

Biosorción de plomo por biomasa de origen fúngico aislada a partir de desechos mineros de la Mina Hualilán, Argentina

Natalia HIDALGO¹, Arminda MAMANÍ², Ana MESTRE³, Pablo FERNÁNDEZ⁴, Daniel BUSTOS⁵

Abstract: *BIOSORPTION OF LEAD BY FUNGAL BIOMASS ISOLATED FROM MINING WASTE OF THE HUALILÁN MINE, ARGENTINA.* In the last decades, the treatment of waste water and effluents by using biologically originated biomass has provided new possibilities of environmental remediation. The study of the applicability of these biological methods aims at avoiding environmental, economic and technical issues associated with the use of physical-chemical methods. Among the biological technologies, biosorption is highlighted and it can be defined as the process in which metals and metalloids are removed from effluents by using biosorbents. Generally, these biosorbents have charged functional groups to bind the dissolved ions. Microorganisms, especially filamentous fungi, are excellent biosorbents of heavy metals. In general, various chemical and thermal modifications are performed on the fungi to optimize their adsorption capacity ability of these sorbents. Therefore, the objective of this work was to isolate and activate a native strain of filamentous fungi from mine wastes and quantify its Pb (II) adsorption capacity. For this purpose, samples were collected from the leaching pile of the Hualilán Mine (San Juan province, Argentina), a mine that is currently inactive, where gold and silver were the predominant elements mined, together with accompanying elements such as copper, zinc and lead. Tolerant filamentous fungi were isolated and adsorption tests were subsequently carried out by means of a combined study of different pH, and biomass and metal concentration, according to a *Rotatable Central Composite Design* (RCCD). On the basis of these tests, a quadratic surface was modeled and the best combination of factors was found to maximize the adsorption capacity. The experimental data was adjusted to the Langmuir and Freundlich models and the pseudo first and second order kinetic models to describe of the process. Finally, the lead adsorption capacity of *Penicillium chuniae* (Quintanilla, 1990), without and with activation was determined as 60.00 mg/g and 77.95 mg/g respectively, with good fit to the Langmuir model and with good representation of the kinetic parameters.

Resumen: En las últimas décadas, el tratamiento de aguas residuales y efluentes mediante el uso de biomasa de origen biológico ha abierto nuevas posibilidades de remediación ambiental. El estudio de la aplicabilidad de estos métodos biológicos tiene como finalidad evitar problemas ambientales, económicos y técnicos, asociados al uso de métodos fisicoquímicos. Entre las tecnologías biológicas, se destaca la biosorción que puede ser definida como un proceso de remoción de metales y metaloides de efluentes por medio de biosorbentes. Generalmente, estos biosorbentes cuentan con grupos funcionales cargados para fijar los iones disueltos. Los microorganismos, en especial los hongos filamentosos, son excelentes biosorbentes de metales pesados. Por lo general, distintas modificaciones químicas y térmicas se realizan sobre los hongos para optimizar su capacidad de adsorción. Por esto, el objetivo de este trabajo fue aislar y activar una cepa nativa de hongo filamentosos a partir de desechos mineros y cuantificar su capacidad de adsorción de Pb (II). Para este fin se recolectaron muestras en las pilas de lixiviación de la Mina

¹ Instituto de Investigaciones Mineras, FI, UNSJ, Av. Libertador 1109 (O), 5400, San Juan - Argentina. E-mail: nhidalgo@unsj.edu.ar

² CONICET - Instituto de Ingeniería Química, FI, UNSJ, Av. Libertador 1109 (O), 5400, San Juan - Argentina. E-mail: armin7mamani@gmail.com

³ CONICET - CIGEOBIO - Instituto de Investigaciones Mineras, FI, UNSJ, Av. Libertador 1109 (O), 5400, San Juan - Argentina. E-mail: amestre@unsj.edu.ar

⁴ Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PROIMI-CONICET), Av. Belgrano y Pasaje Caseros S/N, C.P. T4001MVB, San Miguel de Tucumán, Tucumán - Argentina. E-mail: pablomfernandez79@gmail.com

⁵ Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Filosofía, Av. Libertador 1109 (O), 5400, San Juan - Argentina. E-mail: danielbustos341@gmail.com

Hualilán (Provincia de San Juan, Argentina), mina que actualmente se encuentra inactiva, donde se explotaban elementos predominantes tales como oro y plata, junto con elementos acompañantes como cobre, zinc y plomo. Se aislaron hongos filamentosos tolerantes y posteriormente se realizaron ensayos de adsorción mediante un estudio combinado de pH, concentración de biomasa, concentración metálica y tiempo, acorde a un *Diseño experimental Central Compuesto Rotable* (DCCR). A partir de estos ensayos se modeló una superficie cuadrática y se encontró la mejor combinación de factores para maximizar la capacidad de adsorción. Para describir el proceso se ajustaron los datos experimentales de los ensayos de adsorción a modelos de equilibrio como Langmuir y Freundlich y a modelos cinéticos de pseudo primer y segundo orden. Las capacidades de adsorción de plomo en la biomasa fúngica de *Penicillium cluniae* (Quintanilla, 1990) sin y con activación, fueron 60.00 mg/g y 77.95 mg/g respectivamente, con buenos ajustes al modelo de Langmuir y buenas representaciones de los parámetros cinéticos.

Key words: Lead. Biosorption. Mine waste. Bioremediation.

Palabras clave: Plomo. Biosorción. Desecho minero. Biorremediación.

Introducción

La contaminación por metales pesados es seguramente uno de los problemas ambientales más serios. Industrias como la minería, la fundición de metales, la producción de combustible y energía a partir de petróleo, la industria de fertilizantes y pesticidas y sus aplicaciones, entre otras, producen residuos que contienen metales pesados y éstos terminan transfiriéndose al medio ambiente debido a un incorrecto tratamiento o disposición final (Londoño *et al.*, 2016). El plomo es un metal que se encuentra de forma natural en el medio ambiente, generalmente formando parte de algunos minerales como la galena (sulfuro de plomo, PbS) siendo un metal bioacumulable muy tóxico y sin función biológica conocida (Wiwid *et al.*, 2014) como parte de la remediación de sitios contaminados, la biosorción resulta ser una de las tecnologías más prometedoras, ya que se trata de un proceso que permite tratar grandes volúmenes de efluentes con bajas concentraciones del metal (Das y Das, 2013; Gupta *et al.*, 2019). Por otra parte, según Esmaeili y Beni (2020) el concepto biosorción de metales pesados, se refiere básicamente a la captación pasiva de iones metálicos por medio de una biomasa viva o muerta a través de mecanismos fisicoquímicos como la adsorción o el intercambio iónico. La biosorción involucra una fase sólida como la biomasa (biosorbente) y una fase líquida (solvente, generalmente es agua)

en la cual están la(s) especie(s) metálica(s) a ser biosorbida(s) (adsorbato). Si el adsorbente posee grupos funcionales afines al adsorbato, la biosorción es eficiente. Numerosos materiales biológicos han sido estudiados con el fin de evaluar su potencial para la adsorción de metales pesados. Entre estos materiales, la biomasa bacteriana, hongos y algas marinas, constituyen el conjunto más estudiados hasta el momento (Chung *et al.*, 2013; Holanda *et al.*, 2016).

