspergillus niger

Para el cultivo del *Aspergillus niger*, se trasvasa del Erlenmeyer original a los distintos Erlenmeyers, ya con medio de cultivo, las pequeñas bolas que se forman con la ayuda de una pipeta desechable de boca ancha.



Fig. 5:21: *Aspergillus niger* en placa petri

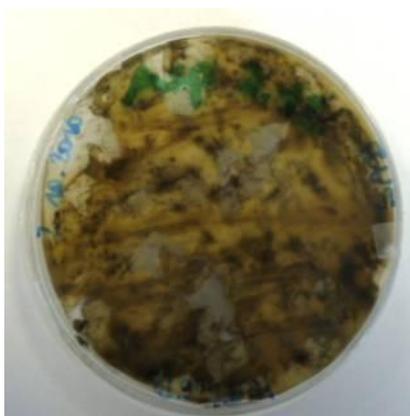


Fig. 5:20: Esporas de *Aspergillus niger*



Fig. 5:19: *Aspergillus niger* en medio líquido

5.3.4 Acidithiobacillus thiooxidans

El cultivo de *Acidithiobacillus* se deja preparado pero no se lleva a cabo por falta de tiempo. Se seguiría el mismo procedimiento que para *Rhodotorula mucilaginosa*

Para hacer el recuento de biomasa se diluye una muestra en proporción 1:10 y se observa con la cámara de Thoma.

Los resultados son los siguientes:

- Cuadrado grande 1: 63
- Cuadrado grande 2: 40
- Cuadrado grande 3: 66
- Cuadrado grande 4: 54
- Cuadrado grande 5: 68

Suma total de células= 291

$$N = \frac{(\text{suma_total_de_las_células_contadas}) * 400 * 10^4}{n^\circ_de_cuadrados_pequeños_contados} * f$$

$$N = \frac{291 * 400 * 10^4}{5 * 16} * 10 = 1,455 * 10^8 \text{ células / mL}$$



Fig. 5:22: Acidithiobacillus thiooxidans en placa petri listo para ser inoculado a cultivo líquido

5.4 Preparación de disoluciones con cenizas

La solubilidad de los metales incrementa, en general, conforme disminuye el pH de la misma. Las cenizas a analizar se llevan a pHs ácidos con el fin de que se disuelva la mayor cantidad posible de metales en la misma. Para ello se proponen ácidos de bajo coste, tanto de carácter inorgánico como orgánico (de cadena corta); en concreto, se realizan ensayos con ácido nítrico, cloruro de hidrógeno, ácido fórmico, ácido acético y ácido láctico. (También se realizan las disoluciones de ácido sulfúrico, pero al almacenarlas durante un tiempo para esperar a ser analizadas, crecen unas algas en el interior y hay que desechar las disoluciones). A modo de ejemplo, se detalla el procedimiento seguido para la extracción de metales de las cenizas usando ácido nítrico concentrado al 65%.

- Se preparan disoluciones con cenizas en agua destilada del 10% w/V. Para ello se disuelven 8,0 g de cenizas en agua en un vaso de precipitados de 250 mL.
- Se añade una cantidad de ácido determinada para controlar el pH. Las cenizas por sí solas tienen un pH en torno a 13. Los pHs requeridos en los experimentos varían de 1 a 7.
- Tras añadir el ácido con una bureta, y agitando continuamente la disolución, una vez que el pH se mantiene 20 minutos estable, se enrasa la disolución a 80 mL con agua destilada. (El pH tiende a aumentar con el tiempo).
- Se deja agitando durante una hora y se comprueba que el pH sigue estable.

Parte experimental

- Se procede a filtrar. Para ello se utiliza una bomba de vacío, un quitasato y papeles de filtro de distinta porosidad.
- El líquido filtrado se recoge en tubos Greiner de 50 mL.
- Tras enrasar los tubos a 50 mL, la solución restante se recoge en otro que servirá para medir la cantidad de metales extraídos por el ácido. Las demás soluciones de 50 mL servirán para los experimentos de biolixiviación.
- La torta se seca con silicatos para su posterior análisis.

Los experimentos se llevan a cabo por duplicado.

Los resultados son los siguientes:

Tabla 5-2: Relación de disoluciones de HNO₃ preparadas

<i>n^odisolución</i>	<i>pH deseado</i>	<i>ph real</i>	<i>mililitros</i>
0	0	0,5	50,0
1	1	1,0	85,0
2	1	1,0	72,5
3	2	2,0	87,5
4	2	2,0	80,0
5	3	2,8	-
6	3	3,0	82,5
7	4	3,7	87,5
8	4	4,0	4,0
9	5	4,6	70,0
10	5	5,4	73,5
11	6	6,1	82,5
12	6	6,3	67,0
13	7	6,5	65,0
14	7	7,1	80,0

Para los demás ácidos se sigue el mismo procedimiento, solo que en mayor cantidad: 23 gramos de cenizas en 230 ml de disolución.

Los principales problemas encontrados están debidos al largo periodo de tiempo que pasa desde que se preparan las disoluciones hasta que éstas se utilizan, y han sido los siguientes:

En las disoluciones de ácido láctico, aparecen una especie de bolas blancas. La disolución sigue siendo líquida.

Parte experimental



Fig. 5:23: Disolución de cenizas con ácido láctico

En las disoluciones de ácido fórmico y acético, sobre todo a pHs bajos, las disoluciones gelifican. Esto podría ser debido a que gracias a la gran cantidad de silicio presente en las cenizas, que ha sido extraído con los ácidos, éste pueda reaccionar más tarde formando un polímero con consistencia de gel. Se trata de solucionar proporcionando agitación durante 4 días en el agitador térmico a 30°C y 100 r.p.m. Sin embargo, esto no surte efecto y se decide introducir las disoluciones en un baño de calor a 50°C durante 2 horas, y agitarlas posteriormente en un agitador de tubos de ensayo. Aunque mejoran considerablemente, no llegan a recuperar el estado líquido.



Fig. 5:24: Disolución de cenizas con HCOOH. Textura gel

5.5 Biolixiviación

5.5.1 *Rhodotorula mucilaginosa*

Para realizar los ensayos de biolixiviación con esta levadura se seleccionan disoluciones previamente preparadas de cenizas de pHs comprendidos entre 1 y 7 de los siguientes ácidos: ácido fórmico, ácido acético, ácido láctico, ácido clorhídrico y ácido nítrico.

A cada una de las disoluciones se les añade un mililitro de la biomasa previamente preparada en los mismos tubos Greiner. Tras una hora en el agitador térmico, a 90 r.p.m. y una temperatura de 25° C, se centrifugan las disoluciones durante 7 minutos a 300 r.p.m. La parte líquida de la disolución se trasvasa a un nuevo tubo Greiner para su posterior análisis con ICP-OES. El pellet constituido por la biomasa se reserva para la desorción. Una pequeña parte del pellet se utiliza para comprobar si las levaduras siguen vivas o no.

El control consiste en las disoluciones de cada pH sin la adición de biomasa.

Los experimentos se llevan a cabo por duplicado.

El proceso de desorción se lleva a cabo con 20 mL de HCl 0,1 M. La mezcla del ácido con la biomasa se agita durante una hora en un agitador térmico a 25°C. Tras este periodo se centrifuga la disolución. El líquido sobrante se guarda para su posterior análisis con ICP-OES, mientras que la biomasa se desecha.

5.5.2 *Candida lipolytica*

Para realizar los ensayos de biolixiviación con esta levadura se sigue el mismo método que con *Rhodotorula mucilaginosa*, utilizando la misma temperatura y revoluciones. También el proceso de desorción se lleva a cabo con HCl 0,1 M.

5.5.3 *Aspergillus niger*

Para realizar los ensayos de biolixiviación con *Aspergillus* se siguen varios procedimientos. Por un lado se realiza el ensayo directo con cenizas. Este consiste en esterilizar previamente con calor 10 g de cenizas; posteriormente, se añade el medio de cultivo a través de un filtro con membrana, al que por último se añade la biomasa preparada. El conjunto de sustancias ocupa un total de 200 mL, por lo que la concentración de cenizas es aquí del 5% w/v en vez de del 10% como en el resto de experimentos. Esto se tendrá en cuenta más adelante a la hora de realizar los cálculos.

Además se realizan varios ensayos utilizando las disoluciones a partir de cenizas previamente preparadas. Como según la literatura el pH óptimo es de 6,5³⁰, se opta por usar las de pH 7 y, para probar, las de pH 4.

Por último se realiza el control, que consiste simplemente en biomasa.

Cada aproximadamente 10 días se toma una muestra para analizar con ICP-OES.

Los experimentos de desorción se realizan en parte con HCl 0,1 M. Sin embargo, este ácido no es lo suficientemente fuerte para producir la desorción. Los siguientes experimentos de desorción se llevan a cabo con HCl concentrado al 37%.

5.6 Ensayos de biomasa viable (Leben/Tod)

Para comprobar si la biomasa utilizada sigue viva a no se realiza un ensayo de vitalidad utilizando para ello Eosina G como agente colorante.

Se siguen los siguientes pasos:

- Se disuelve el pellet de biomasa en 0,5 mL de agua corriente, y a continuación se centrifuga la disolución durante 2 minutos a 2000 r.p.m.
- El pellet se redisuelve en 480 µL de agua corriente. Se toman 10 µL de prueba a los que se le añade otros 10 µL de Eosina G (0,5%).
- Tras dejar actuar durante 5 minutos, se diluye a 500 µL y se observa al microscopio.

5.7 Toma de medidas

La toma de medidas de los ensayos realizados se lleva a cabo tal y como se ha comentado anteriormente, con métodos de espectroscopía de plasma acoplado por inducción, con emisión óptica (ICP-OES) y de cromatografía iónica (IC).

5.7.1 ICP-OES

Para calibrar el instrumento se dispone de disoluciones patrón multielemento en diferentes concentraciones. Para calibrar los elementos que no se encuentran en estas disoluciones, como el As, existen otras específicas para cada elemento.

³⁰ Biosorption behavior of heavy metals in bioleaching process of MSWI fly ash by *Aspergillus niger*

Parte experimental

Tabla 5-3: Reactivos empleados para disoluciones patrón

<i>Multistandard CertiPUR IV</i>	<i>para Al, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr y Zn</i>	<i>1,000 mg/L 100 mg/L</i>	<i>Merck</i>
<i>As Einzelstandard</i>	<i>As</i>	<i>1,000 mg/L 100 mg/L</i>	<i>Merck</i>

A la hora de preparar las disoluciones estándar se han preparado disoluciones de 0, 100 y 1000 ppb. siguiendo el siguiente procedimiento:

Se parte de que: $C * V = C' * V'$, siendo C concentración deseada y C' la concentración inicial, y V el volumen a preparar y V' el volumen de partida de la solución concentrada.

- De esta forma se opera para preparar 1 litro de una solución de 1000ppb a partir de una concentración de 1000ppm.

$$1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} * 1\text{L} = 1000 \frac{\text{mg}}{\text{L}} * V$$

$$V = 1\text{mL}$$

- Con una pipeta de 1 mL se coge disolución concentrada en 1000ppm y se pipetea a un matraz aforado de 1 litro de capacidad.
- A continuación se enrasa al volumen requerido con agua destilada.

Para preparar la disolución de 100 ppb se opera de forma similar, partiendo también de 1 mL.:

$$100 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} * 1\text{L} = 100 \frac{\text{mg}}{\text{L}} * V$$

$$V = 1\text{mL}$$

Para la disolución de 0 ppb se toma una disolución de HNO₃ 1M.

El aparato se programa para que mida las intensidades de línea de un elemento a otro (secuencial). Con frecuencia los elementos tienen varias líneas donde emiten, por lo que hay que probar en cuál de todas emiten mejor y seleccionarlas.

Se dispone de un lector de muestras automático para que se pueda realizar el análisis de varias muestras de forma automática. Entre lecturas de la muestra se utiliza una purga de HNO₃ 1 Molar.



Fig. 5:25 ICP FH OÖ, Campus Wels. Wels, Austria

5.7.2 IC

En los análisis con IC, el modelo utilizado es: Dionex ICS 1000. Para los análisis se ha usado una resina de intercambio iónico catiónica IonPac®. Las disoluciones a analizar se transfieren a viales de 5 mL de capacidad que se depositan en un autosampler para su posterior análisis. El análisis de cada muestra dura aproximadamente 15 minutos.

En este proyecto se ha usado IC para comprobar la exactitud de las medidas tomadas en ICP.

Tabla 5-4: Fase móvil utilizada con IC

<i>Iones</i>	<i>Eluente</i>
<i>Cationes</i>	<i>20mM methane sulfonic acid (2,6ml 100% methane sulfonic acid in 2 L)</i>

Para calibrar el instrumento se han preparado disoluciones patrón multielemento distintas concentraciones: 10 mg/L, 27,27mg/L, 50 mg/L, 70 mg/L y 100 mg/L. Las disoluciones patrón multielemento analizan litio, sodio, amonio, potasio, magnesio, manganeso, calcio y bario. No obstante sólo se han observado los valores del potasio y del magnesio.



Fig. 5:26: IC. FH OÖ, Campus Wels. Wels, Austria

5.8 Ensayos de pelletización y resultados

La formación de pellets se lleva a cabo en un plato de pelletizar. En la industria se trata de un proceso continuo, aunque en este proyecto sólo se ha realizado por lotes. El equipo consiste en un plato unido a un eje que gira. Las variables de control tenidas en cuenta son la velocidad de giro y la humedad.



Fig. 5:27: Pelletizadora ERWEKA AR 403, FH OÖ, Campus Wels, Wels, Austria

5.8.1 Optimización de condiciones

Los primeros intentos de pelletar se realizan teniendo el plato seco. Como al principio las cenizas no tienen humedad, no pueden formar pellets, y cuando se añade agua, que se pulveriza hacia el plato, se forman conglomerados muy grandes. Esto no interesa, ya que para la distribución es más conveniente que sean bolas de pequeño tamaño. Estos pellets están además muy secos en su interior, por lo que se desmoronan muy fácilmente. El tanto por ciento en base seca, medido con infrarrojos, es de 80,04%. Tras destrozarse los pellets grandes con la ayuda de un mortero, el % en base seca aumenta al 80,93%.



Fig. 5:28: Pellets obtenidos en el primer intento

En la siguiente prueba el plato sigue estando seco, pero el agua se pulveriza a las cenizas mientras estas van cayendo al plato para que tengan humedad desde el principio. Sin embargo, es difícil conseguir una distribución uniforme de las cenizas al mismo tiempo que se pulveriza agua. No obstante, el resultado es notablemente mejor. Aquí los pellets contienen un 79,65% en base seca.



Fig. 5:29: Pellet sobtenidos en el segundo intento

Parte experimental

A continuación se prueba por comenzar mojando el plato. Además se añade al equipo un distribuidor automático, que consiste en un embudo seguido de una rampa. Esta última vibra y, al vibrar, el material se va desplazando y cayendo homogéneamente. El agua se pulveriza hacia las cenizas mientras estas caen al plato. La velocidad de giro se fija en 120 r.p.m. El contenido de los pellets es de 70,07% en base seca.



Fig. 5:30: Pellets obtenidos en el tercer intento

El siguiente experimento se realiza en las mismas condiciones que el anterior, solo que la velocidad aumenta a 180 r.p.m. El tanto por ciento en base seca asciende a 75,21%. El resultado es sensiblemente mejor, con pellets homogéneos, de pequeño tamaño y compactos, difíciles de romper.



Fig. 5:31: Pellets obtenidos en el cuarto intento

Parte experimental

A continuación se mantiene la velocidad pero se le añade más agua hasta acabar con un 65,68% en base seca. El resultado es peor ya que los pellets vuelven a aumentar su tamaño.



Fig. 5:32: Pellets obtenidos en el quinto intento

En un siguiente experimento se aumenta la velocidad a 220 r.p.m. tratando de mantener el % en base seca en torno a 75. Al final, con una base seca del 70,97%, el resultado es peor.

Por lo tanto se elige como medida adecuada una velocidad de giro de en torno a 180 r.p.m. y un % en base seca del 75%.

No obstante, más experimentos son requeridos, porque además de tener buena apariencia y consistencia, se tienen que adaptar a las normas establecidas, aspecto que aquí no se ha tenido en cuenta y que se desarrollará posteriormente.

5.8.2 Reactividad de las cenizas

Para saber qué cantidad de agua reacciona con las cenizas, es decir, con los metales presentes formando óxidos de metales, como CaO o K_2O y así poder calcular la cantidad exacta de agua necesaria para obtener una humedad determinada se realiza el siguiente experimento.

Se pesan 100 g de cenizas, y se secan a 105°C durante 6 horas con el fin de que pierdan toda la humedad que pudiesen contener.

Antes de secar las cenizas, éstas pesan 100,42 g; después de secarlas pesan 99,97 g. El % en base seca es del 99,55%.

A continuación se añaden aproximadamente 100 mL de H_2O , se homogeneiza la disolución y se mantiene durante 40 horas a 105°C para que toda la humedad desaparezca. Tras este paso las cenizas pesan 103,07 g.

Parte experimental

El porcentaje de peso ganado partiendo del peso de base seca es del 1,031%; tomando como referencia el peso inicial es del 1,026%.

Se tienen que seguir realizando pruebas para perfeccionar este proceso.

6 Resultados

6.1 Rectas de calibrado de ICP-OES

Al tener un gran número de disoluciones, las rectas de calibrado de ICP-OES se han realizado en varias ocasiones. Las aquí adjuntas representan a las empleadas durante un día de prueba. Además, se verificaba que el aparato mantuviese la precisión intercalando disoluciones patrón cada intervalo de 10 a 15 medidas. En los datos adjuntos se representa, por una parte las líneas de calibrado con su ecuación correspondiente. En esta ecuación, I representa la intensidad medida por el aparato y K la concentración expresada en $\mu\text{g/L}$. En la parte inferior de los datos de cada elemento aparece indicado para cada estándar, la media de la intensidad medida, la concentración teórica (expresada en $\mu\text{g/L}$), la concentración calcula a partir de las líneas de calibrado por el aparato, la desviación estándar y la validez de la medida.

Los datos se han medido una vez que todos los estándar han dado medidas aceptables.

Datum: 29/06/2011 13:48

Seite: 1

Analytische Methode

Analytische Methode: Biomasse-Analyse MK

Matrix:

Anregungsart: ICP

Autor: 3

Erstellt: 17/12/2010 16:47

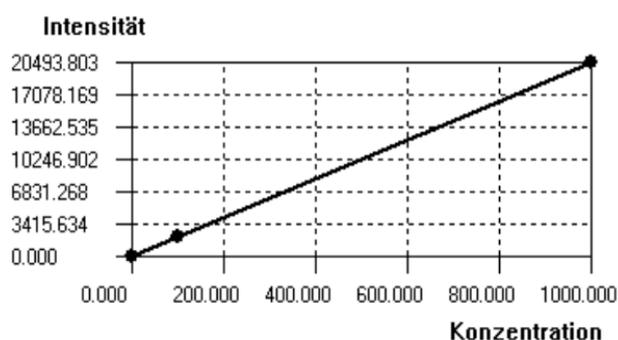
Letzte Änderung: 28/06/2011 13:48

Linie: **As, 193.695 nm**

Kalibrationskurve: $I = 5.732 + 20.48 * K$

Parameter der Kurve

Sigma: 2.19001
BEC: 280 ng/l
NWG: ***
Faktor: 0.999996
Gewichtungsein



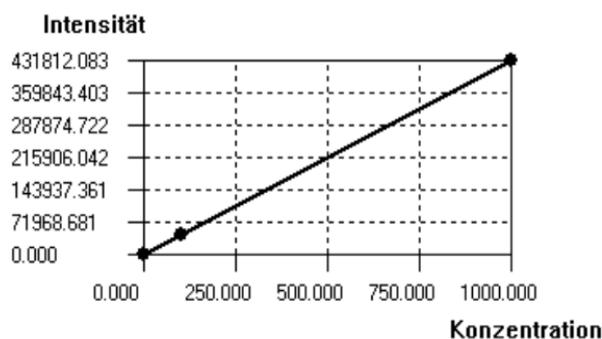
Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	35.66	0	1.46 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	2020.95	100.00	98.38 µg/l	1.62	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	20493.80	1000.00	1000.16 µg/l	0.016	Ja

Linie: **Cd, 228.802 nm**

Kalibrationskurve: $I = 432.1 * K$

Parameter der Kurve

Sigma: 4.2207
BEC: 0 ng/l
NWG: ***
Faktor: 0.999987
Gewichtungsein



Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
-----	----------	------------	-------------	-------------	---------	--------

Resultados

Datum: 29/06/2011 13:48

Seite: 2

Analytische Methode

1.	Std01 (0 µg/l)	255.33	0	0.591 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	45760.33	100.00	105.91 µg/l	5.91	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	431812.08	1000.00	999.41 µg/l	0.059	Ja

Linie: **Co. 238.892 nm****Kalibrationskurve:** $I = 53.66 * K$ Parameter der Kurve

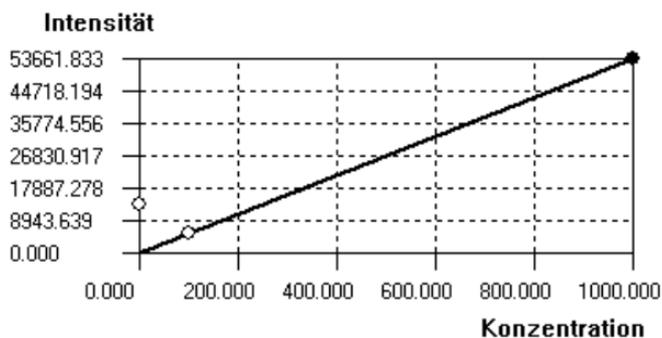
Sigma: 0

BEC: 0 ng/l

NWG: ***

Faktor: 1

Gewichtungsein



Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	13598.50	0	253.41 µg/l		Nein
2.	Std04 (100 µg/l)	5663.08	100.00	105.53 µg/l	5.53	Nein
3.	Std06 (1.000 µg/l)	53661.83	1000.00	1000.00 µg/l	0	Ja

Linie: **Cr. 283.563 nm****Kalibrationskurve:** $K(Cr) = 0.007423 * I$ Parameter der Kurve

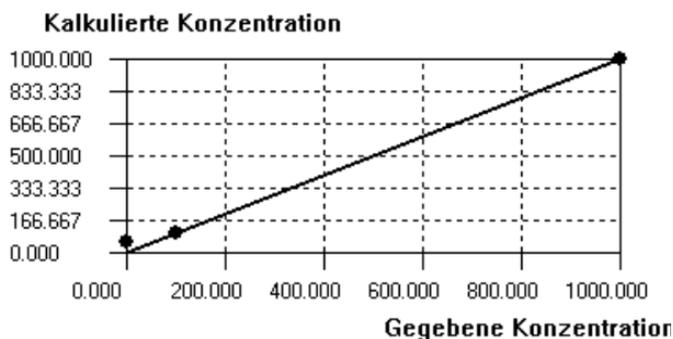
Sigma: 35.5537

BEC: 0 ng/l

NWG: ***

Faktor: 0.998735

Gewichtungsein



Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	7658.67	0	56.85 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	13482.58	100.00	100.08 µg/l	0.083	Ja

