

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

CARRERA:
INGENIERÍA AMBIENTAL

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERO AMBIENTAL

TEMA:
EVALUACIÓN DE LA BIOADSORCIÓN DE PLOMO POR *Saccharomyces cerevisiae*
EN AGUA SINTÉTICA A ESCALA DE LABORATORIO

AUTOR:
BYRON ANDRÉS MORALES ARIAS

TUTORA:
PATRICIA MARIBEL GUTIÉRREZ SALAZAR

Quito, marzo del 2021

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Byron Andrés Morales Arias con documento de identificación N° 172340677-1, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación intitulado: EVALUACIÓN DE LA BIOADSORCIÓN DE PLOMO POR *Saccharomyces cerevisiae* EN AGUA SINTÉTICA A ESCALA DE LABORATORIO, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: INGENIERO AMBIENTAL, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



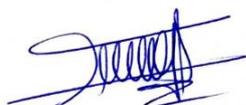
.....
Byron Andrés Morales Arias
172340677-1

Quito, marzo de 2021

DECLARATORIA DE COAUTORÍA DEL DOCENTE TUTORA

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el Trabajo Experimental, **EVALUACIÓN DE LA BIOADSORCIÓN DE PLOMO POR *Saccharomyces cerevisiae* EN AGUA SINTÉTICA A ESCALA DE LABORATORIO** realizado por Byron Andrés Morales Arias, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerado como trabajo final de titulación.

Quito, marzo de 2021



.....

Patricia Maribel Gutiérrez Salazar

1718427220

DEDICATORIA

*A Dios por ser mi fuente de paz y armonía y así darme fuerzas
para terminar todo lo que me propongo en mi vida.*

*A mis padres, por ser el motor que me alienta
a ser mejor persona y por brindarme
su amor y cariño.*

*A mis hermanos, por ser el apoyo para seguir
luchando por mis sueños.*

*A mi familia, por apoyarme en ciertas circunstancias
de mi vida de las cuales sin sus consejos
no hubiese podido superarlas.*

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres por su apoyo incondicional, buenos consejos y no dejarme caer cuando las cosas se podían difíciles, debido a que me inculcaron que con esfuerzo, perseverancia y dedicación todo puede ser posible. Gracias a ustedes soy la persona que me he convertido, ya que son y serán mi mayor fuente de energía para seguir logrando todas mis metas.

A mi hermano Francisco por escucharme cuando más lo necesitaba y por sus valiosos consejos que me han ayudado a afrontar varias circunstancias difíciles. A mi hermana Danna por ser la alegría de mi vida, ya que basta una sonrisa y abrazo de ella para darme la energía suficiente para seguir luchando por todos mis sueños.

A mi tutora de tesis, Ing. Patricia Gutiérrez, porque desde el principio confió en mis capacidades y gracias a su conocimiento, dedicación y virtudes, pude concluir esta investigación. También el apoyo, paciencia y tiempo que se tomó para explicarme las cosas que no comprendía y así forjarme como un buen profesional.

Al personal del laboratorio de la carrera de ingeniería ambiental, por su apoyo y acogida para el desarrollo de la parte experimental de la investigación, especialmente al Ing. Carlos Vélez, ya que por su preparación y conocimientos me pudo ayudar en el manejo adecuado de reactivos, equipos e instrumentos para obtener resultados favorables para mi investigación.

A mis profesores y amigos David y Bismarck, con los que pude compartir gratos momentos de los cuales he sacado valiosas lecciones que me van a ayudar en mi vida personal y profesional.

A mi enamorada, Cristina por su apoyo incondicional, ya que supo cómo alentarme en los momentos más difíciles. Gracias por ser mi fuerza y aliento para ser una mejor persona cada día.

ÍNDICE

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR.....	ii
DECLARATORIA DE COAUTORÍA DEL DOCENTE TUTORA.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE ECUACIONES	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1. Objetivo General	4
2.2. Objetivos Específicos.....	4
3. MARCO TEÓRICO	5
3.1. Plomo	5
3.2. Afectaciones en el Ambiente.....	5
3.3. Efectos en la Salud Humana.....	9
3.4. Biorremediación	12
3.4.1. Micorremediación	13
3.4.2. Bioadsorción	15
3.4.1. Determinación del Plomo	16
3.5.1. Isotermas de Equilibrio	17
3.5.2. Isoterma de Langmuir	17
3.5.3. Isoterma de Freundlich	19
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
4.1. Diseño de Investigación	21
4.2. Adquisición del Bioadsorbente	21
4.3. Activación del Bioadsorbente (Levadura).....	21
4.3.1. Preparación de los Instrumentos	21
4.3.2. Conteo en Cajas Petri.....	22
4.3.3. Conteo por Cámara Neubauer.....	26
4.4. Preparación del Equipo de Espectroscopia de Adsorción Atómica.....	29

4.5.	Calibración del Plomo.....	30
4.6.	Realización de los Ensayos	30
4.7.	Muestreo de los Ensayos	33
4.8.	Conteo de Células Viables	34
4.9.	Cálculo de las Isotermas de Bioadsorción.....	35
4.10.	Cálculo del Porcentaje de Bioadsorción	35
4.11.	Materiales	36
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
5.1.	Cinética de Crecimiento de la <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	37
5.1.1.	Cámara Neubauer.....	38
5.1.2.	Caja Petri.....	39
5.2.	Determinación la Curva de Calibración de Plomo	40
5.3.	Determinación de Tiempo y pH Óptimo para la Bioadsorción del Plomo	41
5.4.	Establecer la Eficiencia de Bioadsorción del Plomo por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	45
5.4.1.	Análisis Estadístico	48
5.5.	Determinar Isoterma de Bioadsorción.....	54
5.5.1.	Isoterma de Langmuir	54
5.6.	Establecer el Número de Células Viables	59
5.7.	Discusión.....	62
6.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	64
6.1.	Conclusiones	64
6.2.	Recomendaciones.....	65
7.	BIBLIOGRAFÍA	66
8.	ANEXOS	70

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1 Síntomas en niños y adultos.....	11
Tabla 2 Signos y síntomas de exposición continua al plomo	11
Tabla 3 Materiales, reactivos y equipos	36
Tabla 4 Cinética de crecimiento en la cámara neubauer	38
Tabla 5 Cinética de crecimiento por caja petri	39
Tabla 6 Eficiencia de la bioadsorción en pH 2.5	46
Tabla 7 Eficiencia de la bioadsorción en pH 5.1	47
Tabla 8 Eficiencia de la bioadsorción en pH 6.6.....	48
Tabla 9 Análisis de Varianza para el experimento de 3 factores	49
Tabla 10 Análisis de Varianza para Porcentaje de biosorción.....	50
Tabla 11 Parámetros de aplicación para el método lineal Langmuir para un tiempo 300 y pH 2.5	55
Tabla 12 Parámetros de aplicación para el método lineal Langmuir para un tiempo 300 y pH 5.1	56
Tabla 13 Parámetros de aplicación para el método lineal Langmuir para un tiempo 300 y pH 6.6	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Autoclave	21
Figura 2 Medio de cultivo.....	22
Figura 3 Medio de cultivo ya preparado	23
Figura 4 Preparación de la levadura.....	23
Figura 5 Esquema de la preparación de la dilución	24
Figura 6 Siembra de levadura en caja petri	25
Figura 7 Etiquetado de las cajas petri.....	25
Figura 8 Colocación de las cajas petri en la incubadora.....	26
Figura 9 Cámara neubauer	27
Figura 10 Cámara neubauer en el microscopio	27
Figura 11 Metodología de conteo en cámara neubauer	28
Figura 12 Cuadrantes de la cámara neubauer	28
Figura 13 Espectroscopia de absorción atómica.....	29
Figura 14 Esquema de los ensayos.....	32
Figura 15 Decantación de la levadura	33
Figura 16 Ensayos en el EAA	34
Figura 17 Células viables y no viables.....	34
Figura 18 Curva de crecimiento de la levadura por cámara neubauer	39
Figura 19 Curva de crecimiento de la levadura en cajas petri	40
Figura 20 Gráfica de la curva de calibración del plomo.....	41
Figura 21 Bioadsorción en concentración de 5 ppm	42
Figura 22 Bioadsorción en concentración de 10 ppm	43
Figura 23 Bioadsorción en concentración de 15 ppm	44
Figura 24 Bioadsorción en concentración de 20 ppm	45
Figura 25 Gráfico de interacciones AB.....	52
Figura 26 Gráfico de interacciones AC.....	53
Figura 27 Gráfico de interacciones BC	54
Figura 28 Isotherma de Langmuir para un tiempo de 300 min y pH 2.5	56
Figura 29 Isotherma de Langmuir para un tiempo de 300 min y pH 5.1	57
Figura 30 Isotherma de Langmuir para un tiempo de 300 min y pH 6.6.....	58
Figura 31 Células viables en un tiempo de 5 minutos	59
Figura 32 Células viables en un tiempo de 30 minutos	60
Figura 33 Células viables en un tiempo de 120 minutos	61
Figura 34 Células viables en un tiempo de 300 minutos	62

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Cálculo tasa de bioadsorbente del metal	17
Ecuación 2 Isoterma de Langmuir	18
Ecuación 3 Forma lineal de Langmuir	19
Ecuación 4 Factor adimensional de la isoterma de Langmuir	19
Ecuación 5 Isoterma de Freundlich.....	20
Ecuación 6 Fórmula para el cálculo de levaduras por caja petri.....	26
Ecuación 7 Fórmula general para el conteo en cámara Neubauer	28
Ecuación 8 Concentración y equilibrio químico	30
Ecuación 9 Función de la recta	30
Ecuación 10 Cálculo de la eficiencia de bioadsorción	35
Ecuación 11 Número de generaciones	37
Ecuación 12 Velocidad de crecimiento	37
Ecuación 13 Tiempo de generación	38

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A Unidades formadoras de colonia	70
ANEXO B Conteo de número de células por cámara neubauer	72
ANEXO C Total de porcentajes de bioadsorción en pH 2.5	74
ANEXO D Total de porcentajes de bioadsorción en pH 5.1	76
ANEXO E Total de porcentajes de bioadsorción en pH 6.6.....	78
ANEXO F Gráfica de la toma de muestra de la calibración de plomo	80
ANEXO G Bioadsorción de plomo en concentración de 5 ppm	80
ANEXO H Bioadsorción de plomo en concentración de 10 ppm	81
ANEXO I Bioadsorción de plomo en concentración de 15 ppm	81
ANEXO J Bioadsorción de plomo en concentración de 20 ppm.....	82
ANEXO K Número de células viables en un tiempo de 5 minutos	82
ANEXO L Número de células viables en un tiempo de 30 minutos	83
ANEXO M Número de células viables en un tiempo de 120 minutos	83
ANEXO N Número de células viables en un tiempo de 300 minutos	84

RESUMEN

En el presente trabajo se tiene como objetivo medir la capacidad de bioadsorción de *Saccharomyces cerevisiae* (levadura comercial) para la remoción del Pb. En el proceso de bioadsorción se evaluaron parámetros como pH (2.5, 5.1 y 6.6), el tiempo de contacto (5, 30, 120 y 300 minutos) y diferentes concentraciones de Pb (5, 10, 15 y 20 ppm). La investigación consistió en determinar la cinética de crecimiento de la levadura para conocer cuanta cantidad de levadura (bioadsorbente) usar en el agua con plomo. La lectura sobre la concentración de plomo se realizó en el equipo de Espectroscopia de Adsorción Atómica (EAA). Para obtener la retención máxima del metal (Q_{max}) se usó el modelo isotérmico de Langmuir a una temperatura ambiente donde se obtuvo un valor de 7.89 mg de Pb/g de levadura. La concentración que mayor porcentaje de bioadsorción presentó fue en 5 ppm, en el cual se removió un 96.4% a un pH de 5.1 y un tiempo de 120 minutos. Se concluyó que la levadura tiene una alta capacidad de bioadsorción de Pb, sin embargo, cuando se supera los 15 ppm de plomo en el agua baja la tasa de remoción.

PALABRAS CLAVES: Bioadsorbente, Bioadsorbato, Levadura, Concentración, Eficiencia

ABSTRACT

The present work aims to measure the bioadsorption capacity of *Saccharomyces cerevisiae* (commercial yeast) for Pb removal. In the bioadsorption process, parameters such as pH (2.5, 5.1 and 6.6), contact time (5, 30, 120 and 300 minutes) and different Pb concentrations (5, 10, 15 and 20 ppm) were evaluated. The research consisted in determining the growth kinetics of the yeast to know how much yeast (bioadsorbent) to use in the leaded water. The reading of the lead concentration was done in the Atomic Adsorption Spectroscopy (AAS) equipment. To obtain the maximum retention of the metal (Q_{max}) the isothermal model of Langmuir was used at a room temperature where a value of 7.89 mg Pb/g of yeast was obtained. The concentration with the highest percentage of bioadsorption was 5 ppm, in which 96.4% was removed at a pH of 5.1 and a time of 120 minutes. It was concluded that the yeast has a high capacity of Pb bioadsorption, however, when it exceeds 15 ppm of lead in the water, the removal rate decreases.

KEY WORDS: Bioadsorbent, Bioadsorbate, Yeast, Concentration, Efficiency

1. INTRODUCCIÓN

A partir de la década de los 20' la principal industria de la contaminación de plomo fue la automotriz por las naftas (tetraetilo y tetrametilo de plomo). Las afectaciones que estas industrias producen alteran a los efluentes de agua, convirtiéndose en un foco de contaminación dado a su alta propagación hacía los demás recursos (Burger y Román, 2010; Novillo y Vélez, 2015).

El plomo (Pb) al ser consumido en altas concentraciones puede llegar a tener graves afectaciones en la salud humana, desde un dolor de estómago hasta caer en coma o incluso causar la muerte (Cruz, 2020).

En la actualidad existen varios métodos de remoción de plomo de los efluentes que son manejados en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Para cumplir con la norma establecida, estas aguas deben pasar por un tratamiento terciario como osmosis inversa, precipitación química, entre otras; estos métodos de descontaminación pueden llegar a tener precios muy elevados debido a su alta inversión. Es por esto que se ha planteado diferentes alternativas para tratar estas aguas contaminadas con plomo a través del uso de biomasa viva o muerta, siendo esta metodología una de las más viables debido a su bajo costo (Moreno y Ramos, 2018).

La bioadsorción o biosorción, usan matrices inorgánicas u orgánicas siendo muy convenientes al usarlo como bioadsorbentes. Los bioadsorbentes vienen dados por sus grupos funcionales activos, debido a que tienen una gran afinidad con los grupos: amino, fosfato, sulfhídricos y carboxilos; esto otorga al bioadsorbente una afinidad para retener a un ion metálico en diferentes diluciones hasta la saturación del mismo (Palacios y Villalobos, 2007). Para unas condiciones óptimas de la bioadsorción, el proceso trabaja bajo un pH, diferentes

concentraciones y diferentes tiempos de contacto (bioadsorbente/metal) (Novillo y Vélez, 2015; Ordoñez, 2017; Verdugo, 2017).

La presente investigación va a evaluar la capacidad de bioadsorción de *Saccharomyces cerevisiae* para la remoción de plomo debido a que se demostró a través de registros documentales que la levadura puede llegar a tener una gran afinidad físico-químicas por este metal, lo cual puede elevar la posibilidad de bioadsorción y demostrar una alternativa válida para tratar los efluentes de agua contaminadas por Pb y a la par fomentar el cuidado de los recursos hídricos.

También se centra en encontrar una alternativa eficaz para la descontaminación de aguas con presencia de plomo debido a que en los últimos años se han reportado que los principales depósitos de plomo se han encontrado en aguas subterráneas como en aguas superficiales (ríos, lagos y lagunas), siendo la minería una de las principales contribuyentes para la contaminación teniendo como un efecto directo la afectación a la salud humana y al medio ambiente a corto, mediano y largo.

A concentraciones medias y altas de plomo en el medio ambiente tiende a alterar la flora y fauna de los ríos, lagos o lagunas, teniendo como efecto la muerte de la biodiversidad de la zona (Covarrubias y Peña, 2017; Eróstegui, 2009). En el caso de la salud humana puede llegar a tener repercusiones como daño al cerebro, riñones e interferir la producción de los glóbulos rojos que llevan el oxígeno en la sangre, también se debe tener en cuenta la edad que el individuo puede tener, debido a que los niños pueden llegar a retener hasta 10 veces más plomo que un adulto (Cruz, 2020; Guerrero et al., 2019).

Se desea aprovechar la biomasa (levadura), ya que tienen una alta adaptabilidad al medio y retención de los metales, por ello se ha prestado especial atención a la bioadsorción de

metales, principalmente porque la biomasa fúngica se produce como un subproducto de varios fermentos industriales (Cañizares, 2000; Urrutia y Beatriz, 2019).

También tiene una gran ventaja sobre los otros tipos de tratamientos, como dice Izquierdo (2010) tenemos:

- Tiene una gran eficiencia en aguas residuales.
- Es una tecnología económica debido a que no se necesitan reactivos muy costosos.
- Puede facilitar la recuperación de metales.
- Frente a la precipitación no produce barro químico.

Es importante realizar una investigación para determinar el potencial de la *Saccharomyces cerevisiae* para utilizarlo en procesos de descontaminación de agua y así poder ser incorporadas en las plantas de tratamientos de aguas residuales (PTAR).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Evaluar la capacidad de bioadsorción de *Saccharomyces cerevisiae* para la remoción de plomo.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar el pH óptimo y el tiempo óptimo para la bioadsorción de plomo.
- Determinar la capacidad de bioadsorción de *Saccharomyces cerevisiae* en agua sintética a diferentes concentraciones de plomo.
- Determinar la eficiencia de bioadsorción de plomo generada por *Saccharomyces cerevisiae*

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Plomo

El plomo tiene como número atómico 82, el cual se encuentra en el grupo 14 (IV A) de la tabla periódica, con un peso atómico de 207,2 y con una valencia química de +2 y +4; es relativamente resistente al ácido sulfúrico y clorhídrico, pero se disuelve con lentitud en el ácido nítrico. Tiene una densidad relativa o gravedad específica de 11.4 g/cm³ a 16 °C; su punto de fusión es de 328.4 °C y el de ebullición es de 1726 °C; es aproximadamente 11,5 veces más denso que el agua (Cabrera, 2017; Urrutia y Beatriz, 2019).

El plomo no tiene ningún valor biológico, por ello no es necesario para el funcionamiento de los seres vivos, pero tiene una gran utilidad a nivel industrial por su resistencia a la corrosión. Este metal puede ser encontrado en la soldadura, cubierta de los cables, como el recubrimiento de los automóviles, productos compuestos por antidetonantes para la gasolina, baterías, cerámicas y pinturas. Por ser un compuesto tóxico para el humano este metal está restringido en varios países y la utilización del mismo en los últimos años se ha visto limitado, incluso en ciertos lugares es prohibido por completo (Urrutia y Beatriz, 2019).

La contaminación del Pb hacia el medio ambiente puede llegar a ser tóxico, debido a que puede penetrar muy fácilmente las células de las plantas provocar diferentes afecciones como: la inhibición de la actividad enzimática, desequilibrio hídrico y se altera la permeabilidad de la membrana celular; incluso las altas concentraciones de plomo en las plantas pueden generar la muerte de las mismas (Urrutia y Beatriz, 2019).

