

DOI: 10.24850/j-tyca-2022-04-05

Artículos

Bioadsorción de Co(II) y Mn(II) en soluciones acuosas por la bacteria *Rhodococcus opacus*

Bioadsorption of Co(II) and Mn(II) in aqueous solutions by the *Rhodococcus opacus* bacterium

Amanda Mauro Rodrigues-Pimentel¹, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1260-5299>

Patricia Reynoso-Quispe², ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9202-475X>

Rita Jaqueline Cabello-Torres³, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9965-9678>

Lorgio Gilberto Valdiviezo-Gonzales⁴, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8200-4640>

¹Pontificia Universidad Católica de Río de Janeiro-Puc-Río, Departamento de Ingeniería Química y de Materiales, Río de Janeiro, Brasil, manda_pimentel@hotmail.com

²Universidad de Ingeniería y Tecnología (UTEC), Lima, Perú, preynoso14@gmail.com



³Universidad César Vallejo (UCV), Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela de Ingeniería Ambiental, Lima, Perú, rcabellot@hotmail.com, rcabello@ucv.edu.pe

⁴Universidad Tecnológica del Perú-UTP, Facultad de Ingeniería, Carrera de Ingeniería en seguridad laboral y ambiental, Lima, Perú, lvaldiviez@utp.edu.pe

Autor para correspondencia: Lorgio Valdiviezo, lvaldiviez@utp.edu.pe

Resumen

Se evaluó la bioadsorción de Co(II) y Mn(II) en soluciones acuosas por *Rhodococcus opacus* inactivado y tratado con NaOH, y se efectuó la caracterización fisicoquímica del bioadsorbente. La caracterización fisicoquímica de la bacteria se realizó mediante microscopía electrónica de barrido acoplada al análisis de dispersión de energía de rayos X (MEB-EDS), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y potencial zeta (PZ). Asimismo, se determinaron las mejores condiciones de operación en el proceso, evaluando la concentración del biosorbente, concentración inicial del metal (C_i), pH y tiempo de contacto. Los experimentos se hicieron a escala de laboratorio y la bacteria fue previamente tratada con NaOH (0,1 M). La interacción entre *R. opacus* y los iones metálicos se confirmó por la variación del potencial isoeléctrico

(PIE) y grupos funcionales. En las mejores condiciones de operación se alcanzaron remociones y adsorción de 87.8 % y 24.9 mg/g para Co(II), y 79.9 % y 6.1 mg/g para Mn(II). Estas condiciones fueron pH 7, biomasa 4 mg/l, C_i 50 mg/l y 180 minutos de tiempo de operación. Mientras que para el Mn(II): pH 5, biomasa 3 mg/l, C_i 5 mg/l y 10 minutos de tiempo de operación. El presente estudio demuestra que el *R. opacus* puede ser aplicado en el tratamiento de efluentes conteniendo bajas concentraciones de Co(II) y Mn(II).

Palabras clave: bioadsorción, remoción, cobalto, manganeso, biotecnología, *Rhodococcus opacus*.

Abstract

The bioadsorption of Co(II) and Mn(II) in aqueous solutions was evaluated by *Rhodococcus opacus* inactivated and treated with NaOH, and the physicochemical characterization of the bioadsorbente. The physicochemical characterization of bacteria was performed by scanning electron microscopy coupled to energy dispersive X-ray analyses (SEM-EDS), Fourier transforms infrared spectroscopy (FTIR,) and Zeta Potential (ZP). Likewise, the operating conditions in the process were determined, evaluating biosorbent concentration, initial metal concentration (C_i), pH, and contact time. The experiments were performed at the laboratory, and the bacteria was previously treated with NaOH (0.1M). The interaction

between *R. opacus* and metal ions was confirmed by the variation of isoelectric point (IEP) and functional groups. Removals and uptake of 87.8 % and 24.9 mg/g for Co(II) and 79.9 % and 6.1 mg/g for Mn(II) were achieved under test-operating conditions. These conditions were pH 7, biomass 4 mg/l, C_i 50 mg/l, and 180 minutes of operation time. While for Mn(II): pH 5, biomass 3 mg/l, C_i 5 mg/l and 10 minutes operation time. The present study shows that *R. opacus* can be applied to treat effluents containing low concentrations of Co(II) and Mn(II).

Keywords: Bioadsorption, removal, cobalt, manganese, biotechnology, *Rhodococcus opacus*.

Recibido: 12/03/2020

Aceptado: 29/05/2021

Introducción



En los últimos años existe un gran interés por el estudio de la acumulación de metales pesados, provenientes de fuentes antrópicas, en el ambiente (agua, aire, suelo) debido a su toxicidad sobre los seres humanos y sobre otras formas de vida (Vishan, Saha, Sivaprakasa, & Kalamdhad, 2019). Mientras que en Europa se han investigado las principales fuentes antrópicas de contaminación ambiental como la industria y la agricultura intensiva (Sedlakova-Kadukova, Kpcakova, Gresakova, Godany, & Pristas, 2019), en América Latina la contaminación de aguas por metales pesados también ha sido objeto de investigación (Bundschuh *et al.*, 2012; Guittard *et al.*, 2017), pero es un problema que se vincula con prácticas que no guardan relación con una gestión sostenible de los recursos.

En Perú, por ejemplo, se ha reportado la presencia de manganeso en niveles superiores al estándar de calidad ambiental (ECA) en los ríos Tambo, Rímac, Santa, Mantaro y Cahamaya (Minagri, 2013). Mientras que en la región hidrográfica del Titicaca ambos metales superan el ECA (OECD, 2017).

La presencia de Co(II) y Mn(II) en los efluentes se debe a las actividades mineras, producción de aleaciones, catalizadores y baterías entre otras fuentes (Barrio-Parra *et al.*, 2017). El manganeso se puede encontrar con frecuencia en aguas subterráneas y se asocia con la coloración del agua, manchas de la ropa y obstrucción de las tuberías; mientras que la exposición a este metal provoca un envenenamiento crónico del cuerpo humano (Rose, Fabbro, & Kinneer, 2017). Asimismo,

altas exposiciones al Co(II) se conectan con baja presión sanguínea, náuseas, vómitos, trastornos del sistema nervioso y parálisis (Abbas, Kaddour, & Trari, 2014).

Con el tiempo se han desarrollado una serie de tratamientos para eliminar o mitigar la contaminación por metales pesados, y restablecer un equilibrio saludable en favor de la dinámica humana y ambiental. Las técnicas convencionalmente usadas en el tratamiento de efluentes industriales, conteniendo metales, se basan en procesos fisicoquímicos como la electroflotación y filtración con membranas (Nascimento-Do, De-Oliveira, Rizzo, & Leite, 2019); además, son caracterizadas por tener un alto costo y difícil implementación. Asimismo, estos procesos han mostrado bajas remociones cuando las concentraciones de metales son menores a 100 mg/l (Volesky, 2003). Ante esta situación han surgido tecnologías como los biotratamientos que resultan más amigables con el ambiente y son de menor costo (Ziagova *et al.*, 2007; Hasan, Abdullah, Kofli, & Yeoh, 2016; Jobby, Jha, Yadav, & Desai, 2018).

Entre los biotratamientos destaca la biosorción, la cual comprende el uso de adsorbentes de origen biológico y ha demostrado tener alta remoción; además, no genera residuos sólidos o sustancias tóxicas durante el proceso (Costas & Tavares, 2016). El uso de bacterias vivas o inactivas como biosorbentes es una potencial alternativa en la adsorción de metales; algunas de las más estudiadas corresponden a los géneros *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Bacillus* (Jacob *et al.*, 2018).

De igual forma, se ha reportado la aplicación del *R. opacus* y de las sustancia poliméricas extracelulares de esta bacteria en la bioadsorción de diversos metales, tal como Al(III) (Cayllahua & Torem, 2010); Mn(II) (Silvas, Buzzi, Espinosa, & Tenório, 2011); Cd(II); Pb(II); Ni(II); Co(II), y Cr(VI) (Dobrowolski, Szcześ, Czemińska, & Jarosz-Wikołazka, 2017).