Resultados

Datum: 29/06/2011 13:48

Seite: 3

Analytische Methode

3. Std06 (1.000 µg/l) 134712.50 1000.00 999.99 µg/l 0 Ja

Linie: **Cu, 324.754 nm**

Kalibrationskurve: $K = 0.000738 * I$

Parameter der Kurve

Sigma: 18.907

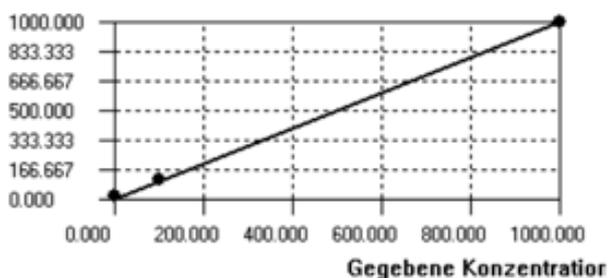
BEC: 0 ng/l

NWG: ***

Faktor: 0.999994

Gewichtungsein

Kalkulierte Konzentration



Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	29251.15	0	21.59 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	156777.83	100.00	115.70 µg/l	15.70	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	1352911.6	1000.00	998.43 µg/l	0.16	Ja

Datum: 29/06/2011 13:48

Seite: 4

Analytische Methode

Linie: **Mg, 279.553 nm**

Kalibrationskurve: $K = 0.0002114 * I$

Parameter der Kurve

Sigma: 22.9278

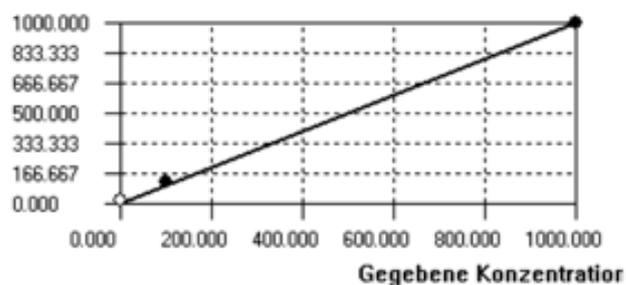
BEC: 0 ng/l

NWG: ***

Faktor: 1

Gewichtungsein

Kalkulierte Konzentration



Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	104410.08	0	22.08 µg/l		Nein
2.	Std04 (100 µg/l)	580835.67	100.00	122.81 µg/l	22.81	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	4718602.5	1000.00	997.72 µg/l	0.23	Ja

Datum: 29/06/2011 13:48

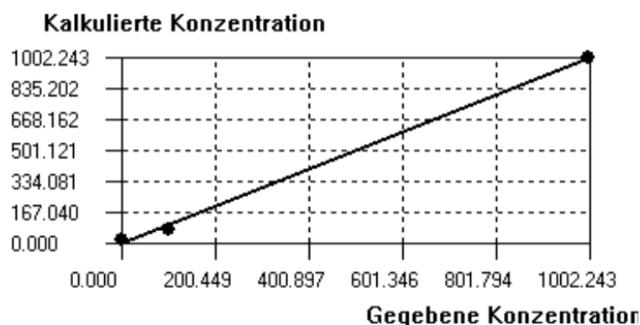
Seite: 5

Analytische Methode

Linie: Ni, 221.647 nm
Kalibrationskurve: $K = -24.9 + 0.005788 * I$

Parameter der Kurve

Sigma: 30.2535
BEC: 24.9 µg/l
NWG: ***
Faktor: 0.999247
Gewichtungsein

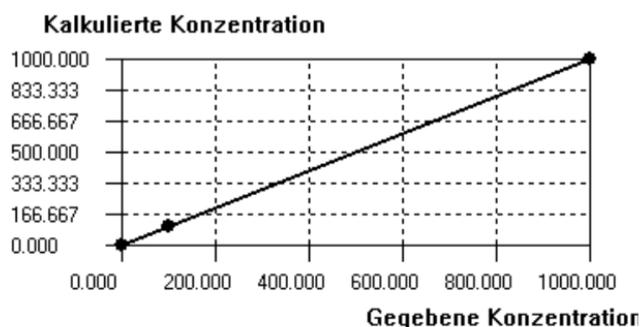


Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	7788.33	0	20.18 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	17703.71	100.00	77.57 µg/l	22.43	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	177455.59	1000.00	1002.24 µg/l	0.22	Ja

Linie: Pb, 220.353 nm
Kalibrationskurve: $K = -66.33 + 0.0291 * I$

Parameter der Kurve

Sigma: 1.31001
BEC: 66.3 µg/l
NWG: ***
Faktor: 0.999999
Gewichtungsein



Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	2249.25	0	0 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	5749.17	100.00	100.97 µg/l	0.97	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	36641.08	1000.00	999.90 µg/l	0.009	Ja

Datum: 29/06/2011 13:48

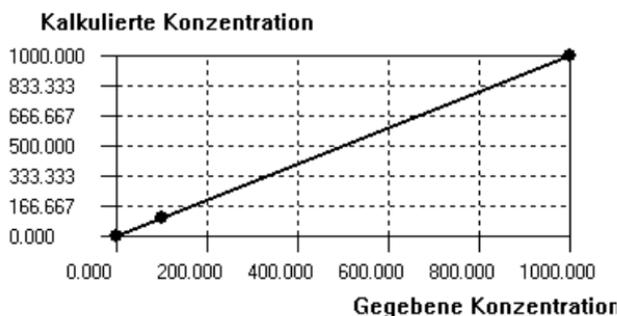
Seite: 6

Analytische Methode

Linie: Zn, 213.856 nm
Kalibrationskurve: $K = -38.19 + 0.001514 * I$

Parameter der Kurve

Sigma: 3.55428
BEC: 38.2 µg/l
NWG: ***
Faktor: 0.99999
Gewichtung: nein

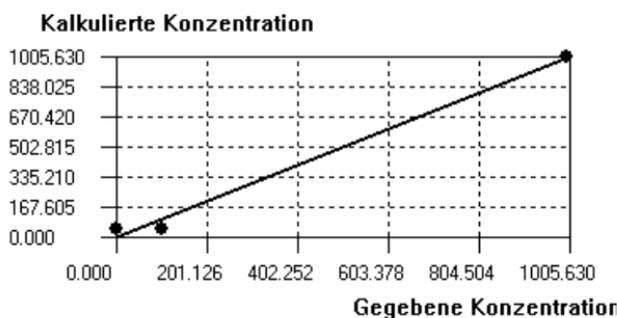


Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	23664.95	0	0 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	93034.69	100.00	102.63 µg/l	2.63	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	685685.37	1000.00	999.74 µg/l	0.026	Ja

Linie: Hg, 194.227 nm
Kalibrationskurve: $K = 35.65 + 0.04427 * I$

Parameter der Kurve

Sigma: 75.9525
BEC: 35.6 µg/l
NWG: ***
Faktor: 0.995279
Gewichtung: nein



Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	339.31	0	50.67 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	181.87	100.00	43.70 µg/l	56.30	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	21911.52	1000.00	1005.63 µg/l	0.56	Ja

Datum: 29/06/2011 13:48

Seite: 7

Analytische Methode**Linie:** Fe, 234.349 nm**Kalibrationskurve:** $K(\text{Fe}) = 0.008565 \cdot I$ **Parameter der Kurve**

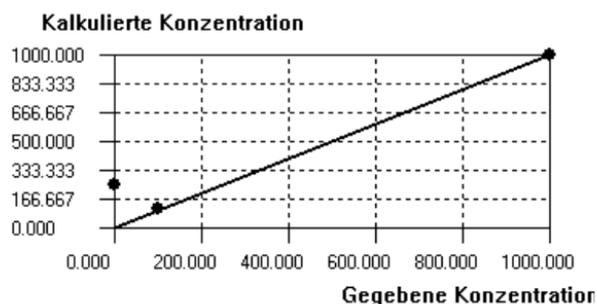
Sigma: 143.126

BEC: 0 ng/l

NWG: ***

Faktor: 0.971381

Gewichtungsein



Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	29196.33	0	250.08 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	12609.33	100.00	108.00 µg/l	8.00	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	116654.58	1000.00	999.20 µg/l	0.08	Ja

Linie: Mn, 257.610 nm**Kalibrationskurve:** $K = 0.0006952 \cdot I$ **Parameter der Kurve**

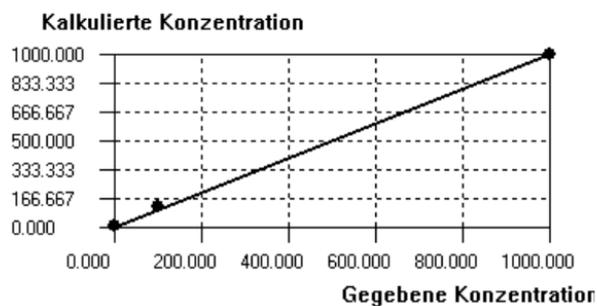
Sigma: 16.0852

BEC: 0 ng/l

NWG: ***

Faktor: 0.999931

Gewichtungsein



Nr.	Standard	Intensität	Chem. Konz.	Kalk. Konz.	RSD (%)	Gültig
1.	Std01 (0 µg/l)	13794.67	0	9.59 µg/l		Ja
2.	Std04 (100 µg/l)	173372.25	100.00	120.53 µg/l	20.53	Ja
3.	Std06 (1.000 µg/l)	1435518.5	1000.00	997.95 µg/l	0.21	Ja

6.2 Rectas de calibrado de IC

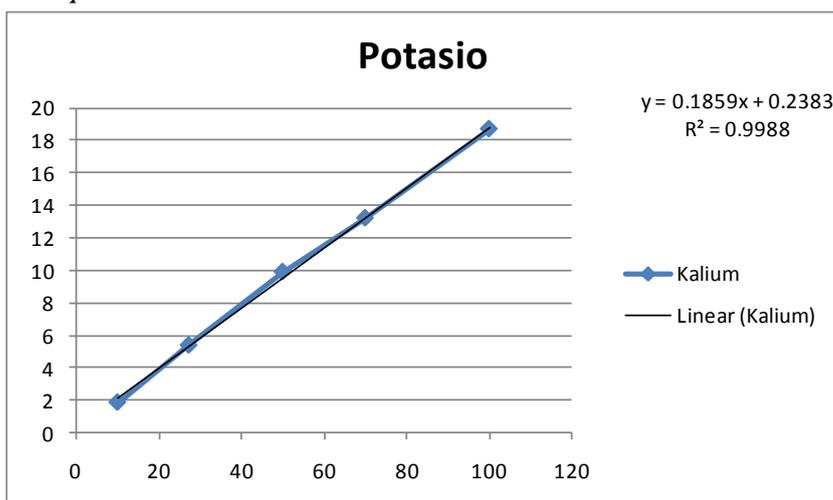
Al realizar mediciones con IC no se calcula directamente la concentración sino que se obtiene el parámetro del área (en $\mu\text{S}\cdot\text{min}$) que es función de la concentración.

Tabla 6-1 Datos de área de las disoluciones patrón según su concentración

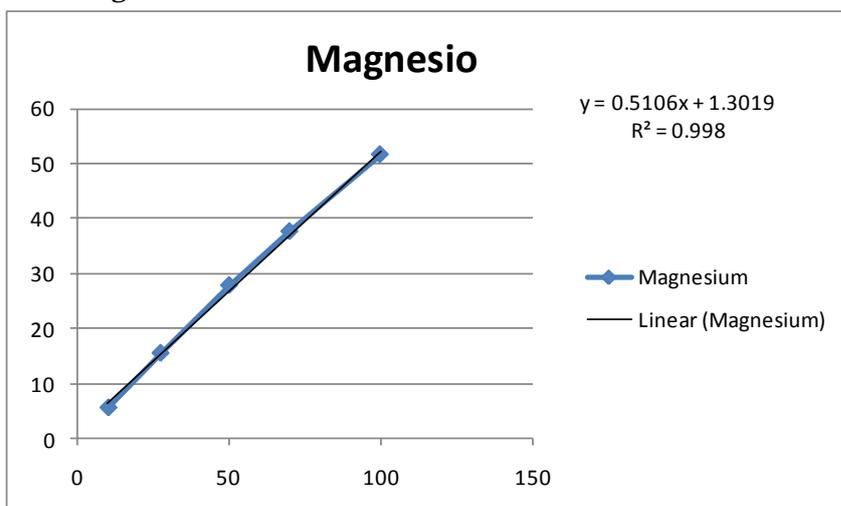
	Potasio	Magnesio
concentración (mg/L)	Área ($\mu\text{S}\cdot\text{min}$)	Área ($\mu\text{S}\cdot\text{min}$)
10	1.8583	5.5366
27.27	5.3764	15.4469
50	9.8932	27.7697
70	13.2017	37.5682
100	18.6881	51.5594

A partir de estos valores se puede realizar la recta de calibrado.

Para potasio:



Para magnesio:



Resultados

Donde y es igual al área de la medida y x es igual a la concentración expresada en miligramos por litro.



Fig. 6:1: IC FH oÖ. Campus Wels. Wels, Austria

Las medidas obtenidas con IC no se emplean ya que resultan todas ellas con una variación menor al 1% respecto de los valores obtenidos con ICP-OES

6.3 Digestión ácida

Se calcula cuál es la concentración final de cada elemento que queda en las cenizas tratadas, ya que ésta concentración es la que tiene que cumplir los parámetros marcados por la legislación.

Para explicar el procedimiento sirva de ejemplo el cálculo de la concentración final de Cadmio. El resto de elementos se calculan siguiendo el mismo proceso.

Se toman los datos de concentraciones totales presentes en la muestra (tabla 3.7).

$\text{Cd} \rightarrow 41,53 \mu\text{g/g}$.

Al tomarse 23 g de muestra para el experimento, la cantidad total de Cadmio utilizada es de: $41,53 \mu\text{g/g} * 23 \text{ g} = 955,19 \mu\text{g}$.

Tras la digestión ácida, la concentración de Cadmio en la muestra disminuye. Su valor es medido con ICP. Para Cd y pH 4, utilizando ácido fórmico el nuevo valor 2,691 mg/L; a pH 5 es de 2,045 mg/L.

Teniéndose en cuenta que la muestra se ha diluido previamente a 0,23 L, el contenido total de Cadmio tras la digestión es de: $2,691 \text{ mg/L} * 0,23 \text{ L} = 0,619 \text{ mg}$ para pH 4 y $2,045 \text{ mg/L} * 0,23 \text{ L} = 0,470 \text{ mg}$.

El contenido final de Cadmio en las cenizas será el inicial menos la parte que se diluye en el ácido.

Para pH 4, el contenido final es de $0,955 \text{ mg} - 0,619 \text{ mg} = 0,336 \text{ mg}$. Para pH 5 es de $0,995 \text{ mg} - 0,470 \text{ mg} = 0,485 \text{ mg}$.

La concentración final de Cadmio en las cenizas será el resultado de calcular el contenido total de metal entre el número de gramos tratados, en este caso 23.

Para pH 4, la concentración final de Cadmio en las cenizas tratadas es: $0,336 \text{ mg} / 23 \text{ g} = 14 \mu\text{g/g}$. Para pH 5 es: $0,485 / 23 = 21,07 \mu\text{g/L}$.

Tabla 6-2: Ejemplo de tabla de valores para los experimentos de digestión ácida

pH	Digestión ácida (mg/L)	Conc. Total (mg/Kg)	Contenido total disolución (μg)	En las cenizas (μg)	Conc. Final en cenizas ($\mu\text{g/g}$)
4	2,69	41,53	955,19	336,21	14,62
5	2,05	41,53	955,19	484,65	21,07

6.4 Cadmio

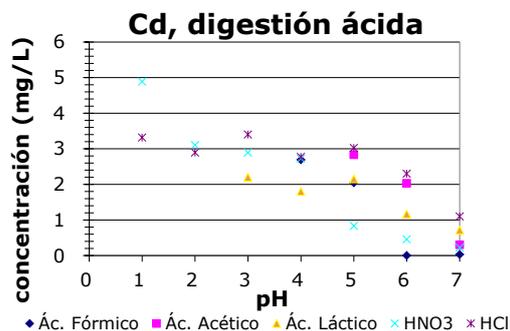


Fig. 6:3: Concentración de Cadmio extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

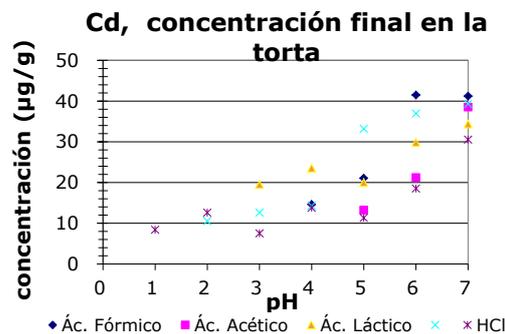


Fig. 6:4: Concentración final en peso de Cadmio en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado.

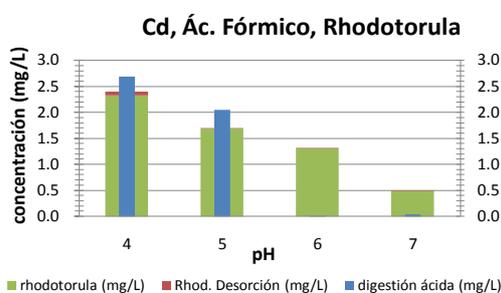


Fig. 6:5: Comparación de la concentración obtenida tras la digestión ácida (eje derecho) con la suma de las obtenidas tras la biolixiviación y posterior desorción (eje izquierdo). Representados las concentraciones obtenidas en el estudio de Cadmio, usando como ácido el fórmico, y como microorganismo *Rhodotorula mucilaginosa*.

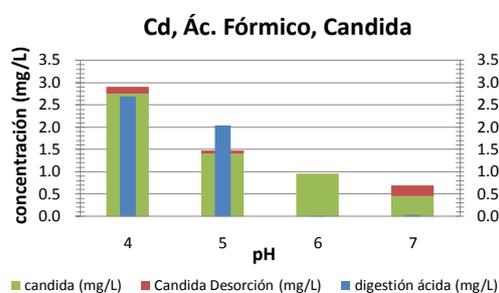


Fig. 6:6: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cadmio siendo tratadas con ácido fórmico y *Candida lipolytica*.

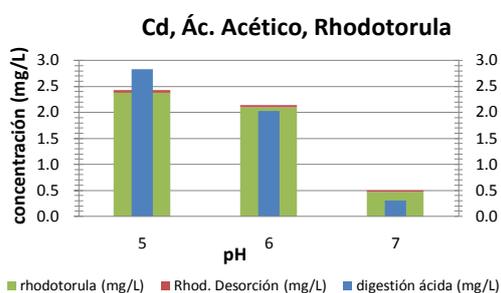


Fig. 6:7: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cadmio siendo tratadas con ácido acético y *Rhodotorula mucilaginosa*.

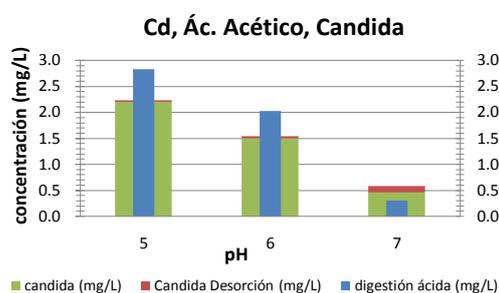


Fig. 6:8: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cadmio siendo tratadas con ácido acético y *Candida lipolytica*.

Resultados

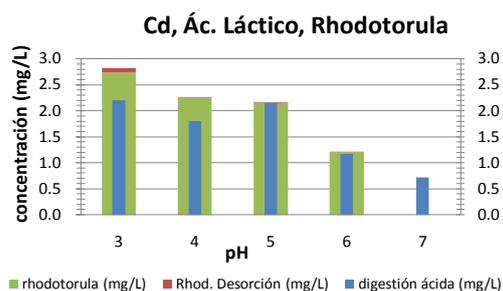


Fig. 6:9 Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cadmio siendo tratadas con ácido láctico y Rhodotorula mucilaginosa.

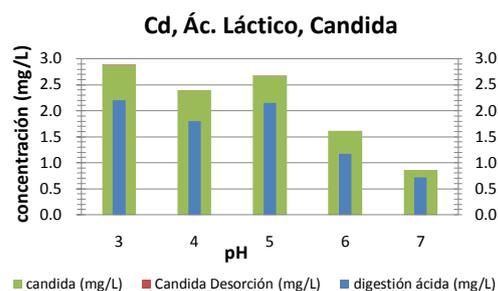


Fig. 6:10: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cadmio siendo tratadas con ácido láctico y Candida lipolytica.

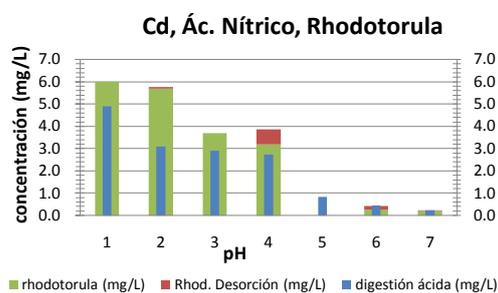


Fig. 6:11: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cadmio siendo tratadas con ácido nítrico y Rhodotorula mucilaginosa.

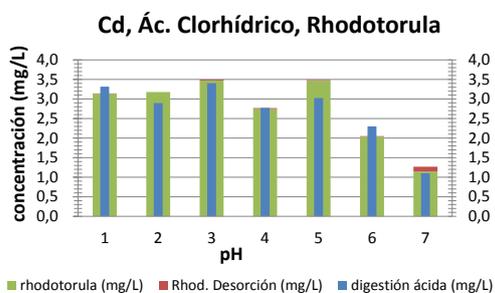


Fig. 6:12: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cadmio siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra.

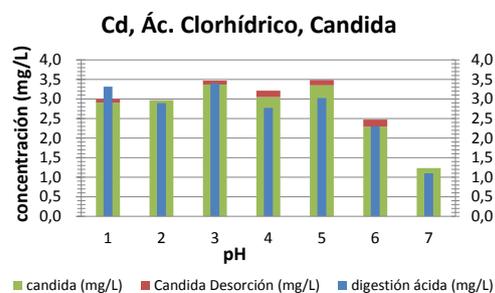


Fig. 6:13: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cadmio siendo tratadas con ácido clorhídrico y Candida lipolytica.

Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cadmio siendo tratadas con ácido fórmico y Candida lipolytica.