3.2. Afectaciones en el Ambiente

Los metales son persistentes, es decir, no pueden ser creados o degradados, ni mediante procesos biológicos ni antropogénicamente. Al momento de entrar en los diferentes ecosistemas estos llegan a alterar a través de procesos biogeoquímicos y se distribuyen entre sí

por la cadena trófica hasta llegar al ser humano que es considerado como el ‘máximo depredador’. La principal forma en que el Pb llega a contaminar al medio ambiente es a través del agua, ya sea por el riego en los cultivos o el agua potable. También los juguetes pueden llegar a contener cantidades pequeñas de plomo (Guerrero et al., 2019; Reyes et al., 2016).

Las afectaciones al medio ambiente se vienen dando por los cambios actuales de la sociedad provocando mayor explotación de los yacimientos de plomo, producto de esto se ha generado un impacto directo al ambiente. Una de las principales industrias de extracción del plomo son las mineras, las cuales constituyen en gran parte a la contaminación del ambiente, debido a los procesos de extracción, separación, fundición, etc. (Castro, n.d.; Covarrubias y Peña, 2017; Coyago y Bonilla, 2016; Eróstegui, 2009; Floréz y Coste, 2006; Rosas, Rodríguez, y Villalobos, 2007).

En Latinoamérica un 85% de la contaminación viene dado por la combustión y transformación de metales, por ejemplo: la transformación del tetraetilo de plomo, el cual proviene de los combustibles provocando alteraciones a las plantas, produce una degradación en los suelos, en los ríos afecta a toda la flora y fauna de los ecosistemas. Si no se realiza un análisis físico-químico estos metales pueden pasar desapercibidos y producir daños irreversibles para el medio ambiente a largo plazo (Eróstegui, 2009).

La difusión del plomo en el ambiente puede distribuirse en el aire, suelo y agua de la siguiente forma:

- ✓ Aire

La principal fuente de Pb en el aire viene dada por la combustión de la gasolina, la cual contiene ciertos aditivos de plomo. La concentración a la cual se está expuesto viene dada por la distancia de la fuente de contaminación, es decir, entre más cerca al contaminante las concentraciones en el organismo serán más altas. Según datos históricos el plomo en el medio

ambiente viene dado por un rango de 75 a 85% de las combustiones de los vehículos, el resto se encuentra enmarcado por lo que son industrias químicas, mineras, procesos de fundición, incineración de desechos, fabricación de baterías. En la atmósfera el plomo lo podemos encontrar de forma orgánica e inorgánica siendo la mayor parte partículas menores a 1 micrómetro de diámetro (Limo, 2003).

✓ Suelo

El suelo es el recurso que más se ve afectado, debido a la capacidad que tiene para retener los contaminantes que llegan por aire y agua. Una vez incorporado el contaminante depende de varios factores para que este se pueda propagar, como por ejemplo del pH, materia orgánica, carbonatos, tipo de suelo, humedad, etc. (Galán y Romero, 2008).

Una vez que el plomo ya se encuentra en el suelo es absorbido fácilmente por las plantas ya que se suele establecer o colocar en las raíces en donde se encuentra su mayor porcentaje de plomo, también es absorbido por el tallo y hojas, pero ya en menores cantidades (Galán y Romero, 2008).

Según Barrio (2017) existen tres procesos que se dan cuando el metal llega al suelo, los cuales son:

- Transporte: la dispersión, la difusión molecular, volatilización.
- Retención: adsorción, intercambio iónico, precipitación química.
- Transformación: mineralización, humificación.

Como resultado de estos tres procesos, se puede especificar de que esto conlleva a un potencial problema a la salud pública por la ingesta de los vegetales que estuvieron expuestos a suelos contaminados, animales que por medio de la ingesta de las plantas estos se vean contaminados con los mismos y los seres humanos por el consumo tanto de vegetales y

animales que en estos el metal se suele alojar en las vísceras y músculo (Peláez, Bustamante, y Gómez, 2016).

La contaminación en los suelos puede darse de dos formas endógena y exógena. La endógena se refiere a que la propia naturaleza lo produce 'roca madre' mientras que la exógena ya son por actividades antrópicas 'provocadas por el ser humano' pero en estas actividades las concentraciones del metal suelen ser más elevadas que las endógenas (Roca, 2012).

La mayor concentración de plomo se obtendrá a mayores profundidades más cercanas al foco de contaminación, también si estos suelos no tienen una protección natural (arbustos, árboles, césped o hierba) su porcentaje de contaminación será mayor. La toxicidad de un contaminante dependerá de las características del entorno en el que se encuentre (Puga et al., 2008; Roca, 2012).

Por lo general la contaminación del plomo al suelo suelen ser impactos negativos directos e indirectos.

Directos:

- Disminución de la actividad enzimática.
- Disminución del crecimiento de la planta.
- Modificación en las composiciones de los productos.

Indirectos:

- Contaminación de aguas subterráneas y superficiales.
- Disminución de los nutrientes a largo plazo.
- Disminución de la fertilidad del suelo.
- Cambios en la estructura del suelo.

✓ Agua

El agua posee cantidades de plomo, en áreas donde el agua no se ha visto afectada por alguna actividad antrópica puede tener cantidades bajas de plomo (1 microgramo/litro), en ciertos ríos se ha llegado a encontrar alrededor de 8 microgramos/litro, en aguas oceánicas las concentraciones de plomo ya suelen ser casi indetectables, pero debe estar en un rango de entre 0.05 a 0.4 microgramos/litro y en aguas subterráneas con una concentración de entre 0.03 a 0.06 microgramos/litro (Limo, 2003).

Según Eróstegui (2009) es inevitable el contacto con agua contaminada debido a que la gente necesita tomar agua, bañarse, etc., en estos casos no sirve hervir el agua, ya que eso solo ayuda a eliminar toda vida microbiana y la principal prevención sería la identificación de los efluentes contaminados y en el caso de sitios ya contaminados proceder a remediarlos para su próxima ocupación.

3.3. Efectos en la Salud Humana

El plomo tiene propiedades las cuales tiene una gran facilidad para relacionarse con proteínas que poseen grupos amina, fosfato, sulfhídricos y carboxilos, por ello la intoxicación con plomo puede afectar a los diferentes sistemas del cuerpo, también tiene una facilidad para penetrar al sistema nervioso central provocando alteraciones neurológicas o conductuales. También se ha demostrado que los niños/as tienden a absorber 5 o 10 veces más el metal que un adulto esto produce un gran riesgo para la salud infantiles (Guerrero et al., 2019).

Por medio de las vías respiratorias el plomo puede entrar con gran facilidad al cuerpo y ser absorbido por el organismo y permanecer durante mucho tiempo debido a que no existe una forma en que se pueda degradar y por ser altamente tóxico tiene bastantes repercusiones para las personas que lo inhalen (Guerrero et al., 2019; Limo, 2003).

Una vez dentro del cuerpo humano, el plomo se deposita en los riñones (94% en adultos y 73% en niños), hígado, huesos y en los dientes y con una ingesta de diez microgramos por decilitro de sangre (10 µg/dL) esto debe ser tratado inmediatamente para evitar las alteraciones neurológicas y de conducta. Incluso con menos cantidad, pero por un tiempo más prolongado (28 a 36 días) se puede tener las mismas complicaciones (Guerrero et al., 2019; Limo, 2003; Mcfarland y Dozier n.d.; OMS, 2019; Poma, 2008).

Según Cruz (2020); Guerrero et al. (2019) para que se dé una mayor absorción en el organismo puede depender de algunos factores como, por ejemplo: entre más joven es el intestino absorbe más plomo entre 5 a 10 veces más también cuando se tiene deficiencia de calcio, hierro y zinc.

Cuando se tiene un porcentaje alto a la exposición y absorción del plomo, principalmente va a afectar al cerebro y al sistema nervioso central lo cual puede llegar a producir la muerte 'en concentraciones elevadas' en el caso de que las personas que puedan recuperarse a esas condiciones van a tener ciertas secuelas como retraso mental, déficit de atención y alteraciones en el comportamiento. En niños con una ingesta ya de 5 µg/dL puede tener repercusiones en el coeficiente intelectual de los niños y dificultades de aprendizajes. Esto puede deberse a que los niños son más susceptibles en relación con su masa y con la ingesta de tierra 'relación mano boca' (Guerrero et al., 2019; OMS, 2019).

De acuerdo a Cruz (2020) los principales síntomas en niños y adultos suelen ser los siguientes:

Tabla 1*Síntomas en niños y adultos*

Niños	Adultos
<ul style="list-style-type: none"> • Irritabilidad • Pérdida de apetito • Fatiga • Dolores abdominales y vómito • Pérdida auditiva • Convulsiones • Dificultad de aprendizaje 	<ul style="list-style-type: none"> • Hipertensión arterial • Dolor muscular • Migrañas • Dolor en la parte del abdomen • Propenso a esterilidad.

Nota. Morales Andrés (2020)

Los efectos más preocupantes de intoxicación por plomo ocurren cuando se tiene un nivel $\geq 70 \mu\text{g/dL}$ debido a que esto ya es considerado un riesgo alto, según estudios se demostró que por cada $10 \mu\text{g/dL}$ el cociente intelectual disminuye entre 5 a 7 puntos en niños. En casos ya crónicos en adultos, por ejemplo, la encefalopatía debe superar los $460 \mu\text{g/dL}$ o entre un rango de 50 a $125 \mu\text{g/dL}$ puede ocasionar disminución de libido, actividad visual motora, memoria, etc. (Guerrero et al., 2019; Mcfarland & Dozier, n.d.; Poma, 2008). Para tener una idea más clara de los problemas que puede conllevar la exposición del plomo se lo puede clasificar en 4 etapas que son muy baja, leve, moderada, alta (Tabla 2).

Tabla 2*Signos y síntomas de exposición continua al plomo*

Exposición muy baja	Exposición leve	Exposición moderada	Exposición alta
Disminución de memoria, aprendizaje, cociente de inteligencia, habilidad verbal, atención, pronunciación y	Fatiga leve, irritabilidad, letargia, molestias abdominales	Fatiga general, dificultad de concentración, cansancio muscular, dolor abdominal difuso, vómito, pérdida de peso	Parálisis, encefalopatía (puede causar convulsiones, alteración de la conciencia, coma y muerte), cólicos intermitentes y severos

audición. Signos de hiperactividad.

Nota. Morales Andrés (2020)

3.4. Biorremediación

Existen varias técnicas y métodos para la remediación de los recursos acuáticos, suelo y aire, pero por su complejidad suelen ser muy costosos y con un alto índice de contaminación ambiental. Por medio de la biorremediación se empiezan a realizar estudios donde la utilización de hongos demostraron tener una eficiencia muy alta para la adsorción de los metales pesados todo esto gracias a su pared celular la cual contiene diversos componentes quelantes (Urrutia y Beatriz, 2019).

El término biorremediación viene dado desde la década de los 80', el cual se centra en la biorremediación basada en la capacidad de los organismos para degradar o absorber naturalmente ciertos contaminantes nocivos para el medio ambiente; el sistema biológico más utilizado son los microorganismos o las plantas. (Garzón, Rodríguez, y Hernández, 2017).

“Para comprender la utilización de la biorremediación se debe mirar como la humanidad fue dando una mirada hacia el control o mitigación de la contaminación, hasta llegar a la utilización de esta técnica como alternativa ambientalmente limpia” (Rincón, 2004, p. 6). La aplicación de los sistemas biológicos como microorganismos, plantas, hongos entre otros ayuda a remediar o reducir la contaminación que naturalmente no se pueden degradar. Para que los sistemas biológicos tengan su mayor eficiencia deben encontrarse en condiciones óptimas.

Conforme a Rosas et al. (2007) para que la biorremediación tenga éxito debe contar de las siguientes características:

- Los organismos deben presentar las suficientes actividades catabólicas para degradar el compuesto en tiempos razonables.

- Los contaminantes deben estar aptos para el microorganismo.
- Tener buenas condiciones ambientales para su perfecto desarrollo.
- Diferencia en los costos con otras tecnologías usadas.

La biorremediación puede ser considerada como una tecnología amigable para el ambiente, ya que no necesita agentes externos para su funcionamiento, pero pueden presentarse inconvenientes como la biodegradación incompleta con ello “puede generar intermediarios metabólicos inaceptables, con un poder contaminante similar o incluso superior al producto de partida” (Rosas et al., 2007, p. 29).

Se debe hacer hincapié en los tiempos y monitoreos continuos para tener una alta eficiencia en la remediación de agua, por lo tanto, existe una gran variedad de contaminantes que pueden ser removidos del agua entre ellos están; los compuestos del petróleo, pesticidas, herbicidas, metales pesados, etc., lo cual demuestra que la biorremediación es una gran alternativa para la eliminación de sustancias tóxicas y la prevención de la contaminación al ambiente (Muñoz, 2007).

Según Rincón (2004) existen dos técnicas de biorremediación:

- in-situ: Acelera el proceso de degradación natural de la biodegradación al proporcionar oxígeno y nutrientes a la pluma contaminante durante mucho tiempo.
- ex-situ: Se basa en la extracción y transporte de una muestra contaminada para ser tratada en laboratorio en condiciones controladas, esta suele ser mucho más costosa.

3.4.1. Micorremediación

Es considerada como una técnica de la biorremediación in situ, la cual involucra una gran variedad de microorganismos, sobre todo los hongos. La velocidad que estos tienen para adaptarse a un medio es fácil y su rendimiento al momento de absorber los compuestos tóxicos es muy crucial para su éxito (Ramírez et al., 2014).

La micorremediación se refiere a toda clase de biodegradación a partir de hongos debido a que estos pueden llegar a degradar ciertos químicos que tienen cierta afectación para el medio ambiente, todo esto por su eficiencia al degradar moléculas orgánicas y su facilidad que tienen para bioacumular los metales utilizándolos para su crecimiento mediante su metabolismo. Los hongos tienen capacidades bioquímicas y biológicas las cuales son cruciales para degradar los compuestos orgánicos y reducir las afectaciones sobre el medio ambiente, ya sea por modificarlos químicamente o al intervenir en su biodisponibilidad, “se ha establecido que la micorremediación también es útil para el tratamiento de bifenilos policlorados, dioxinas, residuos de destilería, pesticidas, fenoles, cloro fenoles y colorantes sintéticos, a través de mecanismos de biotransformación y mineralización” (Peña, 2017, p. 30). También tienen una alta capacidad de formar redes miceliales extendidas y el uso de los metales como un sustrato para el crecimiento del mismo, por ello los hongos son perfectos para los procesos de biorremediación (Urrutia y Beatriz, 2019).

De acuerdo con Peña (2017) la micorremediación presenta ciertas ventajas como también sus desventajas.

Las principales ventajas del uso de los hongos son las siguientes: son fuertemente competentes en metabolismo y bioacumulación, tiene mayores tolerancias a concentraciones considerablemente altas de contaminantes, su productividad no se ve inhibido a concentraciones altas de contaminantes, las propiedades extracelulares de sus enzimas (Lacasa, LiP, MnP) lo hacen más degradable a las bacterias y el cuerpo está compuesto por hifas por lo cual tiene un diámetro menor que las raíces de las plantas, por lo que la penetración de hongos en el sustrato es mayor.

Mientras que las desventajas de los hongos son las siguientes: Debido a la competencia con otros microorganismos, pueden surgir dificultades en el cultivo y la

producción, debido a la demanda de alimentos, la inoculación de micelio sobre el sustrato dificultará su crecimiento, no existen tantos estudios sobre sus rutas metabólicas. (p. 53)

A escala de laboratorio se ha demostrado que la micorremediación indica una eficacia de la remoción de los contaminantes tóxicos en tiempos de semanas a meses como tenemos a las moléculas aromáticas las cuales tienen un alto peso molecular e incluso también compuestos que forma parte de los insecticidas sienten estos para un microorganismo difíciles de remover o absorber (Singh, 2006).

3.4.2. Bioadsorción

Es un proceso fisicoquímico, de quelación, intercambio iónico, adsorción física, micro precipitación y complejos de coordinación donde un contaminante es retenido por un material de origen natural estos comúnmente suelen ser los hongos, bacterias, algas y levaduras. Los cuales son considerados como bioadsorbentes, ya que concentran en su pared celular o en sus tejidos inertes ciertos metales presentes en disoluciones acuosas. Los hongos se pueden encontrar en forma viva, muerta o inactiva (Bandile y Woodford, 2015; Cañizares, 2000; Reyes et al., 2016).

Para recuperar el plomo que se encuentra en soluciones acuosas, hay que tomar en cuenta las concentraciones máximas tolerables por el microorganismo de igual forma en las condiciones a las que deben estar como, por ejemplo: los nutrientes, pH y temperatura. Todo esto para que el bioadsorbente tenga un correcto funcionamiento en la remoción del plomo (Bandile y Woodford, 2015; Cañizares, 2000; González et al., 2010; Izquierdo, 2010; Romera et al., 2007; Tamayo, Cardona, y Bedoya, 2010).

En el proceso de bioadsorción se tienen dos fases, la primera que sería la parte sólida y la segunda parte líquida, es decir el bioadsorbente y bioadsorbato que frecuentemente es el

agua. El proceso que se lleva a cabo consiste en que el bioadsorbente se siente atraído por el bioadsorbato hasta que exista un equilibrio entre las dos partes, esto viene dado por la cantidad que el bioadsorbente que pueda soportar hasta retenerlo al adsorbato disuelto (Cabrera, 2017; Srivastava, Agrawal, y Mondal, 2015).

La bioadsorción es una tecnología alternativa para remover los contaminantes de las soluciones acuosas a la par también es un proceso muy eficiente, de bajo costo, ya que permite recuperar el metal que se encuentra localizado en la solución y tiene un bajo rendimiento energético. (Cabrera, 2017; Cañizares, 2000; González et al., 2010; Medellín et al., 2017; Srivastava, Agrawal, y Mondal, 2015).

Las células de *Saccharomyces cerevisiae* llegan a presentar una humedad de entre el 75 al 85% en sus paredes celulares, es decir que el peso seco de estas células se encuentra entre 15 a 25% muy parecidas a las células vegetales. Las células de la *Saccharomyces cerevisiae* tienen un grosor de 150 a 200 nm en su pared celular, pero esto dependerá de la edad que tenga la célula la cual está compuesta por polisacáridos, lípidos y proteínas (Altamirano, 2013; Bandile y Woodford, 2015; Dimas et al., 2013; Pauro Roque et al., 2009).

Uno de los modelos más usados para determinar datos cuantitativos es el método de Langmuir, el cual permite conocer la capacidad máxima de remoción del metal y también la constante de equilibrio entre el bioadsorbente (biomasa) con el bioadsorbato (líquido). Esta es una herramienta primordial para determinar qué cantidad de biomasa que se necesita para remover cierta cantidad de contaminante (Romera et al., 2007).

3.5. Determinación del Plomo

En la actualidad existen varios modelos para la determinación del plomo, uno de los principales son las isothermas de bioadsorción estas se aplican en sistemas de sólido-líquido

basándose en modelos termodinámicos semiempíricos de la parte bioadsorbente y del fluido de un solo componente (García, 2014).

3.5.1. Isotermas de Equilibrio

Representan la relación entre el adsorbato con un adsorbente, estas son capaces de detallar dos características principales: superficie (heterogénea u homogénea) y la construcción de una capa (monocapa y multicapa), todo dependerá de su comportamiento al momento de unirse una con la otra, por este motivo se toman las concentraciones iniciales y finales de cada ensayo, existen una infinidad de modelos matemáticos capaces de determinar estas concentraciones pero las más acertadas en el campo investigativo son los desarrollados por Langmuir y por Freundlich (Novillo y Vélez, 2015; Ordoñez, 2017).