La capacidad de adsorción de las diferentes biomazas puede ser mejorada con pretratamientos, físicos o químicos, también denominado etapa de activación. Esta etapa aumenta el número de sitios de unión, sin embargo, se debe tener en cuenta que puede encarecer el proceso dependiendo de las condiciones de activación (Castellón *et al.*, 2014; Giese y Jordão, 2019).

El objetivo de la presente contribución es aislar una cepa nativa de microorganismo de las pilas de lixiviación de la Mina Hualilán (Provincia de San Juan, Argentina) con el fin de ser utilizada como biosorbente para captar iones metálicos de plomo (II), además estudiar el proceso de adsorción mediante modelos cinéticos y de equilibrio.

Marco geológico

El yacimiento metalífero Hualilán se encuentra ubicado en el borde occidental de la Precordillera Central en el ámbito del bolsón de Hualilán, a unos 120 km de la ciudad de San

Juan en el departamento Ullúm (Figura 1). En esta área afloran sucesiones carbonáticas y silicoclásticas del Paleozoico Inferior y rocas intrusivas del Mioceno.

La Formación San Juan es una unidad clásica de la Precordillera de San Juan, la cual está compuesta en términos generales por *wackestone*, *packstone* y *grainstone* bioclásticos e intra-bioclásticos. Esta formación contiene una rica fauna fósil característica de ambiente carbonático de plataforma abierta según Benedetto (2003); de edad tremadociana-darriwilina (Ordovícico Inferior-Medio) basado en su contenido de conodontes (Lehnert, 1995; Mestre y Heredia, 2013, 2020; Heredia *et al.*, 2017). Sobre la Formación San Juan se apoya de forma paraconcordante las unidades silicoclásticas que componen el Grupo Tucunúco (Ordovícico

Superior-Devónico) (Figura 1).

Las calizas de la Formación San Juan se encuentran intruída principalmente por andesitas basálticas y pórfidos andesíticos y dacíticos de color gris a gris verdoso, las cuales fueron asignadas al Mioceno (Leveratto, 1976), (Figura 1). La intrusión de estos cuerpos ígneos causó una mineralización de tipo skarn en las rocas carbonáticas de la Formación San Juan (Taruá *et al.*, 2000), (Figura 1). Dicho skarn ha sido objeto de explotación para Zn, Cu y Au desde principios del siglo XX hasta la década del 50, y actualmente se encuentra en exploración debido a su potencial como yacimiento de oro.

Los cuerpos mineralizados más importantes se alojan en las calizas y son concordantes con ellas. Constituyen dos corridas una situada en las minas del sur de más de 500 m y otra

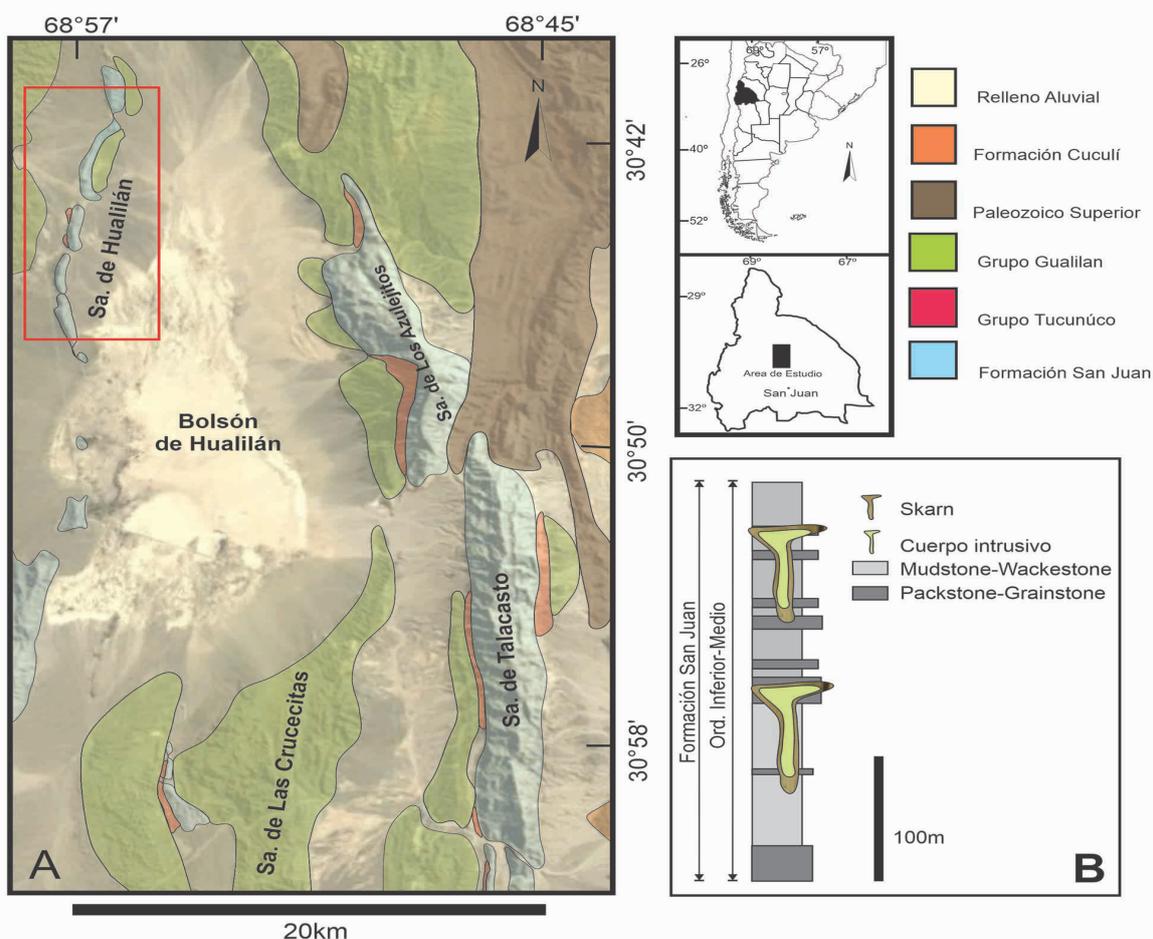


Figura 1. A- Mapa geológico del sector central de la Precordillera Central y Bolsón de Hualilán. B- Sección estratigráfica esquemática de La Formación San Juan con los intrusivos y mineralización en skarn del distrito minero de Hualilán. / **Figure 1.** A- Geological map of the central sector of the Central Precordillera and Bolsón de Hualilán. B- Schematic stratigraphic section of the San Juan Formation with the intrusives and mineralization in skarns of the Hualilán mining district.

en las del norte. En general los cuerpos mineralizados son lenticulares (clavos) y profundos y suelen adelgazarse horizontalmente en cuña en sus extremos. El mineral fue explotado mediante laboreos subterráneos, contabilizando 23 laboreos que suman 6.500 m de desarrollo. Además, hay trabajos superficiales, como niveles y chiflones internos en varias minas (Furque *et al.*, 2003). El método de recuperación que fue utilizado en esta mina fue la lixiviación en pilas mediante el uso de cianuro, sobre las cuales se ha realizado el muestro para los análisis llevados a cabo en la presente contribución.