La bioadsorción, mediante el uso de células vivas o inactivadas, es un proceso que no depende del metabolismo celular, pues el metal es adsorbido sobre la superficie del bioadsorbente (Nascimento-Do *et al.*, 2019) y en su mayoría es un proceso reversible (Arivalagan, Singaraj, Haridass, & Kaliannan, 2014). La estructura de la pared celular microbiana ha sido identificada como la principal responsable en la adsorción de metales (Escudero, Quintas, Wuilloud, & Dotto, 2019). Respecto a esto, se ha reportado que los grupos funcionales presentes en las bacterias gramnegativas presentan una gran disponibilidad en la remoción de especies metálicas (Quiton, Doma, Futralan, & Wan, 2018; Escudero *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019).

Sin embargo, otros autores argumentan que las bacterias grampositivas, al tener una pared celular más gruesa (y particulares componentes), presentan también mayores remociones y adsorción de iones metálicos, cuando son comparadas con las gramnegativas (Gourdon, Bhende, Rus, & Sofer, 1990; Jacob *et al.*, 2018). Escudero *et al.* (2019) indican que el comportamiento de las bacterias es dependiente del sistema en que se llevan a cabo los experimentos.

Los principales grupos funcionales presentes en la pared celular bacteriana y relacionados con la adsorción de metales son el hidroxilo, carboxilo, sulfonato, amida, y fosfonato (Arivalagan *et al.*, 2014); mientras que los mecanismos fisicoquímicos relacionados con esta adsorción incluyen la interacción electrostática, formación de complejos, intercambio iónico y micro precipitación (Anagnostopoulos, Vlachou, & Symeopoulos, 2015).

El uso de bacteria inactiva como adsorbente es un tratamiento con mucho potencial para la eliminación de este tipo de contaminantes metálicos; es importante estudiar las principales características fisicoquímicas del proceso, lo que permitirá el acercamiento a futuras aplicaciones en el campo del tratamiento de agua; los mayores retos son la identificación de un bioadsorbente fácilmente disponible, de simple aplicación, que permita un proceso más económico y eficiente (Barquilha, Cossich, Tavares, & Silva, 2019; Bankar & Nagaraja, 2018).

El objetivo de esta investigación es evaluar la bioadsorción de Co(II) y Mn(II) en soluciones acuosas por *Rhodococcus opacus* inactivado y tratado con NaOH, así como la caracterización fisicoquímica del bioadsorbente.

Materiales y métodos

Obtención y preparación del *R. opacus*

La bacteria *R. opacus* fue adquirida de la colección de cultivos microbianos de la Fundación Tropical de Investigación y Tecnología André Tóselo, Campinas, Sao Paulo, Brasil. Luego fue cultivada en un medio sólido compuesto por glucosa (10 g/l), peptona (5 g/l), extracto de malta (3 g/l), extracto de lavadura (3 g/l) y agar-agar (20 (g/l).

Posteriormente se prepararon 200 ml de medio de cultivo líquido (en frascos Erlenmeyer de 500 ml) con la misma composición descrita para el medio sólido, excepto por la ausencia del agar-agar. Se ajustó el pH a 7.2, con NaOH 0.1M o HCL 0.1M. El medio líquido se esterilizó en una autoclave vertical de la marca Primatec, a 121 °C por 20 minutos. Luego, en una cabina de seguridad biológica (Filterflux clase II A2), previamente esterilizada, se transfirió el microorganismo desde el medio de cultivo sólido hacia el medio líquido con un asa de platino previamente flameada.

Se realizó la incubación a 28 °C, por 48 h y 125 rpm, en una incubadora de plataforma de rotación horizontal (Cientec, CT-712). A partir del crecimiento celular, en el medio de cultivo líquido, la célula bacteriana fue colectada y lavada, por tres veces, con agua desionizada mediante centrifugación a 3 500 rpm por 10 minutos y luego esterilizada en un autoclave vertical bajo las mismas condiciones descritas anteriormente, lo que posibilitó obtener la biomasa inactivada (BSPT).

Pretratamiento del bioadsorbente

El pretratamiento de la bacteria inactiva se realizó aplicando 30 ml de NaOH (0.1M) por cada 100 ml de biomasa. La suspensión celular fue agitada en una plataforma de rotación horizontal a 125 rpm a 25 °C por tres horas; finalmente, este producto se lavó con agua desionizada tres veces y el pH se ajustó hasta valores cercanos a 7, con HCl, 0.1M. La biomasa pretratada (BPT) se caracterizó y utilizó en los experimentos de bioadsorción.

Concentración del bioadsorbente

La concentración de BPT se determinó aplicando el método analítico sugerido por Standar Methods (2540 Solids, 2017) para sólidos suspendidos totales (SST), por medición gravimétrica hasta un peso seco constante de la masa celular. Para ello, 40 ml de concentrado celular fue pipeteado y filtrado al vacío (papel de filtro de acetato de celulosa de 0.45 μm); el sólido retenido fue secado a 103-105 °C por dos horas (en estufa); en seguida se hicieron las mediciones y cálculos referentes al peso seco. En este estudio se evaluó la concentración de bacteria en valores comprendidos entre 1 y 5 mg/l.

Preparación de soluciones de Co(II) y Mn(II)



Se prepararon soluciones patrones de cada metal, a la concentración de 500 mg/l, usando agua desionizada y sales de Co(II) y Mn(II), (CoCl₂·6H₂O con 98 % de pureza y MnSO₄·H₂O al 98.01 % de pureza). Mediante diluciones sucesivas se obtuvieron soluciones de ambos metales entre 50 y 120 mg/l.

Experimentos de bioadsorción

Los experimentos se llevaron a cabo en sistema discontinuo, en una plataforma de rotación horizontal, con frascos Erlenmeyer de 250 ml (conteniendo 50 ml de solución) a 25 °C y 125 rpm para todos los experimentos.

Los parámetros se evaluaron considerando un rango de pH 4-8 para Co(II) y 3-7 para Mn(II); y en ambos metales concentración de bioadsorbente 1-5 mg/l; concentración inicial de metal 50-120 mg/l y tiempo de contacto 10-180 min. Para la evaluación de pH se fijó la concentración de bioadsorbente (1 g/l), concentración de metal (50 mg/l) y tiempo de contacto (180 minutos). Seguidamente se identificó el valor

de pH que permitió alcanzar los más altos valores de remoción y adsorción, fijándose este valor en los siguientes experimentos.

Posteriormente, se evaluó la concentración del bioadsorbente, manteniendo constante el pH, la concentración del metal (50 mg/l) y tiempo de contacto (180 minutos); de forma similar se evaluó la concentración inicial de metal y tiempo de contacto. Es decir, el valor del factor con el que se alcanza el mayor porcentaje de remoción y adsorción del metal, en cada experimento, fue incorporado al siguiente.

Al final de cada experimento, la solución fue centrifugada y enviada para análisis por espectrofotometría de absorción atómica por llama (EAA, Modelo 1100DD, Perkin Elmer), estos análisis se hicieron en el laboratorio de análisis químico del Departamento de Química de la Pontificia Universidad Católica de Río de Janeiro.

El porcentaje de remoción (%R) y adsorción de cada metal (q , mg/l), fue calculado según las ecuaciones (1) y (2) (Quiton *et al.*, 2018):

$$\%R = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \quad (1)$$

$$q = \frac{(C_i - C_f)V}{M} \quad (2)$$

Donde C_i es la concentración inicial del metal en solución (mg/l); C_f , la concentración final del metal en solución (mg/l); V , el volumen de la solución (l), y M es la masa del bioadsorbente (g).

Análisis estadísticos

En este estudio se propone el uso de modelamiento por ecuaciones estructurales (MES) mediante el Amos v.25, a fin de determinar el efecto de los parámetros estudiados o parámetros de entrada (pH, concentración de bioadsorbente, concentración inicial del metal y tiempo de contacto) sobre la remoción y adsorción de los iones metálicos (o parámetros de salida), considerando el valor de significancia $p < 0.05$. El uso de MES ha sido aplicado extensamente en ecología (Grace *et al.*, 2012), y modela interrelaciones causa-efecto, así como la inclusión de las dependencias entre los parámetros (Angelini, Heuvelink, & Kempen, 2017).

Caracterización de la superficie de *R. opacus*



La caracterización de la bacteria, así como del proceso de bioadsorción fue realizada mediante microscopia electrónica de barrido, equipado con sistema para espectroscopia de energía dispersiva (EDS) en un microscopio Carl Zeiss-DSM 960; de igual forma, por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (espectrofotómetro Nicolet 6700 FTIR) para identificar los grupos funcionales responsables de la bioadsorción para cada metal. Las medidas de carga eléctrica superficial del *R. opacus* o PZ se realizaron en el equipo Zeta Meter System 4.0. La biomasa bacteriana pretratada (BPT) fue usada como control en el proceso de caracterización.