Ecuación 1

Cálculo tasa de bioadsorbente del metal

$$q = \frac{(C_i - C_e) * V}{X_o} \quad (1)$$

Donde:

- q = Tasa de adsorción del metal (mg metal/g sorbente).
- C_i = Concentración inicial del metal en solución (mg/l).
- C_e = Concentración final del metal (en equilibrio) en solución (mg/l).
- X_o = Cantidad de biosorbente agregado (g).
- V = Volumen de la solución (L).

3.5.2. Isoterma de Langmuir

Es uno de los primeros modelos matemáticos teóricos, el cual describe la adsorción de moléculas o iones por parte de un compuesto adsorbente, los datos obtenidos vienen dados por el equilibrio entre superficies homogéneas (lugares definidos y la energía de adsorción). La

ecuación se dio principalmente de la derivada de consideraciones cinéticas, más adelante se dedujo de consideraciones termodinámicas y de estadística mecánica. Este modelo considera que: (1) la mayor adsorción se produce en superficies homogéneas, (2) la adsorción se presenta en una monocapa, es decir que una molécula de adsorbato ocupa un lugar específico en el adsorbente (líquido-sólido) una vez que cada molécula ocupa su lugar el sistema se satura y (3) no se efectúa algún tipo de interacción entre las moléculas que han sido adsorbidas (Cabrera Andrade, 2017; Campos Medina, 2008; García, 2014; Herrejón Figueroa y Limón Rodríguez, 2008; Muñoz, 2007).

La ecuación se presenta a continuación:

Ecuación 2

Isoterma de Langmuir

$$q = \frac{Q_{max} * C_e * b}{1 + (b * C_e)} \quad (2)$$

Donde:

- q = Cantidad de sorbato adsorbido por unidad de masa de adsorbente (mg/g)
- C_e = Concentración final de adsorbato en la disolución en equilibrio (mg/L)
- b = Constante relacionada con la afinidad del biosorbente por los iones del metal, siendo b la ordenada y su recíproco la tasa máxima de retención del metal
- Q_{max} = Máxima cantidad de adsorbato retenida por 1g de bioadsorbente.

“Para la isoterma de Langmuir se puede linealizar la ecuación graficando $1/Q$ vs $1/C_e$ (realizándose una regresión lineal con lo que se obtiene la ecuación $y = mx + b$), obteniéndose la siguiente relación” (Novillo y Vélez, 2015, p.28).

Ecuación 3

Forma lineal de Langmuir

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{Q_{max}} + \frac{1}{(Q_{max})b} * \frac{1}{C_e} \quad (3)$$

La isoterma puede ser evaluada a partir de un factor adimensional este siendo RL (Ordoñez, 2017).

Ecuación 4

Factor adimensional de la isoterma de Langmuir

$$RL = \frac{1}{1+b \cdot C_i} \quad (4)$$

RL indica:

- $RL = 0$ sistema isotérmico irreversible.
- $0 < RL < 1$ sistema isotérmico favorable, siendo $R = 1$ lineal
- $RL > 1$ desfavorable, debido a que se observa que la sorción del metal no es significativa.

3.5.3. *Isoterma de Freundlich*

Es un modelo empírico basado en una representación matemática de adsorción de un adsorbato con un adsorbente (líquido-sólido) estas dan la formación de varias capas en superficies no homogéneas. Nos permite representar toda superficie irregular, se establece que al momento de la adsorción del adsorbato los primeros en posicionarse son los que tienen enlaces fuertes y al aumentar los lugares ocupados los enlaces se debilitan (Cabrera Andrade, 2017; García, 2014; Herrejón Figueroa y Limón Rodríguez, 2008).

Está representada a continuación:

Ecuación 5

Isoterma de Freundlich

$$q_e = \frac{x}{m} = K_f * C_e^{1/n} \quad (5)$$

Donde:

- q_e = Cantidad de sorbato adsorbido por unidad de masa de adsorbente (mg/g).
- x = Cantidad de sorbato adsorbido en el equilibrio (mg).
- m = Cantidad de adsorbente (g).
- C_e = Concentración final de adsorbato en la disolución en equilibrio (mg/L).
- n = intensidad de sorción.
- K_f = medida de la capacidad de adsorción (Constante de Freundlich).

“ K_f y n son parámetros característicos del sistema y se obtienen fácilmente de la regresión lineal del $\ln(q_e)$ frente a $\ln(C_e)$, donde q_e es la cantidad adsorbida en la superficie del sólido y C_e es la concentración en fase líquida” (García, 2014, p. 22).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño de Investigación

La siguiente investigación es de carácter cuantitativo debido a que se trabajó con diferentes parámetros (pH, concentración del metal y tiempos de contacto) para poder determinar la mejor bioadsorción que tiene la levadura con respecto al metal. También es de un carácter descriptivo, ya que se puede establecer la conducta del bioadsorbente con respecto a los parámetros establecidos.

4.2. Adquisición del Bioadsorbente

Se trabajó con *Saccharomyces cerevisiae* mejor conocida como la levadura de pan, esta viene en un bloque de 5 kg, en el cual se procuró revisar la fecha establecida de producción para evitar cualquier alternación de los datos.

4.3. Activación del Bioadsorbente (Levadura)

4.3.1. Preparación de los Instrumentos

Se esterilizó todo material en el equipo de autoclave (Figura 1) el cual trabaja a una temperatura de esterilización de 121 °C por un tiempo de 15 minutos y a una presión de esterilización de 0.15 MPa o 1.8 kgf/cm².

Figura 1

Autoclave



Nota. Morales Andrés (2020)

Para conocer la cinética de crecimiento de la levadura se utilizó dos metodologías: conteo en cajas petri y conteo por cámara Neubauer.

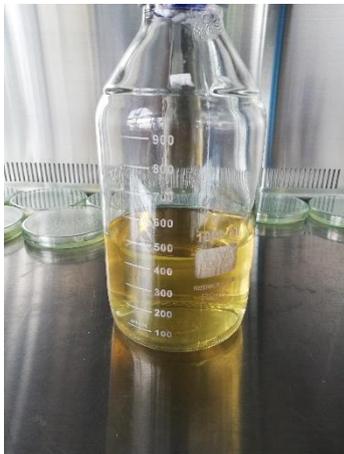
4.3.2. *Conteo en Cajas Petri*

- Preparación del medio para la siembra en cajas Petri.

Para establecer el medio adecuado para el crecimiento de la levadura, se utilizó un Agar de Papa Dextrosa (PDA) dentro de las descripciones se establecía que por cada litro de agua destilada se necesita 39 g de PDA. Para lo cual se usó una ‘hot plate’ para homogeneizar todo el medio y después ser llevado a autoclavar para garantizar su uso en las cajas Petri. (Figura 2)

Figura 2

Medio de cultivo



Nota. Morales Andrés (2020)

Se colocó 25 ml del PDA en las cajas petri, las cuales fueron llevadas a un refrigerador envueltas en papel aluminio y fundas ziploc (Figura 3) esto se hizo para mantener la asepsia en el medio de cultivo.

Figura 3

Medio de cultivo ya preparado



Nota. Morales Andrés (2020)

- Preparación de la levadura.

La preparación de la levadura consistió en colocar 1 g de levadura por 100 ml de solución de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) al 10%, la cual fue llevada a un ‘hot plate’ para que esta se homogeneice y tener una agitación constante (Figura 4) a una velocidad de 3 rpm por todo el procedimiento.

Figura 4

Preparación de la levadura

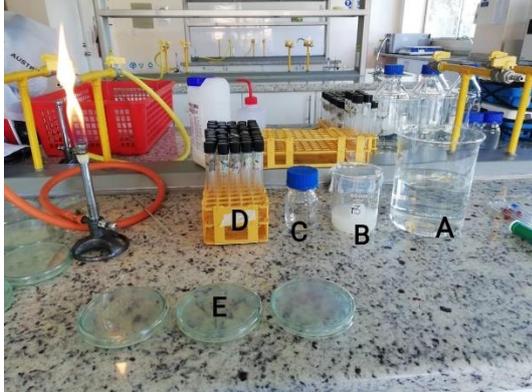


Nota. Morales Andrés (2020)

- Método de dilución.

Figura 5

Esquema de la preparación de la dilución



Nota. Morales Andrés (2020)

Por medio del método de dilución se buscó establecer el crecimiento que tuvo la levadura en un tiempo de 300 minutos con intervalos de 30 minutos entre cada una, siguiendo el esquema de la preparación de la dilución (Figura 5) se obtuvo lo siguiente:

- A. Solución al 10%.
- B. Para activar la levadura, consistió en colocar 1 g de levadura en 100 ml de la solución.
- C. Un “Boeco Germany” el cual contiene 99 ml de agua autoclavada y se colocó 1 ml de la levadura activada.
- D. En cada tubo de ensayo se colocó 9 ml de agua autoclavada a la cual se tomó 1 ml de la solución que se encuentra en el “Boeco Germany”.
- E. Cajas petri con un medio de cultivo, en esta se colocó 0.1 ml de la solución de los tubos de ensayo.

Para tener un dato estadístico válido se debe hacer 3 siembras por cada dilución hecha.

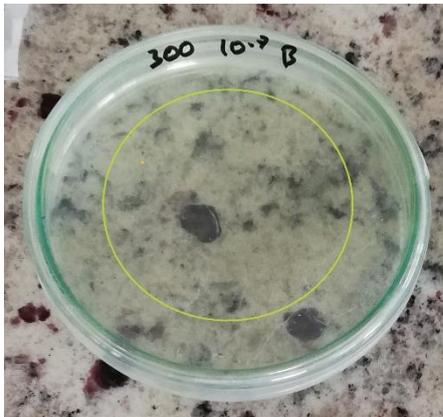
- Siembra en cajas petri.

Para evitar cualquier contaminación en el medio se estableció un ambiente aséptico lo cual consistió en: esterilizar el asa digralsky, área a utilizar y tener prendido el mechero. La

técnica utilizada consistió en colocar 0.1 ml de la solución del tubo de ensayo en la caja petri y dispersarle con el asa digralsky por el medio de cultivo (Figura 6), una vez acabo se debe esterilizar el asa digralsky en la llama del mechero eso para evitar que exista algún microorganismo para la siguiente siembra.

Figura 6

Siembra de levadura en caja petri



Nota. Morales Andrés (2020)

- Incubación.

Las cajas petri fueron etiquetadas (Figura 7) para luego ser colocadas en una incubadora en un orden adecuado por un lapso de 48 horas a 25 °C (Figura 8).

Figura 7

Etiquetado de las cajas petri



Nota. Morales Andrés (2020)

Figura 8

Colocación de las cajas petri en la incubadora



Nota. Morales Andrés (2020)

- Conteo de las colonias de las levaduras.

Una vez pasado el tiempo de reposo necesario para el crecimiento de las colonias de levaduras se procedió al conteo de cada una (Figura 9) con el fin de establecer la cinética de crecimiento.

- Cálculo de levaduras por método de cajas petri.

El cálculo de células de levaduras totales por caja petri viene dada por la siguiente ecuación.

Ecuación 6

Fórmula para el cálculo de levaduras por caja petri

$$\# \text{ células} = (\# \text{ de células contadas} * \text{facto de dilución}) \quad (6)$$

4.3.3. Conteo por Cámara Neubauer

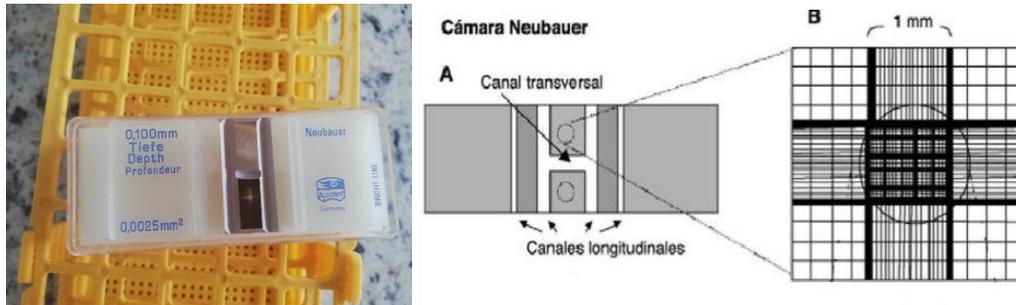
Para proceder al conteo por la cámara neubauer se aplicó el mismo método de dilución aplicado en el conteo por caja petri (Figura 9). Se consiguió las cantidades necesarias a utilizar, la diferencia de este conteo es que este método no necesita incubación, sino que este se puede aplicar inmediatamente.

- Preparación de la cámara neubauer.

Se conocieron cuáles eran las dimensiones de los cuadrantes de la cámara neubauer para tener un correcto conteo de las células considerable a la muestra (Figura 10).

Figura 9

Cámara neubauer

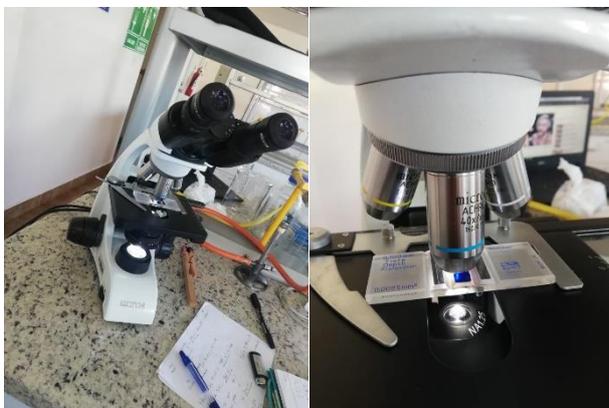


Nota. Morales Andrés (2020)

Se procedió con el conteo de las levaduras para lo cual se utilizó 20 μ l de cada dilución con la micropipeta y se colocó en la cámara neubauer junto con esta una gota de azul de metileno para identificar las células de levadura, antes de ser colocado en el microscopio se cubrió la muestra con él cubreobjetos (Figura 10) y se procedió a contar las células.

Figura 10

Cámara neubauer en el microscopio



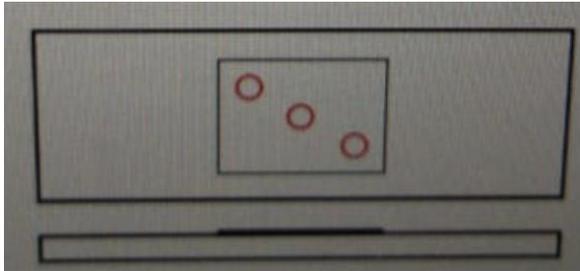
Nota. Morales Andrés (2020)

- Conteo de levaduras.

En el conteo de levaduras se realizó de forma diagonal (Figura 11) esto para tener una representación cuantitativa más exacta de las células que se encuentran en la cámara neubauer.

Figura 11

Metodología de conteo en cámara neubauer



Nota. Morales Andrés (2020)

- Cálculo de las levaduras en la cámara neubauer.

Para conocer el número de células se estableció por la fórmula general (Ecuación 7) la cual expresa en células/mm³.

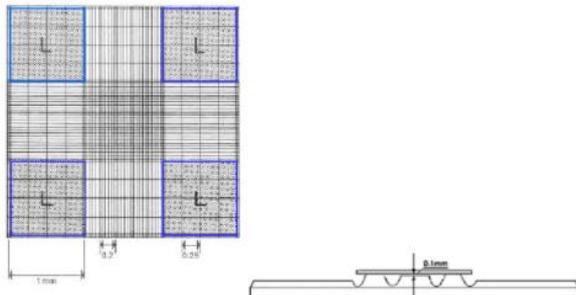
Ecuación 7

Fórmula general para el conteo en cámara neubauer

$$\# \text{ de células} = (\# \text{ células contadas}) * (\text{factor de dilución}) * \left(\frac{1}{\text{Factor de volumen}} \right) \quad (7)$$

Figura 12

Cuadrantes de la cámara neubauer



Nota. Guajardo (2014)

Donde:

- Factor de volumen

$$(1\text{mm} * 1\text{mm}) = 1\text{ mm}^2 \text{ de cada cuadro azul}$$

$$(1\text{ mm}^2 * 4 \text{ cuadros}) = 4\text{ mm}^2$$

$$(4\text{ mm}^2 \text{ de área total de recuento} * 0.1\text{ mm de profundidad}) = 0.4\text{ mm}^3 \text{ volumen}$$

4.4. Preparación del Equipo de Espectroscopia de Adsorción Atómica.

Se usó el equipo de espectroscopia de absorción atómica (EAA) (Figura 13) con el método en llama para poder realizar todos los ensayos previstos para determinar la capacidad de bioadsorción del metal a partir de la levadura.

Figura 13

Equipo de espectroscopia de absorción atómica



Nota. Morales Andrés (2020)

Antes de utilizar el equipo se debía cumplir con ciertos requerimientos: una ventilación adecuada, ya que al utilizar el método en llama esta generaba demasiado calor dentro del cuarto poniendo en riesgo lo que este a su alrededor, se estableció los gases a utilizar para la detección del plomo (Pb) en el agua, un compresor y un generador de energía independiente.

Cumpliendo con todos los requerimientos necesarios se procedió a utilizar el equipo de espectroscopia de adsorción atómica, la cual tenía su propio programa para su funcionamiento, se especificó la lámpara a usar, tipos de longitudes de onda, corriente, entre otras más. Para su correcto funcionamiento esta debió ser calentada entre 15 a 20 minutos antes de su uso.

4.5. Calibración del Plomo

Se estableció la curva de calibración de plomo a partir de una estándar certificada de plomo, las concentraciones a usar fueron de 5, 10, 15 y 20 ppm por medio de la siguiente fórmula (Ecuación 8).

Ecuación 8

Concentración y equilibrio químico

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (8)$$

Para lograr la curva de calibración, se establecieron las concentraciones estándares de plomo, las cuales debieron ser colocadas en el equipo de espectroscopia de adsorción atómica para llevar a cabo los procedimientos necesarios, se tomó en cuenta que la longitud de onda a usar la cual fue de 217 nm, esto se debe a que las concentraciones se encontraban entre el rango de 2,5 a 20 µg/ml. Se programó al equipo de espectroscopia de adsorción atómica para poder realizar tres repeticiones por cada estándar para tener un dato estadístico más acertado al real, es decir, para poder conseguir una curva de calibración lo más cercano al valor neto y así conseguir la función lineal la cual viene dado por la siguiente (Ecuación 9).

Ecuación 9

Función de la recta

$$y = mx + b \quad (9)$$

4.6. Realización de los Ensayos

Se trabajó un agua sintética a una concentración de 1000 ppm de Pb, para lo cual se procedió a preparar la solución madre a partir del Nitrato de Plomo ($Pb(NO_3)_2$). Para poder conseguir la solución madre se tuvo que disolver 1.598 g de nitrato de plomo en una solución de ácido nítrico (HNO_3) 1 + 1, una vez ya homogénea la solución se le añade 10 ml de HNO_3

concentrado. Y esta solución se tuvo que diluirse en agua destilada hasta los 1000 ml en un balón aforado.