Materiales y métodos

Muestreo de desechos mineros y caracterización fisicoquímica del sólido

El trabajo se llevó a cabo con muestras sólidas de la mina Hualilán. Las muestras fueron tomadas de 10 puntos diferentes de la pila de lixiviación (material de desecho) (Figura 2). La toma de muestras se realizó en forma manual excavando con pala retirando aproximadamente 500 g de muestra de cada punto seleccionado. El material utilizado fue previamente esterilizado y las muestras se almacenaron en

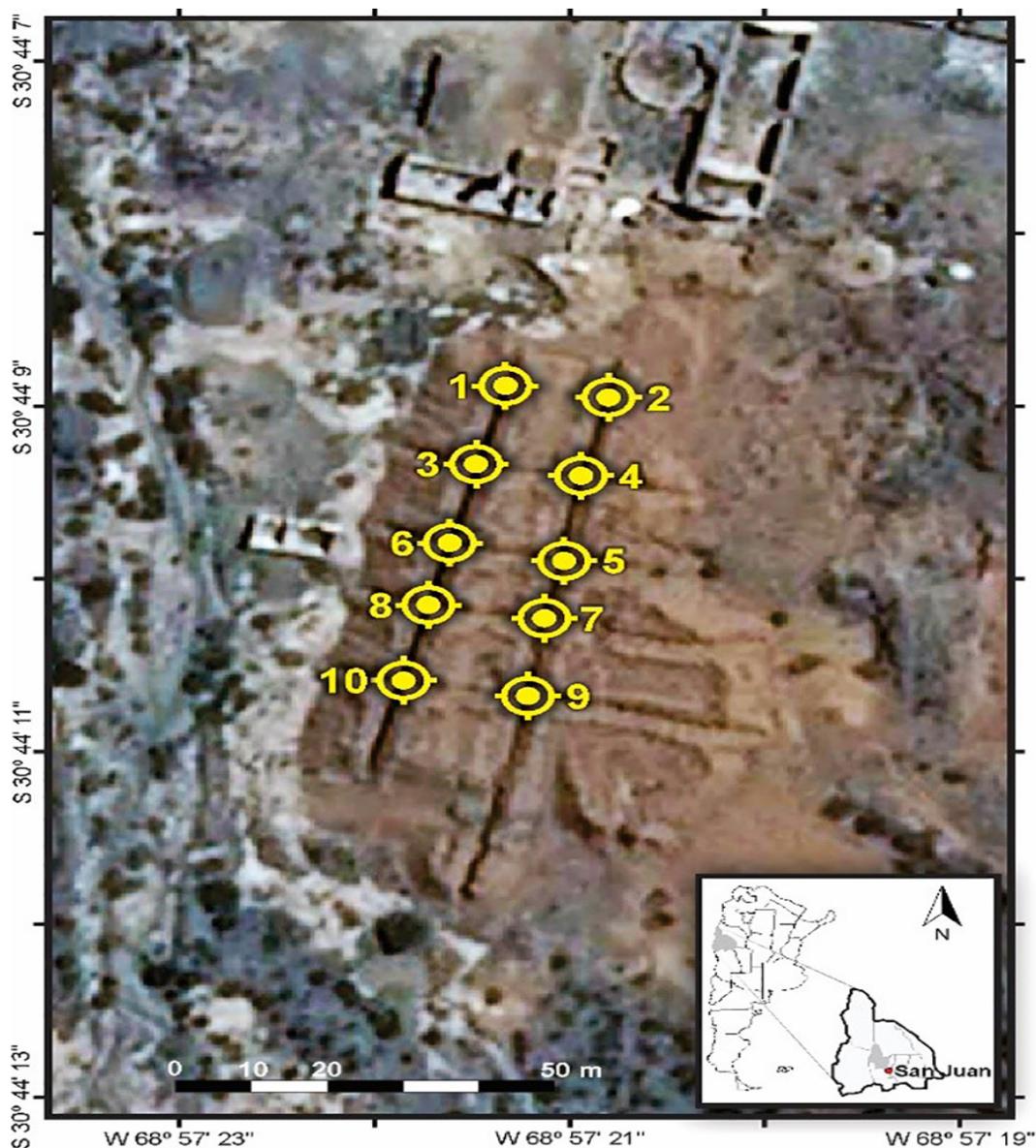


Figura 2. Foto satelital con referencias de coordenadas de los puntos de muestro en la pila de lixiviación en Mina Hualilán, San Juan, Argentina. / **Figure 2.** Satellite photo with coordinate references of the sampling points in the heap leach at Mina Hualilán, San Juan, Argentina.

envases plásticos estériles y se conservaron a temperatura ambiente hasta su procesamiento (Castro, 2017).

El análisis físico-químico de una muestra representativa del material de la pila de lixiviación fue realizado por el laboratorio de análisis instrumental del Instituto de Investigaciones Mineras (IIM) de la Universidad Nacional de San Juan según metodología estándar.

Aislamiento, identificación y obtención del biosorbente

Se utilizó Sabouraud glucosado agarizado Biopack comercial como medio de cultivo, con la siguiente composición: tejido de digestión pancreática de animales (5.00 g/L); digestión pancreática de caseína (5.00 g/L); dextrosa anhidra (36.40 g/L) y agar bacteriológico (15.00 g/L).

Se pesó 1 g de desecho minero y se agregó agua destilada estéril hasta un volumen final de 10 ml en tubo de ensayo y luego se agitó para homogeneizar la muestra. A partir de la suspensión, se realizaron diluciones decimales seriadas sembrando 0,10 ml de cada dilución, por triplicado. Se usaron placas de Petri con medio Dextrosa Sabouraud con antibióticos (cloranfenicol 0.05 g/l) a modo de control. Se incubaron en cajas de Petri a 28°C durante 7 días. A partir de las placas con crecimiento, se seleccionaron aquellas colonias de hongos filamentosos que presentaron diferentes morfotipos (color, tamaño, aspecto, etc.). El hongo aislado fue identificado molecularmente. La extracción de ADN se hizo según el protocolo de CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide). Se realizó la PCR (Polymerase chain reaction) de la extracción utilizando los primers ITS1–ITS4 y Bt2a–Bt2b. La amplificación de la muestra se comprobó por electroforesis en gel de agarosa 1.50 % a 90 amperes por 30 minutos. La amplificación fue enviada a MacroGen para su secuenciación. Para el análisis de las secuencias, se eliminaron los extremos en los que la identificación de las bases no es fiable, se utilizó el programa Chromas Pro 1.5. Luego se cargaron los resultados en la base de datos BLAST.

Para la generación de biomasa, en primer lugar, se inoculó la cepa en medio líquido en estufa de cultivo a una temperatura de 28°C hasta su máximo crecimiento desarrollado en un tiempo total de 15 días. El medio de cultivo utilizado fue Sabouraud Glucosado caldo a volúmenes crecientes. Como el objetivo es generar una biomasa inerte, una vez que la cepa llegó a su máximo desarrollo, se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Después se procedió a lavar la biomasa repetidamente con agua destilada y por último se secó en estufa a 80° C hasta peso constante.