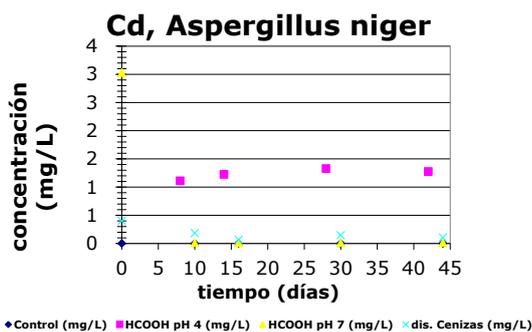


Fig. 6:14: Concentraciones de Cadmio a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

La digestión ácida se produce en mayor medida con ácido nítrico.

Se observa que se produce una reducción en la concentración de Cadmio para pH 5 con ácido fórmico tanto con *Candida lipolytica* como con *Rhodotorula rubra*. Con ácido acético también, además la disolución de *Candida* es mayor y la biolixiviación se produce en mayor proporción. Con los demás ácidos no se aprecia ninguna disminución en la concentración.

Con *Aspergillus*, la parte de Cadmio que está disuelta disminuye, sobre todo para pH 7, pero también para la disolución de cenizas. No obstante, la fracción disuelta es menor.

6.5 Cromo

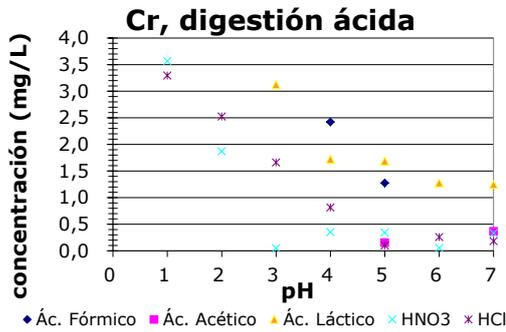


Fig. 6:15: Concentración de Cromo extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

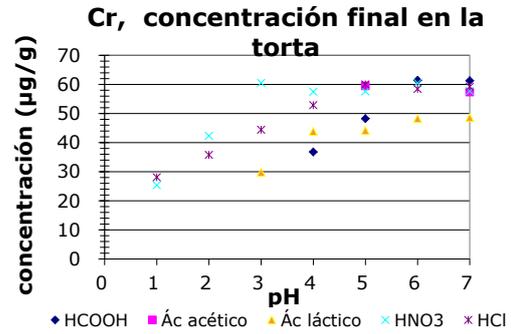


Fig. 6:16: Concentración final en peso de Cromo en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado

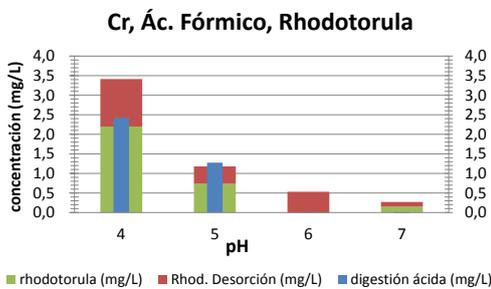


Fig. 6:17: Comparación de la concentración obtenida tras la digestión ácida (eje derecho) con la suma de las obtenidas tras la biolixiviación y posterior desorción (eje izquierdo). Representados las concentraciones obtenidas en el estudio de Cromo, usando como ácido el fórmico, y como microorganismo Rhodotorula mucilaginosa.

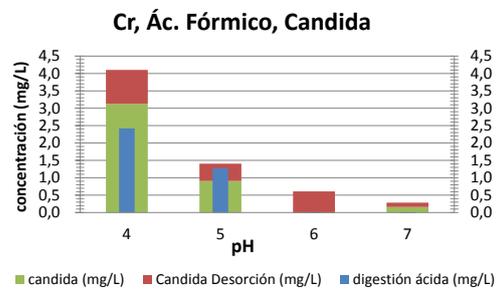


Fig. 6:18: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cromo siendo tratadas con ácido fórmico y Candida lipolytica.

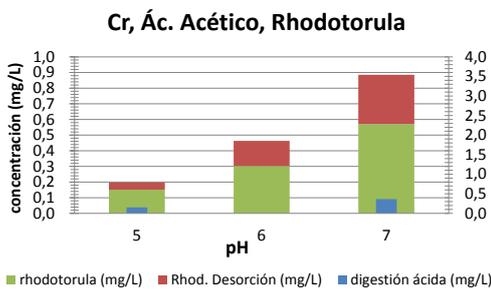


Fig. 6:19: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cromo siendo tratadas con ácido acético y Rhodotorula rubra

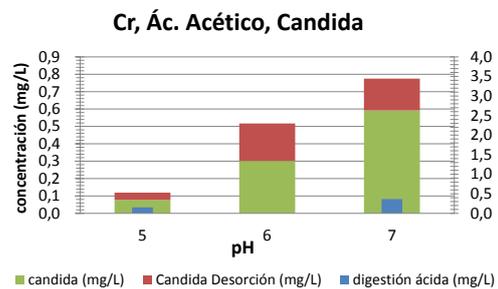


Fig. 6:20: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cromo siendo tratadas con ácido acético y Candida lipolytica

Resultados

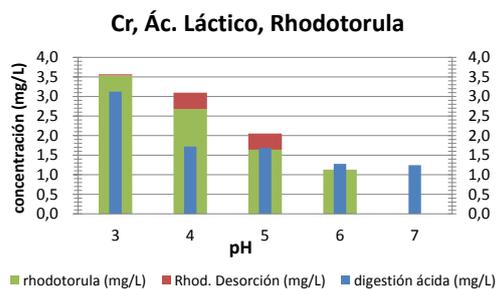


Fig. 6:21: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cromo siendo tratadas con ácido láctico y Rhodotorula rubra

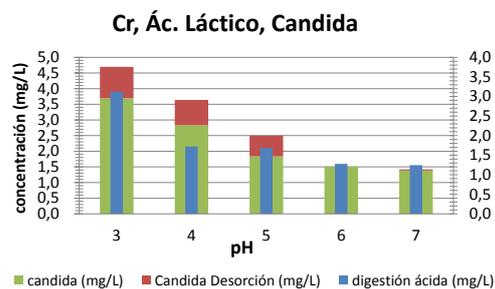


Fig. 6:22: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cromo siendo tratadas con ácido láctico y Candida lipolytica.

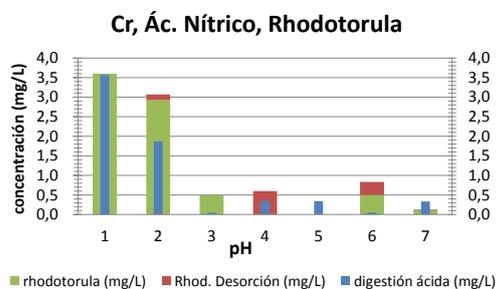


Fig. 6:23: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cromo siendo tratadas con ácido nítrico y Rhodotorula rubra

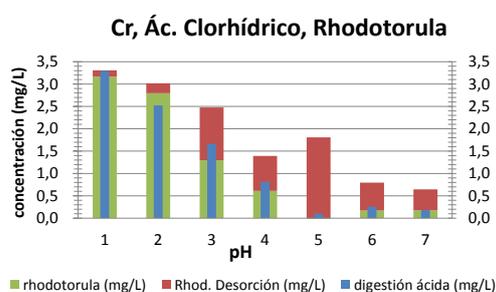


Fig. 6:24: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cromo siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

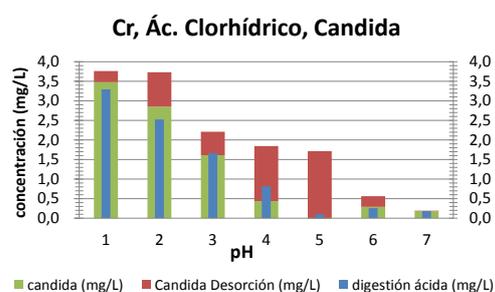


Fig. 6:25: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cromo siendo tratadas con ácido clorhídrico y Candida lipolytica.

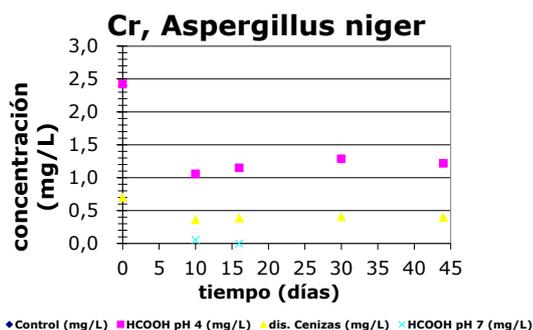


Fig. 6:26: Concentraciones de Cromo a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos, solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

La disolución de metales se produce en mayor medida a pHs bajos, por lo que el ácido clorhídrico y el nítrico son los que mayores valores presentan. Sin embargo, a pHs más altos, los porcentajes son parecidos para todos los ácidos.

La concentración de Cromo disminuye con ácido fórmico para pH 5 para las dos levaduras, al igual que con láctico. Sin embargo, con láctico se observan mayores concentraciones de disolución, aunque menores de adsorción. Para el ácido clorhídrico se observa adsorción a pH 4 y unas concentraciones de disolución y de adsorción parecidas a las del ácido láctico. Para el ácido acético, la concentración aumenta conforme lo hace el pH.

El comportamiento del *Aspergillus niger* con el Cromo es parecido a con el Cadmio. Solo que en la disolución de cenizas no se solubiliza prácticamente nada de Cromo.

6.6 Níquel

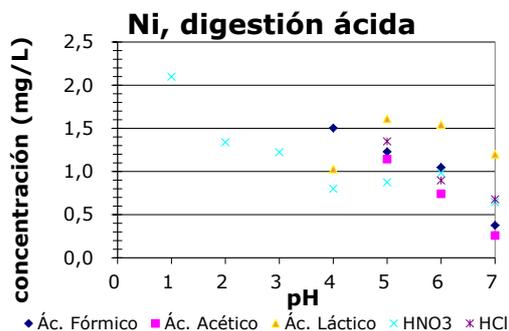


Fig. 6:27: Concentración de Níquel extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

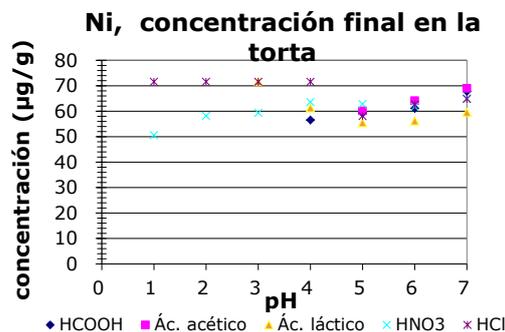


Fig. 6:28: Concentración final en peso de Níquel en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado

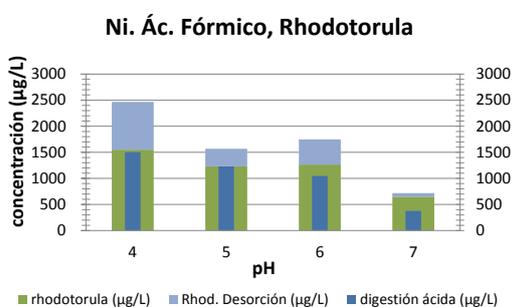


Fig. 6:29: Comparación de la concentración obtenida tras la digestión ácida (eje derecho) con la suma de las obtenidas tras la biolixiviación y posterior desorción (eje izquierdo). Representados las concentraciones obtenidas en el estudio de Níquel, usando como ácido el fórmico, y como microorganismo Rhodotorula mucilaginosa.

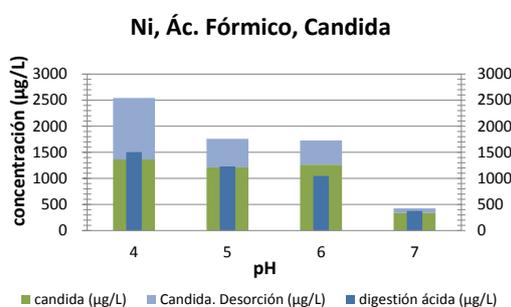


Fig. 6:30: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Níquel siendo tratadas con ácido fórmico y Candida lipolytica.

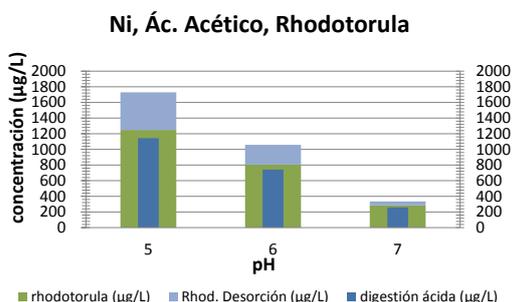


Fig. 6:31: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Níquel siendo tratadas con ácido acético y Rhodotorula rubra

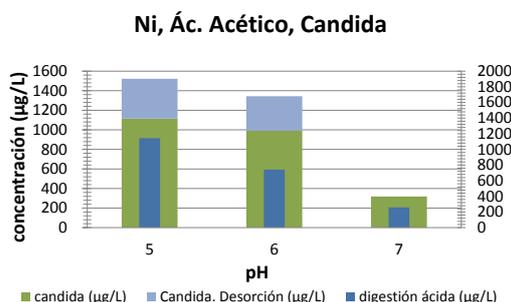


Fig. 6:32: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Níquel siendo tratadas con ácido acético y Candida lipolytica.

Resultados

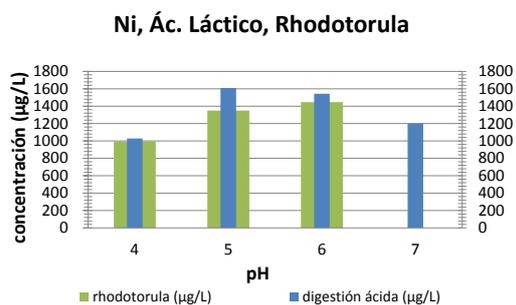


Fig. 6:33: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Níquel siendo tratadas con ácido láctico y Rhodotorula rubra

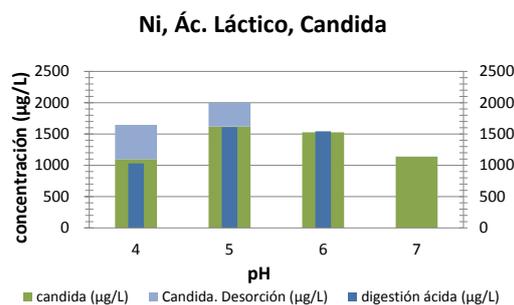


Fig. 6:34: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Níquel siendo tratadas con ácido láctico y Candida lipolytica.

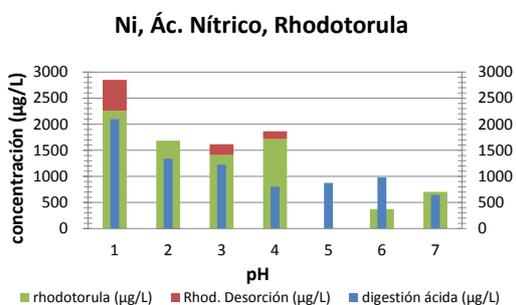


Fig. 6:35: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Níquel siendo tratadas con ácido nítrico y Rhodotorula rubra

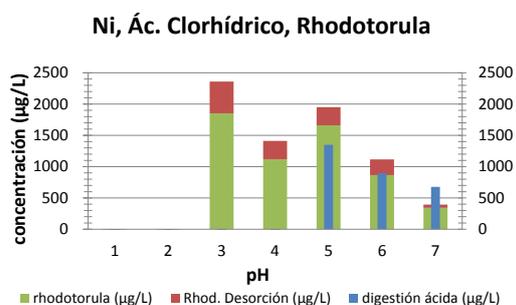


Fig. 6:36: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Níquel siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

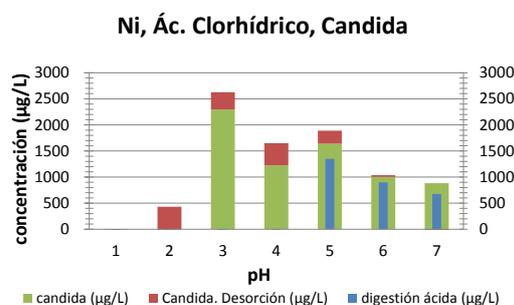


Fig. 6:37: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Níquel siendo tratadas con ácido clorhídrico y Candida lipolytica.

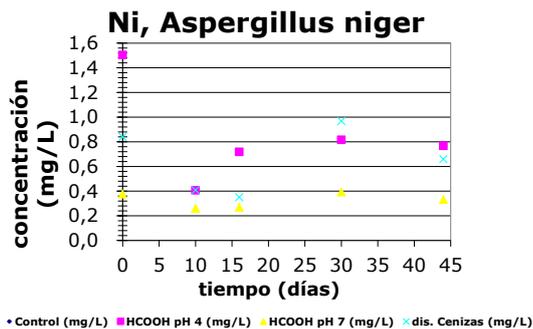


Fig. 6:38: Concentraciones de Níquel a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

- Los valores más altos de digestión ácida se producen con ácido nítrico a pHs bajos; sin embargo, a pHs a partir de 4 el resto de ácidos presentan unos niveles iguales o superiores de concentración.
- Con ácido fórmico y las dos levaduras se produce una disminución en la concentración para pH 5, pero es muy pequeña.
- Con ácido láctico, para pHs 5 y 6, con *Rhodotorula* es como mejor funciona la biolixiviación.
- Para el ácido clorhídrico, a pHs 1 y 2, los valores de la concentración de la digestión ácida son negativos.
- Con *Aspergillus niger*, la mayor solubilización se produce en la disolución de pH 4. A esta, al igual que las demás, tras una disminución notable de la concentración, vuelve a aumentar pasados los 15 días de experimento.

6.7 Manganeso

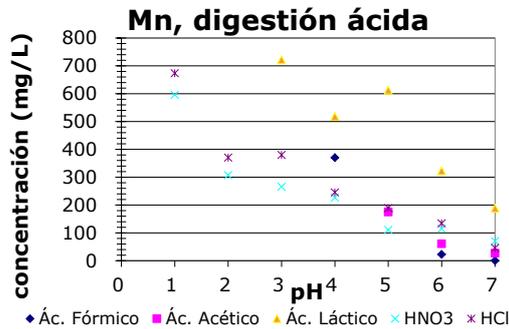


Fig. 6:39: Concentración de Manganeso extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

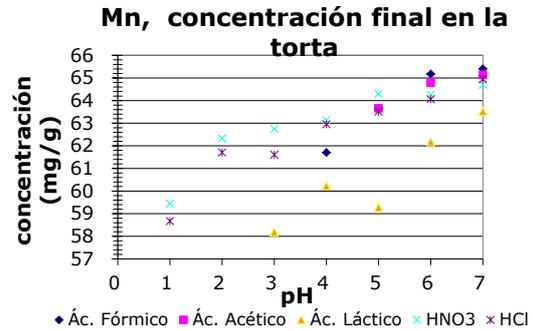


Fig. 6:40: Concentración final en peso de Manganeso en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado

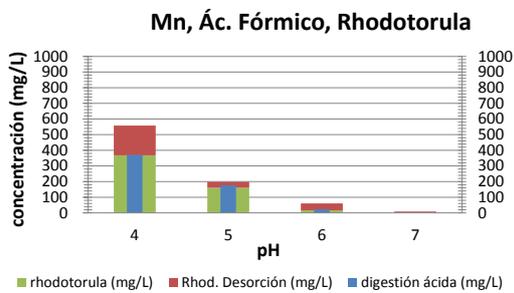


Fig. 6:41: Comparación de la concentración obtenida tras la digestión ácida (eje derecho) con la suma de las obtenidas tras la biolixiviación y posterior desorción (eje izquierdo). Representados las concentraciones obtenidas en el estudio de Manganeso, usando como ácido el fórmico, y como microorganismo *Rhodotorula mucilaginosa*.

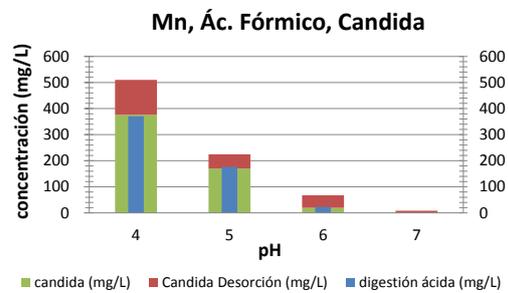


Fig. 6:42: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Manganeso siendo tratadas con ácido fórmico y *Candida lipolytica*.

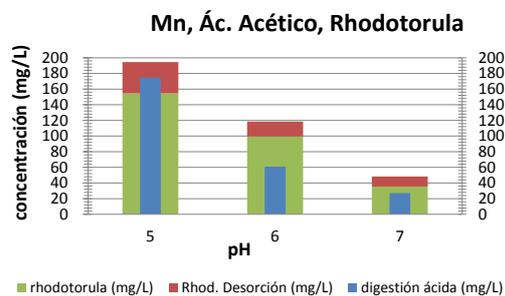


Fig. 6:43: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Manganeso siendo tratadas con ácido acético y *Rhodotorula rubra*

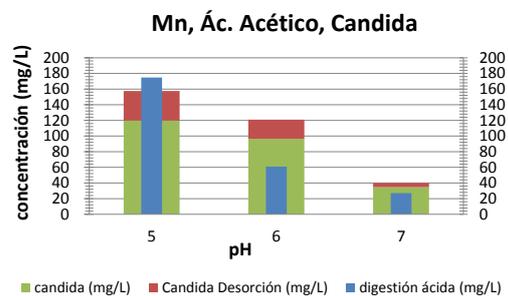


Fig. 6:44: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Manganeso siendo tratadas con ácido acético y *Candida lipolytica*.

Resultados

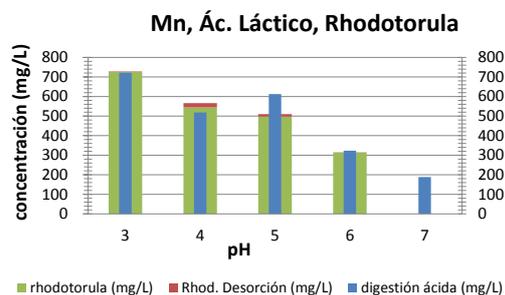


Fig. 6:45: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Manganeso siendo tratadas con ácido láctico y Rhodotorula rubra

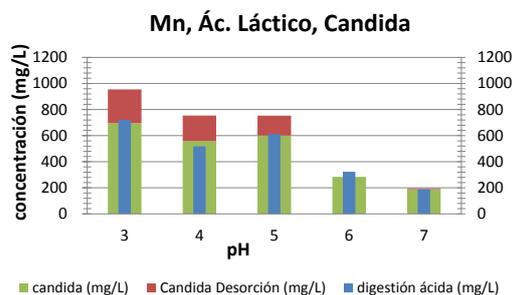


Fig. 6:46: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Manganeso siendo tratadas con ácido láctico y Candida lipolytica.