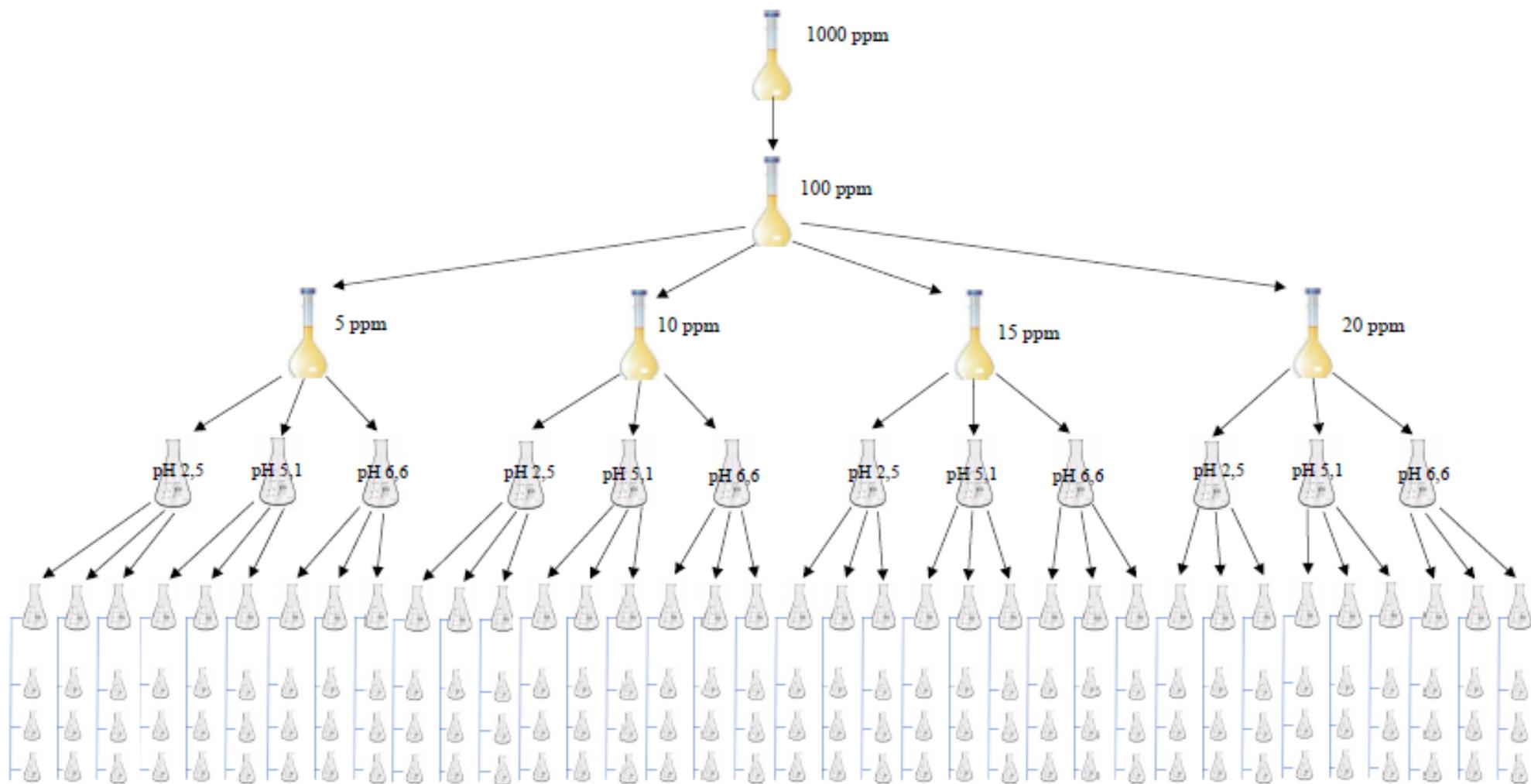
A partir de la solución madre se realizarán diferentes concentraciones siguiendo la ecuación 8, consiguiendo concentraciones de 5, 10, 15 y 20 mg/L. Una vez establecido las concentraciones se las dividió en 3 diferentes matraces Erlenmeyer con un volumen de 300 ml en cada uno (esto se realizó por las 4 diferentes concentraciones), para cada matraz Erlenmeyer se establecieron 3 diferentes pH que son: 2.5 – 5.1 – 6.6, los cuales se pudieron conseguir a partir de:

- Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 M, este fue utilizado como base para poder incrementar el pH de las soluciones.
- Ácido clorhídrico (HCl) 0.1 M, este fue utilizado como ácido para poder disminuir el pH de las soluciones.

Ya preparado los matraces con el pH indicado se colocó 3 g de levadura, este dato de obtuvo de la cinética de crecimiento. En cada matraz Erlenmeyer se establecieron tres diferentes repeticiones y de cada repetición se hicieron tres ensayos. Todos los matraces fueron colocados en un ‘hot plate’ para tener una agitación continua hasta lograr los tiempos establecidos para la toma de muestras que fueron a los 5, 30, 120 y 300 minutos, esto puede ser mejor observado en la Figura 14. Con esto se logró establecer un total de 576 ensayos.

Figura 14

Esquema de los ensayos



Nota. Morales Andrés (2020)

4.7. Muestreo de los Ensayos

Los ensayos después de cumplir con el tiempo preestablecido se colocó 25 ml en tubos eppendorf los cuales fueron llevados a la centrifugadora por un tiempo de 15 minutos a 3540 rpm para que la levadura pueda quedar al fondo del tubo (Figura 15) y esta no llegue a afectar al equipo de espectroscopia de adsorción atómica al momento de la toma de datos.

Figura 15

Decantación de la levadura



Nota. Morales Andrés (2020)

Los ensayos ya centrifugados fueron llevados al equipo de espectroscopia de adsorción atómica para ser analizados, se tomó directamente de los tubos eppendorf debido a que el requerimiento del equipo lo permitía, todos los tubos fueron debidamente etiquetados para distinguir la muestra y el pH en el cual eran manejados.

A continuación, se los procedió a analizar en el equipo de espectroscopia de adsorción atómica (Figura 16), para conocer el tiempo entre muestras se estableció una muestra blanca (agua destilada) y ver en cuanto tiempo cambia la llama de color azul a un color amarillo, el tiempo establecido para cada ensayo fue de 10 segundos, en el equipo de espectroscopia de adsorción atómica se programó para hacer tres repeticiones para cada matraz Erlenmeyer de los diferentes pH.

Figura 16

Ensayos en el equipo de espectroscopia de adsorción atómica



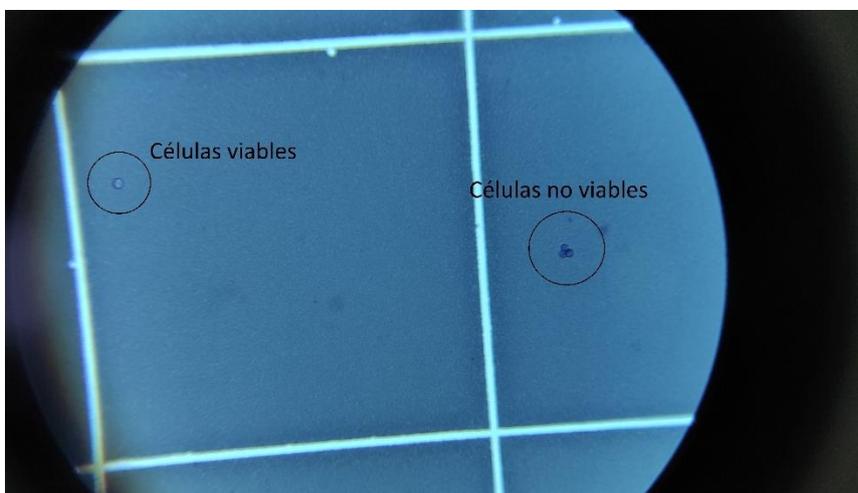
Nota. Morales Andrés (2020)

4.8. Conteo de Células Viables

Para establecer las células viables de levaduras se procedió con el método de dilución como se observa en la figura 5, cuando las células de levadura se llegan a teñir por el azul de metileno, esto quiere decir que están muertas (células no viables) mientras que las que no se tiñen están vivas (células viables) (Figura 17) de igual forma se usó la cámara Neubauer para el conteo de las mismas.

Figura 17

Células viables y no viables



Nota. Morales Andrés (2020)

4.9. Cálculo de las Isotermas de Bioadsorción

Para el cálculo de la isoterma de bioadsorción se llevó a cabo por el método de Langmuir (ecuación 2), este método muestra la cantidad de remoción por unidad de masa del bioadsorbente, la cual se le conoce como 'Qmax' para esto se utilizó la cantidad inicial y final de plomo en la muestra agua sintética y la cantidad de bioadsorbente necesario. Se usó una correlación lineal para obtener la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación por cada tiempo y pH establecidos. También con la ecuación 3 se obtuvo el 'Qmax' y la constante 'b'.

4.10. Cálculo del Porcentaje de Bioadsorción

Para conocer el porcentaje de bioadsorción de muestras se necesitó la concentración inicial y la final de los ensayos, la cual se aplicó en la ecuación 10 y así se obtuvieron los porcentajes óptimos de bioadsorción de plomo por cada tiempo y pH establecidos.

Ecuación 10

Cálculo de la eficiencia de bioadsorción

$$CEB = \frac{[CPb_o] - [CPb_f]}{[CPb_o]} * 100 \quad (10)$$

Donde:

- $[CPb_o]$ = Concentración inicial de plomo
- $[CPb_f]$ = Concentración final de plomo

4.11. Materiales

Tabla 3

Materiales, reactivos y equipos

Reactivos	Materiales	Equipos
<ul style="list-style-type: none">• Azul de metileno• HCl• Estándar de plomo• NaOH	<ul style="list-style-type: none">• Boeco• Tubos de ensayo• Cubreobjetos• Caja de puntas de pipetas• Pipetas• Gradilla• Pro pipeta• Vaso precipitador• Espátula• Imanes agitadores• Agitador• Portaobjetos• Vidrio reloj• Balón aforado• Matraz• Asa digralsky	<ul style="list-style-type: none">• Autoclave• Hot plate• Cámara neubauer• Microscopio• Balanza• Espectroscopia de absorción atómica

Nota. Morales Andrés (2020)

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó un análisis estadístico experimental para la determinación del pH y tiempos óptimos para cada concentración. El proceso estadístico se llevó a cabo en el programa STATGRAPHICS. En la investigación se analizó tres factores que son: tiempo de contacto, pH y concentración; los cuales fueron representados gráficamente para una mejor interpretación de los datos.

5.1. Cinética de Crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae*

Se determinó la cinética de crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae* a partir de la Tabla 4 y Tabla 5 en las cuales se obtuvieron comportamientos similares de esta manera se determinó cuanta levadura se utilizaría para la biosorción del plomo. También se conoció el número de generaciones a partir de la ecuación 11, la velocidad de crecimiento a partir de la ecuación 12 y el tiempo de generación a partir de la ecuación 13.

Ecuación 11

Número de generaciones

$$n = \frac{\text{Log}N - \text{Log}N_0}{\text{Log}2} \quad (11)$$

Donde:

- n = número de generaciones.

Ecuación 12

Velocidad de crecimiento

$$k = \frac{n}{t} \quad (12)$$

Donde:

- k = velocidad de crecimiento.

- t = tiempo en horas.

Ecuación 13

Tiempo de generación

$$TG = \frac{t}{n} \quad (13)$$

Donde:

- t = tiempo en horas.
- n = número de generaciones.

5.1.1. Cámara Neubauer

Una vez concluido el procedimiento en la cámara neubauer se determinó que en el tiempo de 180 minutos (Figura 18) la levadura llegaba a su mayor crecimiento y después de este tiempo iba disminuyendo, esto puede darse por el motivo de que sus nutrientes se fueron agotando, a esto se lo conoce como la fase de declinación o muerte de la levadura, es decir, que la población de la levadura va a disminuir hasta una pequeña fracción de células más resistentes (Tortora, Funke, y Case, 2007).

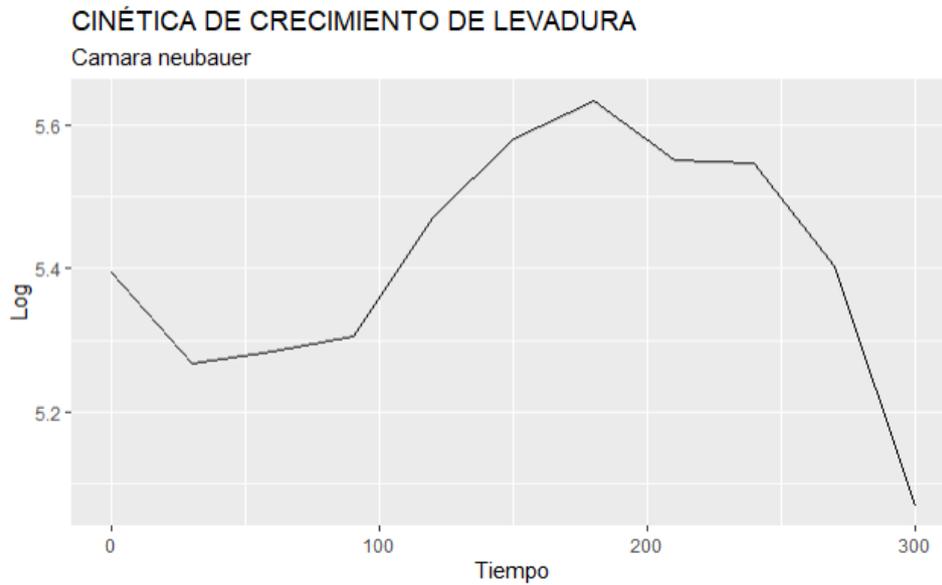
Tabla 4

Cinética de crecimiento en la cámara neubauer

Tiempo	Células	Log	Número de generaciones	Velocidad de crecimiento por hora	Tiempo de generación
0	247500	5,39			
30	185000	5,27			
60	192500	5,28			
90	202500	5,31			
120	295000	5,47			
150	380000	5,58	0,797	0,266	3,76
180	430000	5,63			
210	355000	5,55			
240	352500	5,55			
270	252500	5,40			

Figura 18

Curva de crecimiento de la levadura por cámara neubauer



Nota. Morales Andrés (2020)

5.1.2. Caja Petri

Una vez concluido el procedimiento de conteo por caja petri se determinó que en el tiempo de 150 minutos (Figura 19) la levadura llegaba a su mayor crecimiento y después de este tiempo iba disminuyendo, esto puede darse por el motivo de que sus nutrientes se fueron agotando (Tortora, Funke, y Case, 2007).

Tabla 5

Cinética de crecimiento por caja petri

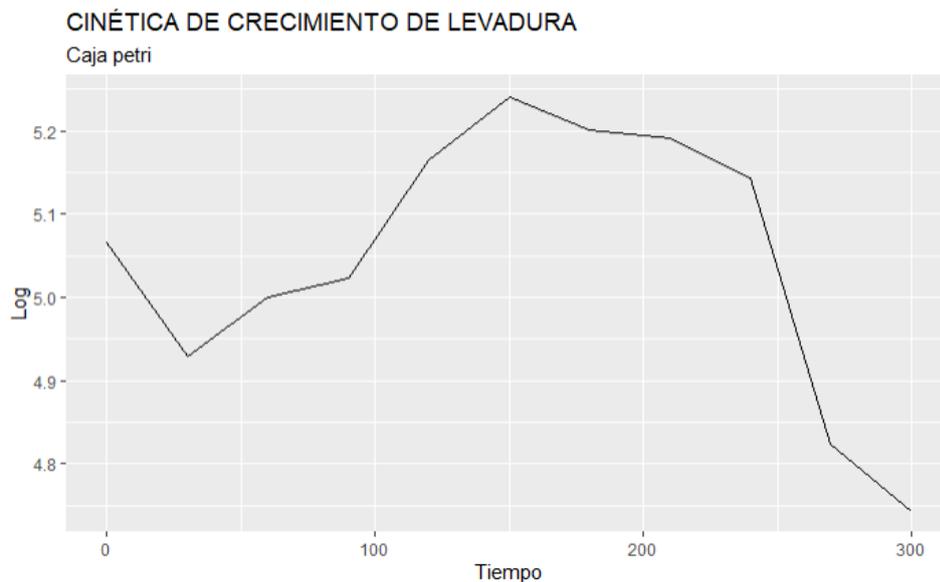
Tiempo	UFC	Log	Número de generaciones por tiempo	Velocidad de crecimiento por hora	Tiempo de generación
0	116333	5,07			
30	85000	4,93			
60	100000	5,00			
90	105333	5,02			

120	146000	5,16			
150	174333	5,24	0,584	0,233	4,28
180	158667	5,20			
210	155000	5,19			
240	139333	5,14			
270	66667	4,82			
300	55333	4,74			

Nota. Morales Andrés (2020)

Figura 19

Curva de crecimiento de la levadura en cajas petri



Nota. Morales Andrés (2020)

5.2. Determinación la Curva de Calibración de Plomo

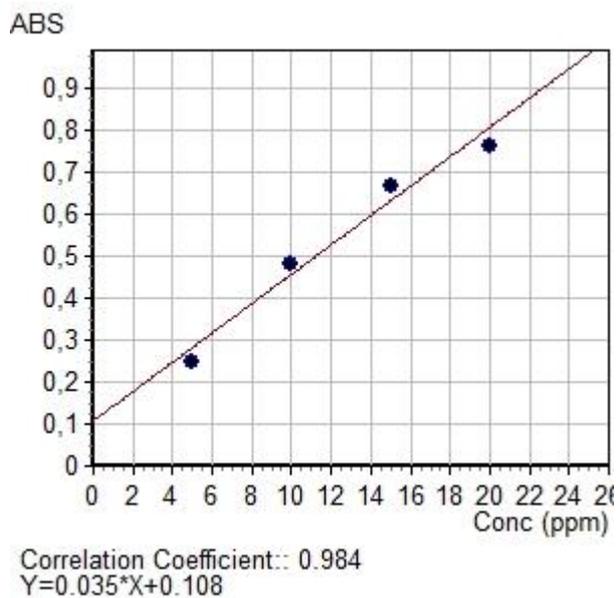
Para determinar la curva de calibración se procedió a conocer los parámetros principales del equipo de espectroscopia de adsorción atómica (EAA) para el plomo de acuerdo con Antanasopoulos (n.d.); Baird et al. (2013) son: una longitud de onda (wavelength) de 217 nm, un período de muestreo (sampling period) de 200 ms, ancho de la hendidura (slit width) de 1.0 nm para trabajar a una longitud de onda de 217 nm, corriente de la lámpara (lamp current) de 5 mA, voltaje PTM de 285.68 V según la necesidad de la lámpara, el gas acetileno debe estar a una presión de -8 psi (-0.54 atm), el gas nitroso a una presión de 10 psi (0.68 atm)

y el caudal de gas combustible se usó en 1.5 esto fue para conseguir una llama azul lo cual indicaba que se estaba usando más el acetileno que el nitroso.

Una vez determinadas las 3 repeticiones por concentración se pudo determinar la ecuación de la recta, la cual es $y = 0.035x + 0.108$; con esta ecuación se conoció que el coeficiente de correlación (r^2) fue de un 0.984 (Figura 20).

Figura 20

Gráfica de la curva de calibración del plomo



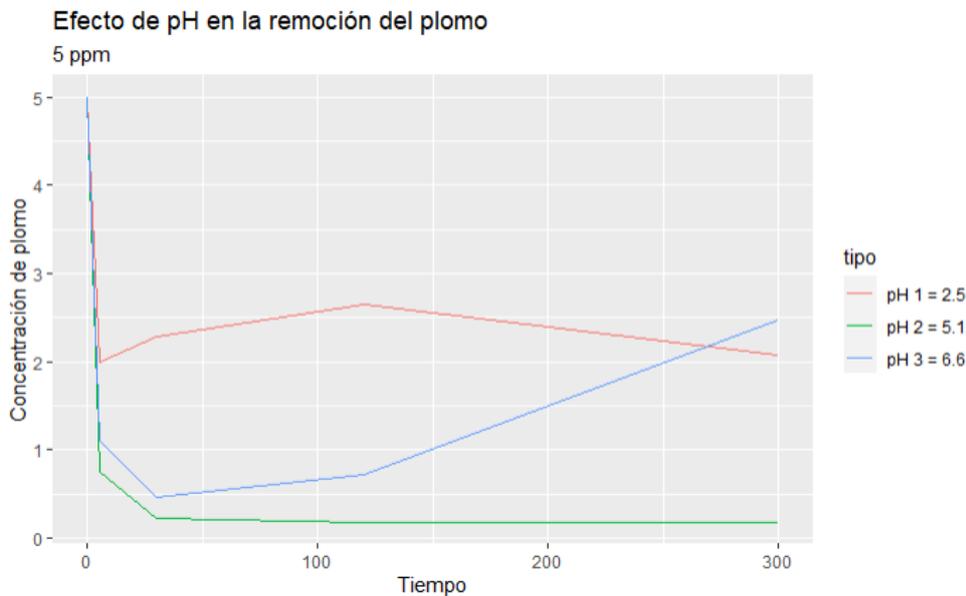
Nota. Morales Andrés (2020)

5.3. Determinación de Tiempo y pH Óptimo para la Bioadsorción del Plomo

En el ensayo se realizó a una concentración de 5 ppm de plomo (Anexo G) para lo cual se varió el parámetro de pH siendo usados los valores de 2.5, 5.1 y 6.6.