Activación con Etanol y ensayo preliminar de adsorción

Se suspendieron 5 gramos de biomasa seca en 100 ml de etanol (solución 70%) durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se filtró y se secó en estufa a 80°C hasta peso constante (Ezzouhri *et al.*, 2010). Para los ensayos preliminares de biosorción, se pesó 0.10 gramos de biomasa con y sin activación en 100 ml de solución de nitrato de plomo 25 ppm a un pH=5.00, con agitación y a temperatura ambiente. Después de 6 horas de incubación la solución se centrifugó, filtró y se envió a analizar por espectroscopia de absorción atómica.

Aplicación de un diseño compuesto central en la capacidad de absorción del plomo

Los factores evaluados de la capacidad de adsorción de HR-SA (sin activación) y HR-E (con activación) fueron: pH, concentración de biomasa, concentración metálica y tiempo en un diseño experimental central compuesto rotatable (DCCR) con 4 puntos centrales, esto último permitió analizar la falta de ajuste. Los ensayos consistieron en poner en contacto la biomasa fúngica durante un intervalo de tiempo determinado, con soluciones de nitrato de plomo a distintas concentraciones, pH y concentración de adsorbente. En total fueron 28 corridas del diseño experimental realizado con las muestras en estudio como se evidencia en la tabla 1.

A partir del estudio experimental se obtu-

Corrida	pH	Conc. biomasa (g/l)	Conc. metálica (ppm)	Tiempo (horas)
1	4.00	1.00	25	0.50
2	5.80	1.00	25	0.50
3	4.00	6.00	25	0.50
4	5.80	6.00	25	0.50
5	4.00	1.00	75	0.50
6	5.80	1.00	75	0.50
7	4.00	6.00	75	0.50
8	5.80	6.00	75	0.50
9	4.00	1.00	25	8.00
10	5.80	1.00	25	8.00
11	4.00	6.00	25	8.00
12	5.80	6.00	25	8.00
13	4.00	1.00	75	8.00
14	5.80	1.00	75	8.00
15	4.00	6.00	75	8.00
16	5.80	6.00	75	8.00
17	4.90	3.50	50	4.00
18	4.90	3.50	50	4.00
19	4.90	3.50	50	4.00
20	4.90	3.50	50	4.00
21	2.80	3.50	50	4.00
22	7.20	3.50	50	4.00
23	4.90	1.00	50	4.00
24	4.90	8.90	50	4.00
25	4.90	3.50	5	4.00
26	4.90	3.50	100	4.00
27	4.90	3.50	50	0.40
28	4.90	3.50	50	12.00

Tabla 1. Diseño experimental para optimizar los factores principales que influyen en la capacidad de adsorción. / **Table 1.** Experimental design to optimize the main factors that influence the adsorption capacity.

vieron modelos cuadráticos para cada adsorbente, que relacionaron la capacidad de adsorción con los factores evaluados, además se pudo determinar las condiciones que maximizan la adsorción de plomo. En todos los casos se llevaron a cabo las validaciones experimentales de los modelos estadísticos. En la tabla 2 se muestra los niveles empleados en las variables independientes (factores) y las respuestas tanto para las biomásas HR-SA y HR-E del diseño experimental. Se utilizó como software Statgraphics Centurion tanto para la generación del diseño y el análisis estadístico de datos.

La capacidad de adsorción (mg/g) “ q_e ”, que se observa en la tabla 2, se calcula como se muestra en la siguiente ecuación

$$q_e = (c_i - c_f) * V / m$$

Donde “ c_i ” y “ c_f ” son las concentraciones de la disolución metálica inicial y final, “ V ” es el volumen de la solución y “ m ” es la cantidad de adsorbente en gramos.

Modelos Cinéticos y de equilibrio de adsorción

Para evaluar la cinética de adsorción se realizaron ensayos discontinuos para metal plomo a dos concentraciones metálicas 75 y 25

Factores	Bajo	Alto
Tiempo (horas)	0.40	8.00
pH	4.00	5.80
Conc. biomasa (g/l)	1.00	6.00
Conc. metálica (ppm)	25	75
Respuestas	unidades	
q_e biomasa	mg/g	

Tabla 2. Factores y niveles del diseño experimental (q_e = capacidad de adsorción, mg/g). / **Table 2.** Factors and levels of the experimental design (q_e = adsorption capacity, mg/g).

ppm, 1 g/l de concentración biomasa, pH=5.80, durante 8 horas. Los resultados se ajustaron a modelos de Pseudo-primero y Pseudo-segundo orden de reacción.

Los ensayos de equilibrio se realizaron considerando el tiempo de equilibrio determinado por el estudio cinético y tres concentraciones metálicas 25, 50 y 75 ppm. Estos datos experimentales, se ajustaron a los modelos de Langmuir y Freundlich (Ramya *et al.*, 2016) lo que permitió determinar parámetros que describen la eficacia del proceso, como la capacidad máxima de adsorción de un metal por la biomasa (q_m), y la afinidad de los iones metálicos y los sitios activos.

Modelo de Langmuir:

$$q_e = q_m * K_L * C_e / (1 + K_L * C_e)$$

Donde C_e es la concentración de equilibrio de iones metálicos (mg/L), q_e es la capacidad de adsorción en el equilibrio (mg/g), K_L es la constante de Langmuir (L/mg) y q_m es la adsorción máxima en monocapa (mg/g).

Modelo de Freundlich: $q_e = K * C_e^{1/n}$

Donde C_e es la concentración de equilibrio de iones metálicos (mg/l), q_e es la capacidad de adsorción en el equilibrio (mg/g), n es la constante característica relativa a la intensidad de la adsorción y K constante característica relacionada con la capacidad de adsorción (mg/g). Cabe aclarar que estos cálculos se ven aplicados

y reflejados tanto en tabla 6 y Figura 5 del presente artículo.

Resultados y discusión

La asociación mineralógica que caracteriza a las muestras extraídas de la pila de lixiviación es: pirita (Py), cuarzo (Qz), arcillas, mica, clastos líticos y óxidos (Figura 3). En la muestra se observó fuerte reacción al agregado de HCl (ácido clorhídrico) en frío, esto demuestra también, la presencia de carbonatos de calcio. Como resultado de la composición química del material de la pila (tabla 3), se evidencia la presencia de hierro como componente mayoritario mientras que calcio, manganeso, aluminio, potasio y sodio como secundarios. En cuanto a la presencia de metales pesados, en primer lugar, se encuentra zinc, seguido del plomo y cobre; en tanto el cadmio y la plata están presentes en pequeña proporción. Además, los minerales de la pila arrojaron un lixiviado con un pH de pasta ligeramente básico debido esencialmente a la presencia de carbonatos en su composición. Estos desechos mineros son el resultado de la acumulación de rocas mineralizadas que han sido sometidas a un proceso de alcalinización con lechada de cal y posterior lixiviación con cianuro de sodio para la extracción de los elementos valiosos.