Resultados

Bioadsorción



En la Figura 1 se presenta la influencia de los parámetros evaluados en el proceso de bioadsorción de los metales por la bacteria inactivada y pretratada. En la Figura 1a se muestra que la bioadsorción de Co(II) aumentó con el incremento del pH de la solución. Este incremento se corresponde con una pendiente ascendente hasta un valor de pH 7, donde la biomasa logró los máximos valores de remoción (59 %) y adsorción de este metal (29.5 mg/g). En el caso del Mn(II), se observó un comportamiento similar, pero hasta pH 5.0, donde se alcanzó el 32.2 % de remoción y 3.8 mg/g de adsorción. A partir de este valor se produjo un marcado cambio de pendiente que evidenció una disminución en la capacidad de captura de Mn(II) por la bacteria.

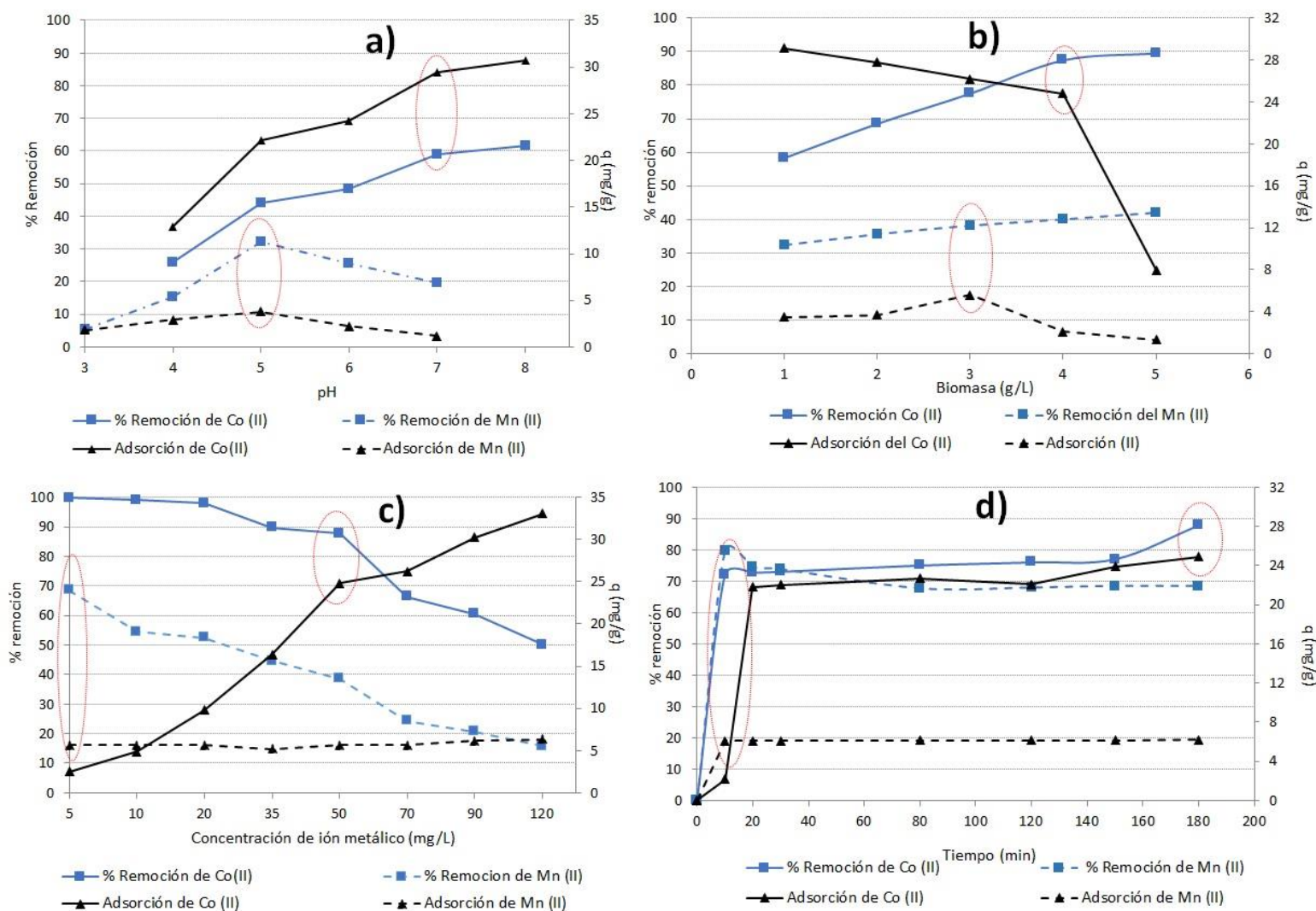


Figura 1. Influencia de los parámetros en la bioadsorción de Co(II) y Mn(II) por *R. opacus* inactivado y pretratado: a) pH; b) concentración bacteriana; c) concentración inicial de metal; d) tiempo de contacto bacteria-metal.

La Figura 1 también muestra la remoción y adsorción de Co(II) y Mn(II) en función de la concentración del bioadsorbente. Respecto al Co(II) en la Figura 1b, se observa una remoción de 87.4 % y adsorción de 24.8 mg/g para una concentración de biomasa de 4 g/l, que es el punto donde cambia la pendiente de la remoción y adsorción. Un comportamiento similar es observado para el Mn(II), cuando la concentración de bioadsorbente es 3 g/l, alcanzando una remoción de 38.2 % y adsorción de 5.6 mg/g; luego se produce un notable decaimiento de la adsorción, similar a lo observado para el Co(II).

La Figura 1c muestra el comportamiento de la remoción y adsorción en función de la concentración inicial de cada metal. El incremento de la concentración inicial del metal genera la disminución de la remoción de los mismos. Respecto a la adsorción del Co(II), se observa un incremento de este metal con el incremento de C_i , y ningún efecto de la C_i en la adsorción de Mn(II). Los máximos valores de remoción y adsorción fueron de 99.8 % y de 33.1 mg/g para el Co(II), y 68.5 % y 5.33 mg/g para Mn(II), respectivamente.

De acuerdo con la Figura 1d, una rápida remoción de Co(II) y Mn(II) de más del 60 % se observa en los primeros 10 minutos. El valor máximo de remoción de 79.9 % para el Mn(II) se alcanzó en este tiempo. Sin embargo, se necesitaron 180 minutos de tiempo de contacto para la

máxima remoción de Co(II). En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos en este estudio y en la literatura respecto a ambos metales, donde destacan los altos valores de adsorción obtenidos.

Tabla 1. Eficiencia de remoción (%R) y adsorción (q) del Co(II) y Mn(II) reportados en la literatura.

Bioadsorbente	Metal	q (mg/g)	% R	Condiciones de operación	Referencia
<i>R. opacus</i>	Ca (II) Fe (II) Al (II) Mg (II) Mn(II) Zn (II)	48.2	11.7	pH = 2.6; temperatura = 25 ° C, biomasa = 1 g/l	Silvas <i>et al.</i> (2011)
*SPE de <i>R. opacus</i>	Co(II)	88.3	100	pH = 3-4; Ci (II) = 150-200 mg /l; biomasa = 300 mg/l; temperatura = 25 °C; 120 rpm; tiempo	Dobrowolski, <i>et al.</i> (2017)
SPE de <i>R. opacus</i>			50		

				de contacto = 30 min	
Bacteria magnetotáctica	Mn(II)	-	15.26	Inducción del campo magnético; temperatura (18 ± 0.1 °C) y pH (6.87 ± 0,01); tiempo de contacto = 3-5 min	Díaz- Alarcón, Alfonso- Pérez, Vergara- Gómez, Díaz-Lagos y Martínez- Ovalle (2019)
<i>Bacillus cereus</i> I6	Pb (II) + Mn(II)	19.9	56,3	pH = 7; Mn(II) + Pb (II) = 50 mg/l; biomasa = 0.3-1.5 mg/l	Hasan <i>et al.</i> (2016)
<i>Ralstonia</i> <i>pickettii</i>	Mn(II)	-	46.02	pH = 6; Ci = 400 mg/l; tiempo de contacto = 72 h; temperatura = 40 °C	Huang <i>et al.</i> (2018)
<i>Geobacillus</i> <i>thermantarcticus</i>	Co(II)	11.95	43.6	pH = 5 para Co(II) y 6 para	Özdemir, Kılınc, Poli y

<i>Anoxybacillus amylolyticus</i>	Co(II)	8.83	35.1	Mn(II); Ci = 50 mg/l; tiempo de contacto = 60 min; biomasa = 50 mg; temperatura de contacto = 60 °C; 120 rpm	Nicolaus (2013)
<i>Geobacillus thermantarcticus</i>	Mn(II)	22.44	65.1		
<i>Anoxybacillus amylolyticus</i>	Mn(II)	9.36	36.6		
<i>R. opacus</i>	Co(II)	24.9	87.8	pH = ; biomasa = 4 mg/l; Ci = 50 mg/l; tiempo de contacto = 180 min	Presente estudio
	Mn(II)	6.1	79.9	pH = 5; biomasa = 3 mg/l; Ci = 5 mg/l; tiempo de contacto = 10 min	

*SPE = sustancia polimérica extracelular.