Figura 21

Bioadsorción en concentración de 5 ppm



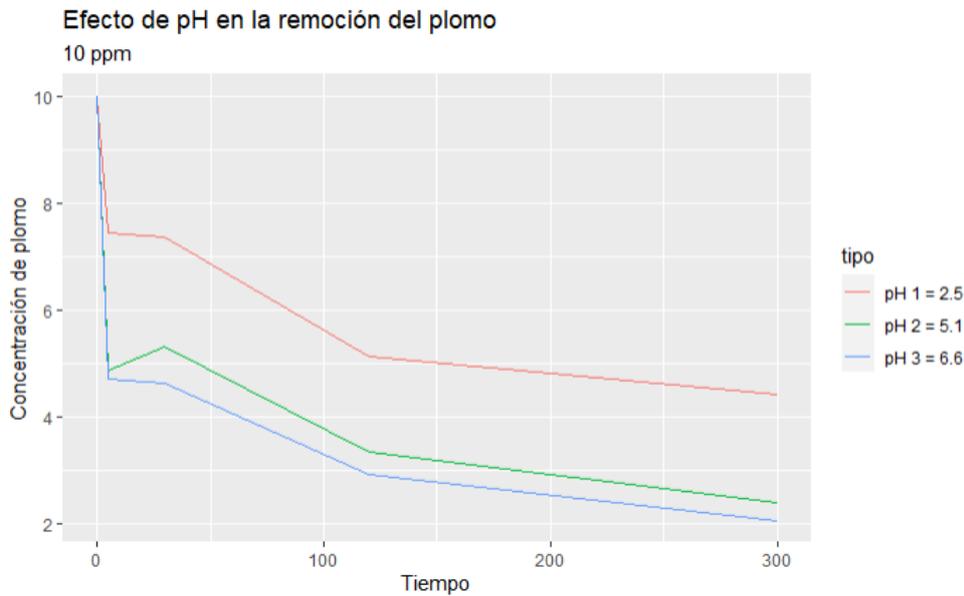
Nota. Morales Andrés (2020)

Como se ve en la figura 21 a una concentración de 5 ppm de plomo se tiene que en un pH 2.5 la mejor concentración en el tiempo de 5 minutos en la cual se llega a reducir la concentración hasta un 2 ppm de plomo y a partir de ese tiempo la levadura se satura lo cual provoca un crecimiento en la curva del pH 2.5 (Rosas et al., 2007). En un pH 5.1 la mejor remoción del metal se dio en el tiempo de 300 minutos llegando la concentración a un valor de 0.18 ppm de plomo, en este pH no se registró ninguna saturación de la levadura. En un pH 6.6 la mejor remoción del metal se registró en el minuto 30 llegando a una concentración de 0.46 ppm de plomo a partir de este tiempo la levadura se llega a saturar lo cual provoca que en vez de darse la biosorción del metal este empieza a liberar el mismo que ya se adsorbió (Moreno y Ramos, 2018).

En el ensayo se realizó a una concentración de 10 ppm de plomo (Anexo H) para lo cual se varió el parámetro de pH siendo usados los valores de 2.5, 5.1 y 6.6.

Figura 22

Bioadsorción en concentración de 10 ppm



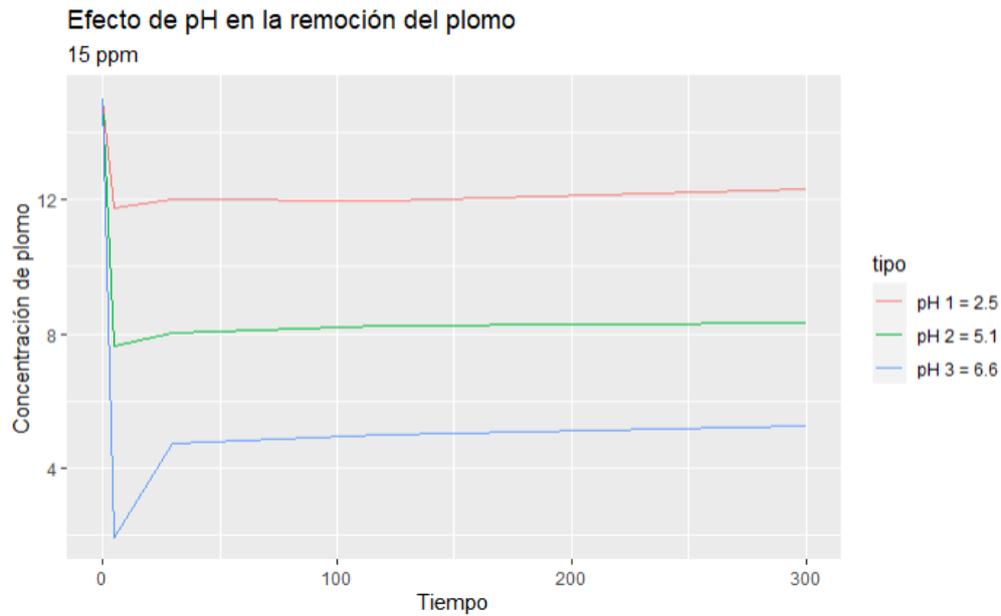
Nota. Morales Andrés (2020)

Como se muestra en la figura 22 a una concentración de 10 ppm de plomo en un pH 2.5 se tiene que la mejor remoción que se llegó a dar fue en el minuto 300 en el cual la concentración final fue de 4.42 ppm de plomo. En un pH 5.1 se tiene una mejor concentración en el tiempo de 300 minutos llegando la concentración a un valor de 2.41 ppm de plomo presente en el agua, en esta gráfica se puede observar que existe una pequeña alza en la concentración, esto se debe a que la levadura se estaba adaptando al medio para después rendir con eficiencia necesaria (Moreno y Ramos, 2018). En un pH 6.6 la mejor remoción que se detectó fue en el minuto 300 la cual su concentración final fue de 2.06 ppm de plomo presentes en el agua.

En el ensayo se realizó a una concentración de 15 ppm de plomo (Anexo I) para lo cual se varió el parámetro de pH siendo usados los valores de 2.5, 5.1 y 6.6.

Figura 23

Bioadsorción en concentración de 15 ppm



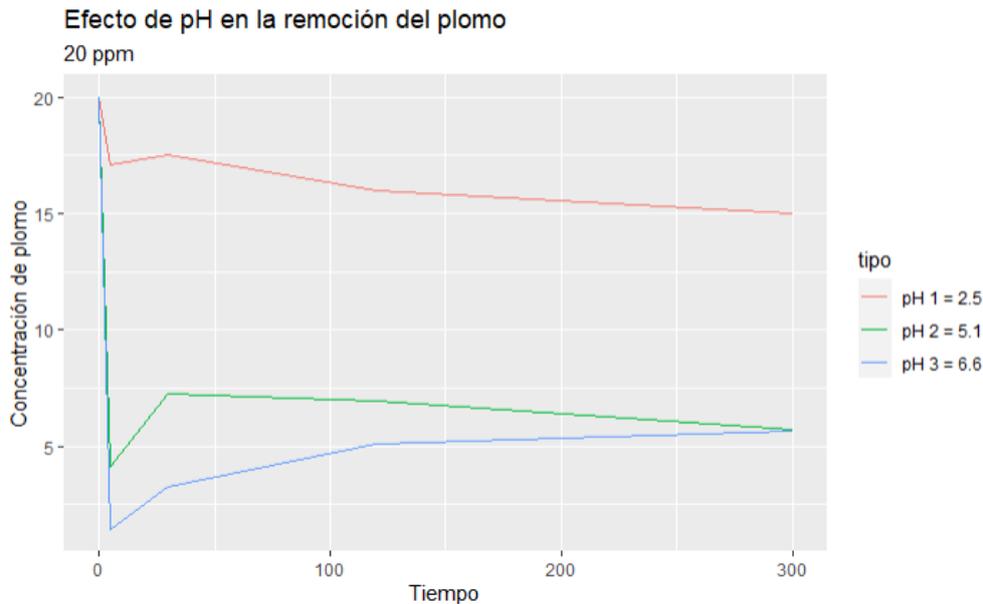
Nota. Morales Andrés (2020)

Como se muestra en la figura 23 a una concentración de 15 ppm inicial de plomo en un pH 2.5 se muestra que el procedimiento si está siendo válido, pero no tiene su efecto necesario, también se puede observar que el tiempo con mayor remoción de plomo se tuvo en los primeros 5 minutos llegando a una concentración de 11.75 ppm de plomo. En un pH 5.1 se determinó que el mejor tiempo de remoción se tuvo en el minuto 5 en el cual la concentración final de este ensayo fue de 7.65 ppm de plomo. En un pH 6.6 se determinó que el mejor tiempo fue a los 5 minutos con un valor final de la concentración de plomo de 1.94 ppm. En todos los ensayos que están dentro de la concentración inicial de 15 ppm se puede determinar que a partir de minuto 5 la levadura se llega a saturar levemente (Moreno y Ramos, 2018).

En el ensayo se realizó a una concentración de 20 ppm de plomo (Anexo J) para lo cual se varió el parámetro de pH siendo usados los valores de 2.5, 5.1 y 6.6

Figura 24

Bioadsorción en concentración de 20 ppm



Nota. Morales Andrés (2020)

En la figura 24 se llega a demostrar que en una concentración inicial de 20 ppm de plomo en el agua con un pH 2.5 el mejor tiempo de remoción del metal se dio en el minuto 300 consiguiendo así una concentración final de 14.98 ppm de plomo en el agua. En un pH 5.1 se determinó que el mejor tiempo de remoción del metal se dio en los primeros 5 minutos consiguiendo así una concentración de 4.14 ppm de plomo, al final de este ensayo se pudo observar que la concentración final de este se llega a 5.73 ppm lo cual está demostrando que se llega a saturar levemente (Moreno y Ramos, 2018).

En un pH 6.6 el mejor tiempo de remoción del metal se dio en los 5 minutos con una concentración de 1.43 ppm de plomo en el agua, pero a partir de este tiempo la levadura se llega a saturar levemente elevando este valor a 5.67 ppm de plomo.

5.4. Establecer la Eficiencia de Bioadsorción del Plomo por *Saccharomyces cerevisiae*

Para conocer la eficiencia que tiene la levadura para la bioadsorción del plomo en el agua se analizó individualmente según las concentraciones establecidas, el procedimiento

llevado a cabo consistió en conocer el porcentaje de remoción según la ecuación 10 con lo cual se obtuvieron los siguientes resultados:

Para el pH de 2.5 (Tabla 6) en diferentes tiempos y concentraciones, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6

Eficiencia de la bioadsorción en pH 2.5

Tiempo	Concentración (ppm)	Porcentaje de biosorción
5	5	60,07
	10	25,63
	15	21,67
	20	14,43
30	5	54,47
	10	26,27
	15	19,91
	20	12,53
120	5	47,07
	10	48,77
	15	20,36
	20	20,18
300	5	58,47
	10	55,80
	15	17,84
	20	25,10

Nota. Morales Andrés (2020)

Para el pH de 5.1 (Tabla 7) en diferentes tiempos y concentraciones, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 7

Eficiencia de la bioadsorción en pH 5.1

Tiempo	Concentración (ppm)	Porcentaje de biosorción
5	5	84,93
	10	51,27
	15	49,02
	20	79,32
30	5	95,60
	10	46,83
	15	46,60
	20	63,62
120	5	96,40
	10	66,60
	15	45,00
	20	65,33
300	5	96,40
	10	75,90
	15	44,51
	20	71,33

Nota. Morales Andrés (2020)

Para el pH de 6.6 (Tabla 8) en diferentes tiempos y concentraciones, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 8

Eficiencia de la bioadsorción en pH 6.6

Tiempo	Concentración (ppm)	Porcentaje de biosorción
5	5	77,93
	10	52,93
	15	87,04
	20	92,85
30	5	90,73
	10	53,63
	15	68,33
	20	83,82
120	5	85,67
	10	70,87
	15	66,60
	20	74,58
300	5	50,67
	10	79,43
	15	65,02
	20	71,67

Nota.: Morales Andrés (2020)

5.4.1. Análisis Estadístico

Se realizó un análisis estadístico para el porcentaje de biosorción del plomo por medio de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*). Se utilizó el programa STATGRAPHICS para obtener el análisis de varianza ANOVA. El diseño experimental se consideró tres factores, tiempo de contacto, concentración y pH, denominados A, B y C respectivamente; siendo la variable de respuesta el porcentaje de biosorción.

Las ecuaciones utilizadas para el Análisis de Varianza se especifican en la Tabla 9 (Morales, 2020).

Tabla 9

Análisis de Varianza para el experimento de 3 factores

Fuente	Suma de cuadrados	GL (Grados de libertad)	Cuadrado Medio	F	Valor de P
Efecto A	SCA	a-1	CMA	CMA/CME	P(F>Fo)
Efecto B	SCB	b-1	CMB	CMB/CME	P(F>Fo)
Efecto C	SCC	c-1	CMC	CMC/CME	P(F>Fo)
Efecto AB	SCAB	(a-1) (b-1)	CMAB	CMAB/CME	P(F>Fo)
Efecto AC	SCAC	(a-1) (c-1)	CMAC	CMAC/CME	P(F>Fo)
Efecto BC	SCBC	(b-1) (c-1)	CMBC	CMBC/CME	P(F>Fo)
Residuos	SCE	abc (n-1)	CME		
TOTAL	SCT	abcn-1			

(CORREGIDO)

Nota. Morales (2020)

Donde:

- Suma de cuadrados del efecto A (SCA) = $\sum_{i=1}^a \frac{Y_i^2}{an} - \frac{Y_{..}^2}{N}$
- Suma de cuadrados del efecto B (SCB) = $\sum_{j=1}^b \frac{Y_j^2}{bn} - \frac{Y_{..}^2}{N}$
- Suma de cuadrados del efecto C (SCC) = $\sum_{k=1}^c \frac{Y_k^2}{cn} - \frac{Y_{..}^2}{N}$
- Suma de cuadrados del efecto A y B (SCAB) = $\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{Y_{ij}^2}{n} - \frac{Y_{..}^2}{N} - SCA - SCB$
- Suma de cuadrados del efecto A y C (SCAC) = $\sum_{i=1}^a \sum_{k=1}^c \frac{Y_{ik}^2}{n} - \frac{Y_{..}^2}{N} - SCA - SCC$
- Suma de cuadrados del efecto B y C (SCBC) = $\sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \frac{Y_{jk}^2}{n} - \frac{Y_{..}^2}{N} - SCB - SCC$
- Suma de cuadrados totales (SCT) = $\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \sum_{l=1}^n Y_{ijkl}^2 - \frac{Y_{..}^2}{N}$
- Suma de cuadrados del error (SCE) = $SCT - SCA - SCB - SCC - SCAB - SCAC - SCBC$

- Total, de observaciones del experimento $N = abc n$
- Cuadrados medios $CM = \frac{SCA}{GL}$
- Estadístico Fisher $F = \frac{CMA}{CME}$

Donde:

- $Y_{..}$ = Suma de todas las observaciones
- $Y_{i..}$ = Suma de todas las observaciones del tratamiento i – *Efecto A*
- $Y_{j..}$ = Suma de todas las observaciones del tratamiento j – *Efecto B*
- $Y_{k..}$ = Suma de todas las observaciones del tratamiento k – *Efecto C*
- $Y_{l..}$ = Suma global de todas las observaciones
- n = número de replicas

5.4.1.1. ANOVA para la Determinación de la Eficiencia de Bioadsorción.

En este procedimiento, se realizó un análisis de varianza de varios factores sobre el porcentaje de biosorción. Se realizaron varias pruebas y gráficos para determinar qué factores tenían un impacto estadísticamente significativo en el porcentaje de biosorción. También se evalúa la importancia de la interacción entre los factores. La Prueba F en la tabla de análisis de varianza (Tabla 10) pudo permitir identificar los factores significativos. La gráfica de interacciones ayudó a interpretar los efectos significativos.

Los resultados obtenidos del análisis de varianza (ANOVA) para la determinación el predominio los factores A, B y C en variable de respuesta del porcentaje de biosorción se muestra en la Tabla 10

Tabla 10

Análisis de Varianza para Porcentaje de biosorción

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tiempo	379,76	3	126,587	2,71	0,0487
B: Concentración	15985,2	3	5328,41	113,89	0,0000
C: pH	45314,9	2	22657,4	484,3	0,0000
INTERACCIONES					
AB	6560,02	9	728,891	15,58	0,0000
AC	1735,86	6	289,311	6,18	0,0000
BC	10915,5	6	1819,25	38,89	0,0000
RESIDUOS	5333,38	114	46,784		
TOTAL (CORREGIDO)	86224,7	143			

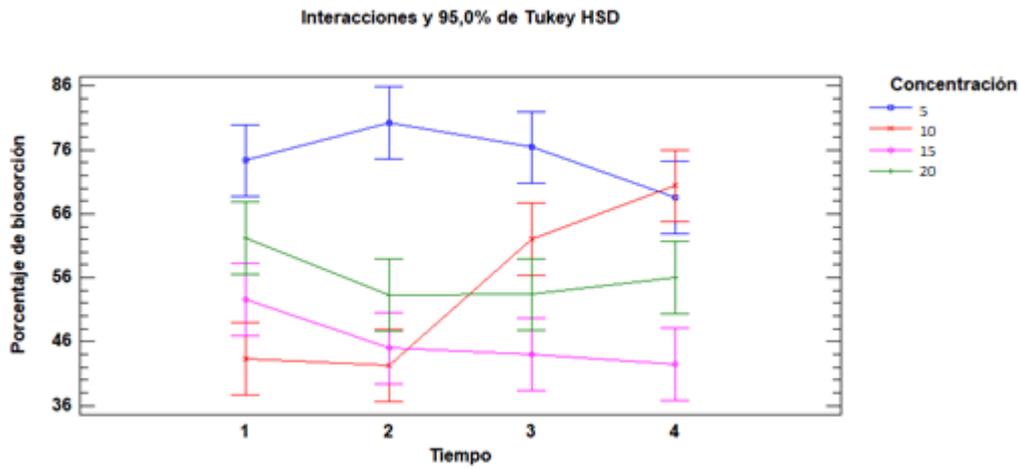
Nota. Morales Andrés (2020)

Puesto que los valores-P para el Tiempo (A), Concentración (B) y pH (C) son menores que 0.05, podemos determinar que estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre porcentaje de biosorción con un 95,0% de nivel de confianza, es decir, los tres parámetros si intervienen en la remoción del metal. Para las interacciones AB, AC y BC, el valor de p es menores a 0.05, es decir que las interacciones tienen un efecto directo sobre el porcentaje de bioadsorción del plomo. (STATGRAPHICS, 2006)

En el gráfico 25 se establecieron las concentraciones de 5ppm, 10ppm, 15ppm y 20ppm y los tiempos se denominaron como 1, 2, 3 y 4 siendo estas 5 min, 30 min, 120 min y 300 min respectivamente. Se puede observar que el efecto es relativamente fuerte del tiempo sobre el porcentaje de biosorción del plomo, la concentración más elevada se refleja en la concentración de 5 ppm a un tiempo de 30 minutos, mientras que la concentración 10 ppm el efecto deseado es más prolongado. Para la concentración de 15 ppm tiene una pendiente negativa, es decir que tiene un efecto negativo el tiempo sobre la concentración (Walpole et al., 2012).