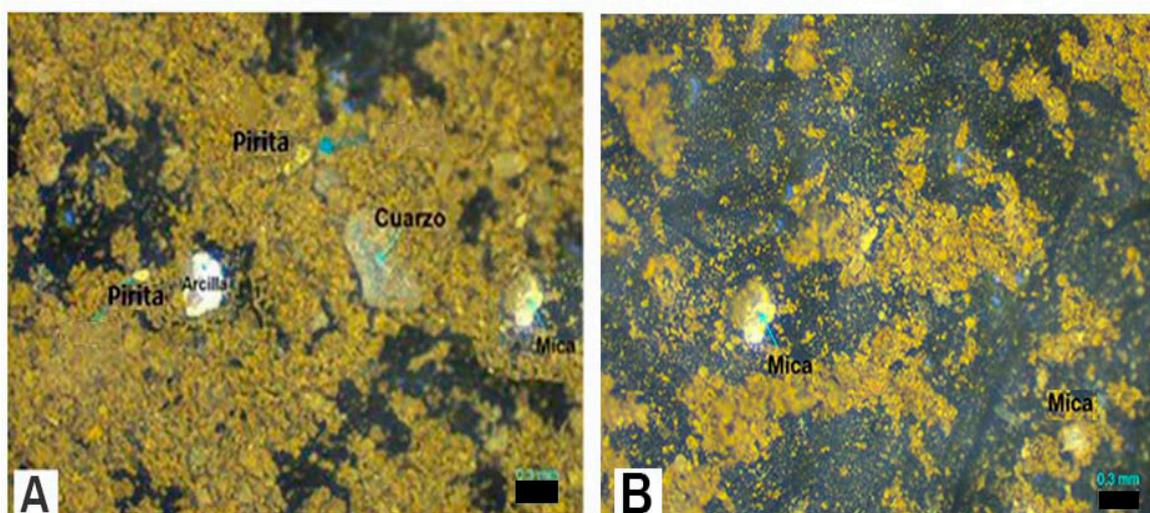


Figura 3. A-B- Imágenes de las especies mineralógicas que caracteriza la pila de lixiviación, mediante Microscopio estereoscópico Leica S6D, escala 0.30 mm. / **Figure 3. A-B-** Images of the mineralogical species that characterize the leaching pile, using a Leica S6D stereomicroscope, scale 0.30 mm.

Por esto, la caracterización mineralógica y química se corresponde con minerales de una pila de lixiviación, donde la alcalinidad protectora a pH mayor a 10, se consigue con agregados de cantidades medidas de álcalis; típica de un proceso de lixiviación con cianuro para la disolución del oro y plata.

Como resultado del aislamiento se obtuvo un total de 10 cepas que mediante la determinación del Índice de Tolerancia (IT) permitió seleccionar una de las cepas más tolerantes al plomo (Muñoz *et al.*, 2012). Este ensayo consistió en poner en contacto todas las cepas aisladas con medio de cultivo al cual se le adicionó soluciones de plomo a distintas concentraciones de 25 a 800 ppm. Luego el crecimiento micelial en cada placa fue observado durante un período de total desarrollo del hongo comparado con la placa control, midiendo diámetros de crecimiento en cada placa en centímetros y por último se calculó

el PICR (Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial), (Samaniego Fernández *et al.*, 2018), se calcula como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\text{PICR} = \frac{(R1 - R2)}{R1} * 100$$

Donde:

R1= es el diámetro de crecimiento de la muestra de control.

R2= es el diámetro de crecimiento de la cepa de estudio.

La cepa más tolerante denominada HR fue identificada como *Penicillium chumiae* cuyo número de acceso de GenBank es GQ221866 con un 99.82 % de identidad. Cabe resaltar la importancia de que la biomasa sea de origen autóctono, reside en que representan poblaciones tolerantes y/o resistentes, capaces de sobrevivir y crecer en ambientes altamente contaminados, pudiendo ser reutilizados como agentes biorremediadores (Cárdenas *et al.*, 2013).

Cu	Fe	Cr	Al	Pb	Si	Na
1722	183400	7.90	10930	5045	172.30	3927
Mn	Ca	Mg	Zn	P	Cd	Li
18370	108000	3418	35850	N/D	159.70	41.80
K	Mo	Ag	Sr	Ti	Ni	Co
5681	24.30	6.80	133.10	N/D	0.70	N/D

Tabla 3. Composición química de un compuesto de los 10 puntos diferentes de la pila de lixiviación analizada mediante ICP (Unidades de concentración en g/g; N/D= no detecta el equipo). / **Table 3.** Chemical composition of a composite the 10 different points of from heap leach analyzed by ICP (Units of concentration in g/g; N/D = does not detect the equipment).

En el ensayo preliminar de adsorción se obtuvieron capacidades de adsorción de 2.80 mg/g y 4.00 mg/g para HR-SA y HR-E respectivamente. Se concluye que la biomasa HR activada con etanol tiene una mayor capacidad de adsorción comparada con la biomasa sin activar.

Los coeficientes de correlación (R^2) de los diseños experimentales aplicados fueron de 82.00 y 84.14 para la adsorción de las biomásas fúngicas HR-SA y HR-E respectivamente.

En ambos casos los factores y todas las interacciones tuvieron un valor p menor que el nivel de significancia $\alpha=0.05$, indicando que tienen influencia estadísticamente significativa sobre la variación de la capacidad de adsorción de plomo en los dos adsorbentes evaluados con un nivel de confianza del 95.00%. De la aplicación del diseño experimental se obtuvo un modelo de segundo orden que se muestra en la siguiente ecuación. En este modelo empírico se introdujeron los términos estadísticamente significativos.

$$q = \beta_0 + \beta_1 \text{ pH} + \beta_2 \text{ Conc.ad} + \beta_3 \text{ Conc.Met.} + \beta_4 t + \beta_{11} \text{ pH}^2 + \beta_{22} \text{ Conc ad.}^2 + \beta_{33} \text{ Conc met.}^2 + \beta_{44} t^2 + \beta_{12} \text{ pH Conc ad.} + \beta_{13} \text{ pH concmet.} + \beta_{14} \text{ pH t} + \beta_{23} \text{ Conc.ad.ConcMet} + \beta_{24} \text{ Conc ad.t} + \beta_{34} \text{ Conc.met.}$$

Donde q es la capacidad de adsorción en el equilibrio (mg metal por g biomasa seca); β_0 es el coeficiente de intercepción; β_1 , β_2 y β_3 son los términos lineales; β_{11} , β_{22} , β_{33} y β_{44} son los términos cuadráticos; y β_{12} , β_{13} , β_{14} ,

β_{24} , β_{23} y β_{34} son los términos de interacción.

La bondad del ajuste del modelo fue determinada evaluando la falta de ajuste, el coeficiente de correlación (R^2) y el valor de la prueba de Fisher (Miller y Miller, 1993; Nour *et al.*, 2016), obtenidos mediante el análisis de varianza (ANOVA). La significancia estadística del modelo y sus términos por separado fueron determinados para un nivel de significancia del 5 % ($p=0.05$). A partir del modelo se obtuvieron las condiciones que maximizaron la capacidad de adsorción (q_e), las que son presentadas en la tabla 4.

El efecto del factor “concentración de biomasa” es negativo a la variable respuesta, esto expresa que para un aumento de la concentración de biomasa la capacidad de biosorción disminuye, como se puede apreciar en los gráficos de superficies de respuesta para HR-SA (Figura 4-A) y HR-E (Figura 4-B).

QR= q_e =capacidad de adsorción de HR-SA; analizada como variable respuesta.

QR act=capacidad de adsorción de HR-E; analizada como variable respuesta.

Conc biom=concentración biomasa analizada como factor.

Conc meta=concentración metálica analizada como factor.