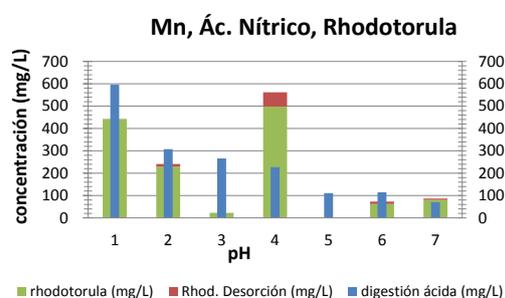


Fig. 6:47: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Manganeso siendo tratadas con ácido nítrico y Rhodotorula rubra

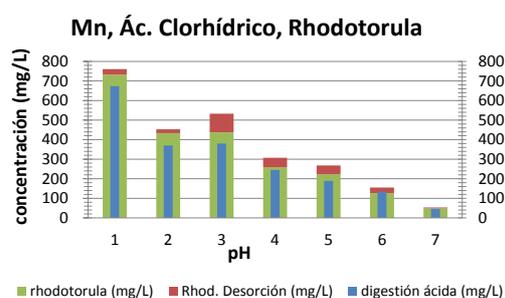


Fig. 6:48: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Manganeso siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

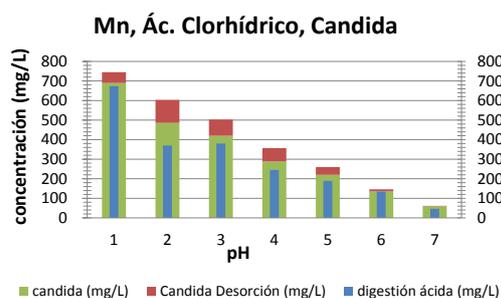


Fig. 6:49: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Manganeso siendo tratadas con ácido clorhídrico y Candida lipolytica.

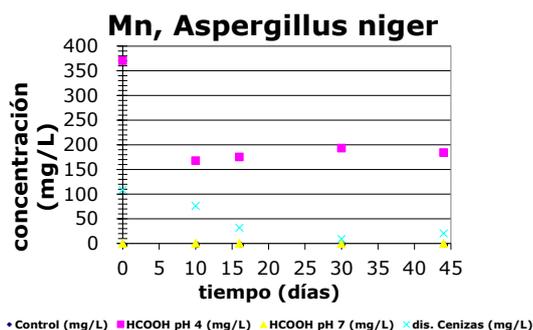


Fig. 6:50: Concentraciones de Manganeso a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

- Los valores más altos de digestión ácida se producen para HCl, y son muy parecidos a los de HNO₃. Sin embargo, a pHs más altos, a partir de 3, el ácido láctico presenta mayores concentraciones de disolución.
- Con ácido fórmico no se produce adsorción por parte de ninguna de las dos levaduras al igual que con los ácidos clorhídrico y nítrico
- Con ácido acético, se produce para las dos a pH 5, siendo con candida muy mayor.
- Con ácido láctico a pH 5, se produce adsorción con *Rhodotorula*. Además los niveles de disolución son mayores que para el resto.
- Para el *Aspergillus niger*, la que más disuelve los metales es la disolución de pH 4. Con esta y *Aspergillus* se observa una disminución en la concentración durante los primeros días de aproximadamente el 50%. La parte que se solubiliza de Manganeso de la disolución de cenizas, disminuye prácticamente el 100%.

6.8 Cobalto

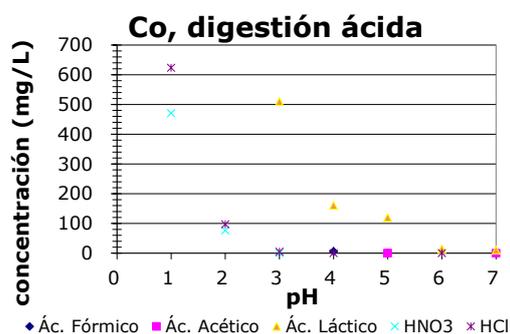


Fig. 6:51: Concentración de Cobalto extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

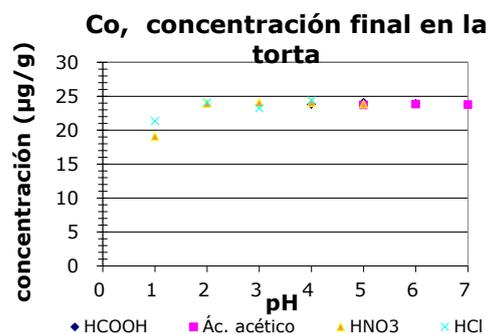


Fig. 6:52: Concentración final en peso de Cobalto en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado

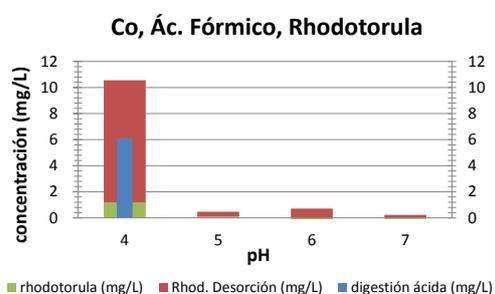


Fig. 6:53: Comparación de la concentración obtenida tras la digestión ácida (eje derecho) con la suma de las obtenidas tras la biolixiviación y posterior desorción (eje izquierdo). Representados las concentraciones obtenidas en el estudio, usando como ácido el fórmico, y como microorganismo Rhodotorula mucilaginosa.

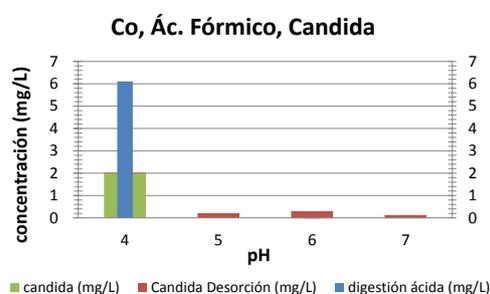


Fig. 6:54: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobalto siendo tratadas con ácido fórmico y Candida lipolytica.

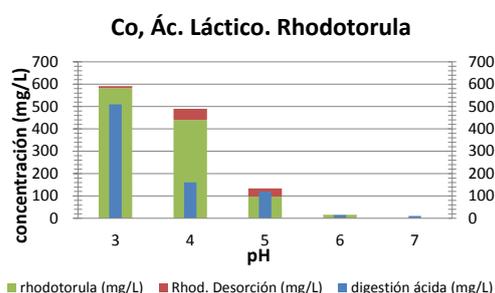


Fig. 6:55: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobalto siendo tratadas con ácido láctico y Rhodotorula rubra

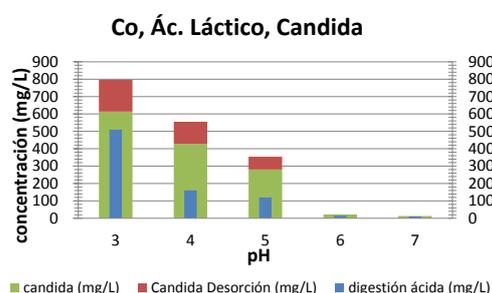


Fig. 6:56: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobalto siendo tratadas con ácido láctico y Candida lipolytica.

Resultados

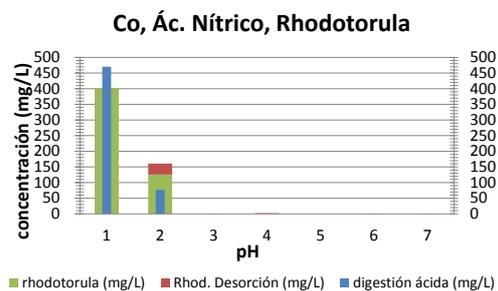


Fig. 6:57: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobalto siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

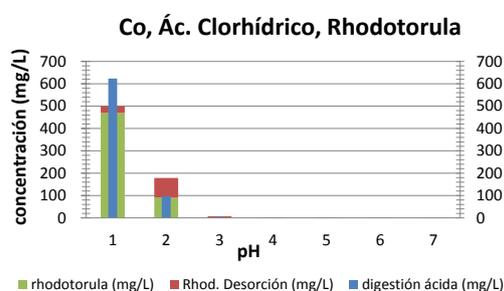


Fig. 6:58: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobalto siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

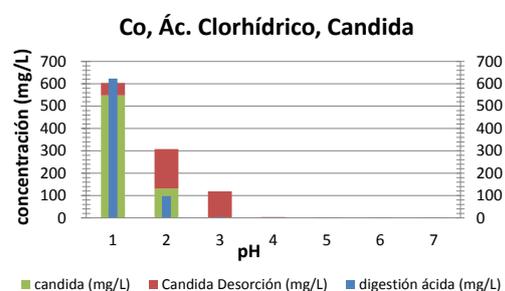


Fig. 6:59: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobalto siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

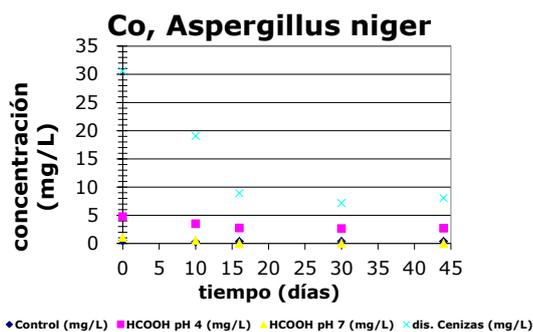


Fig. 6:60: Concentraciones de Cobalto a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

- Los valores más altos de digestión ácida se producen para HCl. Sin embargo, a pHs más altos, a partir de 3, el ácido láctico presenta mayores concentraciones de disolución.
- Con ácido fórmico se produce una reducción considerable en la concentración de Cobalto para pH 4 con las dos levaduras.
- Con el resto de ácidos, las disoluciones no presentan ninguna disminución apreciable.

Llama la atención cómo a pHs muy bajos se disuelve mucha mayor cantidad que a partir de pH 3.

- Para el *Aspergillus niger*, la disolución que más se solubiliza y cuya concentración disminuye con el tiempo en un porcentaje bastante alto, es la disolución que contiene tan solo cenizas.

6.9 Cobre

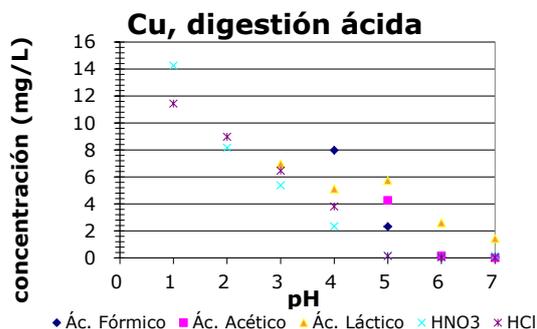


Fig. 6:61: Concentración de Cobre extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

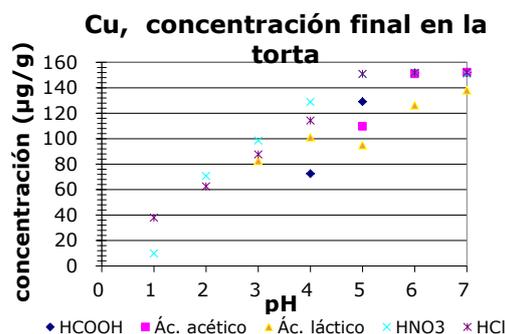


Fig. 6:62: Concentración final en peso de Cobre en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado

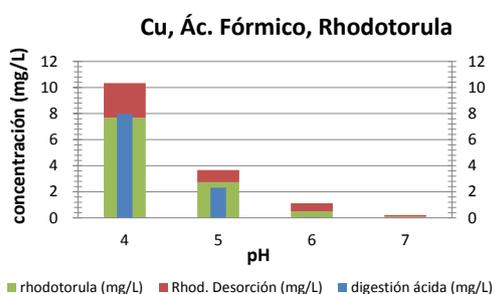


Fig. 6:63: Comparación de la concentración obtenida tras la digestión ácida (eje derecho) con la suma de las obtenidas tras la biolixiviación y posterior desorción (eje izquierdo). Representados las concentraciones obtenidas en el estudio de, usando como ácido el fórmico, y como microorganismo Rhodotorula mucilaginosa.

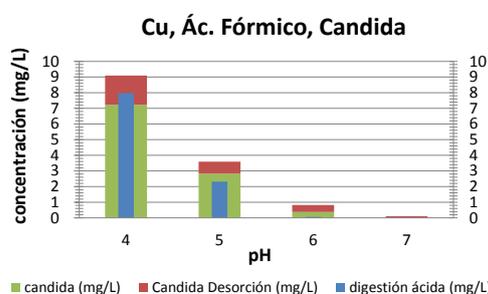


Fig. 6:64: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobre siendo tratadas con ácido fórmico y Candida lipolytica.

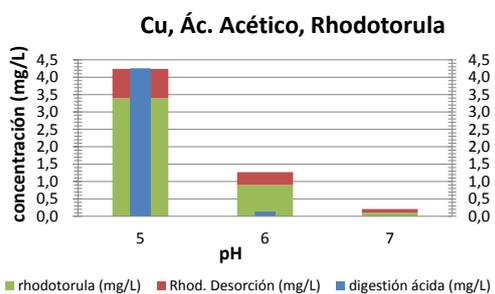


Fig. 6:65: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobre siendo tratadas con ácido acético y Rhodotorula rubra

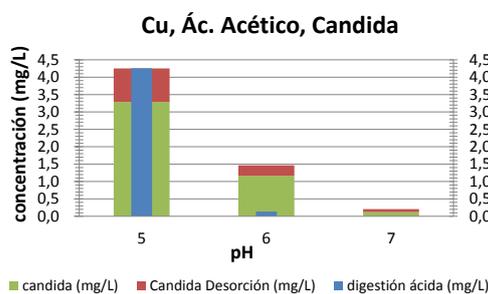


Fig. 6:66: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobre siendo tratadas con ácido acético y Candida lipolytica.

Resultados

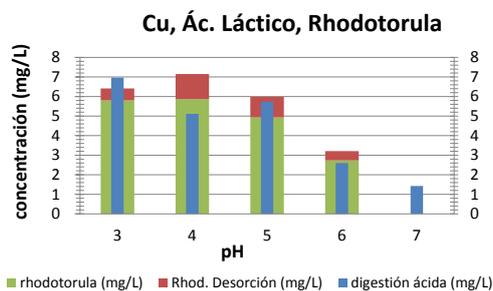


Fig. 6:67: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobre siendo tratadas con ácido láctico y Rhodotorula rubra

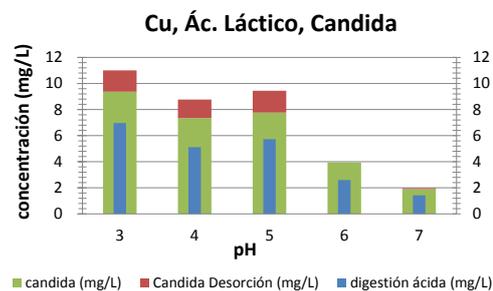


Fig. 6:68: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobre siendo tratadas con ácido láctico y Candida lipolytica.

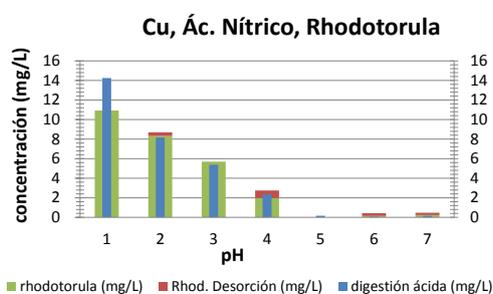


Fig. 6:69: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobre siendo tratadas con ácido nítrico y Rhodotorula rubra

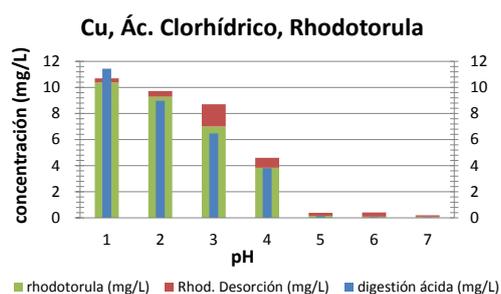


Fig. 6:70: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobre siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

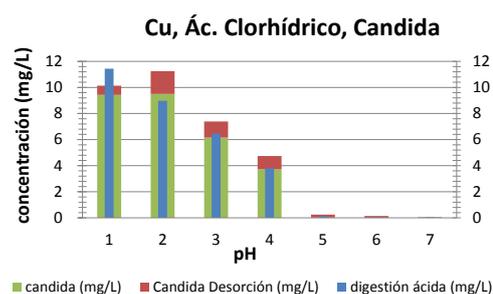


Fig. 6:71: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Cobre siendo tratadas con ácido clorhídrico y Candida lipolytica.

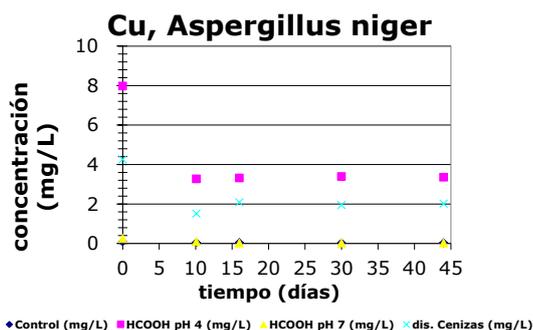


Fig. 6:72: Concentraciones de Cobre a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

- Los valores más altos de digestión ácida se producen para el ácido nítrico seguido del clorhídrico a pHs muy bajos. Sin embargo, para pHs más altos, los niveles se equiparan con el resto de ácidos.
- Con ácido fórmico no se produce adsorción por parte de ninguna de las dos levaduras al igual que con los ácidos clorhídrico y nítrico
- Con ácido acético, se produce para las dos a pH 5, ambas en porcentajes parecidos.
- Con ácido láctico a pH 5, se produce adsorción con *Rhodotorula*. Con este ácido se produce en mayor porcentaje que con acético.
- Para el *Aspergillus niger*, la que más disuelve los metales es la disolución de pH 4. Con esta y *Aspergillus* se observa una disminución en la concentración durante los primeros días de más del 50%. La parte que se solubiliza de Cobre de la disolución de cenizas es mucho menor, y disminuye aproximadamente otro 50%.

6.10 Hierro

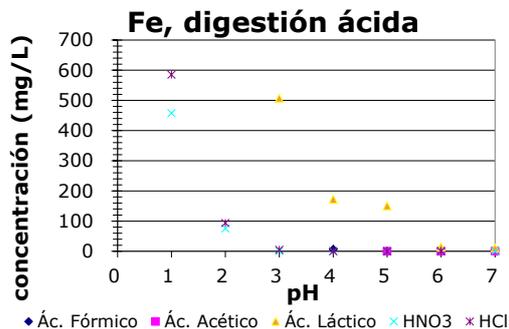


Fig. 6:73: Concentración de Hierro extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

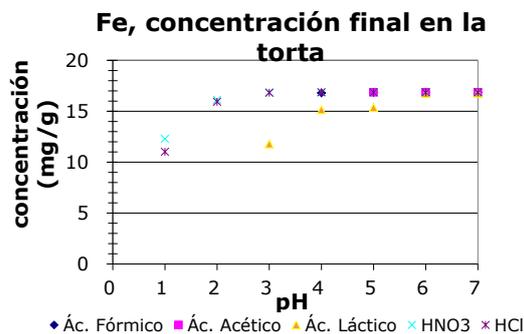


Fig. 6:74: Concentración final en peso de Hierro en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado.

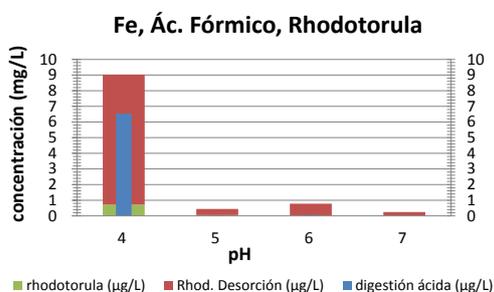


Fig. 6:75: Comparación de la concentración obtenida tras la digestión ácida (eje derecho) con la suma de las obtenidas tras la biolixiviación y posterior desorción (eje izquierdo). Representados las concentraciones obtenidas en el estudio de, usando como ácido el fórmico, y como microorganismo Rhodotorula mucilaginosa.

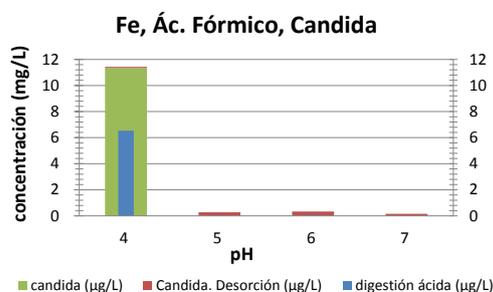


Fig. 6:76: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Hierro siendo tratadas con ácido fórmico y Candida lipolytica.

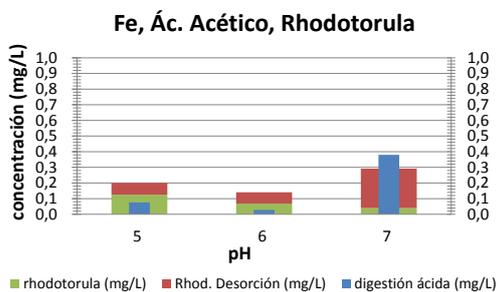


Fig. 6:77: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Hierro siendo tratadas con ácido acético y Rhodotorula rubra.

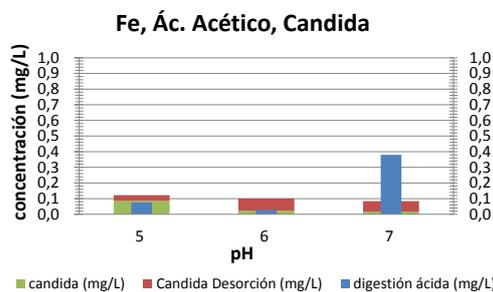


Fig. 6:78: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Hierro siendo tratadas con ácido acético y Candida lipolytica.

Resultados

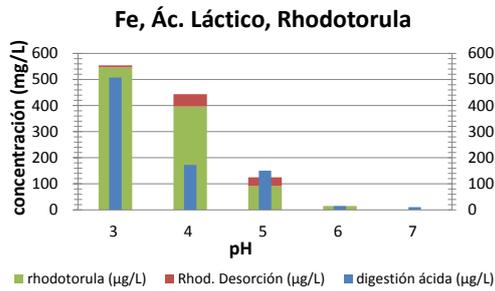


Fig. 6:79: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Hierro siendo tratadas con ácido láctico y Rhodotorula rubra

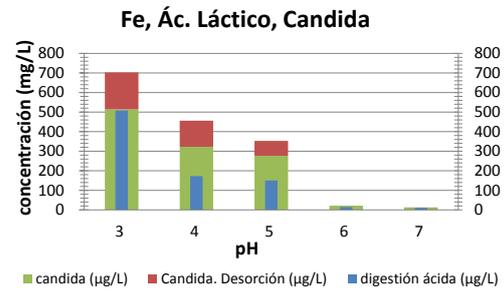


Fig. 6:80: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Hierro siendo tratadas con ácido láctico y Candida lipolytica.