Figura 25

Gráfico de interacciones AB

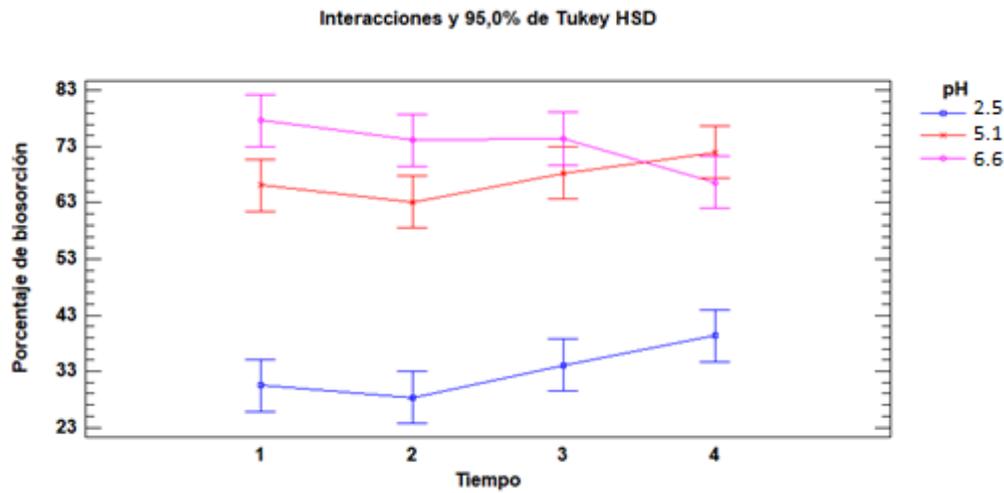


Nota. Morales Andrés (2020)

En el gráfico 26 se estableció un pH de 2.5, 5.1 y 6.6 y los tiempos se denominaron como 1, 2, 3 y 4 siendo estas 5 min, 30 min, 120 min y 300 min respectivamente. Se puede observar que el efecto es relativamente fuerte del tiempo sobre el porcentaje de biosorción del plomo, el pH 6.6 tiene la mayor bioadsorción en el tiempo de 5 minutos, pero esta va a tender a una pendiente negativa, es decir, que con el pasar del tiempo el pH 6.6 pierde su eficiencia sobre el porcentaje de biosorción del plomo, mientras que el pH 5.1 tiene un efecto más prolongado para obtener el mayor porcentaje de biosorción del plomo por la levadura (Walpole et al., 2012).

Figura 26

Gráfico de interacciones AC

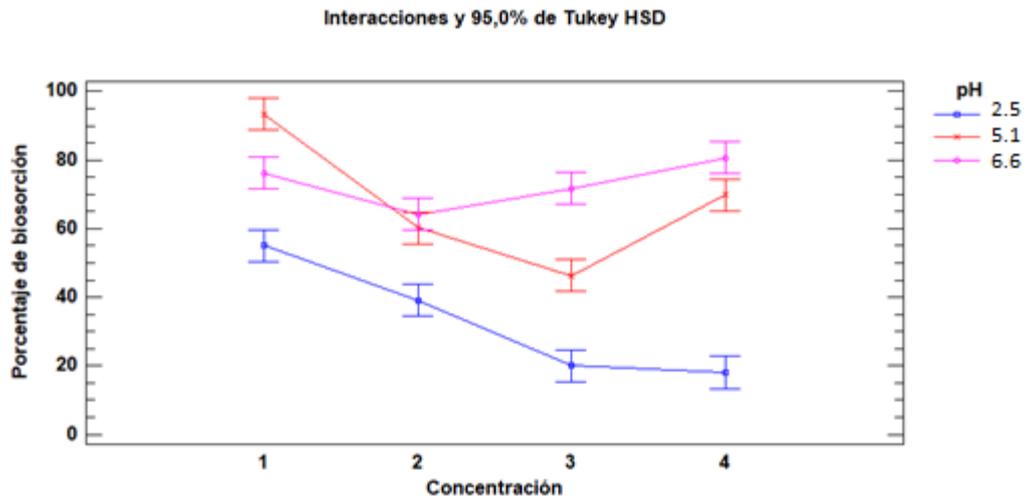


Nota. Morales Andrés (2020)

En la figura 27 se estableció un pH de 2.5, 5.1 y 6.6 y las concentraciones se las denominaron como 1, 2, 3 y 4 siendo estas 5ppm, 10ppm, 15ppm y 20ppm respectivamente. Se puede observar que el efecto es relativamente fuerte de la concentración sobre el porcentaje de biosorción del plomo, el pH 6.6 tiene una interacción prolongada donde su mejor porcentaje de biosorción del plomo se da en la concentración 20 ppm, en el pH 5.1 se tiene una pendiente negativa en las tres primeras concentración y una pendiente positiva al llegar a la última concentración, es decir, que el mayor porcentaje de biosorción del plomo en un pH 5.1 se va a dar en la cuarta concentración, mientras que para el pH 2.5 se tiene una pendiente negativa, es decir, que en ninguna concentración del metal va a tener un porcentaje de biosorción alto (Walpole et al., 2012).

Figura 27

Gráfico de interacciones BC



Nota. Morales Andrés (2020)

5.5. Determinar Isotherma de Bioadsorción

5.5.1. Isotherma de Langmuir

Para evaluar la cinética de bioadsorción se trabajó con una cantidad de 3 g de levadura (bioadsorbente) a diferentes concentraciones y variando el pH, los cuales fueron 2.5, 5.1 y 6.6.

Una vez concluida la obtención de datos para conocer la cinética de bioadsorción fue necesario conocer los valores de Q_{max} (capacidad de adsorción) y b (coeficiente de afinidad) estos datos se los obtiene al hacer una comparación entre la ecuación 3 y la ecuación 9. Los datos fueron trabajados individualmente, es decir, se trabajó para un tiempo final y un pH específico. Con esto se llegaron a obtener 3 diferentes gráficas y tablas de las cuales se determina la que tiene un mejor rendimiento.

También a partir de los datos obtenidos se puede conocer el factor adimensional (RL) el cual indica que cuando un valor es igual a 0 el sistema isotérmico es irreversible, cuando está en un valor entre 0 a 1 el sistema isotérmico es favorable y cuando el RL es superior a 1 el sistema isotérmico no es favorable, siendo esto que la adsorción del metal no es significativa.

- pH 2.5

En la tabla 11 se puede observar que el RL para el ensayo donde el tiempo es 300 minutos y el pH 2.5 está en un valor entre 0 y 1 siendo el máximo de 0.0756 y el mínimo de 0.0200, con esto se demuestra que los valores se encuentran dentro del rango de captación de metales es favorables según Uría et al., (2008).

Tabla 11

Parámetros de aplicación para el método lineal Langmuir para un tiempo 300 y pH 2.5

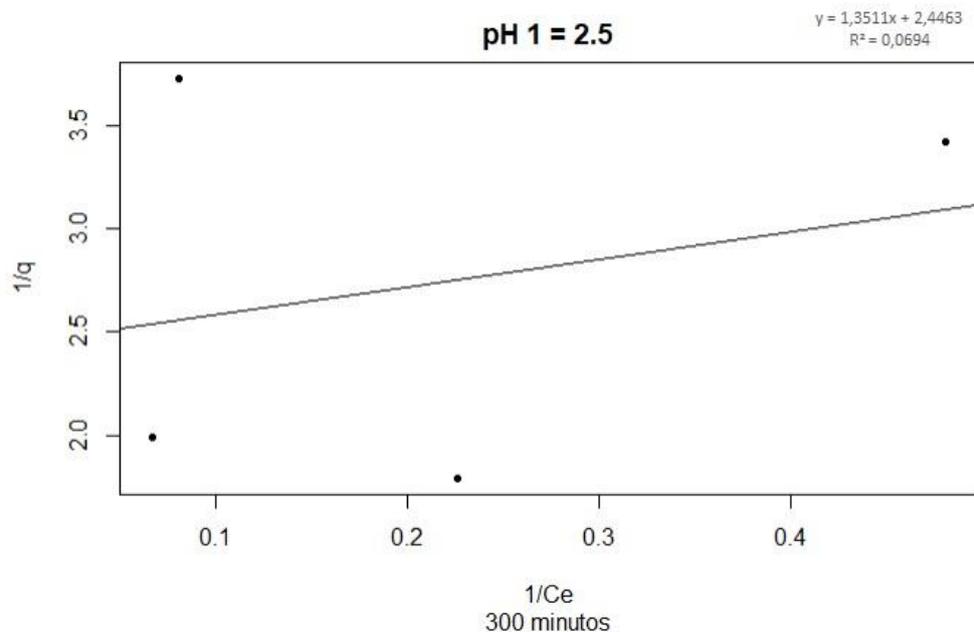
Masa (g)	Concentración inicial C_i (mg/l)	Concentración de equilibrio C_e (mg/l)	Concentración de adsorción Q (mg/g)	Langmuir		RL
				1/ C_e	1/ q	
3	5	2,08	0,292	0,481	3,42	0,0756
3	10	4,42	0,558	0,226	1,79	0,0393
3	15	12,32	0,268	0,081	3,73	0,0265
3	20	14,98	0,502	0,067	1,99	0,0200

Nota. Morales Andrés (2020)

Una vez ya obtenido los valores se procedió a realizar la gráfica donde el 1/ C_e para el eje de las abscisas y 1/ q para el eje de las ordenadas (Figura 28), para la cual se realizó una regresión lineal y se obtuvieron que la recta de la pendiente era de 1.3511 y una intercepción de 2.4463, con estos datos la Q_{\max} da un valor de 0.4088 mg de Pb/g levadura y un valor de la constante b de 1.8106; de igual forma se obtuvo un coeficiente de correlación (r^2) de 0.0694, es decir, que la isoterma de Langmuir para el caso de este ensayo no se ajusta como un modelo favorable lo cual refleja un bajo rendimiento en el tratamiento.

Figura 28

Isoterma de Langmuir para un tiempo de 300 min y pH 2.5



Nota. Morales Andrés (2020)

- pH 5.1

En la tabla 12 se puede observar que el RL para el ensayo donde el tiempo es 300 minutos y el pH 5.1 está en un valor entre 0 y 1 siendo el máximo de 0.1514 y el mínimo de 0.0427, con esto se demuestra que los valores se encuentran dentro del rango de captación de metales es favorables según Uría et al., (2008)

Tabla 12

Parámetros de aplicación para el método lineal Langmuir para un tiempo 300 y pH 5.1

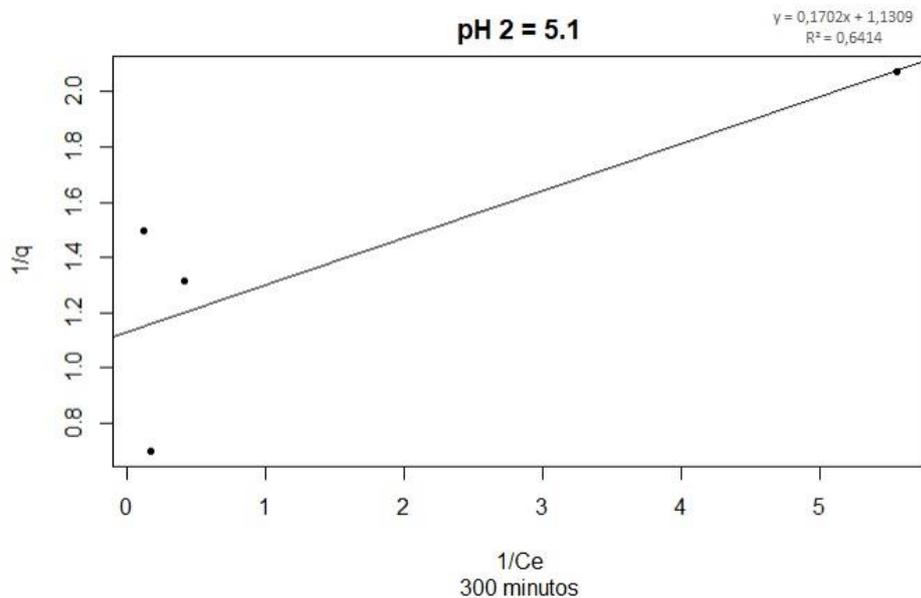
Masa (g)	Concentración inicial C_i (mg/l)	Concentración de equilibrio C_e (mg/l)	Concentración de adsorción Q (mg/g)	Langmuir		RL
				$1/C_e$	$1/q$	
3	5	0,18	0,482	5,56	2,07	0,1514
3	10	2,41	0,759	0,41	1,32	0,0819
3	15	8,32	0,668	0,12	1,50	0,0561
3	20	5,73	1,427	0,17	0,70	0,0427

Nota. Morales Andrés (2020)

Una vez ya obtenido los valores se procedió a realizar la gráfica donde el $1/C_e$ para el eje de las abscisas y $1/q$ para el eje de las ordenadas (Figura 29), para la cual se realizó una regresión lineal y se obtuvieron que la recta de la pendiente era de 0.1702 y una intercepción de 1.1309, con estos datos la $Q_{\text{máx}}$ da un valor de 7.8843 mg de Pb/g levadura y un valor de la constante b de 6.6445; de igual forma se obtuvo un coeficiente de correlación (r^2) de 0.6414, es decir, que la isoterma de Langmuir para el caso de este ensayo se logra ajustar, ya que el modelo puede llegar a ser favorable por lo cual refleja un rendimiento mediano-alto en el tratamiento.

Figura 29

Isoterma de Langmuir para un tiempo de 300 min y pH 5.1



Nota. Morales Andrés (2020)

- pH 6.6

En la tabla 13 se puede observar que el RL para el ensayo donde el tiempo es 300 minutos y el pH 6.6 está en un valor entre 0 y 1 siendo el máximo de 0.4983 y el mínimo de 0.1989, con esto se demuestra que los valores se encuentran dentro del rango de captación de metales es favorable según Uría et al., (2008).

Tabla 13

Parámetros de aplicación para el método lineal Langmuir para un tiempo 300 y pH 6.6

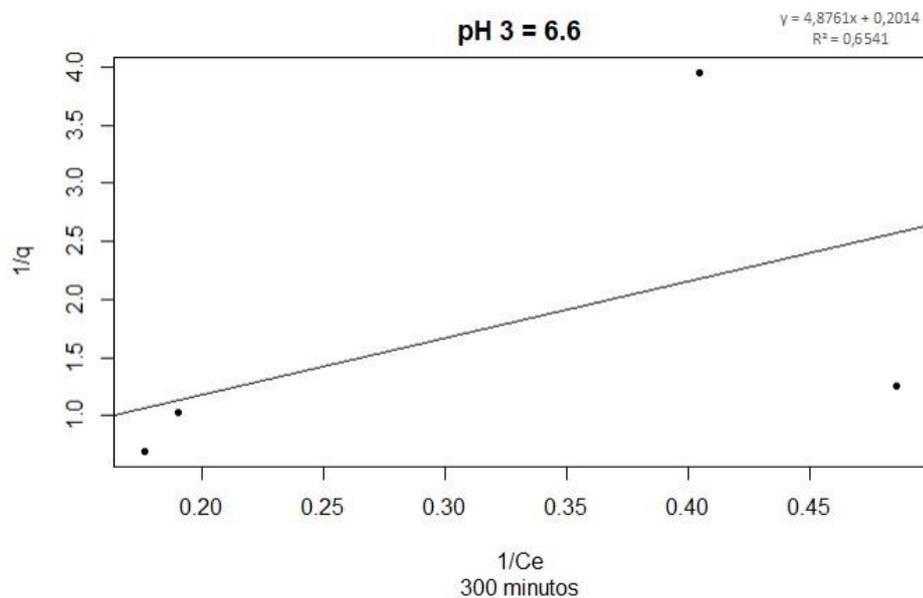
Masa (g)	Concentración inicial C_i (mg/l)	Concentración de equilibrio C_e (mg/l)	Concentración de adsorción Q (mg/g)	Langmuir		RL
				1/ C_e	1/ q	
3	5	2,47	0,253	0,40	3,95	0,4983
3	10	2,06	0,794	0,49	1,26	0,3318
3	15	5,25	0,975	0,19	1,03	0,2487
3	20	5,67	1,433	0,18	0,70	0,1989

Nota. Morales Andrés (2020)

Una vez ya obtenido los valores se procedió a realizar la gráfica donde el 1/ C_e para el eje de las abscisas y 1/ q para el eje de las ordenadas (Figura 30), para la cual se realizó una regresión lineal y se obtuvieron que la recta de la pendiente era de 4.8761 y una intercepción de 0.2014, con estos datos la $Q_{\text{máx}}$ da un valor de 4.9652 mg de Pb/g levadura y un valor de la constante b de 0.0413; de igual forma se obtuvo un coeficiente de correlación (r^2) de 0.6541.

Figura 30

Isoterma de Langmuir para un tiempo de 300 min y pH 6.6



Nota. Morales Andrés (2020)

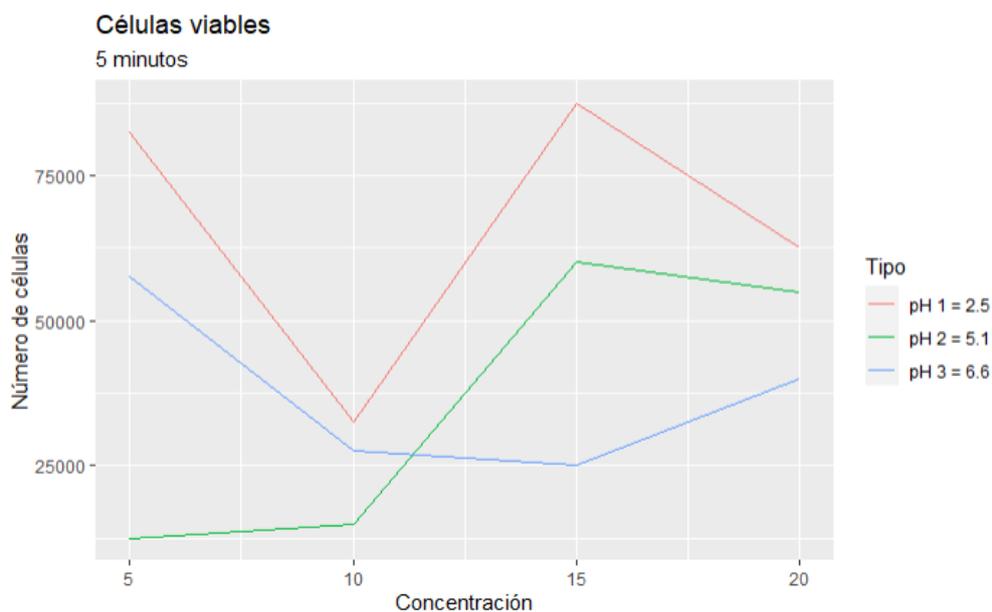
5.6. Establecer el Número de Células Viables

Una vez terminados los ensayos de los tiempos de 5, 30, 120 y 300 minutos se procedió al conteo de las células viables (Figura 17) por medio de la cámara neubauer; obteniendo los siguientes resultados:

En el Anexo K se puede observar el número de células viables al finalizar el ensayo en el tiempo de 5 minutos. En la Figura 31 se puede determinar que, en las concentraciones de 5, 10, 15 y 20 ppm el mayor número de células viables se ve reflejado en un pH de 2.5; en el pH de 5.1 donde se obtiene el mayor número de células viables son en las concentraciones de 15 y 20 ppm. Mientras que el pH 6.6 el mayor número de células viables se ve reflejado a una concentración de 5 ppm.