Para la validación de los modelos estadísticos se ensayaron las condiciones de la Tabla 4

Biosorbentes	pH	Conc. biomasa	Conc. metálica	Tiempo	q_e óptimo	q_e exper.
Denominación		g/l	ppm	horas	mg/g	mg/g
HR-SA	5.80	1.00	100	11.60	60.01	72.59
HR-E	5.80	1.00	100	11.73	77.95	65.33

Tabla 4. Valores óptimos de los factores para la máxima capacidad de adsorción de todos los adsorbentes empleados para plomo. HR-SA=*Penicillium cluniae* sin activar, HR-E=*Penicillium cluniae* activado con etanol (Donde q_e óptimo= capacidad de adsorción óptimo obtenida del diseño (mg/g); q_e exper. = capacidad de adsorción experimental obtenida a partir de los valores óptimos (mg/g); Conc. Biomasa = concentración de biomasa (g/l); Conc. Metálica= concentración Pb (ppm). / **Table 4.** Optimal values of the factors for the maximum adsorption capacity of all adsorbents used for lead. HR-SA = *Penicillium cluniae* not activated, HR-E = *Penicillium cluniae* activated with ethanol (Where optimal q_e = optimal adsorption capacity obtained from the design (mg/g); q_e exper. = experimental adsorption capacity obtained from the optimal values (mg/g); Biomass Conc = biomass concentration (g/l); Metallic Conc = Pb concentration (ppm)).

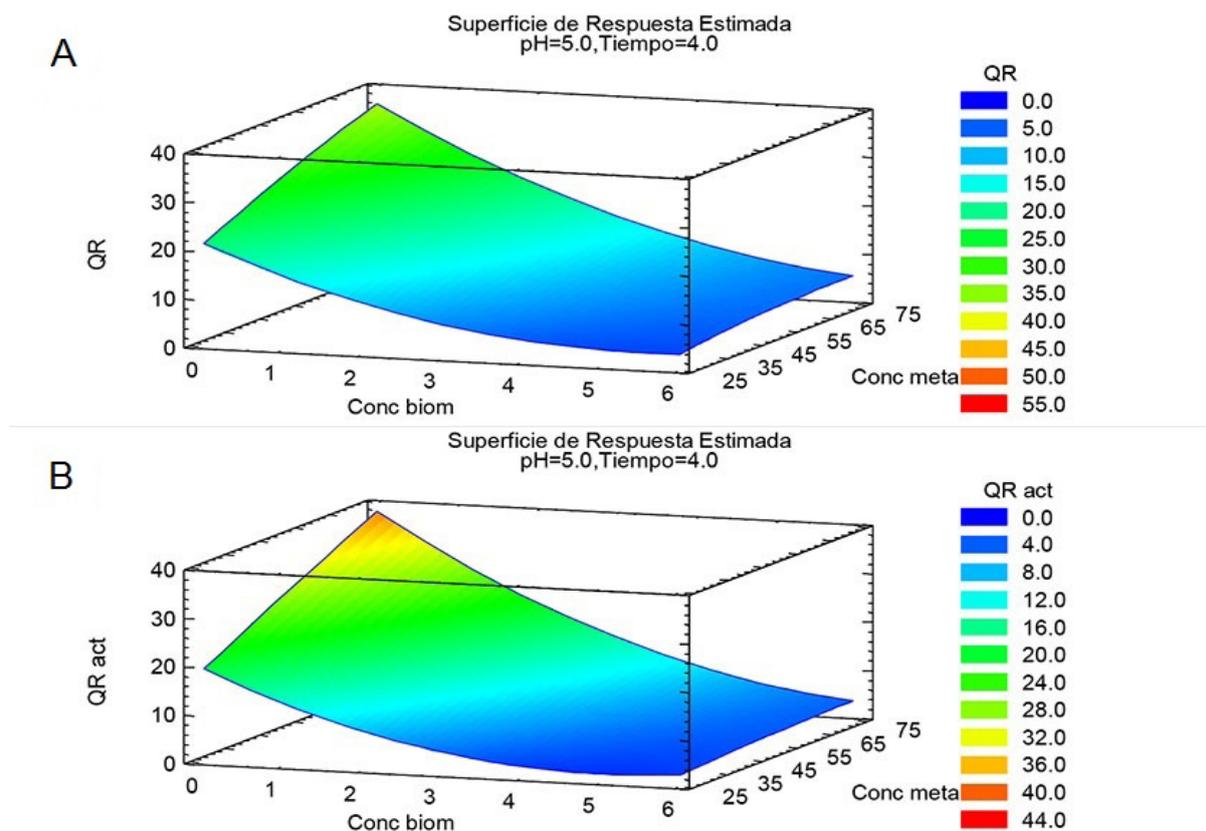


Figura 4. A- Gráfico de superficie de respuesta para HR-SA. **B-** Gráfico de superficie de respuesta para HR-E. / **Figure 4. A.** Response surface plot for HR-SA. **B-** Response surface plot for HR-E.

y se compararon los valores de capacidad de adsorción experimental y los predichos, mediante un “Test t de Student de muestras apareadas” según Miller y Miller (1993). El cual demostró que no hubo diferencias significativas, denotando la validez al modelo empírico obtenido. Para el caso de HR-SA los valores obtenidos tanto de q_e óptimo y q_e experimental fueron 60.01 mg/g y 72.59 mg/g respectivamente; mientras que para HR-E los valores obtenidos tanto de q_e óptimo y q_e experimental fueron de 77.95 mg/g y 65.33 mg/g. Otros autores han reportado que la capacidad de adsorción de plomo de diferentes biomazas tales como *Penicillium* sp. y de *R. arrhizus* (Gottfried Ehrenberg, 1818) fueron de 60.77 mg/g y 48.70 respectivamente (Aftab *et al.*, 2013; Muñoz *et al.*, 2019). Una comparación directa entre diferentes biosorbentes es difícil debido a las diferentes condiciones experimentales empleadas, sin embargo, se puede evidenciar que la cepa en estudio *Penicillium cluniae* exhibe una comparable y eficiente capacidad de

adsorción frente a este metal.

En este trabajo la aplicación de los diseños experimentales en el estudio de adsorción de plomo con las dos biomazas fúngicas HR-SA y HR-E fue llevada a cabo con buenos valores de los parámetros estadísticos, y además permitió encontrar la región óptima de factores para alcanzar la máxima capacidad de adsorción de plomo. En la literatura no hay reportes de procesos similares con biosorbentes fúngicos que hayan sido evaluados mediante esta herramienta estadística, sin embargo, Muñoz *et al.* (2015) reportaron el uso de un diseño estadístico para estudiar el comportamiento de adsorción de una bacteria *Klebsiella* sp. 3S1 en soluciones acuosas de Pb.

Estudio cinético y de equilibrio

Tanto para la biomasa HR-SA como para la HR-E, el modelo de pseudo-segundo orden es el que mejor se ajusta a los datos experimentales, esto se puede ver en la tabla 5.

Biosorbentes	q_e experimental mg/g	Pseudo primer orden			Pseudo segundo orden		
		K_1	q_e	R^2	K_2	q_e	R^2
HR-SA	57.88	0.11	58.35	0.99	0.43	82.64	0.99
HR-E	15.60	0.12	18.17	0.93	0.43	22.67	0.98

Tabla 5. Valores de los parámetros de los modelos cinéticos. Dónde: q_e =capacidad de adsorción en el equilibrio; K_1 y K_2 = constantes de velocidad de Pseudo primer orden y Pseudo segundo orden; R^2 = R-cuadrada, coeficiente de determinación. / **Table 5.** Parameter values of the kinetic model. Where: q_e = adsorption capacity at equilibrium; K_1 and K_2 = Pseudo first order and Pseudo second order rate constants; R^2 = R-squared, coefficient of determination.