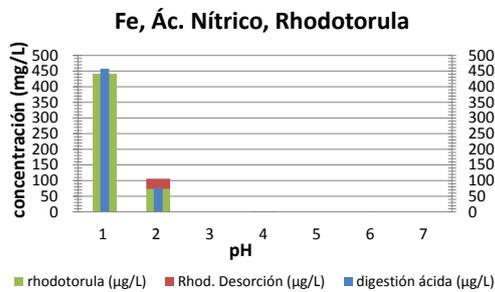


Fig. 6:81: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Hierro siendo tratadas con ácido nítrico y Rhodotorula rubra

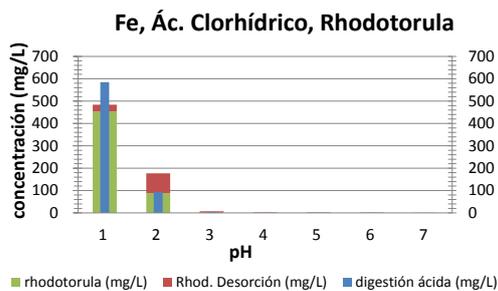


Fig. 6:82: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Hierro siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

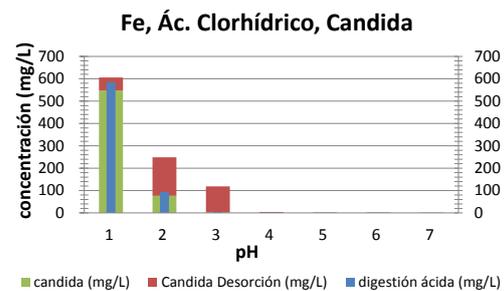


Fig. 6:83: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Hierro siendo tratadas con ácido clorhídrico y Candida lipolytica.

Resultados

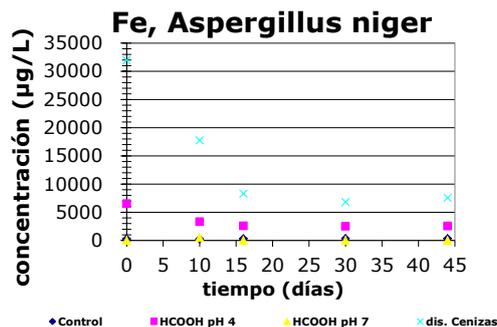


Fig. 6:84: Concentraciones de Hierro a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

- Los valores más altos de digestión ácida se producen para HCl y HNO₃. Sin embargo, a pHs más altos, a partir de 3, el ácido láctico presenta mayores concentraciones de disolución.
- Con ácido fórmico se produce una reducción considerable en la concentración de Hierro para pH 4 con *Rhodotorula*.
- Con ácido láctico, para *Rhodotorula*, a pH 5, se observa una disminución en la concentración.
- Tanto con ácido acético como con HCl y HNO₃, las disoluciones no presentan ninguna disminución apreciable de la concentración de hierro.

Llama la atención cómo a pHs muy bajos se disuelve mucha mayor cantidad que a partir de pH 4.

- Para el *Aspergillus niger*, la disolución que más se solubiliza y cuya concentración disminuye con el tiempo en un porcentaje bastante alto, es la disolución que contiene tan solo cenizas.

6.11 Plomo

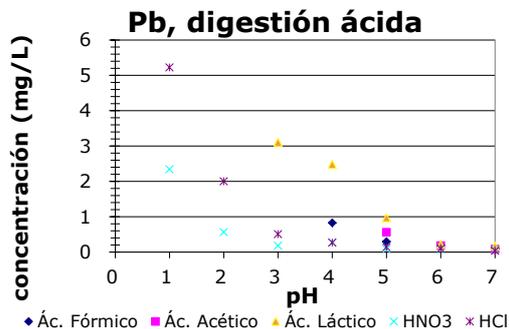


Fig. 6:85: Concentración de Plomo extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

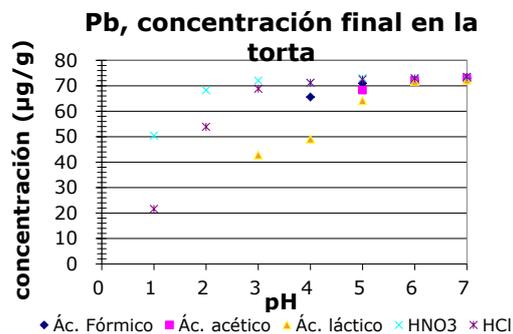


Fig. 6:86: Concentración final en peso de Plomo en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado

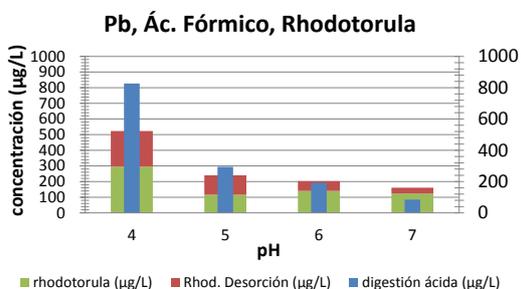


Fig. 6:87: Comparación de la concentración obtenida tras la digestión ácida (eje derecho) con la suma de las obtenidas tras la biolixiviación y posterior desorción (eje izquierdo). Representados las concentraciones obtenidas en el estudio de, usando como ácido el fórmico, y como microorganismo Rhodotorula mucilaginosa.

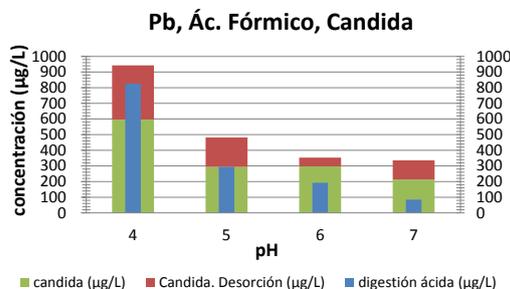


Fig. 6:88: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Plomo siendo tratadas con ácido fórmico y Candida lipolytica.

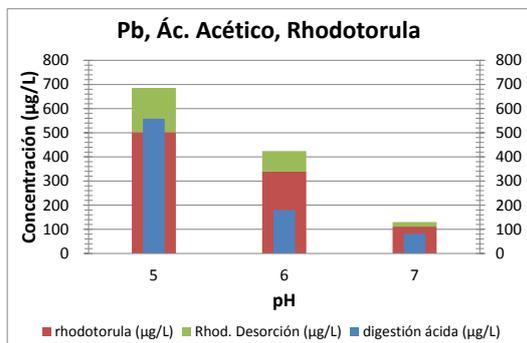


Fig. 6:89: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Plomo siendo tratadas con ácido acético y Rhodotorula rubra

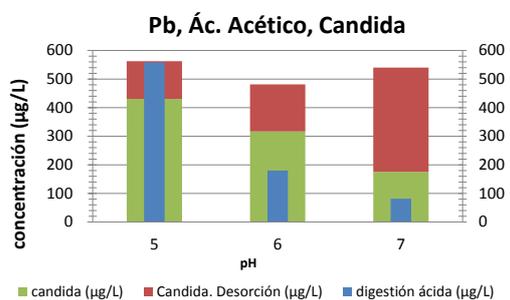


Fig. 6:90: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Plomo siendo tratadas con ácido acético y Candida lipolytica.

Resultados

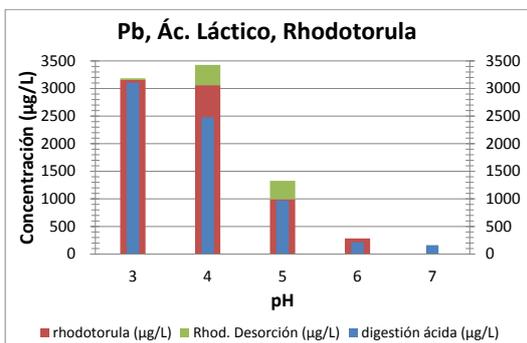


Fig. 6:91: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Plomo siendo tratadas con ácido láctico y Rhodotorula rubra

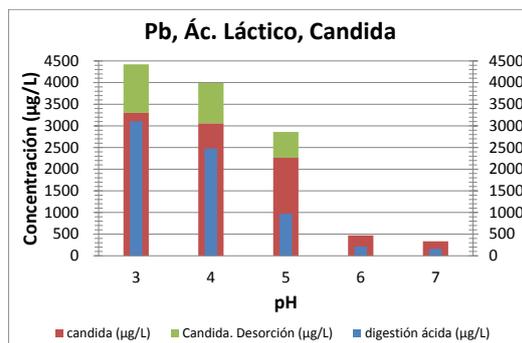


Fig. 6:92: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Plomo siendo tratadas con ácido láctico y Candida lipolytica.

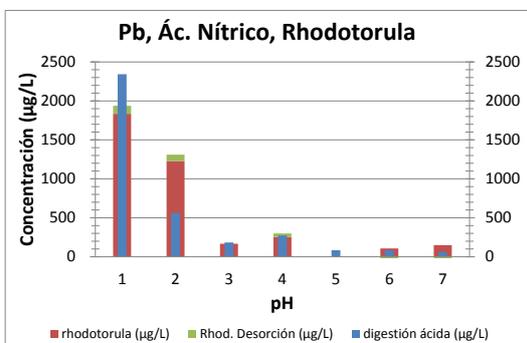


Fig. 6:93: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Plomo siendo tratadas con ácido nítrico y Rhodotorula rubra

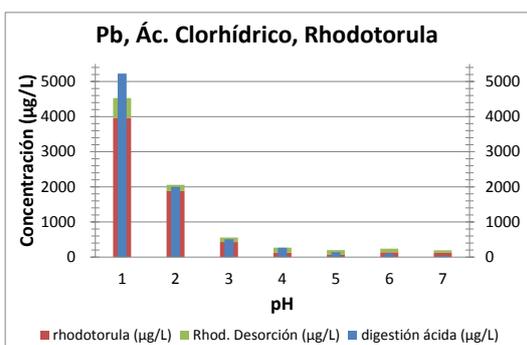


Fig. 6:94: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Plomo siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

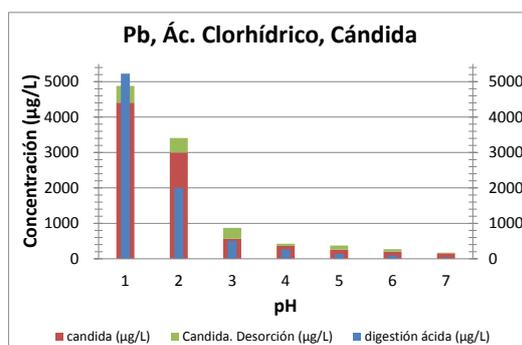


Fig. 6:95: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Plomo siendo tratadas con ácido clorhídrico y Candida lipolytica.

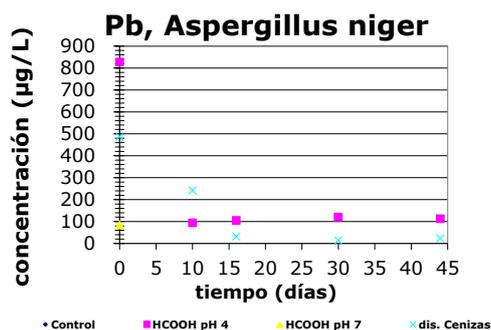


Fig. 6:96: Concentraciones de Plomo a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

- Los valores más altos de digestión ácida se producen para HCl y HNO₃. Sin embargo, a pHs más altos, a partir de 3, el ácido láctico presenta mayores concentraciones de disolución.
- Se observa que la desorción no funciona con ninguna levadura de forma notable. No obstante, se ve una ligera disminución de la concentración especialmente en el ácido fórmico. A pHs 4 y 5, sí que se aprecia una reducción general de la concentración de plomo.
- En cuanto al *Aspergillus niger*, se observa una disminución de la concentración durante los primeros días.

6.12 Zinc

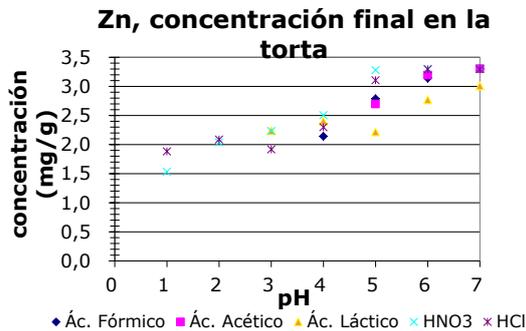
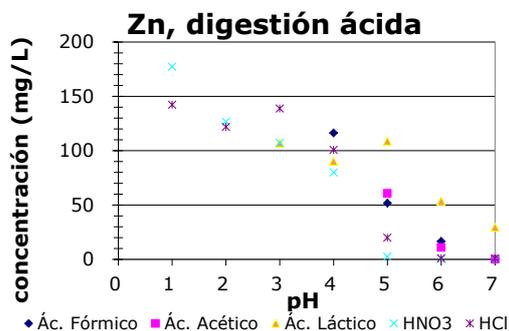


Fig. 6:97: Concentración de Zinc extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

Fig. 6:98: Concentración final en peso de Zinc en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado

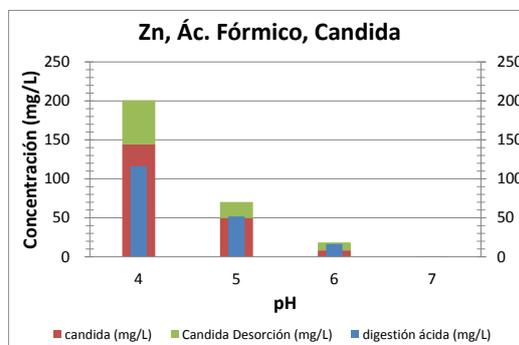
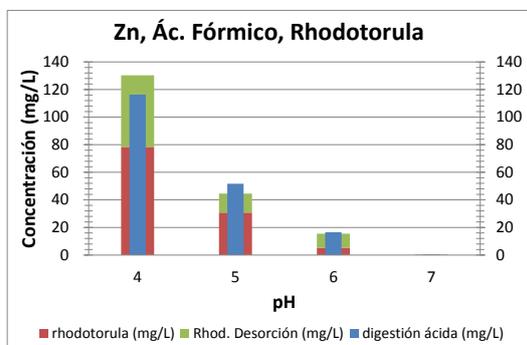


Fig. 6:99: Comparación de la concentración obtenida tras la digestión ácida (eje derecho) con la suma de las obtenidas tras la biolixiviación y posterior desorción (eje izquierdo). Representados las concentraciones obtenidas en el estudio de, usando como ácido el fórmico, y como microorganismo Rhodotorula mucilaginosa.

Fig. 6:100: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Zinc siendo tratadas con ácido fórmico y Candida lipolytica.

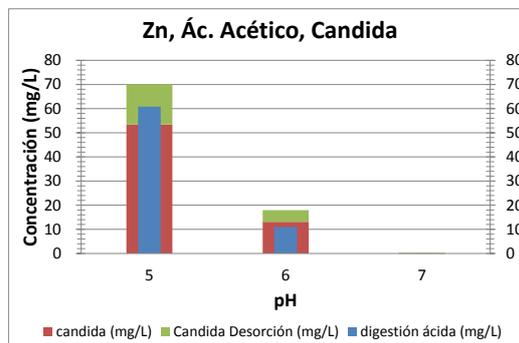
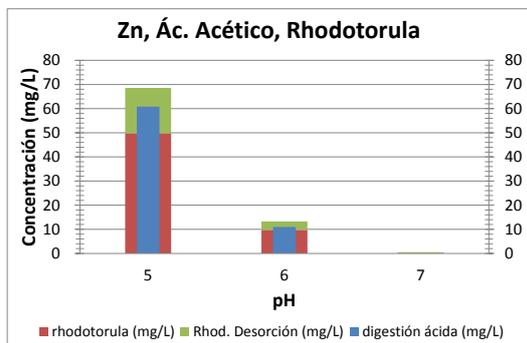


Fig. 6:101: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Zinc siendo tratadas con ácido acético y Rhodotorula rubra

Fig. 6:102: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Zinc siendo tratadas con ácido acético y Candida lipolytica.

Resultados

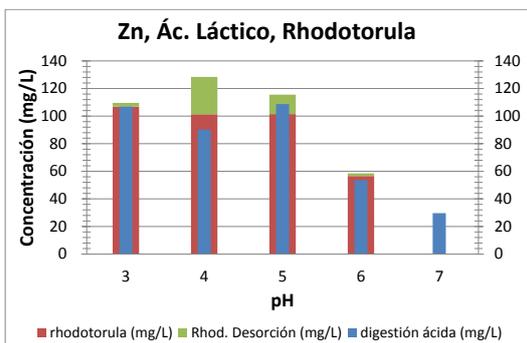


Fig. 6:103: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Zinc siendo tratadas con ácido láctico y Rhodotorula rubra

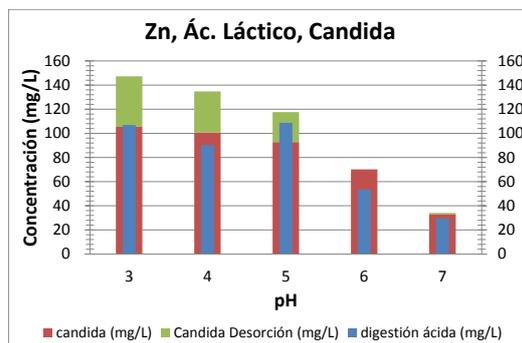


Fig. 6:104: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Zinc siendo tratadas con ácido láctico y Candida lipolytica.

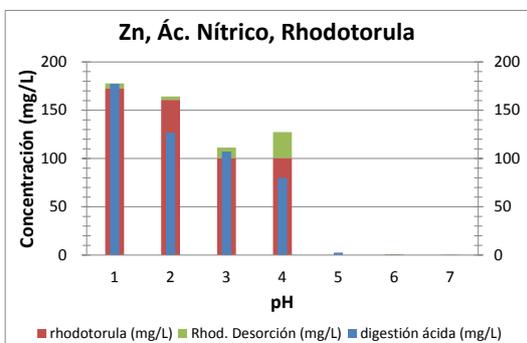


Fig. 6:105: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Zinc siendo tratadas con ácido nítrico y Rhodotorula rubra

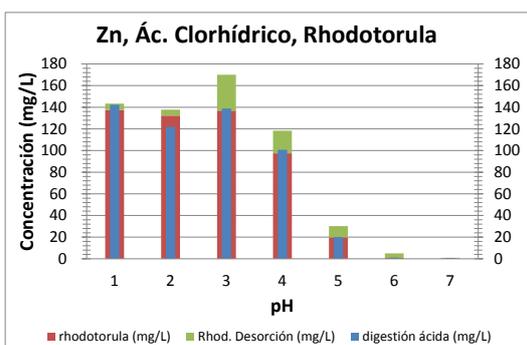


Fig. 6:106: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Zinc siendo tratadas con ácido clorhídrico y Rhodotorula rubra

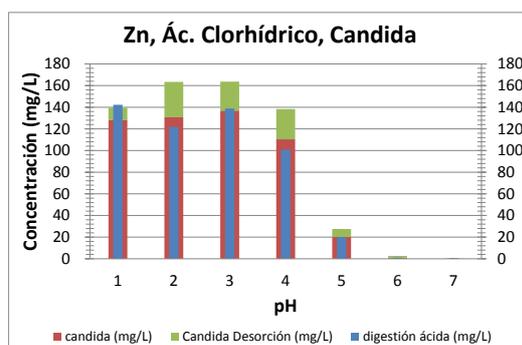


Fig. 6:107: Idem que el anterior. Representa las concentraciones de Zinc siendo tratadas con ácido clorhídrico y Candida lipolytica.

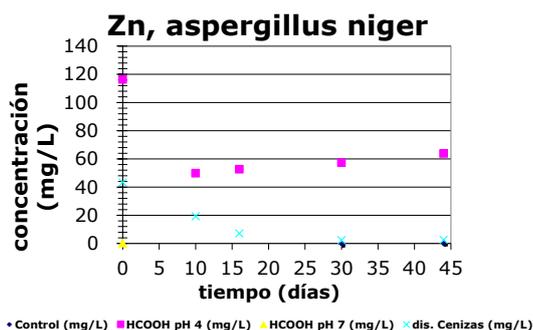


Fig. 6:108: Concentraciones de Zinc a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

- Los valores más altos de digestión ácida se producen para el ácido nítrico seguido del clorhídrico a pHs muy bajos. Sin embargo, para pHs más altos, los niveles se equiparan con el resto de ácidos.
- Con ácido fórmico se produce adsorción por parte de *Rhodotorula rubra* a pHs 4, 5 y 6.
- Con ácido acético, se produce para las dos a pH 5, ambas en porcentajes parecidos, pero muy inferiores al del fórmico.
- Con ácido láctico a pH 5, se produce adsorción con ambas levaduras. Con este ácido se produce mayor disolución de hierro; sin embargo, el porcentaje de adsorción es menor que con ácido fórmico.
- Para el *Aspergillus niger*, la que más disuelve los metales es la disolución de pH 4. Con esta y *Aspergillus* se observa una disminución en la concentración durante los primeros días de más del 50%. La parte que se solubiliza de Hierro de la disolución de cenizas es mucho menor, pero disminuye prácticamente el 100%.

6.13 Potasio

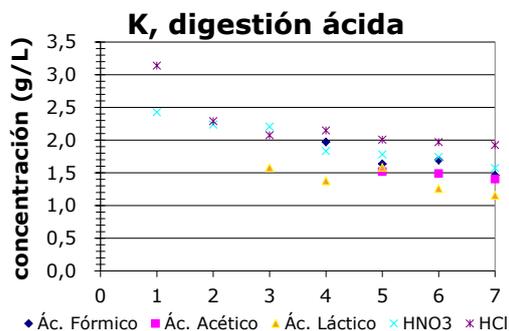


Fig. 6:109: Concentración de Potasio extraída de la disolución de cenizas durante la digestión ácida por los ácidos empleados.

