

## CARACTERIZACIÓN DE DOS SORBENTES NATURALES PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR METALES EN AGUAS

M. E. Villanueva-Tagle<sup>a\*</sup>, R. Lombana-Fraguela<sup>a</sup>, J.A. Ricardo-García<sup>a</sup>, Y. Enamorado-Horrutiner<sup>a</sup>, M. Peña-Icart<sup>b</sup>, G. Rodríguez-Fuentes<sup>b</sup>, A. Govín<sup>c</sup>, M. S. Pomares-Alfonso<sup>b</sup>.

<sup>a</sup> Facultad de Química/Universidad de La Habana, Cuba.

<sup>b</sup> Instituto de Ciencias y Tecnología de Materiales/Universidad de La Habana, Cuba.

<sup>c</sup> Facultad de Biología/Universidad de La Habana, Cuba.

\*Corresponding author, E-mail: villa@fq.uh.cu, (53)78784734.

Recibido: Noviembre 2017. Aprobado: Diciembre 2018.

Publicado: Diciembre 2018.

### RESUMEN

Se caracterizan dos materiales naturales: biomasa inactiva del *Aspergillus Niger-O5* y la zeolita natural cubana purificada ZNPmed® (NZ) tipo clinoptilolita, proveniente del yacimiento de Tasajeras, Cuba, tratados con reactivos químicos. La biomasa fue tratada con HCl y con bromuro de cetil trimetil amonio (CTAB), y la NZ con amoníaco y disoluciones de NaCl y NaOH. Los materiales se analizaron antes y después del tratamiento mediante Espectroscopía Infrarroja (IR), Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Difracción de Rayos X (DRX) para evaluar posibles cambios estructurales y morfológicos relacionados con su comportamiento como sorbente. El análisis por MEB de la biomasa sin tratar reveló la presencia de estructuras filamentosas, detectándose cambios evidentes sólo en la biomasa tratada con CTAB. En la zeolita, el MEB demostró que la forma tabular es la más abundante no detectándose cambio en la morfología después del tratamiento. En el análisis por DRX de esta zeolita se observó la aparición de la señal correspondiente a una nueva fase P. Tanto la biomasa como la zeolita aumentaron su capacidad de sorción de Pt(IV), Pb(II), Cd(II) y Ni(II) después de estos tratamientos, lo que demuestra sus potencialidades como buenos sorbentes de estos contaminantes en aguas.

**Palabras claves:** *Aspergillus Niger-O5*, clinoptilolita, MEB, metales traza, DRX.

### CHARACTERIZATION OF TWO NATURAL SORBENTS FOR THE EVALUATION OF METAL CONTAMINATION IN WATER

#### ABSTRACT

Two natural materials were characterized: The inactive biomass *Aspergillus Niger-O5* and the purified Cuban natural zeolite ZNPmed® (NZ), clinoptilolite-type, from the Tajaseras' deposit in Cuba. Both, treated with chemical reagents: the biomass with HCl and *Cetyl trimethyl ammonium* bromide (CTAB), while the NZ was treated with ammoniac, and NaCl and NaOH dissolutions. The materials were analyzed before and after the treatment by Near-Infrared Spectroscopy (NIRS), Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD) to assess likely structural and morphological changes related to its behavior as sorbent. The SEM analysis of the non-treated biomass revealed the presence of thread like structures, showing evident changes only in the biomass treated with CTAB. In the zeolite, the SEM showed that the tabular form is abundant and no change in the morphology after treatment was detected. In the XRD analysis of the zeolite, a signal corresponding to a new phase P was observed. Both, the biomass and the zeolite, increased its sorption capacity for Pt(IV), Pb(II), Cd(II), and Ni(II) after those treatments, which reveals their potential as good sorbents of such contaminants in water.

**Keywords:** *Aspergillus Niger-O5*, clinoptilolite, SEM, trace metals, XRD.

## INTRODUCCIÓN

El control de la calidad del agua es de vital importancia para la salud humana y la contaminación del agua por metales es uno de los problemas ambientales más serios en la actualidad. Se han desarrollado diferentes metodologías y técnicas para la determinación de metales en muestras de agua, entre las que se incluyen la Espectrometría de Absorción Atómica con Llama (EAA), la Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado por Inducción (ICP-AES, por sus siglas en inglés) y la Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado por Inducción (ICP-MS, por sus siglas en inglés). Sin embargo, la determinación directa por estas técnicas a veces se encuentra limitada por las bajas concentraciones en las que se pueden encontrar los metales en las aguas. Por esta razón, se hace necesaria una etapa previa de preconcentración de estos elementos antes de la determinación instrumental. La extracción en fase sólida es uno de los métodos más empleados con estos fines, debido a que ofrece ventajas tales como: altos factores de enriquecimiento, bajo consumo de solventes (ácidos minerales u orgánicos) y permite el desarrollo de metodologías en flujo. Todas estas ventajas disminuyen el tiempo del análisis y los riesgos de contaminación [1]. Diferentes sorbentes naturales han sido estudiados, entre los que se pueden mencionar los biológicos (bacterias, hongos, algas, etc.) y otros inorgánicos como las zeolitas y las arcillas [2]

Entre los materiales biológicos, la biomasa obtenida a partir de los hongos ha tenido una amplia utilización, ya sea viva o muerta [2]. La pared celular de los hongos presenta una estructura microfibrilar que contiene polisacáridos (componentes principales), proteínas, lípidos y pigmentos. Por ello, el conocimiento de la composición de las paredes celulares puede contribuir a una mejor comprensión de los posibles mecanismos de retención de metales en esta biomasa.

Por otro lado, las zeolitas naturales son ampliamente utilizadas como sorbentes de metales debido a sus

propiedades físicas y químicas. En especial, las zeolitas del tipo clinoptilolita han sido usadas para remover metales de aguas [3-11]. Las zeolitas son materiales sólidos y cristalinos formados por una red tridimensional de tetraedros eslabonados entre sí por átomos de oxígeno. En su estructura, encierran cavidades abiertas en forma de canales y cajas ocupadas por moléculas de agua y cationes que poseen libertad de movimiento. La extracción de los metales por las zeolitas puede explicarse por diversos mecanismos, entre los que se pueden mencionar la adsorción y el intercambio iónico [12].