Análisis estadístico

Los resultados de los efectos de los diversos parámetros analizados sobre la remoción y adsorción se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Estimaciones estandarizadas del efecto de los diversos parámetros en el proceso de bioadsorción en función de la remoción (%R) y adsorción (q).

Metal	*I	**S	β	Sig
Co	pH	%R	0.267	0.06
		q	0.164	0.259
	Concentración de biomasa	%R	0.32	0.022
		q	-0.747	0.000
	Concentración de metal	%R	-0.252	0.077
		q	0.263	0.064
	Tiempo de contacto	%R	0.226	0.115
		q	0.395	0.004

Mn	pH	%R	0.073	0.628
		q	0.264	0.069
	Concentración de biomasa	%R	0.315	0.028
		q	-0.564	0.180
	Concentración de metal	%R	-0.442	0.001
		q	0.685	0.195
	Tiempo de contacto	%R	-0.14	0.348
		q	0.525	0.000

*I = parámetro de ingreso; **S = parámetro de salida.

Caracterización del *R. opacus* antes y después de la adsorción

Potencial zeta (PZ)



La medida del PZ brinda información referente a la carga superficial del *R. opacus* en solución a diferentes valores de pH. Los resultados antes y después de la bioadsorción se presentan en la Figura 2. Se observan incrementos de la negatividad de la carga superficial de las muestras evaluadas con el incremento del pH ($\text{pH} > 3$).

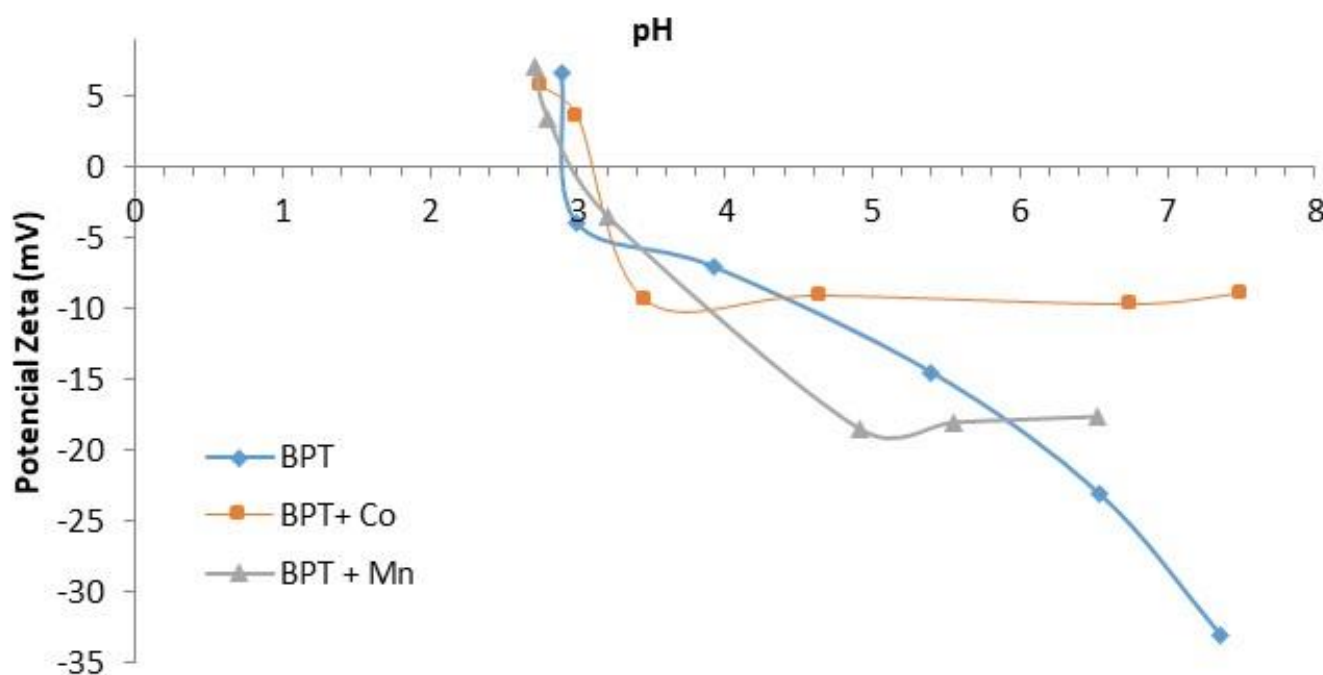


Figura 2. Variación del potencial zeta de la bacteria pretratada antes y después del contacto con los metales (BPT, BPT + Co y BPT + Mn); concentración de NaCl 0.001M y 0.2 g/l de bioadsorbente.

Análisis de MEB-EDS

En la Figura 3 (a-c) se presentan las micrografías (MEB), así como el análisis de microcomposición de los elementos de la bacteria en forma de espectro EDS antes y después del contacto con Co(II) y Mn(II). Las micrografías no indican alteraciones en la morfología de las células bacterianas, mientras que los espectros del EDS confirma la bioadsorción de los metales evaluados (Figura 3b y Figura 3c).

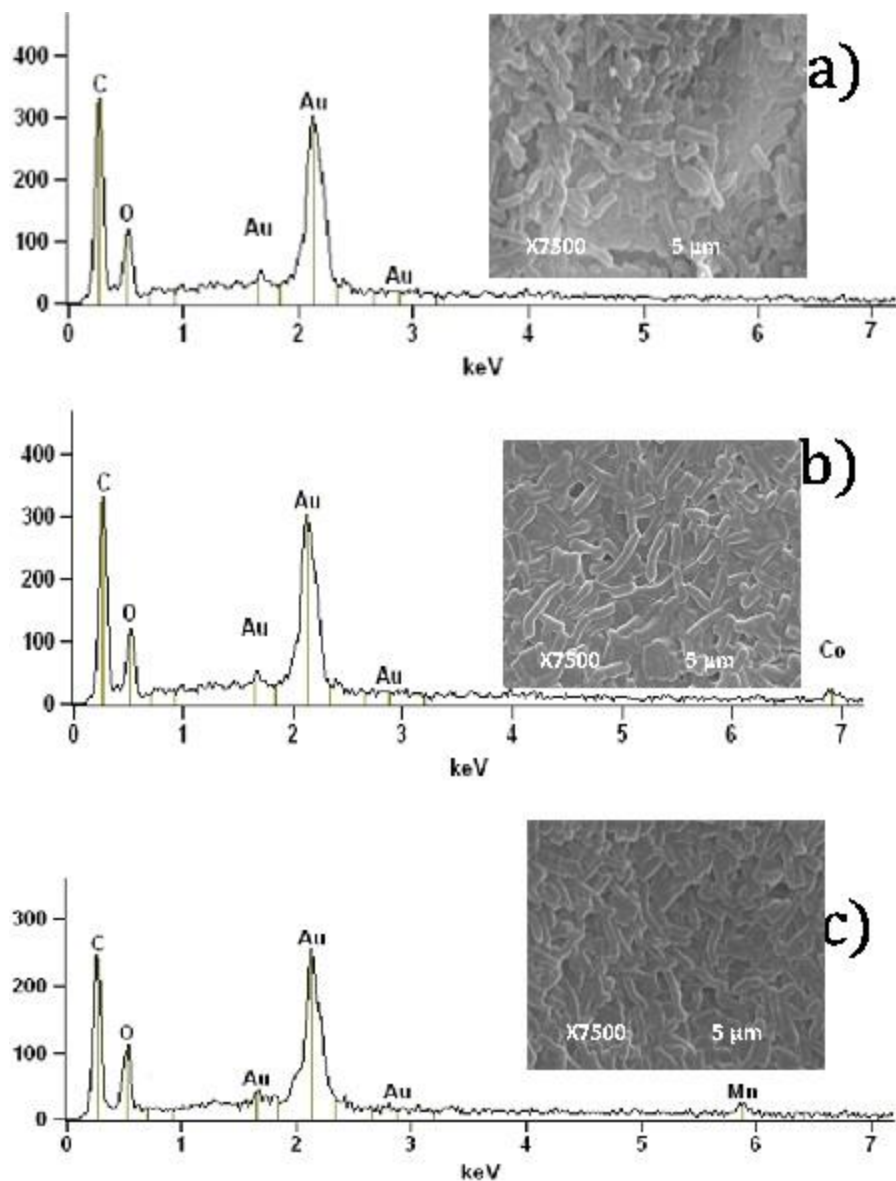


Figura 3. Análisis MEB-EDA (espectros) del *R. opacus* antes y después de la bioadsorción: a) biomasa pretratada (BPT); b) BPT después de