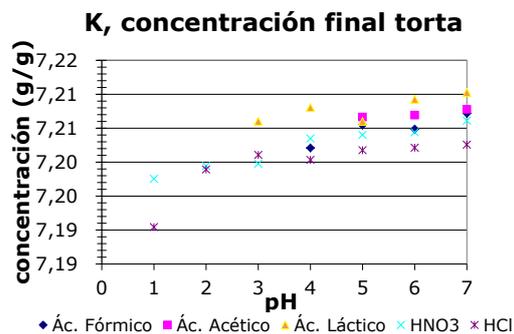


Fig. 6:110: Concentración final en peso de Potasio en las cenizas empleadas dependiendo del ácido utilizado

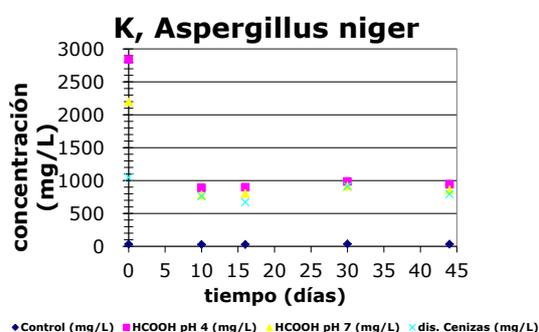


Fig. 6:111: Concentraciones de Potasio a lo largo del tiempo tratadas con *Aspergillus niger* para las distintas soluciones empleadas. El control lo constituye biomasa en su medio de cultivo. La disolución de cenizas contiene la misma concentración de las mismas que el resto de ensayos solo que no se ha sometido al proceso de digestión ácida.

- El potasio, al ser un nutriente para las plantas, conviene que no se solubilice ni disminuya su concentración tras la digestión ácida. Esto, sin embargo, no es posible. Como con los demás metales, se solubiliza en mayor medida a pHs bajos de ácido inorgánicos. A pHs más elevados, presentan todos los ácidos valores parecidos, si bien en ácido láctico se reduce la cantidad disuelta.
- La concentración final de potasio presente en las cenizas está falseada ya que, las cenizas utilizadas para los experimentos contienen menos potasio que el declarado por la fábrica de Puchenau.

7 Conclusiones

El presente PFC no permite concluir la validez de microorganismos como agentes biolixivantes de alta eficacia, si bien sí que se observa algunos resultados positivos, sobre todo para el *Aspergillus niger*. El modo de operación que se debe seguir para alcanzar los objetivos, así como otras conclusiones importantes del proyecto se detallan a continuación:

7.1 Composición de las cenizas

- Hay que verificar la composición de las cenizas procedentes de Puchenau. Por una parte, se deberían tomar datos de distintos días para comprobar la homogeneidad de concentraciones a lo largo del tiempo. Por otro, hay que buscar otro método más adecuado para medir cationes en tan altas concentraciones, como por ejemplo la cromatografía iónica, ya que como se observa, hay datos inverosímiles (Potasio y Calcio con concentraciones muy superiores al gramo de metal por gramo de muestra). Este es el motivo por el que no se han realizado gráficas de Magnesio ni de Potasio, porque no se conoce el valor real de los minerales en la muestra.
- No hay datos explícitos de Arsénico, ya que aunque se ha analizado en todas las muestras, las concentraciones resultan siempre negativas. Se concluye que no hay Arsénico en la muestra, o lo hay, pero a concentraciones tan bajas que se escapan a los límites de detección de ICP-OES, y que están por debajo de los límites legales, por lo que no supone un problema.
- Ocurre lo mismo con el mercurio.

7.2 Digestión ácida

- Los ácidos con los que se obtienen mayores valores de digestión ácida son con los ácidos inorgánicos, sobre todo con nítrico. No obstante, los pHs a los que se obtienen estos valores son muy bajos, lo que supone un importante gasto de reactivo.
- A pHs superiores (a partir de pH 3), el ácido láctico presenta valores de solubilización prácticamente en todos los experimentos superiores a los de los demás ácidos orgánicos, e iguales si no superiores a los de los ácidos inorgánicos.
- Si tras comparar los requisitos legales, las concentraciones de los metales en las cenizas con pHs a partir de 3 son suficientemente bajas, se elegirá como ácido de trabajo el ácido láctico, si no, el ácido nítrico.

7.3 Biolixiviación

- El poder biolixivante de las cepas empleadas en este PFC es escaso o nulo. Esto puede ser debido a que, o bien los microorganismos no se encuentran en las condiciones adecuadas, o bien pasa demasiado tiempo entre los experimentos de biolixiviación y la toma de medidas con ICP, debido a problemas técnicos con el mismo.
- Las levaduras empleadas no pueden trabajar a pHs tan bajos, por lo que no se puede producir ningún tipo de absorción.
- A pH 4 o 5 las levaduras operan algo mejor; sin embargo, a este rango de pHs relativamente altos, no se disuelve gran cantidad de metales.
- Habría primero que acidificar la disolución para que los metales presentes en las cenizas se disolviesen y posteriormente basificar el filtrado antes de añadir la biomasa. Este proceso conlleva el gasto de mucho reactivo.
- El problema de tener que basificar la solución para que la biomasa actúe mejor se solucionaría utilizando microorganismos acidofílicos, como el *Acidithiobacillus thiooxidans*.
- De las levaduras utilizadas, aunque su poder biolixivante sea mucho menor del esperado, funciona mejor *Rhodotorula rubra*, ya que no solo se obtiene con este microorganismo porcentajes de adsorción un poco mayores que con *Candida lipolytica*, sino que además funciona para más metales y su cultivo es más sencillo.
- La biolixiviación con *Aspergillus niger* sí que se produce bien durante los primeros días. No obstante, hay que ver si los valores de disolución de metales que se alcanzan, y que luego disminuyen en gran medida gracias al *Aspergillus*, son suficientes para alcanzar la concentración requerida legalmente. Si no se alcanzan con la dilución simplemente de cenizas (sin aplicar ningún ácido), se podría pensar en aplicar el proceso con un ácido. Aquí se ha estudiado con ácido acético, y los resultados de disolución han sido notablemente mejores. Sin embargo, sería conveniente probar, por ejemplo, con ácido láctico, ya que normalmente solubiliza mejor los compuestos.

7.4 Pelletación

- El resultado de los experimentos de pelletar es positivo. Sin embargo, antes de llevar a cabo el proceso de forma real, los pellets tienen que cumplir una serie de normas (DIN alemanas en el caso que procede). Los parámetros requeridos aquí no se han tenido en cuenta ya que lo que aquí ocupa se trata de una primera aproximación.

Conclusiones

- Cuando se aplique primero el proceso de limpieza de las cenizas, hay que recalcular el porcentaje de agua a añadir, ya que las cenizas previamente tratadas ya estarán húmedas.
- Como el objetivo último es que las cenizas tengan una concentración de metales pesados perfectamente conocida, resultará más seguro medir directamente las cenizas tratadas tras la digestión ácida, que las disoluciones, ya que se trata de una medición directa en vez de indirecta. Teniendo en cuenta, por supuesto, el porcentaje de agua que tendrán.
- Para que el proceso se pueda aplicar, hay que ver los límites legales de concentraciones de metales pesados y compararlos con los de las concentraciones finales en la torta. Como se quieren mezclar después del lavado las cenizas volantes con cenizas de otras partes, y estas, aunque en menor medida, también tienen metales pesados, hay que determinar previamente el porcentaje de cenizas de ambas clases que se empleará. Seguidamente, se calculará el contenido total de metales pesados que contienen las cenizas no volantes, y una vez sabido esto, calcular la concentración máxima permitida de metales pesados para el porcentaje de cenizas volantes. Dejando un amplio margen de tolerancia, se observará cuál es el pH máximo de trabajo para el lavado de las cenizas.

8 Bibliografía

1. www3.uva.es/cc_agrof/eq23Metalpes.doc. (27/01/2011)
2. J. Boixadera y M. R. Teira (eds). 2001. "Aplicación agrícola de residuos orgánicos". Universidad de Lérida
3. Ayhan Demirbas. Potential applications of renewable energy sources, biomass combustion problems in boiler power systems and combustion related environmental issues.
4. Peter Mizsey, Laslo Racz. Cleaner production alternatives: Biomass utilisation options.
5. M. Fatih Demirbas , Mustafa Balat, Havva Balat. Potential contribution of biomass to the sustainable energy development.
6. S.V. Loo and J. Koppejan, Handbook of Biomass Combustion and Co-firing, Twente University Press, The Netherlands (2003).
7. Kalac P, Svoboda L, Havliekova B. Contents of detrimental metals mercury, cadmium and lead in wild growing edible mushrooms: a review. Energy Edu Sci Technol 2004;13:31-8.
8. Kalac P, Svoboda L, Havliekova B. Contents of detrimental metals mercury, cadmium and lead in wild growing edible mushrooms: a review. Energy Edu Sci Technol 2004;13:31-8.
9. Liukkonen-Lilja H, Kuusi T, Laaksovirta K, Lodenius M, Piepponen S. The effect of lead processing works on the lead, cadmium and mercury contents of fungi. Z Lebens Unters Forsch 1983;A177:257-60.
10. H.-P. Bipp, P. Wunsch, K. Fischer, D. Bieniek and A. Kettrup. Heavy metal leaching of fly ash from waste incineration with gluconic acid and a molasses Hydrolysate.
11. bvk-online.com/bvk_smartm/html/f/4/index.html, 11.04.2011
12. Lutze, D.; Von Berg, W.; Handbuch Flugasche im Beton, Verlag Bau + Technik, 2008
13. Colombo U. Development and the global environment. In: Hollander JM, editor. The energy-environment connection. Washington: Island Press; 1992. p. 3-14.
14. Apuntes de la asignatura de ingeniería química
15. Ruokojarvi P, Aatamila M, Ruuskanen J. Toxic chlorinated and polyaromatic hydrocarbons in simulated house fires. Chemosphere 2000;41:825-8.
16. Apuntes de la asignatura de ingeniería química. Ciclones. Universidad de La Plata (Argentina)
17. Die Bestandsaufnahme der Abfallwirtschaft in Österreich- Statusbericht 2009, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien 2009

18. Christian Tscütscher. Possibilities of using different types of fly ashes in cement production
19. Bundes-Abfallwirtschaftsplan 2006, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien 2006
20. Die Bestandsaufnahme der Abfallwirtschaft in Österreich- Statusbericht 2009, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien 2009
21. Kompostverordnung BGBL. II Nr. 292/2001
22. Removal of Cadmium and Lead from dilute aqueous solutions by *Rhodotorula rubra*. E. Salinas, M. Elorzade Orellano, I. Rezza, L.Martinez, E. Marchesvky, M. Sanz de Tosetti
23. Biological leaching of heavy metals from a contaminated soil by *Aspergillus niger*. Wan-Xia Ren, Pei-Jun Li, Yong Geng, Xiao-Jun Li
24. Brock. Biología de los Microorganismos (décima edición). Michael T. Madigan, John M. Martinko, Jack Parker Pearson Prentice Hall, 2001
25. Industrial Exploitation of Microorganisms. D. K. Maheshwari I.K. International Publishing House Pvt. Ltd. 2010
26. Microbiología (séptima edición) de Prescott, Harley y Klein Willey Sherwood Woolverton. Mc Graw Hill, 2009
27. Apuntes química analítica. Universidad de Zaragoza. Angélica Fernández Castel
28. Apuntes de laboratorio de microbiología. Universidad de Navarra
29. Biosorption behavior of heavy metals in bioleaching process of MSWI fly ash by *Aspergillus niger*

Anexos

Anexo I Datos de los experimentos de digestión ácida con el cálculo posterior de la concentración final de minerales en la torta de filtrado.

Cd

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las cenizas (µg)	conc. final en cenizas(mg/g)
4	2691,22	31,01	2,69	41,53	955,19	336,21	14,62
5	2045,82	20,14	2,05	41,53	955,19	484,65	21,07
6	2,78		0,00	41,53	955,19	954,55	41,50
7	31,66	0,17	0,03	41,53	955,19	947,91	41,21

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las cenizas (µg)	conc. final en cenizas(mg/g)
5	2831,72	37,81	2,83	41,53	955,19	303,90	13,21
6	2030,86		2,03	41,53	955,19	488,09	21,22
7	303,06	48,76	0,30	41,53	955,19	885,49	38,50

Anexos

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las cenizas (µg)	conc. final en cenizas(mg/g)
3	2200,55	56,95	2,20	41,53	955,19	449,06	19,52
4	1798,81		1,80	41,53	955,19	541,46	23,54
5	2153,73	26,62	2,15	41,53	955,19	459,83	19,99
6	1168,58	14,68	1,17	41,53	955,19	686,42	29,84
7	715,29		0,72	41,53	955,19	790,67	34,38

Ác. Nítrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las cenizas (µg)	conc. final en cenizas(mg/g)
1	4887,83	223,19	4,89	41,53	955,19	-169,01	-7,35
2	3100,01	23,95	3,10	41,53	955,19	242,19	10,53
3	2890,73	47,93	2,89	41,53	955,19	290,32	12,62
4	2723,46	38,03	2,72	41,53	955,19	328,79	14,30
5	832,48	86,93	0,83	41,53	955,19	763,72	33,21
6	457,74	0,63	0,46	41,53	955,19	849,91	36,95
7	224,29	2,10	0,22	41,53	955,19	903,60	39,29

Ác. Clorhídrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las cenizas (µg)	conc. final en cenizas(mg/g)
1	3314,24	49,32	3,31	41,53	955,19	192,91	8,39
2	2893,84	3,00	2,89	41,53	955,19	289,61	12,59
3	3401,85	1,87	3,40	41,53	955,19	172,77	7,51
4	2773,24	26,34	2,77	41,53	955,19	317,35	13,80
5	3022,74	9,20	3,02	41,53	955,19	259,96	11,30
6	2299,70	73,43	2,30	41,53	955,19	426,26	18,53
7	1100,04	106,40	1,10	41,53	955,19	702,18	30,53

Anexos

Co

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
4	6107,85	849,34	6,11	23,84	548,32	-856,49	-0,86	-0,04	-37,24
5	2,54	2,60	0,00	23,84	548,32	547,74	0,55	0,02	23,81
6	-26,50	1,41	-0,03	23,84	548,32	554,42	0,55	0,02	24,11
7	-9,25	1,13	-0,01	23,84	548,32	550,45	0,55	0,02	23,93

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
5	12,50	3,37	0,01	23,84	548,32	545,45	0,55	0,02	23,72
6	-0,17	0,15	-0,00	23,84	548,32	548,36	0,55	0,02	23,84
7	6,78	0,92	0,01	23,84	548,32	546,76	0,55	0,02	23,77

Ác Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
3	509649,58	10144,64	509,65	23,84	548,32	-116671,1	-116,67	-5,07	-5072,66
4	160493,45		160,49	23,84	548,32	-36365,17	-36,37	-1,58	-1581,09
5	119746,19	7247,54	119,75	23,84	548,32	-26993,30	-26,99	-1,17	-1173,62
6	14309,03	322,47	14,31	23,84	548,32	-2742,76	-2,74	-0,12	-119,25
7	10314,45		10,31	23,84	548,32	-1824,00	-1,82	-0,08	-79,30

Anexos

Ác. Nítrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	470200,63	48799,28	470,20	23,84	548,32	-107597,8	-107,60	-4,68	-4678,17
2	76572,82	1985,06	76,57	23,84	548,32	-17063,43	-17,06	-0,74	-741,89
3	474,56	63,80	0,47	23,84	548,32	439,17	0,44	0,02	19,09
4	-7,63	0,37	-0,01	23,84	548,32	550,07	0,55	0,02	23,92
5	-22,01	1,65	-0,02	23,84	548,32	553,38	0,55	0,02	24,06
6	-20,88	0,81	-0,02	23,84	548,32	553,12	0,55	0,02	24,05
7	-1,35	2,17	-0,00	23,84	548,32	548,63	0,55	0,02	23,85

Ác. Clorhídrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	623288,82	12201,07	623,29	23,84	548,32	-142808,1	-142,81	-6,21	-6209,05
2	97125,83	9067,09	97,13	23,84	548,32	-21790,62	-21,79	-0,95	-947,42
3	4771,63	112,61	4,77	23,84	548,32	-549,16	-0,55	-0,02	-23,88
4	249,15	14,08	0,25	23,84	548,32	491,01	0,49	0,02	21,35
5	-23,66	1,51	-0,02	23,84	548,32	553,76	0,55	0,02	24,08
6	61,72	8,18	0,06	23,84	548,32	534,12	0,53	0,02	23,22
7	-55,37	3,58	-0,06	23,84	548,32	561,05	0,56	0,02	24,39

Anexos

Cr

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
4	2421,16	86,89	2,42	61,01	1403,23	846,36	0,85	0,04	36,80
5	1275,15		1,28	61,01	1403,23	1109,95	1,11	0,05	48,26
6	-42,83		-0,04	61,01	1403,23	1413,08	1,41	0,06	61,44
7	-28,43		-0,03	61,01	1403,23	1409,77	1,41	0,06	61,29

Ác acético

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
5	153,53	0,40	0,15	61,01	1403,23	1367,92	1,37	0,06	59,47
6									
7	364,20	33,41	0,36	61,01	1403,23	1319,46	1,32	0,06	57,37

Ác láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
3	3123,52	76,12	3,12	61,01	1403,23	684,82	0,68	0,03	29,77
4	1720,43		1,72	61,01	1403,23	1007,53	1,01	0,04	43,81
5	1684,12	33,26	1,68	61,01	1403,23	1015,88	1,02	0,04	44,17
6	1276,88	1,10	1,28	61,01	1403,23	1109,55	1,11	0,05	48,24
7	1244,48		1,24	61,01	1403,23	1117,00	1,12	0,05	48,57

Anexos

Ac. Nítrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	3565,72	177,72	3,57	61,01	1403,23	583,11	0,58	0,03	25,35
2	1869,62	37,02	1,87	61,01	1403,23	973,22	0,97	0,04	42,31
3	46,84	15,25	0,05	61,01	1403,23	1392,46	1,39	0,06	60,54
4	350,65	57,77	0,35	61,01	1403,23	1322,58	1,32	0,06	57,50
5	341,61	51,37	0,34	61,01	1403,23	1324,66	1,32	0,06	57,59
6	52,15	9,20	0,05	61,01	1403,23	1391,24	1,39	0,06	60,49
7	333,99	30,48	0,33	61,01	1403,23	1326,41	1,33	0,06	57,67

Ác. Clorhídrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	3294,24	6,46	3,29	61,01	1403,23	645,55	0,65	0,03	28,07
2	2523,96	17,48	2,52	61,01	1403,23	822,72	0,82	0,04	35,77
3	1660,38	0,17	1,66	61,01	1403,23	1021,34	1,02	0,04	44,41
4	814,77	46,90	0,81	61,01	1403,23	1215,83	1,22	0,05	52,86
5	101,13	6,40	0,10	61,01	1403,23	1379,97	1,38	0,06	60,00
6	257,59	2,94	0,26	61,01	1403,23	1343,99	1,34	0,06	58,43
7	181,54	8,92	0,18	61,01	1403,23	1361,48	1,36	0,06	59,19

Cu

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
4	7973,56	242,89	7,97	152,27	3502,21	1668,29	1,67	0,07	72,53
5	2316,56	240,98	2,32	152,27	3502,21	2969,40	2,97	0,13	129,10
6	58,39	2,22	0,06	152,27	3502,21	3488,78	3,49	0,15	151,69
7	24,59	1,58	0,02	152,27	3502,21	3496,56	3,50	0,15	152,02

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
5	4256,76	46,71	4,26	152,27	3502,21	2523,16	2,52	0,11	109,70
6	136,15	13,28	0,14	152,27	3502,21	3470,90	3,47	0,15	150,91
7	4,56	4,61	0,00	152,27	3502,21	3501,16	3,50	0,15	152,22

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
3	6966,57	195,66	6,97	152,27	3502,21	1899,90	1,90	0,08	82,60
4	5111,38		5,11	152,27	3502,21	2326,59	2,33	0,10	101,16
5	5728,20	49,80	5,73	152,27	3502,21	2184,72	2,18	0,09	94,99
6	2597,94	47,39	2,60	152,27	3502,21	2904,68	2,90	0,13	126,29
7	1424,46		1,42	152,27	3502,21	3174,58	3,17	0,14	138,03

Anexos

Ác. Nítrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	14244,52		14,24	152,27	3502,21	225,97	0,23	0,01	9,82
2	8157,90	901,85	8,16	152,27	3502,21	1625,89	1,63	0,07	70,69
3	5372,81		5,37	152,27	3502,21	2266,46	2,27	0,10	98,54
4	2342,31	206,24	2,34	152,27	3502,21	2963,48	2,96	0,13	128,85
5	163,25		0,16	152,27	3502,21	3464,66	3,46	0,15	150,64
6	78,61	6,13	0,08	152,27	3502,21	3484,13	3,48	0,15	151,48
7	147,72	16,14	0,15	152,27	3502,21	3468,23	3,47	0,15	150,79

Ác. Clorhídrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	11432,87	894,71	11,43	152,27	3502,21	872,65	0,87	0,04	37,94
2	8972,63	802,27	8,97	152,27	3502,21	1438,51	1,44	0,06	62,54
3	6463,49	608,58	6,46	152,27	3502,21	2015,61	2,02	0,09	87,64
4	3804,41	340,55	3,80	152,27	3502,21	2627,20	2,63	0,11	114,23
5	135,23	15,62	0,14	152,27	3502,21	3471,11	3,47	0,15	150,92
6	53,68	9,47	0,05	152,27	3502,21	3489,86	3,49	0,15	151,73
7	37,01	9,29	0,04	152,27	3502,21	3493,70	3,49	0,15	151,90

Fe

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
4	6531,85	911,03	6,53	16863,15	387852,45	386350,12	386,35	16,80	16797,83
5	43,38	2,35	0,04	16863,15	387852,45	387842,47	387,84	16,86	16862,72
6	68,54	0,52	0,07	16863,15	387852,45	387836,69	387,84	16,86	16862,46
7	17,32		0,02	16863,15	387852,45	387848,47	387,85	16,86	16862,98

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
5	76,02	4,18	0,08	16863,15	387852,45	387834,96	387,83	16,86	16862,39
6	28,15	0,85	0,03	16863,15	387852,45	387845,98	387,85	16,86	16862,87
7	379,96		0,38	16863,15	387852,45	387765,06	387,77	16,86	16859,35

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
3	507325,39	10170,04	507,33	16863,15	387852,45	271167,61	271,17	11,79	11789,90
4	172452,59		172,45	16863,15	387852,45	348188,35	348,19	15,14	15138,62
5	150349,77	10920,26	150,35	16863,15	387852,45	353272,00	353,27	15,36	15359,65
6	14350,02	297,44	14,35	16863,15	387852,45	384551,95	384,55	16,72	16719,65
7	10594,89		10,59	16863,15	387852,45	385415,63	385,42	16,76	16757,20

Anexos

Ác. Nítrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	457395,45	47599,03	457,40	16863,15	387852,45	282651,50	282,65	12,29	12289,20
2	75678,44	2138,58	75,68	16863,15	387852,45	370446,41	370,45	16,11	16106,37
3	544,51	64,39	0,54	16863,15	387852,45	387727,21	387,73	16,86	16857,70
4	73,53	4,28	0,07	16863,15	387852,45	387835,54	387,84	16,86	16862,41
5	26,00	0,88	0,03	16863,15	387852,45	387846,47	387,85	16,86	16862,89
6	19,42	0,45	0,02	16863,15	387852,45	387847,98	387,85	16,86	16862,96
7	43,16	3,04	0,04	16863,15	387852,45	387842,52	387,84	16,86	16862,72