La Espectroscopía Infrarroja (IR) juega un papel importante en la comprensión de estos mecanismos, debido a que puede ser útil para estudiar los cambios químicos generados en la naturaleza de los enlaces entre los grupos funcionales del material sorbente con los metales que se retienen en ellos. Otra técnica que contribuye a elucidar el tipo de mecanismo que ocurre en la superficie del material es la Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), la cual ofrece información topográfica de la superficie.

Algunos autores han utilizado diferentes técnicas de caracterización para el estudio del proceso de biosorción [13-16]. Enamorado y col. emplearon la MEB e IR para el estudio de una biomasa inactiva de *Aspergillus Niger* O-5 previamente sometida a un tratamiento químico con NaOH ( $0,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) para la sorción de Pb(II) [14]. Estos autores encontraron que el NaOH modificó la superficie filamentosa de la biomasa y comprobaron la presencia de quitina en la misma. Otros autores estudiaron la biosorción de Hg en el *Aspergillus Niger* O-5, empleando las técnicas de IR y MEB para explicar los posibles mecanismos de sorción de este metal [15]. Se han encontrado varios trabajos donde aplican técnicas de caracterización, tales como el IR y MEB para evaluar los cambios morfológicos en la biomasa de *Aspergillus*

*Niger* antes y después de ponerse en contacto con diferentes metales [17-29]. Sin embargo, pocos trabajos estudian los cambios que ocurren en la superficie al tratarse la biomasa con diferentes reactivos para aumentar su capacidad de sorción [30-34].

De similar manera ocurre con las zeolitas. Se han encontrado pocos trabajos donde se empleen las técnicas antes mencionadas, así como la Difracción de Rayos X (DRX) para intentar explicar la posible mejora en el incremento de la capacidad de sorción de este material [35-38].

El objetivo del presente trabajo es caracterizar los cambios estructurales que ocurren en dos materiales sorbentes muy diferentes, la biomasa inactiva del *Aspergillus Niger* O-5 y la zeolita natural NZ tipo clinoptilolita, después de ser sometidos a diferentes tratamientos químicos con el fin de mejorar la capacidad de sorción de Pb y Pt en la biomasa y Pb, Ni, Cd en la zeolita con respecto al material sin tratamiento. Esta caracterización contribuirá a una mejor comprensión de los posibles mecanismos de sorción de estos metales tóxicos en ambos materiales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La biomasa del hongo *Aspergillus niger var Thieghem var niger Pitt y Klich cepa O-5 (Aspergillus niger O5)* fue obtenida por primera vez en el Laboratorio de Biotecnología de los Metales de la Facultad de Biología, Universidad de la Habana por Abín y col. [39]. Esta cepa fue aislada como contaminante de un medio selectivo para el crecimiento de bacterias heterótrofas acidófilas (pH 2,5). Actualmente se utiliza en la obtención de ácido cítrico en el laboratorio. La biomasa microbiana se separa del medio de cultivo por filtración y se seca durante 24 h en estufa entre 60 y 80°C. Para el procedimiento de sorción el material se pulverizó previamente en mortero de ágata, se tamizó y se seleccionó una fracción con diámetro de partícula en el intervalo de 1,18 – 0,2 mm. Paralelamente, la biomasa fue tratada con disoluciones de 0,1 mol·L<sup>-1</sup> de

HCl y al 5% m/v de bromuro de cetil trimetil amonio (CTAB). En ambos casos el tratamiento consistió en poner en contacto la biomasa con la disolución del reactivo correspondiente durante 24 h, filtrar y lavar con agua bidestilada hasta que el pH de las aguas de lavado fue neutro. La biomasa tratada se seca en estufa durante 24 horas a una temperatura de 60 – 70°C.

La zeolita natural NZ se obtuvo a partir de un proceso de purificación patentado por Rodríguez-Fuentes y col. [40] y aplicado al mineral zeolítico que se extrae del yacimiento de Tasajeras en Santa Clara, Cuba. Este yacimiento ha sido uno de los más estudiados en nuestro país y su calidad es reconocida internacionalmente [41]. La composición química de la zeolita NZ se reporta en los trabajos de Rodríguez-Fuentes y col. [42-45]. Para el procedimiento de sorción el material se pulverizó en mortero de ágata, se tamizó y se seleccionó la fracción con diámetro de partículas < 0,3 mm, la cual fue sometida a tres tratamientos diferentes con disoluciones de NH<sub>3</sub>, de NaOH y NaCl, todas de concentración 1 mol·L<sup>-1</sup>. La zeolita se pone en contacto con la disolución del reactivo durante 1 hora (excepto 10 min. para el NaOH) con agitación magnética, se filtra por gravedad con papel de filtro, se lava con agua bidestilada y se comprueba que el pH de las aguas de lavado sea neutro. La zeolita tratada se seca en estufa durante 2 horas a una temperatura de 60°C [47].

Los experimentos de sorción se realizaron a temperatura 27 ± 1°C, y con el método estático bajo las condiciones optimizadas en trabajos anteriores [14,48]. La biomasa fue empleada para la sorción de Pb (biomasa tratada con HCl y sin tratar) y Pt (biomasa tratada con CTAB y sin tratar), mientras que la zeolita fue el sorbente para Pb, Ni y Cd. La metodología general empleada fue la siguiente: se pesa una masa del sorbente y se pone en contacto con la disolución del analito a las concentraciones siguientes: Pb - 5 mg·L<sup>-1</sup>, Ni - 2 mg·L<sup>-1</sup>, Cd - 10 mg·L<sup>-1</sup> y Pt - 10 mg·L<sup>-1</sup>, y pH 5 en todos los casos. Se agita y se separan

las fases mediante filtración por gravedad con papel de filtro. Para el estudio del equilibrio las determinaciones finales se hicieron por EAA con llama según el procedimiento 3111.B (Determinación directa de metales por EAA con llama Aire-Acetileno) contenido en los Métodos Estándar de Análisis de Aguas y Aguas Residuales [49].

La variable respuesta evaluada durante el estudio de sorción, es la capacidad de sorción ( $q$ ) en mg del metal/g del sorbente que se calcula por la siguiente expresión:

$$q = \frac{V(C_i - C_f)}{m}$$

Donde:

$V$  es el volumen de la disolución del metal.

$C_i$  es la concentración inicial del metal.

$C_f$  es la concentración estimada del metal en la disolución remanente.