contacto con cobalto (BPT + Co); c) BPT después de contacto con manganeso (BPT + Mn).

Caracterización con FTIR

Se analizó la biomasa sin pretratamiento (BSPT), con pretratamiento (BPT), y después del contacto con los metales con los metales (BPT+Co y BPT+Mn). Los resultados se presentan en la Figura 4, donde se observan diferencias en las intensidades de las bandas de absorción entre BSPT, BPT, BPT + Mn y BPT + Co; indicando cambios en la composición química de las células inactivas por el pretratamiento y por la bioadsorción. Las mayores diferencias en la intensidad de bandas se observan en BPT-Co.

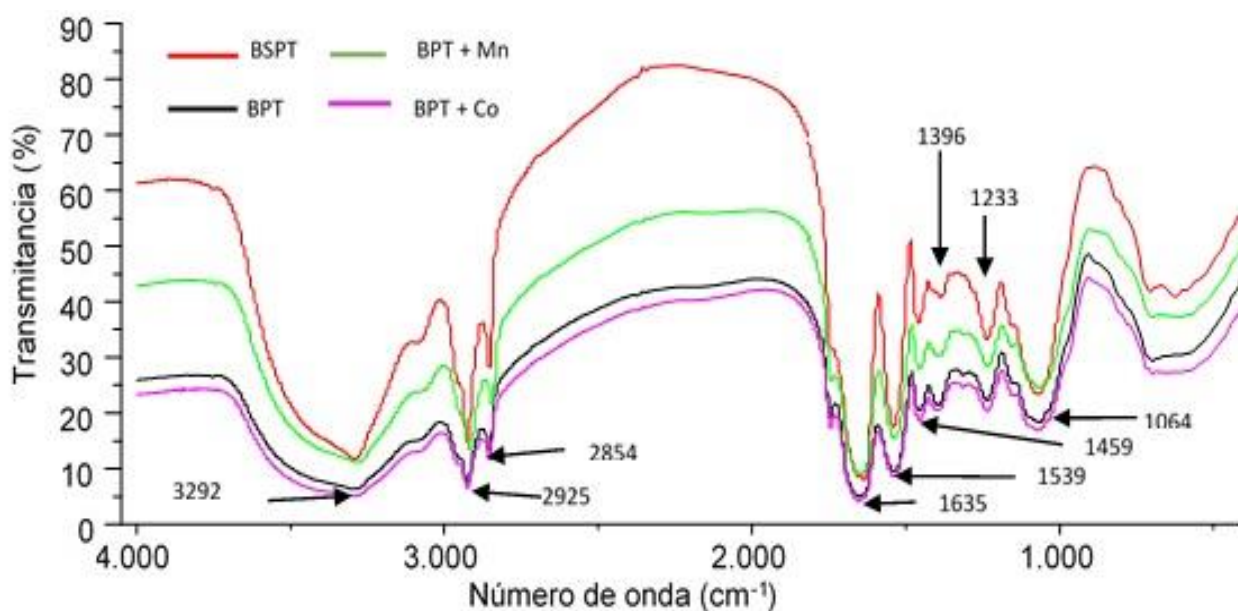


Figura 4. Análisis FTIR del bioadsorbente en las etapas de control y después del contacto con Mn(II) y Co(II).

Discusión

Influencia de pH

El pH tiene una fuerte influencia en las características químicas de soluciones conteniendo metales, además afecta la actividad de los grupos funcionales presentes en la pared celular, así como la competición de los iones metálicos por los sitios activos presentes en el bioadsorbente (Zhenggang *et al.*, 2018). Las menores remociones de Co(II) observadas a bajos valores de pH se pueden atribuir a la competencia del H⁺ y los iones metálicos por los sitios activos de la bacteria.

Por otro lado, las altas remociones obtenidas a pH ≥ 8 son atribuidas a la formación de complejos de Co(II) y su posterior precipitación. Considerar estos valores pondría inducir a errores de precisión en los cálculos de remoción por adsorción (Yüzer, Kara, Sabah, & Çelik, 2008; Negm, El-Sheikh, El-Faragy, Hefni, & Bekhit, 2015; Djoudi, Le-Page-Mostefa, & Muhr, 2019). Los mayores enlaces del ion Co(II) se efectúan a valores de pH cercanos a la neutralidad por la afinidad a los grupos carboxílicos (Mack, Wilhelmi, Duncan, & Burgess 2007), entre otros. Máximas remociones de Co(II) a pH 7 han sido reportadas por Tajer-Mohammad-Ghazvini *et al.* (2016), quienes alcanzaron un valor de remoción de 88.55 % con la bacteria *Alphaproteobacterium*, MTB-KTN90, (bacteria gramnegativa cultivada en medio líquido modificado).

Asimismo, Dharanguttikar (2018) reportó una máxima remoción de 43.5 % utilizando *Pseudomonas aeruginosa* (bacteria gramnegativa) a este mismo valor de pH. Sin embargo, Özdemir, Kılınç, Poli y Nicolaus (2013) observaron valores máximos de remoción de Co(II) de 43.6 y 35.1 % con *Geobacillus thermantarcticus* y *Anoxybacillus amylolyticus* (bacterias grampositivas) a pH 5.

Los bajos valores de remoción y de adsorción de Mn(II), a pesar de la alta electronegatividad de la BPT+Mn(II) reportada en la Figura 2, puede indicar que la atracción electrostática no es el principal mecanismo en la adsorción de este metal. Asimismo, la alta solubilidad de Mn(II), podría causar la desorción de iones previamente adheridos a la pared celular (Silva, Rodríguez, Gómez, & Cantero, 2009). Una remoción de 41.1 % de Mn(II) a valores de pH 6 fue reportado por Huang *et al.* (2018).

Las diferencias reportadas en la bibliografía respecto al valor de pH y la máxima remoción de los metales evaluados se debe a las distintas composiciones de la pared celular, medio de cultivo, pretratamiento del bioadsorbente y afinidad bacteria-metal.

Influencia de la concentración de biomasa



El incremento de la dosis microbiana inactiva en el sistema genera un aumento de sitios activos, disponibles para adsorber una mayor cantidad del metal disuelto, incrementando el porcentaje de remoción. Asimismo, este incremento de masa reduce la adsorción del metal que resulta ser una propiedad intensiva (mg de metal captado/ gramo de biomasa). La Tabla 2 confirma un comportamiento opuesto entre la remoción y la adsorción en ambos metales, expresados en el factor β ; así, el signo positivo de β para la remoción se contrapone con el signo negativo del factor de adsorción, confirmando su efecto ($p < 0.05$).

Estudios anteriores reportan la existencia de un margen, en que el exceso de células bacterianas puede formar agregados inhibiendo la adsorción efectiva del metal en la pared celular (Colagar, Azizi, & Hafeziyan, 2011; Esmaeili & Beni, 2015), esto explica el cambio de pendiente observados en la Figura 1b para la remoción de Co(II) y Mn(II).