Ác. Clorhídrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	584881,73	11357,36	584,88	16863,15	387852,45	253329,65	253,33	11,01	11014,33
2	93558,52	8778,37	93,56	16863,15	387852,45	366333,99	366,33	15,93	15927,56
3	4731,82	101,47	4,73	16863,15	387852,45	386764,13	386,76	16,82	16815,83
4	337,33	11,48	0,34	16863,15	387852,45	387774,86	387,77	16,86	16859,78
5	30,51	2,19	0,03	16863,15	387852,45	387845,43	387,85	16,86	16862,84
6	125,19	4,58	0,13	16863,15	387852,45	387823,66	387,82	16,86	16861,90
7	-3,77	0,30	-0,00	16863,15	387852,45	387853,32	387,85	16,86	16863,19

Anexos

K

Ác. Fórmico

pH	media (mg)	media (g)	Des. Estándar	Des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
4	1971,88	1,97	24419,77	0,02	7221815,56	166101,76	165648,22	165,65	7,20	7202,10
5	1636,18	1,64	10754,12	0,01	7221815,56	166101,76	165725,44	165,73	7,21	7205,45
6	1694,00	1,69	8518,02	0,01	7221815,56	166101,76	165712,14	165,71	7,20	7204,88
7	1463,73	1,46	1689,49	0,00	7221815,56	166101,76	165765,10	165,77	7,21	7207,18

Ác. Acético

pH	media (mg)	media (g)	Des. Estándar	Des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
5	1518,06	1,52	136,67	0,00	7221815,56	166101,76	165752,60	165,75	7,21	7206,63
6	1488,57	1,49	2617,80	0,00	7221815,56	166101,76	165759,39	165,76	7,21	7206,93
7	1403,77	1,40	1013,64	0,00	7221815,56	166101,76	165778,89	165,78	7,21	7207,78

Ác. Láctico

pH	media (mg)	media (g)	Des. Estándar	Des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
3	1579,31	1,58	35658,28	0,04	7221815,56	166101,76	165738,52	165,74	7,21	7206,02
4	1376,78	1,38			7221815,56	166101,76	165785,10	165,79	7,21	7208,05
5	1581,20	1,58	23250,33	0,02	7221815,56	166101,76	165738,08	165,74	7,21	7206,00
6	1257,34	1,26	4821,84	0,00	7221815,56	166101,76	165812,57	165,81	7,21	7209,24
7	1154,84	1,15			7221815,56	166101,76	165836,14	165,84	7,21	7210,27

Anexos

Ác. Nítrico

pH	media (mg)	media (g)	Des. Estándar	Des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
1	2426,61	2,43	33349,88	0,03	7221815,56	166101,76	165543,64	165,54	7,20	7197,55
2	2238,06	2,24	14358,99	0,01	7221815,56	166101,76	165587,00	165,59	7,20	7199,43
3	2204,96	2,20	5264,82	0,01	7221815,56	166101,76	165594,62	165,59	7,20	7199,77
4	1834,03	1,83	22539,63	0,02	7221815,56	166101,76	165679,93	165,68	7,20	7203,48
5	1780,86	1,78	8063,64	0,01	7221815,56	166101,76	165692,16	165,69	7,20	7204,01
6	1741,31	1,74	28074,87	0,03	7221815,56	166101,76	165701,26	165,70	7,20	7204,40
7	1570,98	1,57	16182,09	0,02	7221815,56	166101,76	165740,43	165,74	7,21	7206,11

Ác. Clorhídrico

pH	media (mg)	media (g)	Des. Estándar	Des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
1	3138,31	3,14	81036,41	0,08	7221815,56	166101,76	165379,95	165,38	7,19	7190,43
2	2290,05	2,29	8067,45	0,01	7221815,56	166101,76	165575,05	165,58	7,20	7198,92
3	2074,80	2,07	22172,08	0,02	7221815,56	166101,76	165624,55	165,62	7,20	7201,07
4	2148,00	2,15	1266,93	0,00	7221815,56	166101,76	165607,72	165,61	7,20	7200,34
5	2006,27	2,01	17321,41	0,02	7221815,56	166101,76	165640,32	165,64	7,20	7201,75
6	1968,62	1,97	7070,64	0,01	7221815,56	166101,76	165648,97	165,65	7,20	7202,13
7	1924,07	1,92	15624,01	0,02	7221815,56	166101,76	165659,22	165,66	7,20	7202,57

Mg

Ác. Fórmico

pH	Dig. Ácida (mg)	Dig. Ácida (g)	des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
4	783,93	0,78	0,00	22534,10	518,28	337,98	0,34	0,01	14,69
5	751,60	0,75	0,00	22534,10	518,28	345,42	0,35	0,02	15,02
6	760,53	0,76	0,00	22534,10	518,28	343,36	0,34	0,01	14,93
7	632,38	0,63	0,00	22534,10	518,28	372,84	0,37	0,02	16,21

Ác. Acético

pH	Dig. Ácida (mg)	Dig. Ácida (g)	des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
5	761,85	0,76	0,00	22534,10	518,28	343,06	0,34	0,01	14,92
6	717,28	0,72	0,00	22534,10	518,28	353,31	0,35	0,02	15,36
7	489,64	0,49	0,01	22534,10	518,28	405,67	0,41	0,02	17,64

Ác. Láctico

pH	Dig. Ácida (mg)	Dig. Ácida (g)	des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
3	762,74	0,76	0,00	22534,10	518,28	342,85	0,34	0,01	14,91
4	694,25	0,69		22534,10	518,28	358,61	0,36	0,02	15,59
5	736,60	0,74	0,00	22534,10	518,28	348,87	0,35	0,02	15,17
6	723,82	0,72	0,00	22534,10	518,28	351,81	0,35	0,02	15,30
7	683,39	0,68		22534,10	518,28	361,11	0,36	0,02	15,70

Anexos

Ác. Nítrico

pH	Dig. Ácida (mg)	Dig. Ácida (g)	des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
1	758,38	0,76	0,00	22534,10	518,28	343,86	0,34	0,01	14,95
2	712,80	0,71	0,00	22534,10	518,28	354,34	0,35	0,02	15,41
3	756,40	0,76	0,00	22534,10	518,28	344,31	0,34	0,01	14,97
4	719,55	0,72	0,00	22534,10	518,28	352,79	0,35	0,02	15,34
5	716,06	0,72	0,00	22534,10	518,28	353,59	0,35	0,02	15,37
6	683,65	0,68	0,01	22534,10	518,28	361,04	0,36	0,02	15,70
7	554,74	0,55	0,01	22534,10	518,28	390,69	0,39	0,02	16,99

Ác. Clorhídrico

pH	Dig. Ácida (mg)	Dig. Ácida (g)	des. Estándar (g)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (mg)	en la torta (mg)	en la torta (g)	conc. final en torta (g/g)	conc. final en torta (mg/g)
1	749,42	0,75	0,00	22534,10	518,28	345,92	0,35	0,02	15,04
2	728,63	0,73	0,00	22534,10	518,28	350,70	0,35	0,02	15,25
3	699,60	0,70	0,00	22534,10	518,28	357,38	0,36	0,02	15,54
4	692,96	0,69	0,00	22534,10	518,28	358,90	0,36	0,02	15,60
5	623,22	0,62	0,01	22534,10	518,28	374,94	0,37	0,02	16,30
6	663,92	0,66	0,00	22534,10	518,28	365,58	0,37	0,02	15,89
7	612,75	0,61	0,00	22534,10	518,28	377,35	0,38	0,02	16,41

Mn

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
4	370283,88	15925,18	370,28	65403,77	1504286,71	1419121,42	1419,12	61,70	61700,93
5	176165,33	4578,82	176,17	65403,77	1504286,71	1463768,68	1463,77	63,64	63642,12
6	22928,19	3108,71	22,93	65403,77	1504286,71	1499013,23	1499,01	65,17	65174,49
7	331,10	38,03	0,33	65403,77	1504286,71	1504210,56	1504,21	65,40	65400,46

Ác acético

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
5	174761,56	6030,70	174,76	65403,77	1504286,71	1464091,55	1464,09	63,66	63656,15
6	60893,88	5140,59	60,89	65403,77	1504286,71	1490281,12	1490,28	64,79	64794,83
7	27085,85	1552,25	27,09	65403,77	1504286,71	1498056,96	1498,06	65,13	65132,91

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
3	721381,99	21519,49	721,38	65403,77	1504286,71	1338368,85	1338,37	58,19	58189,95
4	518140,46		518,14	65403,77	1504286,71	1385114,40	1385,11	60,22	60222,37
5	612529,70	12899,44	612,53	65403,77	1504286,71	1363404,88	1363,40	59,28	59278,47
6	322860,31	4746,42	322,86	65403,77	1504286,71	1430028,84	1430,03	62,18	62175,17
7	188415,99		188,42	65403,77	1504286,71	1460951,03	1460,95	63,52	63519,61

Anexos

Ác. Nítrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	595653,73	30902,80	595,65	65403,77	1504286,71	1367286,35	1367,29	59,45	59447,23
2	307551,18	1228,39	307,55	65403,77	1504286,71	1433549,94	1433,55	62,33	62328,26
3	265790,99	2683,86	265,79	65403,77	1504286,71	1443154,78	1443,15	62,75	62745,86
4	226813,10	1577,65	226,81	65403,77	1504286,71	1452119,70	1452,12	63,14	63135,64
5	110692,79	6526,70	110,69	65403,77	1504286,71	1478827,37	1478,83	64,30	64296,84
6	114871,49	412,72	114,87	65403,77	1504286,71	1477866,27	1477,87	64,26	64255,06
7	70397,35	629,53	70,40	65403,77	1504286,71	1488095,32	1488,10	64,70	64699,80

Ác. Clorhídrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	673568,49	2109,66	673,57	65403,77	1504286,71	1349365,96	1349,37	58,67	58668,09
2	370190,59	8767,07	370,19	65403,77	1504286,71	1419142,88	1419,14	61,70	61701,86
3	379936,03	4240,84	379,94	65403,77	1504286,71	1416901,42	1416,90	61,60	61604,41
4	245146,39	4134,43	245,15	65403,77	1504286,71	1447903,04	1447,90	62,95	62952,31
5	189204,95	3081,88	189,20	65403,77	1504286,71	1460769,57	1460,77	63,51	63511,72
6	134105,46	6272,78	134,11	65403,77	1504286,71	1473442,45	1473,44	64,06	64062,72
7	46047,51	5189,25	46,05	65403,77	1504286,71	1493695,78	1493,70	64,94	64943,29

Ni

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
4	1503,42		1,50	71,57	1646,11	1300,32	1,30	0,06	56,54
5	1229,42	10,77	1,23	71,57	1646,11	1363,34	1,36	0,06	59,28
6	1046,34		1,05	71,57	1646,11	1405,45	1,41	0,06	61,11
7	376,70	1,18	0,38	71,57	1646,11	1559,47	1,56	0,07	67,80

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
5	1143,07	59,11	1,14	71,57	1646,11	1383,20	1,38	0,06	60,14
6	740,99	14,62	0,74	71,57	1646,11	1475,68	1,48	0,06	64,16
7	258,22		0,26	71,57	1646,11	1586,72	1,59	0,07	68,99

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
3	-1571,77	20,68	-1,57	71,57	1646,11	1646,11	1,65	0,07	71,57
4	1029,26		1,03	71,57	1646,11	1409,38	1,41	0,06	61,28
5	1609,51	40,62	1,61	71,57	1646,11	1275,92	1,28	0,06	55,47
6	1543,16	22,01	1,54	71,57	1646,11	1291,18	1,29	0,06	56,14
7	1200,76		1,20	71,57	1646,11	1369,94	1,37	0,06	59,56

Anexos

Ác. Nítrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	2097,15	84,37	2,10	71,57	1646,11	1163,76	1,16	0,05	50,60
2	1338,20	26,90	1,34	71,57	1646,11	1338,33	1,34	0,06	58,19
3	1223,07	17,68	1,22	71,57	1646,11	1364,80	1,36	0,06	59,34
4	800,49	96,73	0,80	71,57	1646,11	1462,00	1,46	0,06	63,57
5	874,65	57,51	0,87	71,57	1646,11	1444,94	1,44	0,06	62,82
6	983,13	6,39	0,98	71,57	1646,11	1419,99	1,42	0,06	61,74
7	644,72	4,23	0,64	71,57	1646,11	1497,82	1,50	0,07	65,12

Ác. Clorhídrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	-3880,22	69,82	-3,88	71,57	1646,11	1646,11	1,65	0,07	71,57
2	-4617,32	40,52	-4,62	71,57	1646,11	1646,11	1,65	0,07	71,57
3	-1202,88	58,30	-1,20	71,57	1646,11	1646,11	1,65	0,07	71,57
4	-879,34	168,53	-0,88	71,57	1646,11	1646,11	1,65	0,07	71,57
5	1348,56	31,89	1,35	71,57	1646,11	1335,94	1,34	0,06	58,08
6	896,99	37,12	0,90	71,57	1646,11	1439,80	1,44	0,06	62,60
7	676,53		0,68	71,57	1646,11	1490,51	1,49	0,06	64,80

Anexos

Pb

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
4	826,82	72,87	0,83	73,87	1699,01	1508,84	1,51	0,07	65,60
5	294,20	16,06	0,29	73,87	1699,01	1631,34	1,63	0,07	70,93
6	192,48	2,06	0,19	73,87	1699,01	1654,74	1,65	0,07	71,95
7	84,70	0,73	0,08	73,87	1699,01	1679,53	1,68	0,07	73,02

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
5	558,11	0,66	0,56	73,87	1699,01	1570,64	1,57	0,07	68,29
6	179,80	1,54	0,18	73,87	1699,01	1657,66	1,66	0,07	72,07
7	81,60	2,01	0,08	73,87	1699,01	1680,24	1,68	0,07	73,05

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
3	3105,85	27,19	3,11	73,87	1699,01	984,67	0,98	0,04	42,81
4	2480,75		2,48	73,87	1699,01	1128,44	1,13	0,05	49,06
5	970,67		0,97	73,87	1699,01	1475,76	1,48	0,06	64,16
6	213,50	4,30	0,21	73,87	1699,01	1649,91	1,65	0,07	71,74
7	160,75		0,16	73,87	1699,01	1662,04	1,66	0,07	72,26

Anexos

Ác. Nítrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	2342,13	171,55	2,34	73,87	1699,01	1160,32	1,16	0,05	50,45
2	562,28	8,28	0,56	73,87	1699,01	1569,68	1,57	0,07	68,25
3	183,68	7,18	0,18	73,87	1699,01	1656,76	1,66	0,07	72,03
4	273,93	17,45	0,27	73,87	1699,01	1636,01	1,64	0,07	71,13
5	84,19	4,52	0,08	73,87	1699,01	1679,65	1,68	0,07	73,03
6	84,08	0,05	0,08	73,87	1699,01	1679,67	1,68	0,07	73,03
7	60,92	0,41	0,06	73,87	1699,01	1685,00	1,68	0,07	73,26

Ác. Clorhídrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	5225,01	23,38	5,23	73,87	1699,01	497,26	0,50	0,02	21,62
2	2000,08	130,54	2,00	73,87	1699,01	1238,99	1,24	0,05	53,87
3	507,06	3,01	0,51	73,87	1699,01	1582,39	1,58	0,07	68,80
4	266,52	4,68	0,27	73,87	1699,01	1637,71	1,64	0,07	71,20
5	138,20	2,52	0,14	73,87	1699,01	1667,22	1,67	0,07	72,49
6	95,81	3,13	0,10	73,87	1699,01	1676,97	1,68	0,07	72,91
7	35,11	3,66	0,04	73,87	1699,01	1690,93	1,69	0,07	73,52

Zn

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
4	116318,61	2440,26	116,32	3305,17	76018,91	49265,63	49,27	2,14	2141,98
5	51708,98	2728,59	51,71	3305,17	76018,91	64125,85	64,13	2,79	2788,08
6	16519,76	587,27	16,52	3305,17	76018,91	72219,36	72,22	3,14	3139,97
7	386,15	5,17	0,39	3305,17	76018,91	75930,10	75,93	3,30	3301,31

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
5	60805,05	411,05	60,81	3305,17	76018,91	62033,75	62,03	2,70	2697,12
6	10970,83	220,37	10,97	3305,17	76018,91	73495,62	73,50	3,20	3195,46
7	39,09		0,04	3305,17	76018,91	76009,92	76,01	3,30	3304,78

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
3	106894,78	2652,11	106,89	3305,17	76018,91	51433,11	51,43	2,24	2236,22
4	90252,15		90,25	3305,17	76018,91	55260,92	55,26	2,40	2402,65
5	108719,77	1350,08	108,72	3305,17	76018,91	51013,36	51,01	2,22	2217,97
6	53618,96	811,93	53,62	3305,17	76018,91	63686,55	63,69	2,77	2768,98
7	29630,76		29,63	3305,17	76018,91	69203,84	69,20	3,01	3008,86

Anexos

Ác. Nítrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	177311,27	5270,34	177,31	3305,17	76018,91	35237,32	35,24	1,53	1532,06
2	126614,79	727,83	126,61	3305,17	76018,91	46897,51	46,90	2,04	2039,02
3	107219,84	2437,92	107,22	3305,17	76018,91	51358,35	51,36	2,23	2232,97
4	79983,86	1154,63	79,98	3305,17	76018,91	57622,62	57,62	2,51	2505,33
5	2565,32	347,44	2,57	3305,17	76018,91	75428,89	75,43	3,28	3279,52
6	351,77	5,92	0,35	3305,17	76018,91	75938,00	75,94	3,30	3301,65
7	138,59	1,92	0,14	3305,17	76018,91	75987,04	75,99	3,30	3303,78

Ác. Clorhídrico

pH	digestión ácida (µg/L)	desviación est.	digestión ácida (mg/L)	conc. total (mg/Kg)	contenido total disolución (µg)	en las la torta (µg)	en la torta (mg)	conc. final en torta (mg/g)	conc. final en torta (µg/g)
1	142228,64	796,57	142,23	3305,17	76018,91	43306,32	43,31	1,88	1882,88
2	121915,14	244,17	121,92	3305,17	76018,91	47978,43	47,98	2,09	2086,02
3	138771,71	347,63	138,77	3305,17	76018,91	44101,42	44,10	1,92	1917,45
4	100715,13	1603,98	100,72	3305,17	76018,91	52854,43	52,85	2,30	2298,02
5	19981,83	1231,13	19,98	3305,17	76018,91	71423,09	71,42	3,11	3105,35
6	1081,32	76,30	1,08	3305,17	76018,91	75770,21	75,77	3,29	3294,36
7	790,49	2,49	0,79	3305,17	76018,91	75837,10	75,84	3,30	3297,27

Anexo II Biolixiviación con *Aspergillus niger*. Concentración de cada mineral tras el proceso.

Cd

tiempo (días)	Control (mg/L)	HCOOH pH 4 (mg/L)	HCOOH pH 7 (mg/L)	dis. Cenizas (mg/L)
0	0,00	28,32	3,03	0,40
10	0,00	1,11	0,01	0,18
16	0,00	1,22	0,01	0,07
30	0,00	1,33	0,01	0,15
44	0,00	1,28	0,01	0,11

Co

tiempo (días)	Control (mg/L)	HCOOH pH 4 (mg/L)	HCOOH pH 7 (mg/L)	dis. Cenizas (mg/L)
0	0,46	4,74	1,06	30,59
10	0,28	3,49	0,55	19,09
16	0,35	2,73	0,01	8,92
30	0,38	2,63	0,02	7,16
44	0,36	2,68	0,01	8,04

Anexos

Cr

tiempo (días)	Control (mg/L)	HCOOH pH 4 (mg/L)	HCOOH pH 7 (mg/L)	dis. Cenizas (mg/L)
0	-0,03	2,42	-0,03	0,70
10	-0,03	1,06	0,05	0,36
16	-0,03	1,15	0,00	0,39
30	-0,03	1,29	-0,02	0,41
44	-0,03	1,22	-0,01	0,40

Cu

tiempo (días)	Control (mg/L)	HCOOH pH 4 (mg/L)	HCOOH pH 7 (mg/L)	dis. Cenizas (mg/L)
0	0,08	7,97	0,25	4,25
10	0,05	3,27	0,09	1,51
16	0,04	3,31	0,02	2,08
30	0,03	3,39	0,03	1,94
44	0,04	3,35	0,02	2,01

Anexos

Fe

tiempo (días)	Control (µg/L)	HCOOH pH 4 (µg/L)	HCOOH pH 7 (µg/L)	dis. Cenizas (µg/L)
0	284,71	6531,85	17,32	31936,83
10	249,42	3329,50	520,89	17741,36
16	326,91	2593,29	33,66	8301,29
30	358,82	2511,92	33,00	6808,17
44	342,86	2552,61	33,33	7554,73

K

tiempo (días)	Control (mg/L)	HCOOH pH 4 (mg/L)	HCOOH pH 7 (mg/L)	dis. Cenizas (mg/L)
0	32,59	2840,40	2197,23	1049,73
10	28,41	889,05	781,22	760,84
16	28,50	897,97	802,93	672,43
30	36,52	985,60	912,45	913,73
44	32,51	941,79	857,69	793,08

Mg

tiempo (días)	Control (mg/L)	HCOOH pH 4 (mg/L)	HCOOH pH 7 (mg/L)	dis. Cenizas (mg/L)
0	0,47	745,01	623,86	700,48
10	0,11	490,38	378,00	295,49
16	0,58	508,41	374,81	311,98
30	0,64	548,93	354,43	346,86
44	0,61	528,67	364,62	329,42

Mn

tiempo (días)	Control (mg/L)	HCOOH pH 4 (mg/L)	HCOOH pH 7 (mg/L)	dis. Cenizas (mg/L)
0	0,02	370,28	0,33	108,40
10	0,01	167,73	0,93	76,14
16	0,01	175,16	0,56	31,94
30	0,01	193,18	0,11	8,81
44	0,01	184,17	0,34	20,38

Ni

tiempo (días)	Control (mg/L)	HCOOH pH 4 (mg/L)	HCOOH pH 7 (mg/L)	dis. Cenizas (mg/L)
0	-0,15	1,50	0,38	0,84
10	-0,14	0,41	0,26	0,41
16	-0,14	0,72	0,27	0,35
30	-0,14	0,82	0,39	0,97
44	-0,14	0,77	0,33	0,66

Pb

tiempo (días)	Control (µg/L)	HCOOH pH 4 (µg/L)	HCOOH pH 7 (µg/L)	dis. Cenizas (µg/L)
0	-14,97	826,82	84,70	487,27
10	-83,04	94,09	-21,20	241,25
16	-80,22	104,72	-39,08	31,54
30	-55,15	119,94	-42,81	14,06
44	-67,69	112,33	-40,95	22,80

Zn

tiempo (días)	Control (mg/L)	HCOOH pH 4 (mg/L)	HCOOH pH 7 (mg/L)	dis. Cenizas (mg/L)
0	-0,04	116,32	0,39	43,29
10	-0,09	49,84	-0,12	19,25
16	-0,09	52,66	-0,14	7,10
30	0,24	57,24	-0,14	2,26
44	0,39	63,78	-0,30	2,59

Anexo III Biolixiviación con *Rodothorula mucilaginosa* y *Candida lipolytica*. Concentración de cada mineral tras el proceso.