$m$  es la masa de sorbente seco.

El estudio del equilibrio de distribución de los iones metálicos entre la fase sólida (sorbente) y la fase líquida (disolución acuosa), se realizó según el procedimiento general descrito previamente, imponiendo las siguientes condiciones:  $m$  (sorbente) = 10 mg,  $V$ (disolución) = 10 mL, pH 5; tiempo de contacto: 1h,  $T = 27 \pm 1^\circ\text{C}$ . La concentración inicial de las disoluciones de referencia de cada metal varió entre 0,1 y 150  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Se obtuvieron los espectros de infrarrojo con el espectrómetro IR (BOMEN MICHELSON, FT modelo: MB-102) con el fin de identificar la presencia de grupos funcionales (ej. hidroxilo, amino, carbonilo, etc.) en las muestras sólidas y sus posibles cambios debido al tratamiento químico. Las muestras se prepararon prensando un disco de KBr con 1 % de inclusión de las muestras sólidas a analizar. Para la MEB (Vega TESCAN, modelo 5130 SB3) las muestras se fijaron con una cinta conductora de carbón sobre el porta-muestras de acero inoxidable. Además, la zeolita fue analizada también por DRX con un

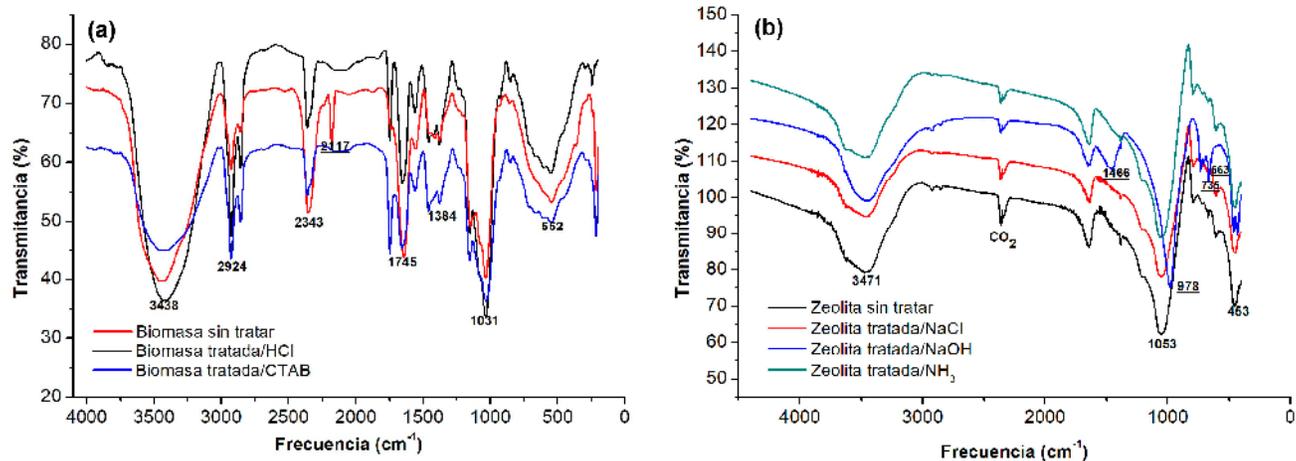
difractómetro Cu  $K\alpha$  (A SHIMADZU XRD). El espectro de DRX de las muestras fue excitado con un haz electrónico acelerado por un potencial de 20 kV, obteniéndose las micrografías a diferentes aumentos. La DRX se utilizó para la determinación cualitativa de las principales fases mineralógicas presentes en las muestras de zeolita y para la detección de algún cambio en la cristalinidad de la fase clinoptilolita al ser sometida a diferentes tratamientos químicos. El generador de rayos X operó a 30 kV y 30 mA. El goniómetro está equipado con un monocromador de grafito en el haz difractado. Se utilizó el método de análisis en polvo, colectándose los patrones en un intervalo angular de  $10^\circ$  a  $80^\circ$  con un paso de  $0,02^\circ$ . Se utilizó el programa FullProf para el análisis Rietveld de los difractogramas obtenidos. Debido al carácter amorfo de la biomasa no se realizó el análisis por DRX.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para cada material sorbente se determinó la capacidad de sorción máxima experimental de los elementos analizados a partir de la respectiva isoterma de adsorción a la temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  (Tabla 1).

**Tabla 1.** Capacidad máxima de sorción ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de la biomasa (Bio) y la zeolita (NZ) antes y después de los tratamientos.

Sorbente (reactivo)	Ni	Cd	Pb	Pt
NZ	19,7±0,3	80,2±0,8	23,7±0,7	-
NZ (NaOH)	24,0±0,9	-	24,99±0,01	-
NZ(NaCl)	28±2	32±2	57,5±0,4	-
NZ (NH <sub>3</sub> )	9,9±0,6	80,2±0,8	75±3	-
<b>Bio</b>	-	-	4,7±0,7	37,8±0,1
<b>Bio (HCl)</b>	-	-	8,6±0,9	52±1
<b>Bio (CTAB)</b>	-	-	-	79,64±0,03



**Fig. 1.** Espectros de Infrarrojo: a) biomasa sin tratar, tratada con HCl ( $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) y CTAB (5% m/v) b) zeolita sin tratar y tratada con NaCl, NaOH y  $\text{NH}_3$ .

### Caracterización de las muestras mediante IR y MEB.

#### Espectroscopía Infrarroja

Se evaluaron posibles cambios estructurales de la biomasa antes y después del tratamiento con HCl y CTAB y, después de estar en contacto con la disolución del metal estudiado (Figura 1). Como se observa en la Figura 1a, en la biomasa sin tratar se corroboró la presencia de varios grupos funcionales que se comportan como sitios de interacción con los cationes metálicos en disolución. Entre los principales grupos funcionales presentes en la membrana celular del hongo, que se comportan como sitios de interacción con los cationes metálicos en disolución, se encuentran los grupos hidroxilo (OH), amida, amina, carboxilo (COOH) y fosfato. Estos grupos funcionales coinciden con los reportados por Kapoor y col. y Enamorado y col. [13,14]. La banda  $1645 \text{ cm}^{-1}$  es resultado del modo de estiramiento de CO conjugado con un modo de deformación NH y es indicativo de la banda de amida 1. Las bandas  $1550 \text{ cm}^{-1}$  y  $1033 \text{ cm}^{-1}$ , relacionadas con la vibración del grupo amida y de estrechamiento del grupo carboxilato, respectivamente, indican la presencia de quitina (Figura 1a) [50]. La banda que indica la presencia de amida 2 es resultado del modo de deformación NH