Máximos valores de adsorción de Co(II) fueron obtenidas con 80 g/l de biomasa de *Oscillatoria* sp. (Colagar *et al.*, 2011). Asimismo, Özdemir *et al.* (2013) reportaron remociones de 43.6 % de Co(II) y 65.16 % de Mn(II) con *Geobacillus thermantarcticus*. Los mismos autores alcanzaron valores de remoción 35.1 % de Co(II) y 36.6 % del Mn(II), con 50 mg de biomasa seca de *Anoxybacillus amylolyticus*.

En este estudio se fijó y estableció como mejor concentración de biomasa valores de 4 y 3 mg/l para Co(II) y Mn(II), respectivamente, por presentar la mejor relación remoción y adsorción para estos metales.

Influencia de la concentración inicial de los metales (Ci)

La disminución de la remoción para ambos metales, con el incremento de la C_i , se puede explicar por la escasez de sitios activos libres en el adsorbente; mientras que el incremento en la adsorción se debería a la difusión interparticular del ion metálico al interior del bioadsorbente y/o el enlace de los iones con los biopolímeros liberados por el daño celular (Mathivanan, Rajaram, & Annadurai, 2018).

Considerando que las mayores eficiencias se obtienen a bajas concentraciones de metales, la bioadsorción podría aplicarse en etapas finales del tratamiento de efluentes conteniendo Co(II) o Mn(II). En este estudio se fijaron los valores C_i de 50 y 5 mg/l para Co(II) y Mn(II), con la mejor relación de remoción y adsorción de estos metales para posteriores experimentos.

Influencia del tiempo de contacto

Se ha reportado más de una etapa en la transferencia de iones hacia los sitios de enlace (Özdemir *et al.*, 2013). En la Figura 1d se observan dos fases en la remoción de Co(II). La fase inicial, donde ocurre una rápida adsorción, involucra mecanismos de una adsorción física o intercambio iónico; la fase posterior de adsorción lenta podría involucrar formación de complejos, micro precipitación o saturación de sitios activos (Esmaeili & Beni, 2015).

Díaz-Alarcón, Alfonso-Pérez, Vergara-Gómez, Díaz-Lagos y Martínez-Ovalle (2019) alcanzaron una máxima remoción de Mn(II) de 15.26 % aplicando una bacteria magnetotáctica con tiempos de contacto entre 3 y 5 minutos. Mientras que Özdemir *et al.* (2013) reportaron un mayor tiempo, de 120 minutos, para lograr una adsorción máxima de Co(II) y Mn(II) con la bacteria inactiva *Anoxybacillus amylolyticus*.

Según los resultados, los mejores valores de remoción y adsorción de Co(II) y Mn(II) fueron alcanzados en 180 y 10 minutos de tiempo de contacto.

Análisis estadístico

Los valores presentados en la Tabla 2 nos permiten identificar la significancia estadística del efecto de los parámetros evaluados (parámetros de entrada, E) sobre la remoción y adsorción (parámetros de salida, S), además nos indican si este efecto es positivo (β) o negativo ($-\beta$).

El pH tiene un efecto positivo (β positivo), pero no significativo ($p > 0.05$) en la remoción y adsorción de ambos metales; este efecto positivo también se evidencia en la Figura 1a para el Co(II) y Mn(II) (hasta pH 5). Asimismo, la concentración de *R. opacus* tiene un efecto positivo y significativo en el porcentaje de remoción para ambos metales; mientras que un efecto negativo y significativo en la adsorción de Co(II).

Los efectos de la concentración de la bacteria sobre ambos parámetros se confirman en la Figura 1b. Respecto a Ci, se observa un efecto negativo en la remoción y positivo en la adsorción; sin embargo, la significancia estadística del efecto es sólo para la remoción de Mn(II). El efecto negativo de la Ci en la remoción de ambos metales se confirma

en la Figura 1c. El tiempo de contacto del bioadsorbente-metal afecta de modo significativo a la adsorción y no a la remoción. El efecto no significativo del tiempo de contacto en la remoción también se evidencia en la Figura 1d.

Pocos estudios reportan un análisis estadístico de la adsorción de metales pesados aplicando microorganismos inactivos. Sin embargo, destaca lo reportado por Yuan *et al.* (2019), quienes evaluaron el efecto del tiempo de contacto, pH y concentración inicial de metal en la adsorción de Cd con *Shewanella putrefaciens*: todos los parámetros evaluados presentaron significancia estadística en la remoción de este metal. Asimismo, Hu *et al.* (2020) evaluaron los efectos de tiempo de contacto, pH y temperatura de la adsorción de Pb con *Rhodococcus* sp.; se determinó que solamente la concentración de adsorbente es el parámetro estadísticamente significativo en el proceso.

Estas diferencias observadas en los diversos estudios se relacionan con las distintas características del microorganismo y afinidad del metal evaluado.

Caracterización del *R. opacus*



La variación del PZ de las muestras evaluadas (presentada en Figura 2) es coherente si suponemos una atracción electrostática entre los cationes metálicos y la superficie bacteriana. En la Figura 2 se observa que la bioadsorción de Co(II) y Mn(II) altera el comportamiento de la curva de PZ de la BPT. Asimismo, es notorio un leve desplazamiento del punto isoeléctrico (PIE) con un pH inicial de 2.95 hacia valores de pH mayores de 3.15 para la bioadsorción de Co(II) y mayores de 3.0 para el Mn(II).

Según la literatura, la adsorción afecta tanto a los grupos funcionales enlazados al metal como a la carga eléctrica del bioadsorbente; mientras que el incremento de pH se relaciona con el aumento de la carga negativa de la superficie microbiana (Prithviraj *et al.*, 2014).

La reducción de la carga superficial negativa, principalmente después de la bioadsorción de Co(II) y levemente en caso del Mn(II), indicaría una mayor interacción de los iones Co(II) con la bacteria; además, según lo observado, los cationes presentes en la solución no anulan totalmente la carga bacteriana, es decir, no todos los sitios activos de la bacteria fueron ocupados.

Luego de la bioadsorción de Co(II) y Mn(II) se produjeron valores de PZ casi constantes (~ -9.5 mV) a valores de pH superiores a 3.5 para BPT + Co; mientras que valores superiores de pH 4.9 generó valores de carga próximos a -18.0 mV para BPT + Mn. Este comportamiento sugiere que

la atracción electrostática y adhesión química son los principales mecanismos del proceso de bioadsorción.

La carga negativa predominante en la superficie bacteriana se atribuye a la presencia de grupos funcionales, a la desprotonación de los mismos, al aumento del pH y al pretratamiento realizado a la bacteria. En este último caso, se verificó que la BPT mejora la bioadsorción de metales pesados debido a la eliminación de lípidos y proteínas que obstruyen los sitios activos de la pared bacteriana (Abdoun-Ouallouche, Djefal-Kerrar, Amrani, & Zerrouki, 2014).

Según los resultados del análisis MEB-EDS, en la Figura 3 (a-c), el pretratamiento realizado a la bacteria, así como la posterior bioadsorción, no alteran la morfología de la misma. El C y O presentes en el EDS son elementos representativos de células bacterianas (Rahman, Thomas, & Singh, 2019). Estos elementos forman parte de las proteínas y carbohidratos presentes en el *R. opacus*; mientras que la presencia de oro detectado es propia del método aplicado en la preparación de la muestra para el análisis MEB/EDS, tal como lo indicado por Rahman, Thomas y Singh (2019). Las Figuras 3b y 3c confirman la adsorción de Co(II) y Mn(II) sobre la superficie bacteriana.

Respecto a la caracterización mediante FTIR, la Figura 4 muestra los espectros del microorganismo antes y después de la bioadsorción. En el caso de la BPT + Co no se observaron alteraciones en las distribuciones

de los picos de absorción, lo cual indica que los enlaces bacteria-metal no son de naturaleza covalente (Ferraz, 2007). Respecto al BPT + Mn, las intensidades fueron ligeramente mayores a la BPT, sin mostrar alteraciones en las bandas de absorción, confirmando la interacción de los grupos funcionales con los cationes metálicos (Dmytryk, Saeid, & Chojnacka, 2014).