Cd

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
4	2691,22	31,01	2322,44	22,77	2748,41	74,27	1300,65	158,29	1519,21	
5	2045,82	20,14	1682,99	13,25	1401,54	18,34	562,45	78,22	858,64	208,17
6	2,78		1301,78	20,93	957,04	13,12	627,58		569,58	61,69
7	31,66	0,17	493,54	12,07	448,90	2,97	493,51	242,39	209,05	2,22

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
5	2831,72	37,81	2378,76	18,28	2202,66	51,86	827,01	27,84	697,35	5,45
6	2030,86		2097,53	2,84	1499,84	38,74	532,04	45,99	700,91	134,35
7	303,06		472,54	12,14	462,32	25,67	929,96	122,96	415,19	275,13

Anexos

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
3	2200,55	56,95	2739,48	2,29	2886,15	83,04	47,01	2,63	818,99	477,87
4	1798,81		2251,06		2401,33	15,88	327,96		685,25	102,03
5	2153,73	26,62	2144,44	3,20	2663,84	14,25	252,74	0,79	549,01	56,29
6	1168,58	14,68	1197,20		1611,84	16,01	34,25			
7	715,29				865,11				25,47	

HNO3

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)
1	4887,83	223,19	5994,81		
2	3100,01	23,95	5694,09	128,84	71,15
3	2890,73	47,93	3701,86		
4	2723,46	38,03	3178,60	36,21	696,32
5	832,48	86,93			
6	457,74	0,63	248,32		173,07
7	224,29	2,10	212,92		19,61

HCl

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	3314,24	49,32	3133,92	12,20	2902,96	9,00	137,42	92,80	250,41	
2	2893,84	3,00	3177,50	10,00	2962,75		124,86	6,17	749,19	416,27
3	3401,85	1,87	3468,90	27,55	3367,05	24,21	788,01	103,23	654,81	365,06
4	2773,24	26,34	2743,28	47,08	3048,62	24,46	607,89	162,84	679,29	408,39
5	3022,74	9,20	3467,73	13,69	3350,05	17,31	602,93	135,82	592,77	101,13
6	2299,70	73,43	2034,93	40,80	2290,37	15,67	397,02	183,47	150,02	27,04
7	1100,04	106,40	1144,17	108,83	1234,23	124,06	568,36		31,41	13,68

Anexos

Cr

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
4	6107,85	849,34	1164,16		1992,93	2683,17	9387,89	6607,86	30,10	
5	2,54	2,60	100,03	0,94	4,20	0,79	369,27	35,13	208,97	83,81
6	-26,50	1,41	-193,39	2,14	-28,69	0,18	714,62		301,99	60,56
7	-9,25	1,13	-86,68	2,46	-25,79	0,64	232,16	32,26	125,21	3,15

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
5	12,50	3,37	830,87	1,11	52,34	1,53	55,76	12,81	21,03	10,80
6	-0,17	0,15	610,50		-22,39	0,12	61,77	26,27	63,65	39,25
7	6,78	0,92	136,27	1,15		0,21	231,45	42,86	52,71	48,36

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
3	509649,58	10144,64	582944,58	1020,91	613485,09	15548,68	8230,39	335,13	183584,25	104413,66
4	160493,45		439713,77		427519,78	5294,45	50033,54		127822,42	28453,70
5	119746,19	7247,54	97074,76	705,81	280327,64	13916,01	36272,08	136,79	73638,38	25473,26
6	14309,03	322,47	14788,63		21902,95	779,14	841,92			
7	10314,45				12120,22				397,72	

HNO3

Anexos

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	470200,63	48799,28	401931,06			
2	76572,82	1985,06	125531,04	1034,93	35240,16	1089,49
3	474,56	63,80	329,40			
4	-7,63	0,37	-0,78	0,70	2177,81	52,91
5	-22,01	1,65				
6	-20,88	0,81	-0,93		172,92	
7	-1,35	2,17	2,00		156,19	

HCl

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	623288,82	12201,07	469438,08	30772,65	548012,41	14259,30	30128,75	18867,15	55305,43	
2	97125,83	9067,09	90213,81	7405,08	131338,14		88156,44	55848,91	176560,32	114961,06
3	4771,63	112,61	708,31	78,60	1757,15	230,86	6595,70	1217,84	116996,22	77748,33
4	249,15	14,08	77,72	6,45	7,71	15,25	1976,96	1081,02	3970,34	2552,80
5	-23,66	1,51	9,92	0,64	-86,89	1,38	2009,21	1216,45	1803,70	1069,00
6	61,72	8,18	4,97	1,57	-37,29	0,49	1350,68	709,83	1871,38	727,31
7	-55,37	3,58	3,98	0,41	-50,22	0,77	124,20		1241,71	788,85

Anexos

Cr

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
4	2421,16	86,89	2199,67	80,00	3127,62	115,48	1214,11	331,93	974,02	
5	1275,15		733,88	64,61	906,52	60,50	445,68	20,90	497,33	113,93
6	-42,83		-67,03		-89,13	7,06	532,26		607,35	129,09
7	-28,43		151,08	6,14	159,16	5,54	119,82	6,38	125,32	0,85

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
5	153,53	0,40	151,40		77,50	1,47	45,75	10,62	41,60	10,03
6			302,99		301,38		159,94	88,50	215,61	114,72
7	364,20	33,41	570,25	3,07	591,71	10,28	314,98	50,72	183,15	138,09

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
3	3123,52	76,12	3537,11	0,32	3695,08	100,10	31,20	1,39	1001,41	565,01
4	1720,43		2679,45		2831,80	6,56	418,14		808,92	135,79
5	1684,12	33,26	1639,39	11,62	1835,29	29,81	412,86	1,64	662,18	102,99
6	1276,88	1,10	1123,00		1516,06	12,38	5,87			
7	1244,48				1383,10				39,22	

Anexos

HNO3

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	3565,72	177,72	3601,39			
2	1869,62	37,02	2925,59	34,34	143,86	2,73
3	46,84	15,25	492,10			
4	350,65	57,77	0,64	7,89	598,12	45,11
5	341,61	51,37				
6	52,15	9,20	501,18		332,00	
7	333,99	30,48	113,86		14,04	

HCl

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	3294,24	6,46	3166,38	1,33	3477,82	9,34	140,94	106,25	283,65	
2	2523,96	17,48	2794,88	21,33	2851,43		221,64	30,51	880,05	305,34
3	1660,38	0,17	1294,72	5,03	1609,34	43,52	1181,66	130,84	600,65	212,57
4	814,77	46,90	610,96	22,68	435,96	15,75	781,05	443,01	1407,23	966,63
5	101,13	6,40	-65,96	4,36	-52,13	4,56	1808,07	327,57	1715,61	88,19
6	257,59	2,94	171,91	2,74	290,14	3,36	623,67	132,70	272,81	74,92
7	181,54	8,92	176,27	5,63	176,17	4,18	468,10		15,22	9,75

Anexos

Cu**Ác. Fórmico**

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
4	7973,56	242,89	7673,55	257,76	7227,08	229,95	2666,85	693,25	1867,36	
5	2316,56	240,98	2731,61	133,39	2829,64	116,77	937,64	14,55	762,19	196,18
6	58,39	2,22	494,59	9,40	377,63	7,86	621,61		443,88	64,24
7	24,59	1,58	101,15	5,15	2,18	1,50	113,85	27,09	104,52	0,88

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
5	4256,76	46,71	3396,21	40,41	3287,55	63,70	841,54	8,83	964,72	31,71
6	136,15	13,28	900,51	17,48	1164,01	43,69	369,05	42,48	302,99	2,58
7	4,56	4,61	106,58	4,77	120,30	2,05	101,27	8,08	85,65	58,82

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
3	6966,57	195,66	5799,66	23,65	9369,43	302,02	613,98	8,52	1635,50	783,94
4	5111,38		5863,34		7348,92	8,43	1286,06		1417,11	211,84
5	5728,20	49,80	4931,78	35,69	7767,38	83,35	1048,44	18,40	1672,30	270,13
6	2597,94	47,39	2731,57		3951,66	7,28	478,91			
7	1424,46				1901,05				75,18	

Anexos

HNO3

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	14244,52		10924,84			
2	8157,90	901,85	8320,71	119,36	374,90	1,55
3	5372,81		5691,20			
4	2342,31	206,24	1969,90	97,09	774,16	56,42
5	163,25					
6	78,61	6,13	143,01		286,76	
7	147,72	16,14	234,38		241,00	

HCl

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	11432,87	894,71	10375,18	13,88	9427,32	77,93	321,96	206,43	708,21	
2	8972,63	802,27	9284,72	165,05	9498,60		440,83	23,47	1747,42	923,05
3	6463,49	608,58	6999,70	11,47	6153,22	76,96	1711,61	357,23	1238,28	570,11
4	3804,41	340,55	3837,74	105,68	3721,75	88,42	763,97	76,95	1019,12	583,01
5	135,23	15,62	156,19	3,96	18,14	5,70	228,96	15,84	228,06	4,23
6	53,68	9,47	94,72	1,05	7,71	3,04	318,07	125,00	137,99	27,10
7	37,01	9,29	92,92	0,44	8,96	3,12	101,29		40,33	12,71

Fe**Ác. Fórmico**

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
4	6531,85	911,03	715,78		11351,42	1555,55	8313,05	5826,44	74,79	
5	43,38	2,35	50,42		47,34	1,39	392,10	31,82	230,78	78,20
6	68,54	0,52	40,82		27,92	0,58	738,41		308,92	42,03
7	17,32		8,35		20,57	0,45	239,72	39,87	138,66	4,75

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
5	76,02	4,18	125,52	1,20	85,70	2,42	74,82	12,46	36,63	10,06
6	28,15	0,85	68,95		23,32	0,16	71,51	21,80	77,78	40,25
7	379,96		40,00	1,17	17,25	0,77	251,41	41,24	66,48	43,29

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
3	507325,39	10170,04	546548,36	436,79	514031,58	13592,25	7691,19	304,84	188832,21	107374,48
4	172452,59		396720,37		322382,44	4887,37	46975,73		133400,58	30281,77
5	150349,77	10920,26	91290,67	718,84	276809,37	12929,32	33730,06	74,96	75926,00	26119,01
6	14350,02	297,44	13961,95		21229,64	654,91	817,03			
7	10594,89				12112,00				395,01	

Anexos

HNO3

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	457395,45	47599,03	441351,34			
2	75678,44	2138,58	72728,91	1163,55	33188,78	1091,48
3	544,51	64,39	371,51			
4	73,53	4,28	49,03	2,24	2051,06	46,70
5	26,00	0,88				
6	19,42	0,45	4,56		163,43	
7	43,16	3,04	37,62		164,08	

HCl

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	584881,73	11357,36	453636,79	29752,54	546975,38	14360,44	30469,89	19125,88	58740,60	
2	93558,52	8778,37	87707,65	7027,03	76384,60		89447,44	56347,77	172297,94	111421,09
3	4731,82	101,47	786,16	77,04	1886,92	218,38	6599,84	1029,07	116802,89	77575,46
4	337,33	11,48	83,39	10,56	167,24	14,03	2058,13	1111,96	3915,16	2493,37
5	30,51	2,19	59,89	0,43	37,34	0,10	2061,01	1237,53	1899,08	1122,88
6	125,19	4,58	38,50	0,21	39,52	1,11	1366,38	700,14	1856,99	722,59
7	-3,77	0,30	27,35	2,45	23,85	2,05	134,78		1247,61	786,52

Mn

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (mg/L)	des. Estándar (mg)	rhodotorula (mg/L)	des. Estándar (mg)	candida (mg/L)	des. Estándar (mg)	Rhod. Desorción (mg/L)	des. Estándar (mg)	Candida Desorción (mg/L)	des. Estándar (mg)
4	370,28	15,93	367,70	15,97	376,43	22,68	190,13	64,50	133,42	0,00
5	176,17	4,58	160,97	4,00	170,06	4,41	36,96	10,87	54,49	23,52
6	22,93	3,11	16,16	0,25	19,22	1,90	44,35	0,00	48,23	9,66
7	0,33	0,04	0,66	0,06	0,80	0,06	8,00	0,64	7,56	1,18

Ác. Acético

pH	digestión ácida (mg/L)	des. Estándar (mg)	rhodotorula (mg/L)	des. Estándar (mg)	candida (mg/L)	des. Estándar (mg)	Rhod. Desorción (mg/L)	des. Estándar (mg)	Candida Desorción (mg/L)	des. Estándar (mg)
5	174,76	6,03	154,50	1,54	119,73	3,89	39,99	2,35	37,88	2,61
6	60,89	5,14	99,51	2,37	96,29	3,10	18,90	2,98	24,63	5,92
7	27,09	1,55	35,46	0,12	34,71	0,26	12,86	2,56	5,25	3,63

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (mg/L)	des. Estándar (mg)	rhodotorula (mg/L)	des. Estándar (mg)	candida (mg/L)	des. Estándar (mg)	Rhod. Desorción (mg/L)	des. Estándar (mg)	Candida Desorción (mg/L)	des. Estándar (mg)
3	721,38	21,52	725,28	0,61	695,75	27,09	2,87	0,62	258,91	152,63
4	518,14	0,00	544,41		558,26	3,45	22,02		195,39	34,71
5	612,53	12,90	497,48	1,46	601,10	11,23	12,57	0,38	151,97	25,55
6	322,86	4,75	313,28		284,00	4,93	1,46			
7	188,42				188,79				6,62	

Anexos

HNO3

pH	digestión ácida (mg/L)	des. Estándar (mg)	rhodotorula (mg/L)	des. Estándar (mg)	Rhod. Desorción (mg/L)	des. Estándar (mg)
1	595,65	30,90	442,72			
2	307,55	1,23	229,45	9,39	11,51	0,09
3	265,79	2,68	22,47			
4	226,81	1,58	498,07	31,82	63,93	4,51
5	110,69	6,53				
6	114,87	0,41	62,23		10,81	
7	70,40	0,63	80,37		6,34	

HCl

pH	digestión ácida (mg/L)	des. Estándar (mg)	rhodotorula (mg/L)	des. Estándar (mg)	candida (mg/L)	des. Estándar (mg)	Rhod. Desorción (mg/L)	des. Estándar (mg)	Candida Desorción (mg/L)	des. Estándar (mg)
1	673,57	2,11	732,41	4,82	689,65	2,50	28,00	19,56	55,35	
2	370,19	8,77	433,11	9,67	485,54		19,87	3,60	117,09	61,95
3	379,94	4,24	437,28	8,60	419,81	3,34	95,40	4,23	82,88	31,70
4	245,15	4,13	258,94	5,09	288,31	3,91	48,59	10,66	68,48	41,50
5	189,20	3,08	222,88	3,64	220,30	3,58	45,22	16,62	39,61	9,48
6	134,11	6,27	126,40	4,71	135,52	4,53	28,59	15,69	10,74	3,38
7	46,05	5,19	48,81	5,36	59,46	6,75	4,30		1,96	

Anexos

Ni**Ác. Fórmico**

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
4	1503,42		1551,03	26,37	1362,93	43,10	916,25	138,83	1178,53	
5	1229,42	10,77	1230,72	7,06	1210,90	10,77	336,12	72,34	548,15	245,83
6	1046,34		1265,47	1,90	1264,03	5,49	481,89		464,56	55,69
7	376,70	1,18	649,61	6,74	343,77	5,40	68,22	25,26	80,92	12,01

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
5	1143,07	59,11	1248,65	7,37	1115,43	37,41	481,14	4,28	406,41	9,71
6	740,99	14,62	805,38	30,91	990,77	43,29	252,45	35,20	352,36	119,49
7	258,22		284,72	20,11	317,91	15,21	50,42	6,42	-8,39	31,99

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
3	-1571,77	20,68	-2735,49	4,59	-1080,93	33,84	-320,85		463,72	391,65
4	1029,26		994,40		1098,34	33,42	-13,43		546,93	139,19
5	1609,51	40,62	1349,93	18,40	1619,63	28,64	-222,33		378,19	60,17
6	1543,16	22,01	1446,37		1527,47	39,67	-264,09			
7	1200,76				1136,40				3,41	

Anexos

HNO3

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)
1	2097,15	84,37	2259,67		591,58
2	1338,20	26,90	1685,95	215,48	-476,74
3	1223,07	17,68	1408,59		208,81
4	800,49	96,73	1715,08	6,38	150,39
5	874,65	57,51			
6	983,13	6,39	373,43		-261,16
7	644,72	4,23	702,23		-250,57

HCl

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	-3880,22	69,82	-3333,59	12,72	-3412,60	146,21	-102,27	26,36	-228,39	
2	-4617,32	40,52	-4698,47	24,92	-3604,84		-163,66	20,89	432,31	390,20
3	-1202,88	58,30	1852,92	94,69	2296,04	187,90	506,26	5,58	330,90	283,09
4	-879,34	168,53	1118,22	33,11	1224,19	69,25	292,54	96,17	426,67	307,24
5	1348,56	31,89	1661,09	32,72	1640,18	35,61	288,90	105,15	250,11	81,02
6	896,99	37,12	865,71	22,09	1005,65	11,78	250,30	185,09	30,10	35,83
7	676,53		341,34	56,77	883,46	65,38	52,50		-29,26	9,19

Anexos

Pb

Ác. Fórmico										
pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
4	826,82	72,87	295,41	18,54	595,92	22,92	227,51	47,37	346,82	
5	294,20	16,06	116,13	2,99	293,64	3,52	124,29	10,67	187,98	100,48
6	192,48	2,06	140,18		297,29	1,21	62,77		55,63	19,00
7	84,70	0,73	123,24	6,75	213,16	2,37	37,74	25,27	122,39	75,14
Ác. Acético										
pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
5	558,11	0,66	502,74	21,88	430,77	8,26	183,07	10,83	131,88	0,72
6	179,80	1,54	339,19	6,58	316,71	4,64	85,04	16,34	164,69	61,57
7	81,60	2,01	111,36	3,27	175,86	1,70	18,74	0,28	364,30	209,40
Ác. Láctico										
pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
3	3105,85	27,19	3153,66	11,26	3300,41	31,21	31,38	0,03	1121,18	690,48
4	2480,75		3061,66		3060,78	25,72	366,06		931,46	217,88
5	970,67		994,44	9,83	2262,12	20,08	333,56	5,50	597,93	97,81
6	213,50	4,30	283,73		471,11	9,20	-47,59			
7	160,75				333,63				0,13	

Anexos

HNO3

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	2342,13	171,55	1834,77		102,49	
2	562,28	8,28	1228,20	21,83	82,13	2,86
3	183,68	7,18	166,51			
4	273,93	17,45	254,72	0,20	44,73	8,25
5	84,19	4,52				
6	84,08	0,05	106,59		-32,27	
7	60,92	0,41	149,25		-44,02	

HCl

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	5225,01	23,38	3968,68	72,91	4408,52	15,69	558,25	77,83	471,70	
2	2000,08	130,54	1883,73	131,60	2997,29		173,31	88,75	410,88	102,81
3	507,06	3,01	427,93	7,17	564,25	6,76	129,10	28,63	306,44	59,45
4	266,52	4,68	130,98	9,30	364,53	7,84	138,08	21,44	60,91	2,12
5	138,20	2,52	61,50	2,39	257,82	2,60	135,38	25,74	117,34	11,34
6	95,81	3,13	138,40	2,85	204,16	0,24	101,44	10,95	66,29	4,92
7	35,11	3,66	120,20	3,58	155,66	4,86	73,48		16,77	6,37

Anexos

Zn

Ác. Fórmico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
4	116318,61	2440,26	78440,21	2779,07	144173,04	4640,06	51846,54	10295,87	56540,35	
5	51708,98	2728,59	30759,77	2567,27	49688,79	2869,78	13774,07	3209,04	20631,40	9406,45
6	16519,76	587,27	5308,60	153,78	8284,97	243,04	10176,63		10169,99	1142,50
7	386,15	5,17	184,41		165,37		353,65	50,70	539,64	95,58

Ác. Acético

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
5	60805,05	411,05	49764,71	910,16	53360,57	1316,12	18821,97	126,82	16772,66	172,17
6	10970,83	220,37	9738,20	290,22	13120,25	476,56	3520,50	390,46	4820,04	1257,61
7	39,09		7,46	6,96	-111,27	7,87	491,51	15,54	281,54	213,52

Ác. Láctico

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
3	106894,78	2652,11	106842,54	18,88	105420,36	3681,04	2748,48	130,19	41836,71	24827,86
4	90252,15		101396,88		100736,29	761,21	26968,23		34033,56	5286,10
5	108719,77	1350,08	101515,53	48,90	92750,31	758,97	14019,92	27,77	24868,70	2602,52
6	53618,96	811,93	56556,36		70141,03	929,81	1919,62			
7	29630,76				33103,67				989,03	

Anexos

HNO3

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	177311,27	5270,34	172948,85		4790,79	
2	126614,79	727,83	160740,00	6482,24	3454,89	27,83
3	107219,84	2437,92	100452,97		10892,62	
4	79983,86	1154,63	100588,54	1951,66	26776,69	2056,63
5	2565,32	347,44				
6	351,77	5,92	33,77		806,65	
7	138,59	1,92	108,87		-26,08	

HCl

pH	digestión ácida (µg/L)	des. Estándar (µg)	rhodotorula (µg/L)	des. Estándar (µg)	candida (µg/L)	des. Estándar (µg)	Rhod. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)	Candida. Desorción (µg/L)	des. Estándar (µg)
1	142228,64	796,57	137478,81	75,10	128040,23	66,67	5864,40	3780,30	11491,27	
2	121915,14	244,17	132267,85	690,00	130732,28		5516,08	306,72	32679,12	18105,07
3	138771,71	347,63	136901,76	1304,52	136901,23	1182,67	33131,43	2075,39	26747,48	14162,20
4	100715,13	1603,98	97413,95	2375,23	110417,33	2039,12	20932,13	4731,48	27893,31	16831,61
5	19981,83	1231,13	19786,43	1540,83	20153,60	1415,60	10401,73	95,77	7356,48	927,82
6	1081,32	76,30	751,31	54,52	986,24	69,42	4286,00	2494,39	1635,38	720,55
7	790,49	2,49	-104,46	7,99	-41,27	18,04	939,73		209,83	137,17