conjugado con el modo de deformación C=N. En la Tabla 2 se observan las principales bandas y los grupos funcionales. Cuando se compara este espectro con los obtenidos de la biomasa tratada con HCl y CTAB (Figura 1a), se puede observar que no hay corrimientos significativos en las bandas de la biomasa después del tratamiento, lo cual sugiere que no se producen cambios en la estructura de la biomasa, excepto la desaparición de una banda al tratar la biomasa con HCl ( $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) y con el CTAB alrededor de los  $2117 \text{ cm}^{-1}$ , correspondiente a una vibración de valencia C-N. Este fenómeno puede estar relacionado con la capacidad del HCl de limpiar la superficie de la biomasa y, en consecuencia, puede haber contribuido a la eliminación de lípidos o proteínas que contienen este tipo de enlaces [50].

Por otra parte, también aparece reportado el efecto del tratamiento con CTAB que produce la disolución de sustancias que recubren la biomasa como proteínas, lípidos y aminas, mejorando la humectabilidad de la superficie sólida [51].

Otra posible razón del aumento de la capacidad de sorción para el Pt, luego del tratamiento con el surfactante catiónico CTAB, es el enriquecimiento de la

pared celular fúngica con grupos amino e imino por este reactivo [33].

**Tabla 2.** Asignación de las bandas registradas en los FTIR de Bio, BioX, BioE, BioA y BioH.

Bio $\nu$	Bio/CTAB $\nu$	Bio/HCl $\nu$	Tipo de Vibración
			O-H;
3438	3429	3441	estrechamiento asimétrico N-H
2924	2923-2854	2925	-CH <sub>2</sub> ; -CH <sub>3</sub>
1744	1745	1748	estrechamiento - C=O*
1645	1656	1653	amida 1 <sup>a</sup>
1550	1554	1557	amida 2 <sup>a</sup>
1384	1377	1383	amida 3 <sup>a</sup>
1031	1029	1021	C-O
921	-	901	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
2177	-	-	C-N

\*Correspondiente al grupo carboxilo

Por otra parte, en la Figura 1b se observan las bandas de vibración más importantes características de la zeolita tipo clinoptilolita, las cuales coinciden con lo reportado por Rodríguez y *col.* para la zeolita del depósito de Tasajeras [52,53] (Tabla 3).

En este estudio se observa el corrimiento de la banda 1053 cm<sup>-1</sup> hacia 978 cm<sup>-1</sup> (Figura 1b), en la zeolita tratada con NaOH, que corresponde a enlaces simples C-O. Este comportamiento fue reportado por Ali y *col.* [53].

También, se manifestó la intensificación de las bandas 735 cm<sup>-1</sup> y 663 cm<sup>-1</sup>, y apareció una nueva señal en 1466 cm<sup>-1</sup> debido al tratamiento con el NaOH. En el primer caso, las bandas fueron asignadas a la vibración asimétrica T-O-T en la estructura de la zeolita P [53,54]. La aparición de la señal en 1466 cm<sup>-1</sup> se puede deber a la presencia de carbonatos introducidos a partir de la

disolución del NaOH [55], ya que la misma puede disolver el CO<sub>2</sub> de la atmósfera y carbonatarse. En el caso de la zeolita NZ<sub>7</sub> tratada con NaOH las observaciones antes mencionadas pueden ser evidencia de un cambio en la estructura de la zeolita natural que sugiere la posible formación de la zeolita P. No se obtuvieron cambios en la posiciones e intensidades de las señales del espectro IR después de la sorción de los iones metálicos, en el intervalo del espectro estudiado.

**Tabla 3.** Asignación de las bandas registradas en los FTIR de la zeolita sin tratar (NZ), tratadas con NaCl (NZ/NaCl), amoníaco (NZ/NH<sub>3</sub>) y NaOH (NZ/NaOH).

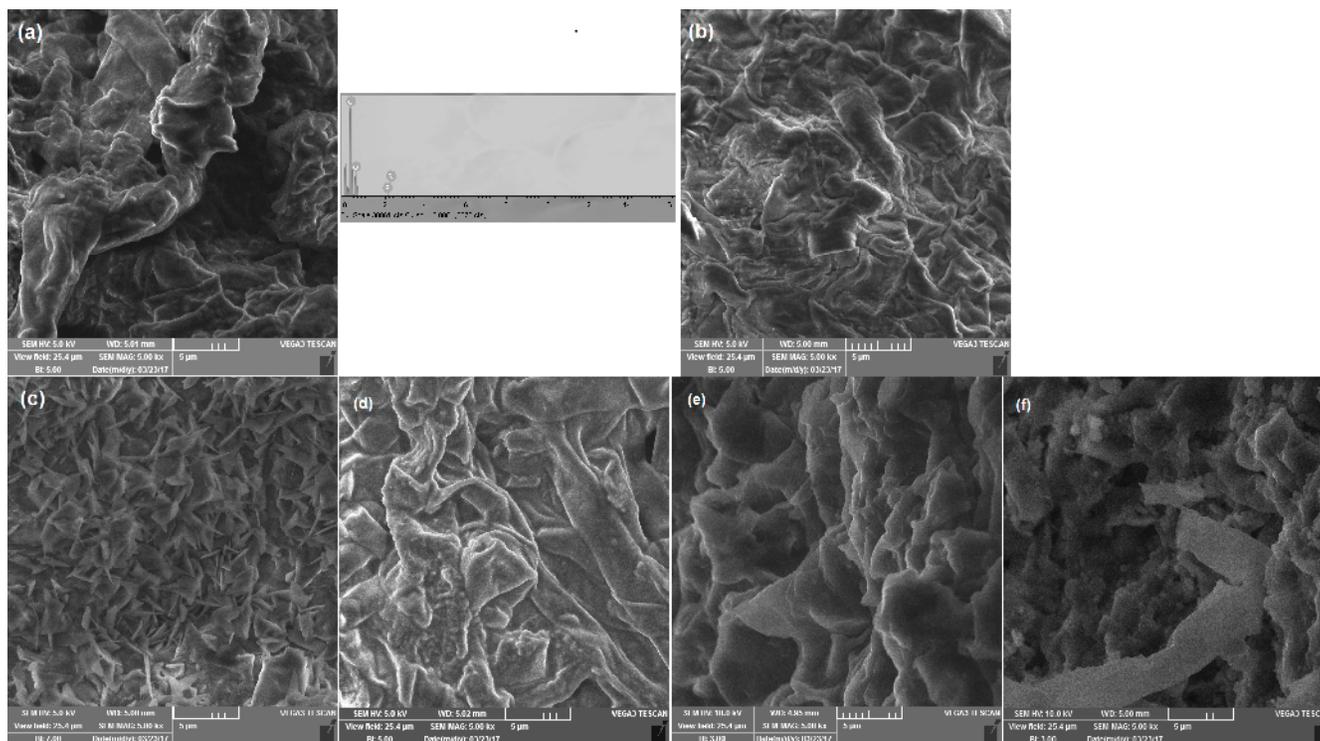
NZ $\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	NZ/NaCl $\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	NZ/NH <sub>3</sub> $\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	NZ/NaOH $\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	Tipo de Vibración
3471	3471	3452	3460	De valencia O-H
1639	1641	1643	1643	Doblaje O-H
1203	1203	1207	-	Estiramiento asimétrico de enlace interno T-O
1053	1057	1049	978	Estiramiento asimétrico de enlace externo T-O
796	781	783	735	Estiramiento simétrico de enlace externo T-O
606	607	605	663	Doble resonancia externa T-O
453	461	453	463	Doblaje interno T-O
-	-	-	1466	Vibración C-O