Los procesos de adsorción de las dos biombras HR-SA y HR-E son bien descritos por el modelo de Langmuir, indicando un recubrimiento en monocapa, esto se puede corroborar con los coeficientes de correlación detallados en la tabla 6.

En la figura 5 se muestran los datos experimentales de la capacidad de adsorción en el equilibrio y el ajuste según los modelos de Lang-

muir y Freundlich, tanto para las biombras HR-SA (Figura 5-A) y HR-E (Figura 5-B).

Cabe destacar que los microorganismos aislados de desechos de minas son una importante fuente de biosorbentes para captar metales pesados en la remediación ambiental, dada la tolerancia que tienen por haber crecido en condiciones extremas como es una pila de lixiviación

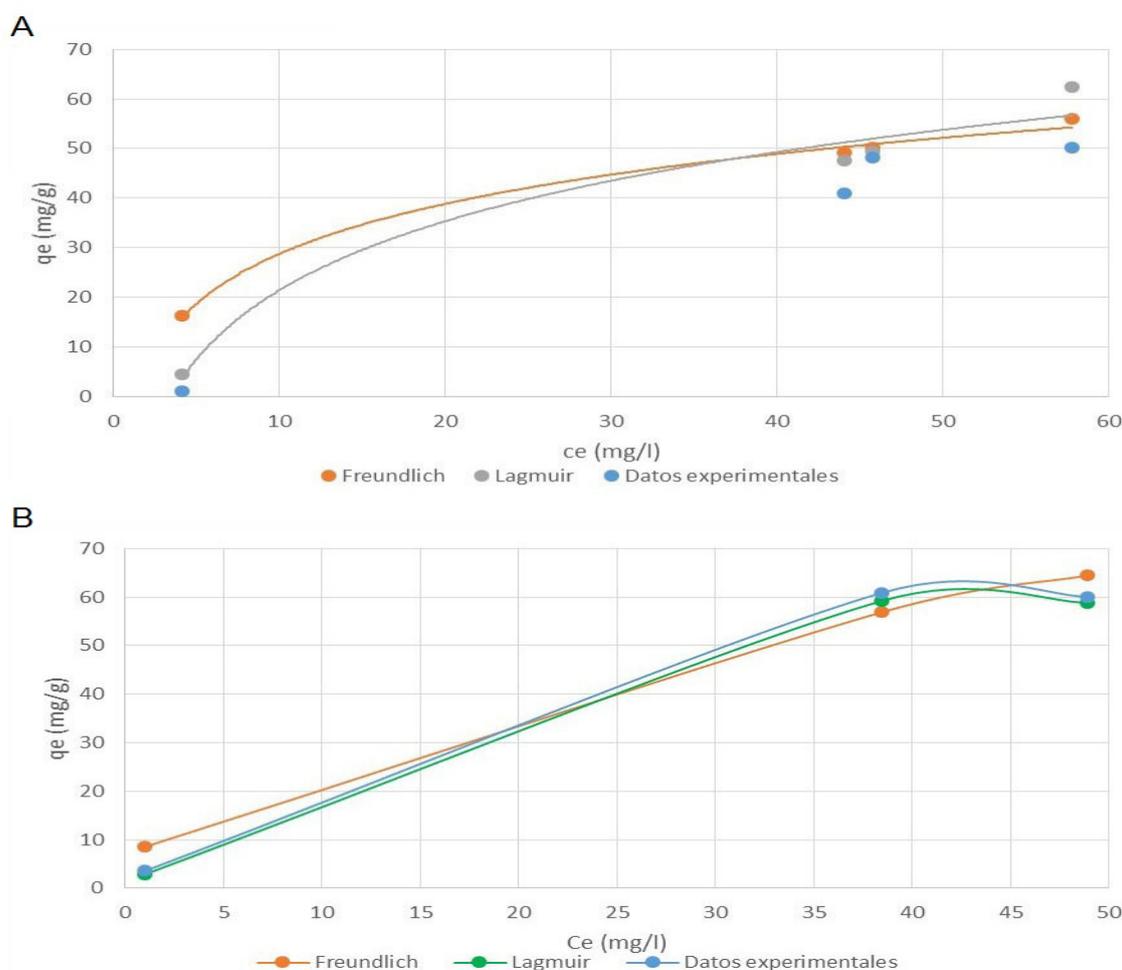


Figura 5. A- Ajuste de datos experimentales de HR-SA. **B-** Ajuste de datos experimentales de HR-E. / **Figure 5. A.** Fitting of HR-SA experimental data. **B-** Fitting of HR-E experimental data.

Modelo de Isotherma	Parámetros	HR-SA	HR-E
Freundlich	K (mg/g)	8.31	8.51
	1/n	0.47	0.52
	R ²	0.95	0.95
Langmuir	q _m (mg/g)	62.50	59.00
	K _L (L/mg)	0.02	0.05
	R ²	0.95	0.99

Tabla 6. Parámetros del modelo de Freundlich y Lagmuir para todos los biosorbentes. Dónde: K constante característica relacionada con la capacidad de adsorción (mg/g); n es la constante característica relativa a la intensidad de la adsorción; q_m es la adsorción máxima en monocapa (mg/g); K_L es la constante de Langmuir (L/mg). / **Table 6.** Parameters of the Freundlich and Lagmuir model for all biosorbents. Where: K characteristic constant related to the adsorption capacity (mg/g); n is the characteristic constant related to the intensity of the adsorption; q_m is the maximum monolayer adsorption (mg/g); K_L is Langmuir's constant (L/mg).

(desecho minero). De tal manera se puede afirmar que uno de los métodos más reconocidos para la obtención de materiales biosorbentes es a través del aislamiento de desechos contaminados de minas, debido a que exhiben, por un lado, altas capacidades de recuperación de metales pesados, y por el otro brinda una herramienta como solución a la remediación ambiental.

Conclusión

De acuerdo a los objetivos planteados en este estudio, se aisló una cepa fúngica (*Penicillium cluniae*) a partir de desechos mineros y se evaluó el proceso de adsorción de Pb (II) mediante la aplicación de un diseño experimental central compuesto rotatable (DCCR), logrando encontrar las condiciones que maximizan la capacidad de adsorción. Las capacidades de adsorción máxima fueron 60.01 mg/g para la biomasa sin activación y 77.95 mg/g para la biomasa activada. Ambos procesos de adsorción mostraron un comportamiento cinético de pseudo segundo orden, y en el equilibrio fueron bien representados por el modelo de Langmuir.

Los resultados indican que los hongos aislados de suelos de minas, podrían ser utilizados como biosorbentes, mejorando su capacidad de remoción del ión metal Pb (II) mediante técnicas simples y poco costosas.

Agradecimientos

A la institución a las que pertenecen los autores y sus respectivas Direcciones de Investigación por el apoyo otorgado para la realización de la presente investigación.