Figura 31

Células viables en un tiempo de 5 minutos



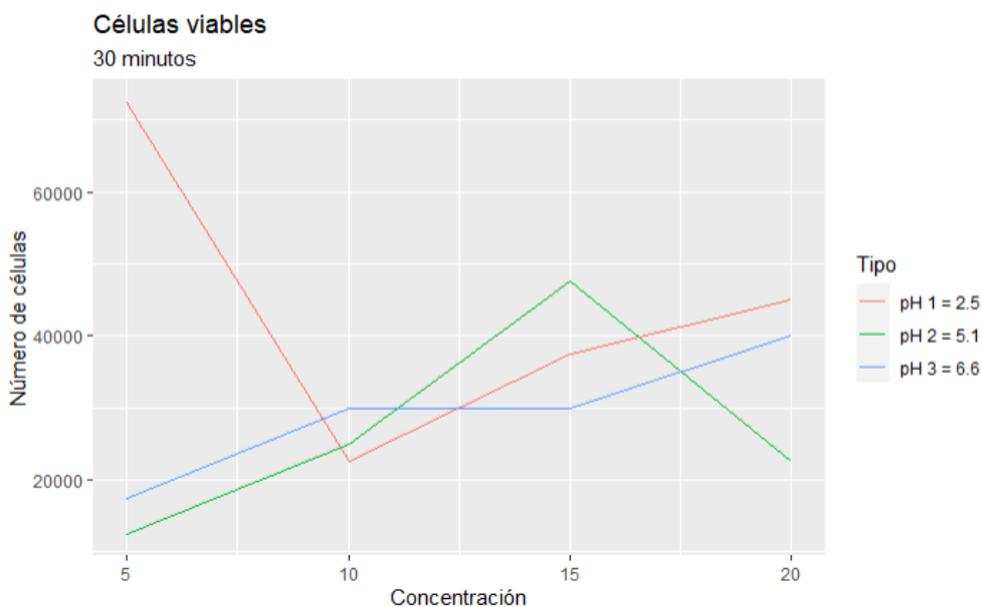
Nota. Morales Andrés (2020)

En el Anexo L se puede observar el número de células viables al finalizar el ensayo en el tiempo de 30 minutos. En la Figura 32 se puede determinar que, el pH de 2.5 tiene un comportamiento decreciente y creciente, es decir, que entre las concentraciones de 5 y 10 ppm

existe una disminución de número de células mientas que en la concentración de 15 y 20 ppm se observa un crecimiento de células. El pH de 5.1 tiene un comportamiento ascendente entre las concentraciones de 5 ppm a 15 ppm en el cual consigue su mayor número de células viables, mientras que en la concentración de 20 ppm existe una disminución de células viables. En el pH de 6.6 en todo el tratamiento tiene un comportamiento ascendente en el número de células viables alcanzando su mayor número en la concentración de 20 ppm.

Figura 32

Células viables en un tiempo de 30 minutos



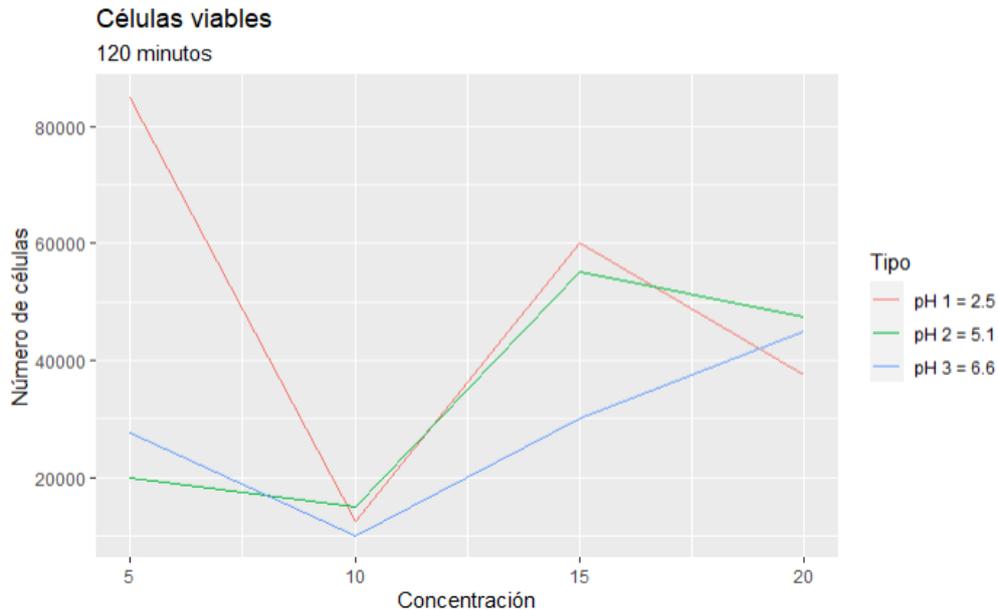
Nota. Morales Andrés (2020)

En el Anexo M se puede observar el número de células viables al finalizar el ensayo en el tiempo de 120 minutos. En la Figura 33 se puede determinar que, el pH de 2.5 tiene un comportamiento ascendente y descendente, es decir, que entre las concentraciones de 5 y 10 ppm existe una disminución de número de células viables, mientras que para la concentración de 15 ppm existe un aumento y luego en el de 20 ppm se disminuye. En el pH de 5.1 entre la concentración de 5 y 10 ppm existe una disminución leve de número de células viables mientras que para la concentración de 15 ppm se observa un incremento de células viables para después disminuir en la concentración de 20 ppm. En el pH 6.6 se tiene que entre las concentraciones

de 5 y 10 ppm existe una disminución casi total de células viables, pero a partir de esa concentración su crecimiento es elevado al punto de llegar en la concentración de 20 ppm a igualar al número de células viables del pH de 5.1

Figura 33

Células viables en un tiempo de 120 minutos

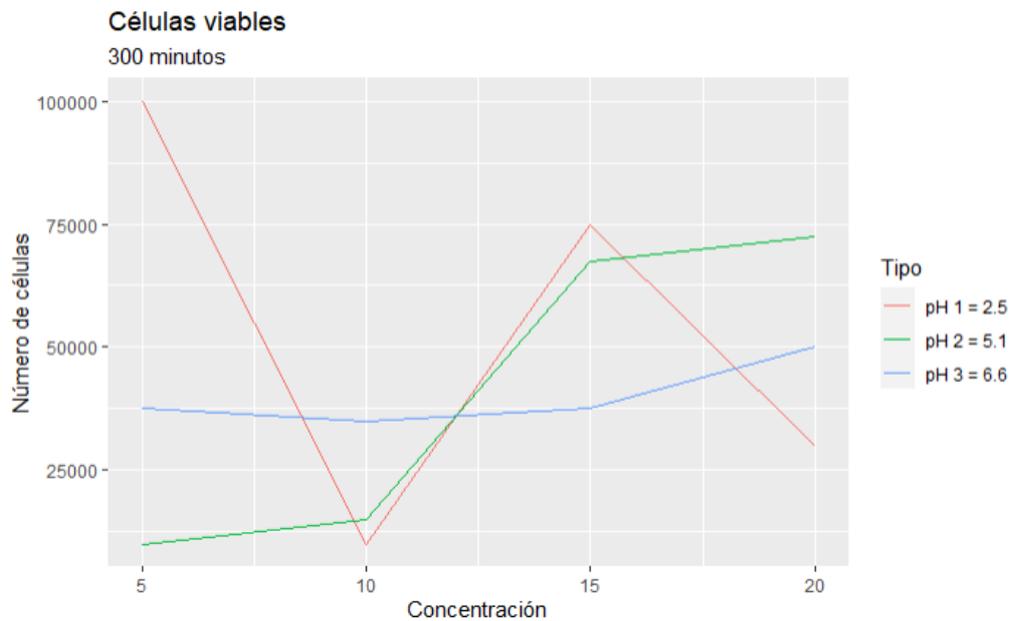


Nota. Morales Andrés (2020)

En el Anexo N se puede observar el número de células viables al finalizar el ensayo en el tiempo de 300 minutos. En la Figura 34 se puede determinar que, en el pH de 2.5 tiene un comportamiento ascendente y descendente, es decir, que entre las concentraciones de 5 y 10 ppm existe una disminución de número de células viables, mientras que para la concentración de 15 ppm existe un aumento y luego en el de 20 ppm se disminuye. En el pH de 5.1 tiene un comportamiento ascendente durante todo el tratamiento aplicado obteniendo el mayor número de células viables en la concentración de 20 ppm. En el pH de 6.6 entre las concentraciones de 5 y 10 ppm se tiene una disminución leve de número de células viables, mientras que en las concentraciones de 15 y 20 ppm existe un incremento obteniendo su mayor número de células viables en la concentración final.

Figura 34

Células viables en un tiempo de 300 minutos



Nota. Morales Andrés (2020)

5.7. Discusión

Al igual que otros trabajos realizados con levadura, Se demostró que la *Saccharomyces cerevisiae* tiene la capacidad de remover el plomo de un agua contaminada.

Al comparar los resultados con otros autores se pudo determinar que un parámetro fundamental para que la biosorción con *Saccharomyces cerevisiae* es el pH. Según Milagros y María (2016); Moreno y Ramos (2018) al momento de llevarse a cabo la biosorción del metal, este parámetro afecta directamente a los sitios funcionales (carboxilos, aminas, fosfatos, sulfatos e hidroxilos) de la biomasa, es decir, afecta a la solubilidad de los metales por la interacción de los cationes metálicos y a su vez esta unión llega a ser muy sensible tanto así que solo variando el pH este puede ir de un 0% a un 100% de rendimiento. Se trabajó con un pH de un rango de 2.5 a 6.6 esto se realizó para demostrar que a pH bajos (1.5 a 4) solo es favorecida por los aniones, mientras que para los pH superiores al 4.5 son favorecidos cationes, es decir, que la mayor biosorción del plomo se debe dar a pH superior al 4.5 esto se da por la

competencia que existe entre los iones intercambiables por los centros activos ionizables. (Sáenz, 2004) El mejor rendimiento se obtuvo en un pH de 5.1 llegando hasta un valor del 96.4% en un tiempo de 120 minutos en una concentración de 5 ppm, y así coincide con lo reportado por Infante (2014); Milagros y María (2016); Moreno y Ramos (2018); Parvathi et al. (2007); Pauro Roque et al. (2009)

A concentraciones elevadas la levadura disminuye su capacidad de biosorción, esto se debe según Rosas et al. (2007) a que la concentración penetró al citoplasma y reaccionaron con los grupos -OH y -SH de los aminoácidos de las proteínas y enzimas inactivándolas provocando la inhibición, lo cual ocasiona una disminución en la capacidad de remoción. Por lo tanto, en la Figura 24 y 25 se puede observar que a partir del minuto 5 estas se saturaron provocando un efecto contrario a lo que se buscaba, es decir, la concentración que ya fue adsorbida por el biosorbente empieza a liberarse.

A un pH de 5.1 el plomo es un catión divalente el cual puede relacionarse con los diferentes grupos funcionales negativos de la pared celular de la *Saccharomyces cerevisiae* en la cual se encontró una capacidad bioadsorción de 7.8843 mg de Pb/g levadura, la cual es una mayor cantidad obtenida por Infante (2014) ya que en este estudio se obtuvo una cantidad de 6.52 mg Pb/g de levadura. Pero podemos determinar que el valor logrado se acerca más al valor obtenido por Skountzou et al. (2003) donde obtuvieron 8.9 mg de Pb/g de levadura; asimismo en la investigación realizada por Skountzou et al. (2003) obtuvieron una eficiencia del 71.8% para el Pb siendo esta un menor porcentaje de rendimiento demostrado en este trabajo en la que se llegó a un valor de 96.4%.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- La levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) presenta un alto rendimiento al adsorber iones metálicos de Plomo a escala de laboratorio.
- El pH es el factor que más influencia tiene sobre la biosorción del metal; en el caso del bioadsorbente de levadura, el pH óptimo en soluciones acuosas para el plomo es de 5.1 alcanzando un rendimiento de 96.4%.
- En cuanto al tiempo óptimo de la biosorción de plomo, se determinó que el mayor rendimiento se registró en el minuto 120 al usar 1 g de biomasa por 100 ml de agua sintética.
- La levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) tiene una adsorción máxima (Q_{max}) de 7.8843 mg de Pb/g levadura mediante el modelo de Langmuir con la constante 'b' de 6.6445.
- El estudio determina que a partir de una concentración de 15 ppm después de los 5 minutos, la levadura se llega a saturar.
- La levadura puede ser considerada como una alternativa viable debido a su alto rendimiento de biosorción, por lo cual puede ser usada como un tratamiento para descontaminar aguas que contengan plomo.

6.2. Recomendaciones

- Realizar el mismo estudio aplicado utilizando descargas industriales con la presencia del metal utilizado.
- Ejecutar el estudio a escala piloto para determinar su eficiencia y ver la factibilidad de aplicarlo en una industria.
- Se recomienda hacer estudios tomando en cuenta también el parámetro de temperatura y variando el mismo para determinar si influye en la biosorción de plomo.
- Realizar un análisis económico del proceso para determinar si es factible la utilización de la levadura en la descontaminación de aguas que contengan plomo.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Altamirano, C. (2013). Optimización de un método para la producción de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* empleada en la etapa de Fermentación del Mosto de Cerveza, desde un nivel de Laboratorio a un nivel Piloto. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 1–156. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)02353-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)02353-X)
- Antanasopoulos, N. (n.d.). *Flame Methods Manual for Atomic Absorption* (p. 27).
- Baird, R., Eaton, A., & Rice, E. (2013). Standard Methods for the examination of water and wastewater. *Encyclopedia of Forensic Sciences: Second Edition*, 253. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382165-2.00237-3>
- Bandile, U. C., & Woodford, K. O. (2015). *EVALUACIÓN DE BIOADSORCIÓN DE COBRE EN AGUAS UTILIZANDO LA LEVADURA Saccharomyces cerevisiae*. *December*, 2–4.
- Barrio, N. (2017). *Trabajo de fin de grado: Metales pesados en suelos y sus efectos sobre la salud*. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/NOELIA BARRIO VEGA.pdf>
- Burger, M., & Román, D. P. (2010). *Plomo salud y ambiente*. 1–248.
- Cabrera, L. (2017). Bioadsorción de iones de plomo y cromo procedentes de aguas residuales utilizando la cáscara del tomate de árbol (*Solanum betaceum*). *Tesis Para Optar El Título de Ingeniero Ambiental*, 172. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/14460>
- Campos Medina, E. (2008). Estudio de la adsorción de cromo hexavalente utilizado como biomaterial la Ectodermis de oputia. *Revista de Estudios Urbanos, Regionales, Territoriales, Ambientales y Sociales*, 10(1), 16–31.
- Cañizares, R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42(3), 131–143.
- Castro, M. (n.d.). *¿Cuáles son las implicaciones en la salud o el ambiente de los metales pesados?* Lifeder. <https://www.lifeder.com/implicaciones-salud-ambiente-metales-pesados/>
- Covarrubias, S., & Peña, J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 33, 7–21. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01>
- Coyago, E., & Bonilla, S. (2016). Absorción de plomo de suelos altamente contaminados en especies vegetativas usadas para consumo animal y humano. *La Granja*, 23(1). <https://doi.org/10.17163/lgr.n23.2016.04>
- Cruz, L. (2020). *Intoxicación por plomo*. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/lead-poisoning/symptoms-causes/syc-20354717>
- Dimas, G., Miranda, R., Sosa, C., Cantú, M., Rivera, J., Bustos, D., & Fernández, S. (2013). Biosorción Pb, Cd, Zn y Cr con levadura de panadería. In *Chemistry Sciences* (Vol. 3, Issue 2, pp. 1–4).
- Eróstegui, C. (2009). *Contaminación por metales*.
- Floréz, Y., & Coste, Á. (2006). Bioabsorción de metales pesados por *Salvinia natans* de los lixiviados del relleno sanitario Combeima de Ibagué. *Revista Tumbaga*, 89–100.

<https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/reader.action?docID=3194682&q uery=contaminacion+por+plomo#>

- Galán, E., & Romero, A. (2008). Contaminación de Suelos por Metales Pesados. *Macla*, 10, 48–60.
- García, N. (2014). *Programa de Doctorado de Ciencia y Tecnología de Materiales*.
- Garzón, J., Rodríguez, J., & Hernández, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- González, J., García, L., Velázquez, G., Maldonado, A., Valdívieso, I., Rodríguez, J., & Martínez, R. (2010). *Modelación del proceso de transferencia de masa en columnas de lecho fijo de la bioadsorción del Cr (VI)*. 40.
- Guajardo, J. (2014). *Fórmula General para cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer*. 3(20), 1–3.
- Guerrero, L. F., Campos, T. G., Estrada, C. R., Silva, S. A., Romero, J. A., Mendivil, M. N., Valdez, C. H., & Puga, M. P. (2019). La nutrición como pilar en las diferentes etapas de la vida. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 8(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Herrejón Figueroa, M., & Limón Rodríguez, B. (2008). Cinética e isothermas de adsorción de Pb(II) en suelo de Monterrey. *Ingenierías*, 11(41), 4.
- Infante, C. (2014). Removal of lead, mercury and nickel using the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista MVZ Córdoba*, 19(2), 4141–4149. <https://doi.org/10.21897/rmvz.107>
- Izquierdo, M. (2010). Eliminación de metales pesados en aguas mediante bioadsorción, evaluación de materiales y modelación del proceso. In *TDX (Tesis Doctorales en Xarxa)*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Limo, U. (2003). *Estudio sobre la presencia del plomo en el en el año 2003. Ubillus Limo, Julio. medio ambiente de Talara*.
- Mcfarland, M. L., & Dozier, M. C. (n.d.). *Problemas del agua potable : el plomo*. 4–7.
- Medellín, N., Hernández, M., Salazar, J., Labrada, G., & Aragón, A. (2017). Bioadsorción de plomo (II) presente en solución acuosa sobre residuos de fibras naturales procedentes de la industria ixtlera (Agave lechuguilla Torr. Y Yucca carnerosana (Trel.) McKelvey). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(2), 269–280. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.02.08>
- Milagros, T., & María, R. (2016). *Bioadsorción de plomo (II) por biomasa microbiana seca: Efecto del pH*. April 2013.
- Morales, E. (2020). *Recuperación de hierro contenido en lodos residuales provenientes de la industria de la acería*.
- Moreno, S., & Ramos, G. (2018). Descontaminación de arsénico, cadmio y plomo en agua por biosorción con *Saccharomyces cerevisiae*. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 21, 51. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.155>
- Muñoz, J. (2007). Biosorción de plomo (II) por cáscara de naranja “*citrus cinensis*” pretratada. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 11, 82.