T: Representa los átomos de Al y Si en el tetraedro y O: representa el oxígeno.

### Microscopía Electrónica de Barrido

En la Figura 2 se muestran las micrografías de la biomasa sin tratar y su espectro de EDX (a), así como después de ser tratada con HCl (b) y CTAB (c). En el espectro de EDX en la biomasa sin tratar se detecta la presencia de P y S. Este resultado coincide con lo reportado por George y col. [15]. En la misma micrografía de la biomasa sin

tratar (Figura 2a), se observa el carácter amorfo del material con aspecto polimerizado. Su morfología es similar a la de los colágenos, es decir, estructura filamentosa en forma de cinta, aunque su crecimiento es más desordenado observándose un menor entrecruzamiento.



**Fig 2.** Micrografía de la biomasa: a) sin tratar y espectro EDX de la biomasa sin tratar., b) tratada con HCl ( $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), c) tratada con CTAB (5% m/v), d) sin tratar+Pt, e) tratada con HCl+Pt, f) tratada con CTAB+Pt.

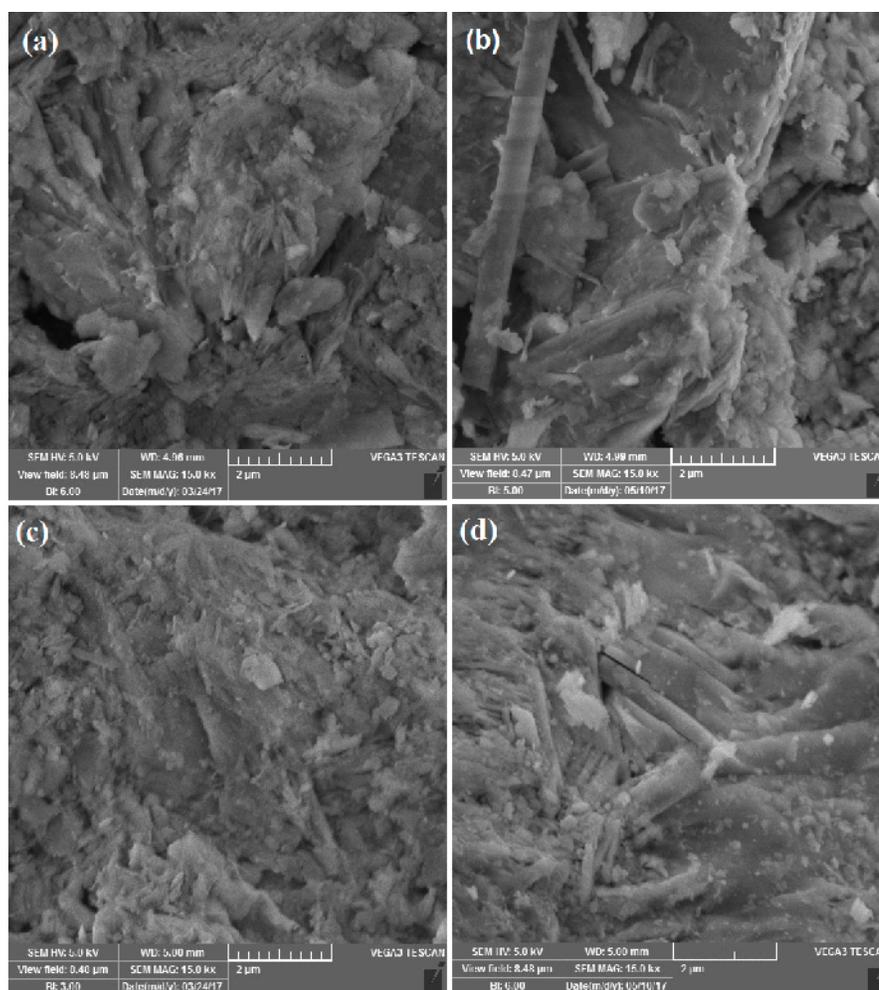
Después de ser tratada con HCl (Figura 2b) se observan cambios en la textura de la superficie, aumentando su rugosidad. Esto se puede asociar a la fusión de los filamentos observados. Sin embargo, el relieve marcado permanece similar al de la muestra sin tratar. Los tratamientos con disoluciones de ácidos pueden incrementar la biosorción de los cationes metálicos, debido a una significativa conversión de los macroporos en microporos provocando un aumento del área superficial del sorbente [56]. Por otra parte, el tratamiento con CTAB (Figura 2c) produce un cambio más evidente sobre la

superficie filamentosa de la biomasa, provocando mayores escisiones en la estructura, por lo que la superficie se observa más fragmentada. La diferencia observada entre la biomasa sin tratar y las tratadas pudiera posiblemente influir en la mayor capacidad de sorción del metal en estas últimas ya que al aumentar la rugosidad de la superficie pudiera aumentar el área de contacto entre esta y la disolución del ion metálico. En las Figuras 2d), e) y f) se muestran las micrografías de los materiales con el Pt adsorbido. Específicamente, en la Figura 2f) se observa un

cambio en la morfología para la biomasa tratada con CTAB después de la sorción con el Pt.