La presencia de bandas de absorción en la región próximas a $3\,292\text{ cm}^{-1}$ es característica del grupo hidroxilo ($-OH$). Asimismo, la región próxima a $2\,925$ y $2\,854\text{ cm}^{-1}$ demuestra la presencia de grupos $C-H$, especialmente grupos alquilos ($2\,925\text{ cm}^{-1}$) y aldehídos ($2\,854\text{ cm}^{-1}$) resultantes de las proteínas o carbohidratos provenientes de las paredes celulares (Li, Yang, Zhao, & Xu, 2007). Las amidas I y II (p. ej., $O=C-N-H$) son detectadas en las regiones cercanas a $1\,635$ y $1\,539\text{ cm}^{-1}$ respectivamente. La banda $1\,459$ se relacionan con los grupos $C-N$, y los picos cercanos a $1\,064\text{ cm}^{-1}$ pueden corresponder a enlaces del tipo $C-O$ (alcoholes primarios), así como a enlaces $C-N$ (aminas). Asimismo, los grupos carboxílicos son detectados cerca de $1\,396\text{ cm}^{-1}$ y los grupos fosfatos cerca de $1\,233\text{ cm}^{-1}$ como azúcares (Huang *et al.*, 2018).

Las muestras del bioadsorbente después del pretratamiento presentan bandas de absorción, más definidas, características de grupos carboxílicos ($1\,396\text{ cm}^{-1}$). Esta variación se debe a la incorporación de $OH-$ en el bioadsorbente y/o surgimiento de grupos funcionales que potencializan la adsorción de la bacteria.

Conclusiones

La aplicación de la bacteria inactiva *R. opacus* resulta un material adsorbente eficiente en la remoción de metales Co(II) y Mn(II). El incremento de pH y la concentración de la bacteria se relacionan con los incrementos en los porcentajes de remoción de ambos metales; mientras que los incrementos de la concentración inicial del metal tienen un efecto contrario respecto a la remoción. Respecto a la adsorción, los parámetros que tienen un efecto estadísticamente significativo son el tiempo de contacto, para ambos metales, y concentración del *R. opacus* para el Co(II).

Se caracterizó y confirmó la adsorción de los iones metálicos sobre la superficie bacteriana mediante análisis de MEB-EDS, PZ y FTIR.

Son necesarios estudios cinéticos y termodinámicos para conocer con mayor profundidad los mecanismos involucrados en la bioadsorción.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al Consejo Nacional de Investigación de Brasil (CNPq) y a la Fundación de Investigación del Estado de Río de Janeiro (FAPERJ) por el apoyo brindado. A los docentes y amigos de la PUC-Río y Universidad César Vallejo, campus San Juan de Lurigancho, por los aportes estadísticos, especialmente al profesor Antonio Serpa Barrientos.

Referencias

- 2540 Solids. (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (23rd ed.). DOI: 10.2105/SMWW.2882.030. Recuperado de <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.030>
- Abbas, M., Kaddour, S., & Trari, M. (2014). Kinetic and equilibrium studies of cobalt adsorption on apricot stone activated carbon. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(3), 745-751. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.06.030>
- Abdoun-Ouallouche, K., Djefal-Kerrar, A., Amrani, S., & Zerrouki, S. (2014). Removal of lead and mercury from aqueous solutions by pretreated *Rhizopus stolonifer* biomass. *IPCBEE*, 65 (1), 1-6.
- Anagnostopoulou, V. A., Vlachou, A., & Symeopoulos, B. D. (2015). Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* on low-cost

lignocellulosic substrate for the removal of Cd²⁺ from aquatic systems. *Journal of Environment and Biotechnology Research*, 1(1), 23-29.

Angelini, M. E., Heuvelink, G. B., & Kempen, B. (2017). Multivariate mapping of soil with structural equation modelling. *European Journal of Soil Science*, 68, 575-591. Recuperado de <https://doi.org/10.1111/ejss.12446>

Arivalagan, P., Singaraj, D., Haridass, V., & Kaliannan, T. (2014). Removal of cadmium from aqueous solution by batch studies using *Bacillus cereus*. *Ecological Engineering*, 71, 728-735. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.08.005>

Bankar, A., & Nagaraja, G. (2018). Chapter 18. Recent trends in biosorption of heavy metals by actinobacteria. In: *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 257-275). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.

Barquilha, C. E., Cossich, E. S., Tavares, C. R., & Silva, E. A. (2019). Biosorption of nickel (II) and copper (II) ions by *Sargassum* sp. in nature and alginate extraction products. *Bioresource Technology Reports*, 5, 43-50. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.11.011>

Barrio-Parra, F., Elío, J. E., De-Miguel, J., García-González, E., Izquierdo, M., & Álvarez, R. (2017). Environmental risk assessment of cobalt

and manganese from industrial sources in an estuarine system. *Environmental Geochemistry and Health*, 40(2), 737-748. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s10653-017-0020-9>

Bundschuh, J., Litter, M., Parvez, F., Román-Ross, G., Nicolli, H., Jean, J-S., Lui, C-W., López, D., Armienta, M. A., Guilherme, L. R. G., Cuevas, A. G., Cornejo, L., Cumbal, L., & Toujaguez, R. (2012). One century of arsenic exposure in Latin America: A review of history and occurrence from 14 countries. *Science of the total Environment*. 429, 2-35. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.06.024>

Cayllahua, J., & Torem, M. L. (2010). Biosorption of aluminum ions onto *Rhodococcus opacus* from wastewaters. *Chemical Engineering Journal*, 161(1-2), 1-8. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.03.025>

Colagar, A. H., Azizi, N. S., & Hafeziyan, S. M. (2011). Biosorption of cobalt from aqueous solutions by wet and dried biomass of *Oscillatoria* sp. *Journal of Chemical Engineering of Japan*. ID: 11we228. Recuperado de <https://doi.org/10.1252/jcej.11we228>

Costas, F. T., & Tavares, T. (2016). Biosorption of nickel and cadmium in the presence of diethyl ketone by a *Streptococcus equisimilis* biofilm supported on vermiculite. *International Biodeterioration &*

- Biodegradation*, 115, 119-132. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.08.004>
- Dharanguttikar, A. (2018). *Biosorption of cobalt by using pseudomonas Aeruginosa bacterial strain* (Master These). University of South of Florida, USA.
- Díaz-Alarcón, J. A., Alfonso-Pérez, M. P., Vergara-Gómez, I., Díaz-Lagos, M., & Martínez-Ovalle, S. A. (2019). Removal of iron and manganese in groundwater through magnetotactic bacteria. *Journal of Environmental Management*, 249, 109381. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109381>
- Djoudi, N., Le-Page-Mostefa, M., & Muhr, H. (2019). Precipitation of cobalt salts for recovery in leachates. *Chemical Engineering & Technology*, 42, 1492-1499. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/ceat.201800696>
- Dmytryk A., Saeid, A., & Chojnacka, K. (2014). Biosorption of microelements by spirulina: Towards technology of mineral feed supplements. *The Scientific World Journal*, 2014, ID 356328. Recuperado de <https://doi.org/10.1155/2014/356328>
- Dobrowolski, R., Szcześ, A., Czemińska, M., & Jarosz-Wikołazka, A. (2017). Studies of cadmium (II), lead (II), nickel (II), cobalt (II) and chromium (VI) sorption on extracellular polymeric substances produced by *Rhodococcus opacus* and *Rhodococcus rhodochrous*.

- Bioresource Technology*, 225, 113-120. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.040>
- Escudero, L. B., Quintas, P. Y., Wuilloud, R. G., & Dotto, G. L. (2019). Recent advances on elemental biosorption. *Environmental Chemistry Letters*, 17, 409-417. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0816-6>
- Esmaeili, A., & Beni, A. A. (2015). Biosorption of nickel and cobalt from plant effluent by *Sargassum glaucescens* nanoparticles at new membrane reactor. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(6), 2055-2064. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s13762-014-0744-3>
- Ferraz, A. (2007). *Utilização de sub-produtos da indústria cervejeira na remoção de cromo trivalente de soluções aquosa* (Tese de doutorado). Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Braga, Portugal.
- Grace, J. S., Schoolmaster, D. R., Guntenspergen, G. R., Little, A. M., Mitchell, B. R., Miller, K. M., & Schwiger, E. W. (2012). Guidelines for a graph-theoretic implementation of structural equation modeling. *Ecosphere*, 3(8), 73. Recuperado de <https://doi.org/10.1890/ES12-00048.1>
- Gourdon, R., Bhende, S., Rus, E., & Sofer, S. (1990). Comparison of cadmium biosorption by gram-positive and gram-negative bacteria