Referencias

- Aftab, K., Akthar, K., Jabbar, A., Bukhari, I.H. and Noreen, R. 2013. Physico-chemical study for zinc removal and recovery onto native/chemically modified *Aspergillus flavus* NA9 form industrial effluent. *Water Research*, 47: 4238-4246.
- Benedetto, J.L. 2003. *Ordovician fossils of Argentina*. Universidad Nacional de Córdoba, Secretaría de Ciencia y Tecnología, Córdoba, 665 pp.
- Cárdenas, J.F., Moctezuma, M.G., Acosta, I. y Martínez, V.M. 2013. Biosorción de Plomo (II) en solución por diferentes biomasa-Fúngicas. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 9: 57-51.
- Castellón, J., Marrugo, J. y Urango, I. 2014. Remoción de plomo, cadmio y mercurio en un efluente minero por medio de biomasa de hongos *Penicillium* sp. Universidad de Córdoba, Montería. Grupo de Aguas Química aplicada y ambiental, Facultad de Ciencias Básicas, Montería.
- Castro González, I. 2017. Aislamiento de hongos y su uso como material biosorbente con capacidad de remover cromo hexavalente. [Tesis Doctoral], *Universidad Autónoma de Nuevo León*. <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/17009>.
- Chung, A., Sousa, T., Pereira, A. and Morais, P. 2013. Microorganisms-Tools for bioremediation of Uranium contaminated Environments. *Elsevier Procedia Earth*

- and *Planetary Science*, 8: 53-58.
- Das, N. and Das, D. 2013. Recovery of rare earth metals through biosorption: an overview. *Journal of Rare Earths*, 31: 933-943.
- Esmaili, A. and Beni, A.A. 2020. Biosorption, an efficient method for removing heavy metals from industrial effluents: a review. *Environmental Technology & Innovation*, 17:100-503.
- Ezzouhri, L., Ruiz, E., Castro, E., Moya, M., Espínola, F., Cherrat, L., Er-Raioni, H. and Lairini, K. 2010. Mechanisms of lead uptake by fungal biomass isolated from heavy metals habitats. *Afinidad*, 67: 39-44.
- Furque, G., González, P., Caballé, M., Pérez, L., Cardó, R., Godeas, M., Conde, A. y Pucci, J.C. 2003. [Hoja Geológica 3169-II, San José de Jáchal. Provincias de San Juan y La Rioja. Instituto de Geología y Recursos Minerales, Servicio Geológico Minero Argentino, Buenos Aires, 76 pp. Inédito.]
- Giese, E.C. and Jordão, C.S. 2019. Biosorption of lanthanum and samarium by chemically modified *Bacillus subtilis* free cells. *Applied Water Science* 9: 182 pp.
- Gupta, N.K., Gupta, A, Ramteke, P, Sahoo, H. and Sengupta, A. 2019. Biosorption-a green method for the preconcentration of rare earth elements (REE) from waste solutions: a review. *Journal of Molecular Liquids*, 274: 148-164.
- Heredia, S., Mestre, A. and Kaufmann, C. 2017. The Darriwilian conodont biostratigraphy from the Argentine Precordillera. In: Progress on Conodont Investigation (eds. J. - C., Liao y J.I., and Valenzuela-Rios). IV International Conodont Symposium. *Cuadernos del Museo Geominero*. Valencia, 22: 65-69.
- Holanda, R., Hedrich, S., Nancucheo, I., Guilherme, O., Grail, B.M. and Johnson, D.B. 2016. Isolation and characterization of mineral-oxidising "*Acidibacillus sp.*", from mine sites and geothermal environments in different global locations. *Elsevier Research in microbiology*, 167: 613-623.
- Lehnert, O. 1995. Ordovizische Conodonten aus der Präkordillere Westargentiniens: Ihre Bedeutung für Stratigraphie und Paläogeografie. *Erlangen geologische Abhandlungen, Erlangen*, 125: 1-193 pp.
- Leveratto, M. 1976. Edad de intrusivos cenozoicos en la Precordillera de San Juan y su implicancia estratigráfica. *Revista de la Asociación Geológica Argentina*, 31: 53-58.
- Londoño Franco, L. F, Londoño Muñoz, P. T. and Muñoz García, F. G. 2016. Risk of heavy metals in human and animal health. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14: 145-153.
- Mestre, A. and Heredia, S. 2013. Biostratigraphic significance of Darriwilian conodonts from Sierra de La Trampa (Central Precordillera, San Juan, Argentina). *Geosciences Journal*, 17: 43-53.
- Mestre, A. and Heredia, S. 2020, Lower-middle Darriwilian index conodonts from the Precordillera: New taxonomical approaches: *Palaeobiodiversity and Palaeoenvironment*, 100: 737-756.
- Miller, J.C. y Miller, J.N. 1993. *Estadística para Química Analítica*. 2ª edición, Addison Wesley Iberoamerican editors, Estados Unidos, 113 pp.
- Muñoz, A.J., Espínola, F., Moya, M. and Ruiz, E. 2015. Biosorption of Pb (II) ions *Klebsiella sp.* 3S1 isolated from a wastewater treatment plant: Kinetics and mechanisms studies. *BioMed Research International*, Article ID 719060.
- Muñoz, A.J., Ruiz, E., Abriouel, H., Gálvez, A., Ezzouhri, L., Lairini, K. and Espínola, F. 2012. Heavy metal tolerance of microorganisms isolated from wastewaters. Identification and evaluation of its potential for biosorption. *Elsevier Chemical Engineering Journal*, 210: 325-332.
- Muñoz, A.J., Ruiz, E., Espínola, F., Barbosa Dekker, A.M., Dekker R.F.H. and Castro, E. 2019. Assessment of by-product from *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05 as an effective biosorbent of Pb (II). *Molecules*, 24: 3306.
- Nour T.A.G., Ghadir A.E., Mohamed H.E. and El-Shaimaa A. R. 2016. Optimizing the preparation conditions of activated carbons from olive cake using KOH activation. *New Carbon Materials*, 31: 492-500.
- Ramya, P.M., Jayasravanthi, M., Venkata, N.R. 2016. Kinetic, isotherm and thermodynamics investigation on adsorption of divalent copper using agro-waste biomaterials, *Musa acuminata*, *Casuarina equisetifolia* L. and *Sorghum bicolor*. *Polish Journal of Chemical Technology*, 18: 68-77.
- Samaniego Fernández, L.M., Odalys Corbea, M.H., Rondón Castillo, A.J. y Placeres Espinosa, I. 2018. Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. antagonistas de patógenos del suelo. *Revista de Protección Vegetal*, 33: 2224-4697.
- Taurá, D., Bengochea, L., Soler, A., Mas, G. y Cardellach, E. 2000. El skarn mineralizado en Zn-Cu (Au) de Hualilán (Provincia de San Juan, Argentina): Datos preliminares. *Cadernos Lab. Xeolóxico de Laxe*, 25: 321-323.
- Wiwid, P.P., Azlan, K., Siti, N.M.Y., Che, F.I., Azmi, M.N.H. and Illyas, M. Isa. 2014. Biosorption of Cu (II), Pb (II) and Zn (II) Ions from Aqueous Solutions Using Selected Waste Materials: Adsorption and Characterisation Studies. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 4, 25-35.

Recibido: 21 de Agosto del 2020

Aceptado: 04 de Diciembre del 2020