En la Figura 3 se muestra la zeolita NZ sin tratar (a) y después de ser tratada con amoníaco (b), disoluciones de NaCl (c) y NaOH (d). La superficie de las zeolitas naturales es muy heterogénea debido a la existencia de dos fases (cristalina y amorfa). Según estudios reportados, la forma tabular es la más abundante en las muestras de clinoptilolita natural cubana. Sin embargo, se conoce que los cristales de Heulandita generalmente, son de forma tabular, de placas o de listones [54]. En la Figura 3 se pueden apreciar diferencias entre la imagen de la zeolita

natural y las tratadas, probablemente debido a la eliminación del material amorfo después de los tratamientos realizados. En los casos de las Figura 3b y 3d se aprecian imágenes de varillas o listones desprovistos de su entorno amorfo. Debido a la eliminación de la fase amorfa en las zeolitas sometidas a distintos tratamientos, los sitios de sorción quedan más expuestos lo que permite una mayor interacción entre el material y la disolución lo que pudiera explicar la mayor capacidad de sorción de la zeolita tratada.



**Fig. 3.** Micrografía de la zeolita: a) sin tratar, b) tratada con NaCl (1 mol·L<sup>-1</sup>), c) tratada con NH<sub>3</sub> (1 mol·L<sup>-1</sup>) y d) tratada con NaOH (1 mol·L<sup>-1</sup>)

## Difracción de rayos X

La Figura 4 muestra los patrones de difracción de los materiales estudiados, solamente hasta  $2\theta = 40^\circ$  debido a que por encima de este valor no aparecen señales significativas para este estudio. No se observan corrimientos significativos de las señales de difracción más intensas de la zeolita natural respecto a las tratadas. Tampoco ocurre variación en la forma de las señales que puedan indicar cambios en la cristalinidad de las zeolitas después del tratamiento (Figura 4). Estos resultados concuerdan con los reportados por Rodríguez-Fuentes y col. [55] para una muestra de zeolita purificada y otra de material zeolítico del depósito de Tasajeras. En el estudio por IR, se encontraron cambios en la estructura que sugieren la posible formación de la zeolita P. Esta conclusión se refuerza debido a la aparición de una señal adicional  $2\theta = 29,48^\circ$  (310) en el patrón de difracción de la zeolita tratada con NaOH. Esta fase también fue reportada por Rodríguez y col. [57]. Este tipo de zeolita presenta pequeños tamaños de poro, entre otras características estructurales y, por ello son ampliamente utilizadas en aplicaciones ambientales [53,54]. La posible aparición de esta fase pudiera ser una de las causas de que la zeolita tratada con NaOH (q para Pb igual a  $24,99 \pm 0,01$ ) tenga una capacidad de sorción superior comprobada para un 95% de confianza, a la de la zeolita natural (q para Pb:  $23,7 \pm 0,77$ ).

## CONCLUSIONES

El presente estudio contribuye a la comprensión del comportamiento de dos materiales muy diferentes, biomasa inactiva del *Aspergillus Niger* O-5 y zeolita NZ del tipo clinoptilolita, utilizados como sorbentes para la retención de Pb, Ni, Cd en zeolita, así como Pb y Pt en la biomasa.

La biomasa del *Aspergillus niger* O5 tratada con CTAB resultó la de mayor capacidad de sorción para el Pt, la zeolita NZ tratada con amoníaco para Pb y Cd, y tratada con NaCl para el Ni.

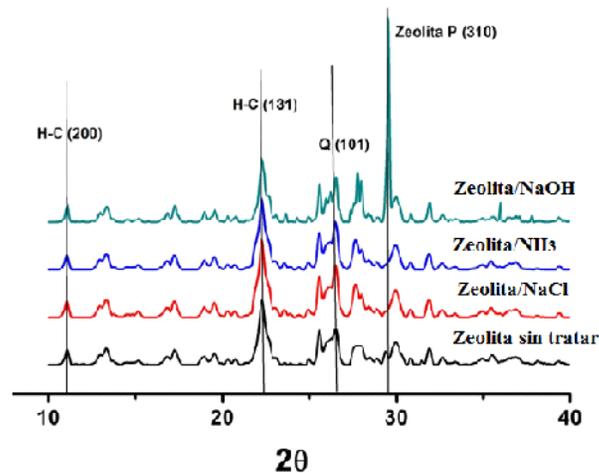


Fig. 4. Espectros de difracción de rayos X de la zeolita sin tratar y tratada.

Las evidencias obtenidas del análisis de la biomasa tratada y sin tratar por IR y MEB sugieren que la causa fundamental del aumento de la capacidad de sorción del Pb(II) y el Pt(IV) en el material tratado es diferente para cada tratamiento. Para el CTAB puede ser debido a la remoción de lípidos y proteínas de la pared celular y para el HCl el aumento de la porosidad del material. En ambos casos los grupos funcionales se encuentran más disponibles para la interacción con el ion metálico.

Por otra parte, para el material zeolítico en todos los tratamientos se produce la remoción de la fase amorfa lo que permite también una mayor exposición de los sitios de interacción con Pb(II), Ni(II) y Cd(II). Esta remoción no influye de igual forma en la retención de los iones metálicos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo agradecen al Laboratorio Universitario de Caracterización y Estructura de la Sustancia (LUCES) de la Universidad de La Habana por las mediciones realizadas mediante MEB e IR. Este trabajo forma parte de dos proyectos institucionales de la Universidad de La Habana: “Estudios de sorción de

contaminantes en biomasa microbiana con fines analíticos de preconcentración y/o de remoción de aguas residuales industriales” y “Aumento de la confiabilidad en la cuantificación de metales en muestras ambientales y materiales de avanzada” y un proyecto nacional del Programa de Ciencias Básicas “Desarrollo, validación y aplicación de procedimientos para evaluar la contaminación por metales tóxicos en muestras ambientales”.