- from activated sludge. *Biotechnology Letters*, 12, 839-842. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/BF01022606>
- Guittard, A., Baraer, M., McKenzie, J. M., Mark, B. G., Wigmore, O., Fernandez, A.,... & Young, K. R. (2017). Trace-metal contamination in the glacierized Rio Santa watershed, Peru. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(12), 1-16. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6353-0>
- Hasan, H., Abdullah, S., Kofli, N., & Yeoh, S. (2016). Interaction of environmental factors on simultaneous biosorption of lead and manganese ions by locally isolated *Bacillus cereus*. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 37, 295-305. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.03.038>
- Hu, X., Cao, J., Yang, H., Li, D., Qiao, Y., Zhao, J., Zhang, Z., & Huang, L. (2020). Pb²⁺ biosorption from aqueous solutions by live and dead biosorbents of the hydrocarbon-degrading strain *Rhodococcus* sp. HX-2. *Plos One*, 15(1), e0226557. Recuperado de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226557>
- Huang, H., Zhao, Y., Xu, Z., Ding, Y., Zhang, W., & Wu, L. (2018). Biosorption characteristics of a highly Mn(II)-resistant *Ralstonia pickettii* strain isolated from Mn ore. *Plos One*, 13(8), e0203285. Recuperado de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203285>

- Jacob, J. M., Karthik, C., Saratale, R. G., Kumar, S. S., Prabakar, D., Kadirvelu, K., & Pugazhendhi, A. (2018). Biological approaches to tackle heavy metal pollution: A survey of literature. *Journal of Environmental Management*, 217, 56-70. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.077>
- Jobby, R., Jha, P., Yadav, A., & Desai, N. (2018). Biosorption and biotransformation of hexavalent chromium [Cr(VI)]: A comprehensive review. *Chemosphere*, 207, 255-266. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.050>
- Li, F. T., Yang, H., Zhao, Y., & Xu, R. (2007). Novel modified pectin for heavy metal adsorption. *Chinese Chemical Letters*, 18(3), 325-328. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2007.01.034>
- Mathivanan, K., Rajaram, R., & Annadurai, G. (2018). Biosorption potential of *Lysinibacillus fusiformis* KMNTT-10 biomass in removing lead (II) from aqueous solutions. *Separation Science and Technology*, 53(13), 1991-2003. Recuperado de <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1442863>
- Mack, C., Wilhelmi, B., Duncan, J. R., & Burgess, J. E. (2007). Biosorption of precious metals. *Biotechnology Advances*, 25(3), 264-271. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.01.003>
- Minagri, Ministerio de Agricultura e Irrigación. (2013). *Plan Nacional de Recursos Hídricos del Perú. Memoria 2013*. Lima, Perú: Ministerio de

Agricultura e Irrigación. Recuperado de
<http://repositorio.ana.gob.pe/handle/20.500.12543/224>

Nascimento-Do, J. M., De-Oliveira, J. D., Rizzo, A. C., & Leite, S. G. (2019). Biosorption Cu (II) by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology Reports*, 21, e00315. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00315>

Negm, N., El-Sheikh, R., El-Farargy, A., Hefni, H., & Bekhit, M. (2015). Treatment of industrial wastewater containing copper and cobalt ions using modified chitosan. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 21, 526-534. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.03.015>

OECD, Organization for Economic Cooperation and Development, OECD/ECLAC. (2017). *OECD Environmental Performance Reviews: Peru 2017, OECD Environmental Performance Reviews*. Paris, France: OECD Publishing, Organization for Economic Cooperation and Development, OECD/ECLAC.

Özdemir, S., Kılınç, E., Poli, A., & Nicolaus, B. (2013). Biosorption of Heavy Metals (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , and Mn^{2+}) by *Thermophilic bacteria*, *Geobacillus thermantarcticus* and *Anoxybacillus amylolyticus*: Equilibrium and kinetic studies. *Bioremediation Journal*, 17(2), 86-96. Recuperado de <https://doi.org/10.1080/10889868.2012.751961>

- Prithviraj, D., Deboleena, K., Neelu, N., Noor, N., Aminur, R., Balasaheb, K., & Abul, M. (2014). Biosorption of nickel by *Lysinibacillus* sp. BA2 native to bauxite mine. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 260-268. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.06.009>
- Quiton, K. G., Doma, B., Futralan, C. M., & Wan, M. W. (2018). Removal of chromium(VI) and zinc(II) from aqueous solution using kaolin-supported bacterial biofilms of Gram-negative *E. coli* and Gram-positive *Staphylococcus epidermidis*. *Sustainable Environment Research*, 28(5), 206-213. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.serj.2018.04.002>
- Rahman, Z., Thomas, L., & Singh, V. P. (2019). Biosorption of heavy metals by a lead (Pb) resistant bacterium, *Staphylococcus hominis* strain AMB-2. *Journal of Basic Microbiology*, 59(5), 477-486. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/jobm.201900024>
- Rose, A., Fabbro, L., & Kinnear, S. (2017). Hydrogeochemistry in a relatively unmodified subtropical catchment: Insights regarding the health and aesthetic risks of manganese. *Journal of Hydrology: Regional Studies*, 13, 152-167. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ejrh.2017.08.008>
- Sedlakova-Kadukova, J., Kpcakova, A., L. Gresakova, L., Godany, A., & Pristas, P. (2019). Bioaccumulation and biosorption of zinc by a novel

- Streptomyces* K11 strain isolated from highly alkaline aluminium brown mud disposal site. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 167, 204-211. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.123>
- Silva, R. M., Rodríguez, A. A., Gómez, J. M., & Cantero, D. (2009). Biosorption of chromium, copper, manganese and zinc by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 isolated from a site contaminated with petroleum. *Bioresource Technology*, 100(4), 1533-1538. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.057>
- Silvas, F. P. C., Buzzi, D. C., Espinosa, D. C. R., & Tenório, J. A. S. (2011). Biossorção de metais presentes na DAM utilizando *Rhodococcus opacus*. *Rem: Revista Escola de Minas*, 64(4), 487-492. Recuperado de <https://doi.org/10.1590/S0370-44672011000500014>
- Tajer-Mohammad-Ghazvini, P., Kasma-Kermanshahi, R., Nozad-Golikand, A., Sadeghizadeh, M., Ghorbanzadeh-Mashkani, S., & Dabbagh, R. (2016). Cobalt separation by *Alphaproteobacterium* MTB-KTN90: Magnetotactic bacteria in bioremediation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(12), 1899-1911. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s00449-016-1664-z>
- Vishan, I., Saha, B., Sivaprakasa, S., & Kalamdhad, A. (2019). Evaluation of Cd (II) biosorption in aqueous solution by using lyophilized biomass of novel bacterial strain *Bacillus badius* AK: Biosorption

kinetics, thermodynamics and mechanism. *Environmental Technology Innovation*, 14, 1000323. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100323>

Volesky, B. (2003). *Sorption and biosorption*. Montreal, Canada: BV Sorbex.

Wang, N., Qiu, Y., Xiao, T., Wang, J., Chen, Y., Xu, X., Kang, Z., Fan, L., & Yu, H. (2019). Comparative studies on Pb (II) biosorption with three spongy microbe-based biosorbents: High performance, selectivity and application. *Journal of Hazardous Materials*, 373, 39-49. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.03.056>

Yuan, W., Cheng, J., Huang, H., Xiong, S., Gao, J., Zhang, J., & Feng, S. (2019). Optimization of cadmium biosorption by *Shewanella putrefaciens* using a Box-Behnken design. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 175, 138-147. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.057>

Yüzer, H., Kara, M., Sabah, E., & Çelik, M. S. (2008). Contribution of cobalt ion precipitation to adsorption in ion exchange dominant systems. *Journal of Hazardous Materials*, 151(1), 33-37. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.052>.

Zhenggang, X., Yi, D., Huimin, H., Liang, W., Yunlin, Z., & Guiyan, Y. (2018). Biosorption characteristics of Mn(II) by *Bacillus cereus* strain HM-5 isolated from soil contaminated by manganese ore. *Polish*

Journal Environmental Studies, 28(1), 463-472. Recuperado de <https://doi.org/10.15244/pjoes/84838>

Ziagova, M., Dimitriadis, G., Aslanidou, D., Papaioannou, X., Litopoulou-Tzannetaki, E., & Liakopoulou-Kyriakides, M. (2007) Comparative study of Cd(II) and Cr(VI) biosorption on *Staphylococcus xylosus* and *Pseudomonas* sp. in single and binary mixtures. *Bioresource Technology*, 98(15), 2859-2865. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.043>