- Novillo, M., & Vélez, C. (2015). Evaluación de la capacidad de sorción de cromo en solución acuosa en contacto con un composite constituido de bentonita y celulosa. *Tesis*, 1–100. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- OMS. (2019). *Intoxicación por plomo y salud*. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health#:~:text=La exposición al plomo también,pueda considerase exento de riesgo.](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health#:~:text=La%20exposici3n%20al%20plomo%20tambi3n,pueda%20considerarse%20exento%20de%20riesgo.)
- Ordoñez, A. E. (2017). *Determinación de la capacidad adsorbente de los residuos de la Industria de la papa para remoción de metales pesados en aguas contaminadas*. 109. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14969/1/UPS-CT007386.pdf>
- Palacios, E., & Villalobos, L. (2007). *Biosorción de Metales Pesados en Solución Acuosa Mediante Biomasa de Saccharomyces Cerevisiae*. 3–64.
- Parvathi, K., Nagendran, R., & Nareshkumar, R. (2007). Lead biosorption onto waste beer yeast by-product, a means to decontaminate effluent generated from battery manufacturing industry. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(1). <https://doi.org/10.2225/vol10-issue1-fulltext-13>
- Pauro, J., Choque, M., Poccohuanca, R., & Mamani, A. (2009). Estudios de bioadsorción de plomo por saccharomyces cereviceae en soluciones acuosas. *Rev. Colomb. Biotecnol*, 33–39.
- Pauro Roque, J. J., Choque Yucra, M., Poccohuanca Aguilar, R., & Mamani Canqui, A. (2009). Estudios de bioadsorción de plomo por saccharomyces cereviceae en soluciones acuosas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(1), 33–39.
- Peláez, M., Bustamante, J., & Gómez, E. (2016). Presencia de cadmio y plomo en suelos y su bioacumulación en tejidos vegetales en especies de brachiaria en el Magdalena Medio colombiano. *Luna Azul*, 43(43), 82–101. <https://doi.org/10.17151/luaz.2016.43.5>
- Peña, J. (2017). Procesos de biorremediación en el tratamiento de residuos sólidos de cigarrillo. *Universidad de Colombia*, 99. <http://bdigital.unal.edu.co/61353/7/jimmyroxanapeñagonzalez.2017.pdf>
- Poma, P. (2008). Intoxicación por plomo en humanos. *Anales de La Facultad de Medicina*, 69(2).
- Puga, S., Sosa, M., Lebgue, T., Quintana, C., & Campos, A. (2008). *Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera*. 5(1), 55–63.
- Ramirez, C., Tapia, V., Rodríguez, M., Toribio, J., & Romero, Y. (2014). *Identificación de hongo aislado de sitios contaminados con pesticidas*. 1–4.
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Diaz, M., & Gonzáles, E. (2016). *Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria*. 2(1), 66–77. <https://doi.org/10.1007/BF02796157>
- Rincón, M. (2004). *Estudio de la biorremediación como una alternativa en la mitigación de la contaminación ambiental*. 55. <http://eprints.uanl.mx/5481/1/1020149995.PDF>
- Roca, A. (2012). *Contaminación de suelos por metales pesados*. Infoagro. https://www.infoagro.com/abonos/contaminacion_suelos_metales_pesados.htm
- Romera, E., González, F., Ballester, A., Blázquez, M. L., & Muñoz, J. A. (2007). Equilibrios

- químicos en bioadsorción. *Revista de Metalurgia (Madrid)*, 43(1), 29–41.
<https://doi.org/10.3989/revmetalm.2007.v43.i1.49>
- Rosas, E., Rodríguez, L., & Villalobos, A. (2007). *Biosorción de Metales Pesados en Solución Acuosa Mediante Biomasa de Saccharomyces Cerevisiae*. 3–64.
- Sáenz, C. (2004). *Biosorción de Pb²⁺, Cr³⁺, Cd²⁺ y Zn²⁺ en solución con levadura residual de cerveza y Padina sp.* 03, 345–351.
- Singh, H. (2006). Mycoremediation: Fungal Bioremediation. In *Mycoremediation: Fungal Bioremediation*. <https://doi.org/10.1002/0470050594>
- Skountzou, P., Soupioni, M., Bekatorou, A., Kanellaki, M., Koutinas, A. A., Marchant, R., & Banat, I. M. (2003). Lead(II) uptake during baker's yeast production by aerobic fermentation of molasses. *Process Biochemistry*, 38(10), 1479–1482.
[https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00023-2](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00023-2)
- Srivastava, S., Agrawal, S., & Mondal, M. (2015). Biosorption isotherms and kinetics on removal of Cr(VI) using native and chemically modified Lagerstroemia speciosa bark. *Ecological Engineering*, 85, 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.10.011>
- STATGRAPHICS. (2006). *Diseño para varios factores categóricos. 1*, 1–8.
- Tamayo, A. M., Cardona, P., & Bedoya, M. L. (2010). Influence of the pH in the Biosorption of Cr(III) on orange shell: Determination of the conditions operation in discontinuous process. *Bistua: Revista de La Facultad de Ciencias Básicas*, 8(1), 21–30.
<http://clacso.redalyc.org/articulo.oa?id=90315226003>
- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). Introducción a microbiología. *British Journal of Cancer*, 9(3), 199.
- Uría, C., Andrango, D., & Inga, P. (2008). Estudio isotérmico de biosorción de plomo en aguas utilizando residuos vegetales. *La Granja*, 8(2), 3.
<https://doi.org/10.17163/lgr.n8.2008.01>
- Urrutia, A., & Beatriz, V. (2019). *Tolerancia de pleurotus ostreatus a diferentes concentraciones de plomo*.
- Verdugo, J. (2017). *Bioadsorción de iones de plomo y cromo procedentes de aguas residuales utilizando la cáscara de la mandarina (Citrus Reticulata Var. Clementina)*. 115. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14249/1/UPS-CT007003.pdf>
- Walpole, R., Myers, R., Myers, S., & Ye, K. (2012). Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias. In *עלון הגנ"ע* (9th ed., Vol. 66). PERSON EDUCACIÓN.

8. ANEXOS

ANEXO A

Unidades formadoras de colonia

Tiempo	Dilución	Número de caja petri			Promedio
		#1	#2	#3	
0	10 (-3)	69	150	130	116
	10 (-4)	60	48	34	47
	10 (-5)	17	49	70	45
	10 (-6)	29	48	26	34
	10 (-7)	78	13	7	33
30	10 (-3)	100	87	68	85
	10 (-4)	14	15	10	13
	10 (-5)	38	48	25	37
	10 (-6)	25	14	32	24
	10 (-7)	9	23	12	15
60	10 (-3)	80	100	120	100
	10 (-4)	22	40	26	29
	10 (-5)	86	27	41	51
	10 (-6)	4	6	4	5
	10 (-7)	15	8	22	15
90	10 (-3)	130	83	103	105
	10 (-4)	49	29	89	56
	10 (-5)	100	20	30	50
	10 (-6)	41	46	36	41
	10 (-7)	8	12	13	11
120	10 (-3)	135	168	135	146
	10 (-4)	124	145	164	144
	10 (-5)	89	33	56	59
	10 (-6)	39	37	22	33
	10 (-7)	8	9	7	8
150	10 (-3)	211	180	132	174
	10 (-4)	130	93	110	111
	10 (-5)	29	139	58	75
	10 (-6)	25	19	16	20
	10 (-7)	9	5	7	7
180	10 (-3)	146	150	180	159
	10 (-4)	385	82	199	222
	10 (-5)	54	90	50	65
	10 (-6)	38	20	19	26
	10 (-7)	3	10	6	6
210	10 (-3)	285	123	57	155
	10 (-4)	100	80	194	125
	10 (-5)	85	16	48	50

	10 (-6)	19	6	19	15
	10 (-7)	2	4	4	3
240	10 (-3)	220	88	110	139
	10 (-4)	210	110	85	135
	10 (-5)	23	58	49	43
	10 (-6)	17	26	14	19
	10 (-7)	5	2	4	4
270	10 (-3)	98	40	62	67
	10 (-4)	27	45	32	35
	10 (-5)	35	89	20	48
	10 (-6)	5	6	10	7
	10 (-7)	3	7	7	6
300	10 (-3)	109	32	25	55
	10 (-4)	51	46	49	49
	10 (-5)	38	29	14	27
	10 (-6)	17	13	15	15
	10 (-7)	5	4	7	5

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO B

Conteo de número de células por cámara neubauer

Tiempo	Dilución	P1 V	P2 V	P3 V	P4 V	Total	# de células
0	10 (-3)	4	25	5	20	54	135000
	10 (-4)	7	5	-	5	17	42500
	10 (-5)	1	2	-	1	4	10000
	10 (-6)	2	3	-	1	6	15000
	10 (-7)	1	-	1	1	3	7500
30	10 (-3)	1	40	5	12	58	145000
	10 (-4)	1	7	4	3	15	37500
	10 (-5)	2	1	-	1	4	10000
	10 (-6)	1	5	1	4	11	27500
	10 (-7)	1	2	-	2	5	12500
60	10 (-3)	1	30	5	25	61	152500
	10 (-4)	1	2	-	3	6	15000
	10 (-5)	1	-	1	3	5	12500
	10 (-6)	7	-	6	6	19	47500
	10 (-7)	3	1	3	2	9	22500
90	10 (-3)	6	22	6	30	64	160000
	10 (-4)	3	2	4	7	16	40000
	10 (-5)	2	1	3	1	7	17500
	10 (-6)	1	-	1	2	4	10000
	10 (-7)	-	3	2	5	10	25000
120	10 (-3)	3	31	9	23	66	165000
	10 (-4)	1	3	11	3	18	45000
	10 (-5)	-	2	2	6	10	25000
	10 (-6)	1	10	1	5	17	42500
	10 (-7)	-	2	1	3	6	15000
150	10 (-3)	6	30	7	29	72	180000
	10 (-4)	4	8	5	2	19	47500
	10 (-5)	2	7	1	3	13	32500
	10 (-6)	2	-	-	7	9	22500
	10 (-7)	1	2	1	1	5	12500
180	10 (-3)	2	40	6	54	102	255000
	10 (-4)	4	5	3	6	18	45000
	10 (-5)	4	1	1	6	12	30000
	10 (-6)	7	-	1	3	11	27500
	10 (-7)	3	-	1	-	4	10000
210	10 (-3)	4	31	4	33	72	180000
	10 (-4)	1	4	3	27	35	87500
	10 (-5)	3	6	2	4	15	37500
	10 (-6)	2	1	1	2	6	15000
	10 (-7)	1	3	2	-	6	15000

240	10 (-3)	2	28	2	29	61	152500
	10 (-4)	9	6	3	4	22	55000
	10 (-5)	-	1	1	-	2	5000
	10 (-6)	-	9	3	1	13	32500
	10 (-7)	2	1	4	7	14	35000
270	10 (-3)	3	15	3	30	51	127500
	10 (-4)	2	3	1	3	9	22500
	10 (-5)	4	2	2	2	10	25000
	10 (-6)	5	2	-	8	15	37500
	10 (-7)	1	-	2	1	4	10000
300	10 (-3)	6	21	-	20	47	117500
	10 (-4)	7	-	3	2	12	30000
	10 (-5)	4	3	1	2	10	25000
	10 (-6)	5	8	-	9	22	55000
	10 (-7)	3	1	5	2	11	27500

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO C

Total de porcentajes de bioadsorción en pH 2.5

Tiempo	Concentración (ppm)	% de remoción c/u	% de remoción por promedio
5	5	57,20	60,07
		61,80	
		61,20	
	10	24,60	25,63
		26,00	
		26,30	
	15	21,53	21,67
		21,93	
		21,53	
	20	14,00	14,43
		14,85	
		14,45	
30	5	53,20	54,47
		54,20	
		56,00	
	10	28,30	26,27
		25,10	
		25,40	
	15	19,60	19,91
		20,73	
		19,40	
	20	12,45	12,53
		12,15	
		13,00	
120	5	43,40	47,07
		52,00	
		45,80	
	10	45,10	48,77
		54,60	
		46,60	
	15	19,60	20,36
		19,40	
		22,07	
	20	22,85	20,18
		20,55	
		17,15	
300	5	56,00	58,47
		62,20	
		57,20	
	10	60,00	55,80

	50,30	
	57,10	
15	19,40	17,84
	17,73	
	16,40	
20	23,85	25,10
	24,15	
	27,30	

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO D

Total de porcentajes de bioadsorción en pH 5.1

Tiempo	Concentración (ppm)	% de remoción c/u	% de remoción por promedio
5	5	81,20	84,93
		83,40	
		90,20	
	10	48,90	51,27
		56,00	
		48,90	
	15	48,20	49,02
		52,60	
		46,27	
20	80,70	79,32	
	78,70		
	78,55		
30	5	97,80	95,60
		94,80	
		94,20	
	10	45,10	46,83
		45,40	
		50,00	
	15	45,53	46,60
		50,27	
		44,00	
20	68,85	63,62	
	61,15		
	60,85		
120	5	93,80	96,40
		98,80	
		96,60	
	10	72,90	66,60
		60,00	
		66,90	
	15	46,47	45,00
		46,27	
		42,27	
20	70,85	65,33	
	69,30		
	55,85		
300	5	97,80	96,40
		96,00	
		95,40	
	10	66,90	75,90

	81,40	
	79,40	
15	42,07	44,51
	52,40	
	39,07	
20	83,85	71,33
	64,30	
	65,85	

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO E

Total de porcentajes de bioadsorción en pH 6.6

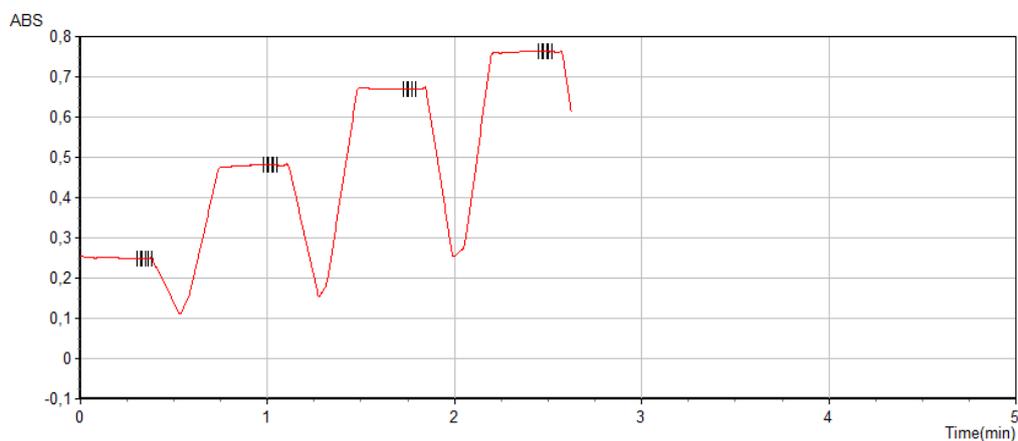
Tiempo	Concentración (ppm)	% de remoción c/u	% de remoción por promedio
5	5	80,00	77,93
		73,80	
		80,00	
	10	51,70	52,93
		52,50	
		54,60	
	15	88,00	87,04
		93,53	
		79,60	
20	94,15	92,85	
	95,70		
	88,70		
30	5	97,80	90,73
		85,20	
		89,20	
	10	52,30	53,63
		52,60	
		56,00	
	15	73,13	68,33
		67,27	
		64,60	
20	93,15	83,82	
	72,85		
	85,45		
120	5	88,00	85,67
		82,80	
		86,20	
	10	78,90	70,87
		67,40	
		66,30	
	15	71,60	66,60
		63,07	
		65,13	
20	60,15	74,58	
	77,15		
	86,45		
300	5	53,20	50,67
		44,00	
		54,80	
	10	86,30	79,43

	75,70	
	76,30	
15	67,60	65,02
	63,27	
	64,20	
20	83,70	71,67
	74,30	
	57,00	

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO F

Gráfica de la toma de muestra de la calibración de plomo



Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO G

Bioadsorción de plomo en concentración de 5 ppm

Tiempo	Concentración de plomo	Tipo
0	5	pH 2.5
0	5	pH 5.1
0	5	pH 6.6
5	2,00	pH 2.5
5	0,75	pH 5.1
5	1,10	pH 6.6
30	2,28	pH 2.5
30	0,22	pH 5.1
30	0,46	pH 6.6
120	2,65	pH 2.5
120	0,18	pH 5.1
120	0,72	pH 6.6
300	2,08	pH 2.5
300	0,18	pH 5.1
300	2,47	pH 6.6

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO H

Bioadsorción de plomo en concentración de 10 ppm

Tiempo	Concentración de plomo	Tipo
0	10	pH 2.5
0	10	pH 5.1
0	10	pH 6.6
5	7,44	pH 2.5
5	4,87	pH 5.1
5	4,71	pH 6.6
30	7,37	pH 2.5
30	5,32	pH 5.1
30	4,64	pH 6.6
120	5,12	pH 2.5
120	3,34	pH 5.1
120	2,91	pH 6.6
300	4,42	pH 2.5
300	2,41	pH 5.1
300	2,06	pH 6.6

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO I

Bioadsorción de plomo en concentración de 15 ppm

Tiempo	Concentración de plomo	Tipo
0	15	pH 2.5
0	15	pH 5.1
0	15	pH 6.6
5	11,75	pH 2.5
5	7,65	pH 5.1
5	1,94	pH 6.6
30	12,01	pH 2.5
30	8,01	pH 5.1
30	4,75	pH 6.6
120	11,95	pH 2.5
120	8,25	pH 5.1
120	5,01	pH 6.6
300	12,32	pH 2.5
300	8,32	pH 5.1
300	5,25	pH 6.6

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO J

Bioadsorción de plomo en concentración de 20 ppm

Tiempo	Concentración de plomo	Tipo
0	20	pH 2.5
0	20	pH 5.1
0	20	pH 6.6
5	17,11	pH 2.5
5	4,14	pH 5.1
5	1,43	pH 6.6
30	17,49	pH 2.5
30	7,28	pH 5.1
30	3,24	pH 6.6
120	15,96	pH 2.5
120	6,93	pH 5.1
120	5,08	pH 6.6
300	14,98	pH 2.5
300	5,73	pH 5.1
300	5,67	pH 6.6

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO K

Número de células viables en un tiempo de 5 minutos

Concentración	Número de células	pH
5	82500	2.5
	12500	5.1
	57500	6.6
10	32500	2.5
	15000	5.1
	27500	6.6
15	87500	2.5
	60000	5.1
	25000	6.6
20	62500	2.5
	55000	5.1
	40000	6.6

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO L

Número de células viables en un tiempo de 30 minutos

Concentración	Número de células	pH
5	72500	2.5
	12500	5.1
	17500	6.6
10	22500	2.5
	25000	5.1
	30000	6.6
15	37500	2.5
	47500	5.1
	30000	6.6
20	45000	2.5
	22500	5.1
	40000	6.6

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO M

Número de células viables en un tiempo de 120 minutos

Concentración	Número de células	Tipo
5	85000	2.5
	20000	5.1
	27500	6.6
10	12500	2.5
	15000	5.1
	10000	6.6
15	60000	2.5
	55000	5.1
	30000	6.6
20	37500	2.5
	47500	5.1
	45000	6.6

Nota. Morales Andrés (2020)

ANEXO N

Número de células viables en un tiempo de 300 minutos

Concentración	Número de células	pH
5	100000	2.5
	10000	5.1
	37500	6.6
10	10000	2.5
	15000	5.1
	35000	6.6
15	75000	2.5
	67500	5.1
	37500	6.6
20	30000	2.5
	72500	5.1
	50000	6.6

Nota. Morales Andrés (2020)