## REFERENCIAS

- [1] Escudero, L.B., Ávila Maniero, M., Agostini, E., Smichowski, P.N. (2016) “Biological substrates: Green alternatives in trace elemental preconcentration and speciation analysis” *Trends in Analytical Chemistry* 80:531–546.
- [2] Fu, Fenglian, Wang, Qi. (2011) “Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review” *Journal of Environmental Management* 92:407–418.
- [3] Kragovic, M., Dakovic, A., Sekulic, Z., Trgo, M., Ugrina, M., Peric, J., Gatta, D. (2012) “Removal of lead from aqueous solutions by using the natural and Fe(III)-modified zeolite” *Appl Surf Sci* 258:3667–3673.
- [4] Misaelides, P. (2011) “Application of natural zeolites in environmental remediation: a short review” *Microporous Mesoporous Mater* 144:15–18.
- [5] Wang, Sh., Peng, Y. (2010) “Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment” *Chem Eng J* 156:11–24.
- [6] Sirotiak, M., Lipovský, M., Bartošová, A. (2015) “A sorption kinetics of selected heavy metals adsorption to natural and Fe(III) modified zeolite tuff containing clinoptilolite mineral” *Res pap Fac Mater Sci Technol Slovak Univ Technol* 23:41–47.
- [7] Sandhya, B., Kurniawan, T.A. (2003) "Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review" *Journal of Hazardous Materials* B97:219–243.
- [8] Erdem, E., Karapinar, N., Donat, R. (2004) "The removal of heavy metal cations by natural zeolites". *Journal of Colloid and Interface Science* 280:309–314.
- [9] Kiliyankil Vipin, A., Sun Ling, BunshiFugetsu, (2016). "Removal of Cs<sup>+</sup> and Sr<sup>2+</sup> from water using MWCNT reinforced Zeolite-A beads". *Microporous and Mesoporous Materials* 224, 84-88.
- [10] Inglezakis, V.J., Loizidou, M.D., Grigoropoulou, H.P. (2003) "Ion Exchange of Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, and Cr<sup>3+</sup> on natural clinoptilolite: selectivity determination and influence of acidity on metal uptake" *J Colloid Interface Sci* 261:49–54.
- [11] Inglezakis, V.J., Papadeas, C.D., Loizidou, M.D., Grigoropoulou, H.P. (2001) "Effects of pretreatment on physical and ion exchange properties of natural clinoptilolite" *Environ Technol* 22:75–82.
- [12] Farías Piñeira, T. (2004) "Preparación de Potenciales Soportes Zeolíticos para la Liberación de Iones de Interés Farmacéutico". Tesis en opción al grado científico de Máster en Ciencia y Tecnología de Materiales. Universidad de la Habana.
- [13] Kapoor, A., Viraraghavan, T. (1997) "Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*" *Bioresource Technology* 61:221-227.
- [14] Enamorado, Y., Villanueva Tagle, M., Hernández Díaz, I., Coto Pérez, O., Pomares Alfonso, M.S. (2011) “Caracterización de la biomasainactiva de *Aspergillus niger* O-5 como sorbente de Pb (II)” *Quim. Nova*, Vol. 34, No. 7:1141-1146.
- [15] George, B., Nirmal Kumar, J.I., Kumar, Rita N., Sajish, P.R. (2012) “Biosorption Potentiality of Living *Aspergillus niger* Tiegh in Removing Heavy Metal from Aqueous Solution” *Bioremediation Journal*, 16(4):195–203.
- [16] Shahlaei, M., Pourhossein, A. (2014) “Determination of arsenic in drinking water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry

- after preconcentration using the biomass of *Aspergillus niger* loaded on activated charcoal” *J. Chem.* 1:1–6.
- [17] Amini, M., Younesi, H., Bahramifar, N. (2009) “Statistical modeling and optimization of the cadmium biosorption process in an aqueous solution using *Aspergillus niger*”. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 337:67–73.
- [18] Khambhaty, Y., Mody, K., Basha, S., Jha, B. (2008) “Hg(II) Removal from Aqueous Solution by Dead Fungal Biomass of Marine *Aspergillus niger*: Kinetic Studies”. *Separation Science and Technology* 43:1221–1238.
- [19] Nirmal Kumar, J.I., George, B., Kumar, R.N., Sajish, P.R., Viyol, S. (2010) “Biosorption of mercury and lead by dried *Aspergillus niger* Tiegh. Isolated from estuarine sediments”. *International Journal of Environmental Studies* 67 (5):735–746.
- [20] Chhikara, S., Hooda, A., Rana, L., Dhankhar, R. (2010) “Chromium (VI) biosorption by immobilized *Aspergillus niger* in continuous flow system with special reference to FTIR analysis”. *Journal of Environmental Biology* 31(5):561-566.
- [21] Santhi, R., Guru, V. (2014) “Biosorption of Hexavalent Chromium Using *Aspergillus niger* dead biomass and its optimization studies”. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 3(10):669-678.
- [22] Coreño-Alonso, A., Solé, A. Diestra, E., Esteve, I., Gutiérrez-Corona, J.F., Reyna López, G.E., Fernández, F.J., Tomasini, A. (2014) “Mechanisms of interaction of chromium with *Aspergillus niger* var *tubingensis* strain Ed8”. *Bioresource Technology* 158:188–192.
- [23] Ren, B., Zhang, Y., Zhao, L., Zhang, Fengju Ouyang, X., Zhang, H. (2015) “Biosorption of chromium by the spores of *Aspergillus niger*”. *Proceedings of the 2015 International Conference on Mechatronics, Electronic, Industrial and Control Engineering.* 833-836.
- [24] Wang, J.Y., Cui, C.W. (2017) “Characterization of the biosorption properties of dormant spores of *Aspergillus niger*: a potential breakthrough agent for removing Cu<sup>2+</sup> from contaminated water”. *RSC Adv.* 7:14069–14077.
- [25] Khambhaty, Y., Mody, K., Basha, S., Jha, B. (2009) “Biosorption of Cr(VI) onto marine *Aspergillus niger*: experimental studies and pseudo-second order kinetics”. *World J Microbiol Biotechnol* 25:1413–1421.
- [26] Socorro Vale, M., Ferreira do Nascimento, R., Carrhá Leitão, R., Tédde Santaella, S. (2016) “Cr and Zn biosorption by *Aspergillus niger*”. *Environ Earth Sci* 75:462-472.
- [27] Sathvika, T., Manasi, Rajesh, V., Rajesh, N. (2016) “Adsorption of chromium supported with various column modelling studies through the synergistic influence of *Aspergillus* and cellulose”. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 4 (3): 3193-3204.
- [28] Sathvika, T., Manasi, Rajesh, V., Rajesh, N. (2015) “Prospective application of *Aspergillus* species immobilized in sodium montmorillonite to remove toxic hexavalent chromium from wastewater”. *RSC Adv.* 129.
- [29] Samuel S, M., Abigail M, E.A., R. (2015) “Isotherm Modelling, Kinetic Study and Optimization of Batch Parameters Using Response Surface Methodology for Effective Removal of Cr(VI) Using Fungal Biomass”. *PLoS ONE* 10(3):e0116884.doi:10.1371/journal.pone.0116884.
- [30] Pan, X., Meng, X., Zhang, D., Wang, J. (2009) “Biosorption of strontium ion by immobilised *Aspergillus niger*”. *Int. J. Environment and Pollution* 37 (2/3): 276-288.
- [31] Ren, B., Wang, J., Zhang, W., Kan, K., Zhao, L., Song, X., Cui, C. (2017) “Removal of Cr(VI) from solution by free and immobilised spores of *Aspergillus niger*”. *Micro & Nano Letters* 12 (9): 615-617.

- [32] Solat, S., Reza, R., Soheila, Y. (2015) "Biosorption of Uranium (VI) from Aqueous Solution by Pretreated *Aspergillus niger* Using Sodium Hydroxide". *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* 34 (1):65-74.
- [33] Mungasavalli, D.P., Viraraghavan, T., Jin, Y. (2007) "Biosorption of chromium from aqueous solutions by pretreated *Aspergillus niger*: Batch and column studies". *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 301:214–223.
- [34] Amini, M., Younesi, H., Bahramifar, N. (2009) "Biosorption of nickel(II) from aqueous solution by *Aspergillus niger*: Response surface methodology and isotherm study". *Chemosphere* 75:1483–1491.
- [35] Gedik, K., Imamoglu, I. (2008) "Affinity of Clinoptilolite-based Zeolites towards Removal of Cd from Aqueous Solutions". *Separation Science and Technology*, 43:1191-1207.
- [36] Inglezakis, V.J., Papadeas, C.D., Loizidou, M.D., Grigoropoulou, H.P. (2011) "Effects of Pretreatment on Physical and Ion Exchange Properties of Natural Clinoptilolite". *Environmental Technology* 22 (1):75-82.
- [37] Kragović, M., Daković, Sekulića, Z., Trgo, M., Ugrina, M., Perićb, H., Diego Gatta, G. (2012) "Removal of lead from aqueous solutions by using the natural and Fe(III)-modified zeolite". *Applied Surface Science* 258:3667-3673.
- [38] Leyva Ramos, R., Berber Mendoza, m.S., Mendoza Barrón, J., Aragón Piña, A. (2004) "Intercambio iónico de Pb(II) en solución acuosa sobre clinoptilolita modificada por intercambio catiónico". *Rev. Soc. Quím. Méx.* 48:130-136.
- [39] Abín, L., Coto, O., Gómez, Y., Rosecker, K. (2002) "Screening of fungi with capacity for organic acid production". *Rev. Biología*, 16 (1):68-70.
- [40] Rodríguez-Fuentes, G.; Torres, J.C.; Mora, E. y Vega, N., Cuban patent application No. 2000-0221.
- [41] Rodríguez-Iznaga, I. (2002) "Modificación de la clinoptilolita natural para el tratamiento de residuales de la industria del níquel". Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Químicas. Universidad de la Habana.
- [42] Rodríguez Fuentes, G. (1987) "Propiedades Físico-Químicas y aplicaciones industriales de la Clinoptilolita Natural". Tesis al grado de Dr., CINC, Cuba.
- [43] Rodríguez-Fuentes, G. (2004) "Characterization of ZZ a  $Zn^{2+}$  clinoptilolite". *Studies in Surface Science and Catalysis* 154C:3052-3058.
- [44] Rodríguez-Fuentes, G., Rivera Denis, A.; Barrios Alvarez, M. A.; Iraizoz Colarte, A. (2006) "Antacid drug based on purified natural clinoptilolite". *Microporous and Mesoporous Materials* 94:200–207.
- [45] Rodríguez-Fuentes, G.; Barrios, M.A.; Iraizoz, A.; Perdomo, I.; Cedré, B. (1997) "Enterex: Anti-diarrheic drug base on purified natural clinoptilolite". *Zeolites* 19:441-448.
- [46] Kapoor, A., Viraraghavan, T. (1998) "Biosorption of heavy metals on *Aspergillus niger*: effect of pretreatment". *Bioresource Technology* 63: 109-113.
- [47] Rubio Granados, S.; Granados Correa, F.; Jiménez Becerril, J., (2000) "Retención de fenol en solución acuosa sobre carbón activado y zeolita X". *Rev. Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 16, No. 001, p. 37-40,.
- [48] Enamorado-Horrutiner, Y., Villanueva-Tagle, M.E., Behar, M., Rodríguez-Fuentes, G., Ferraz Dias, J., Pomares-Alfonso, M.S. (2016) "Cuban zeolite for lead sorption: application for water decontamination and metal quantification in water using non-destructive techniques" *International Journal of Environmental Science and Technology* 13 (5):1245–1256.
- [49] APHA, AWWA, WFF. 1998 "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 3111 B -

- Metals By Flame Atomic Absorption Spectrometry". 18<sup>th</sup> edition. USA Washington, DC.: American Public Health Association.
- [50] Spanelova, M., Machovic, V., Brezina, M. (2003) "Characterization and sorption properties of *Aspergillus niger* waste biomass" *Central European Journal of Chemistry* 3:192-200.
- [51] Igarashi, S., Yotsuyanagi, T., (1992) "Homogeneous liquid-liquid extraction by pH dependent phase separation with a fluorocarbon ionic surfactant and its application to the preconcentration of porphyrin compounds". *Microchim. Acta* 106:37-44
- [52] Rodriguez-Fuentes, G., Salvador, R., Mir, M., Picazo, O., Quintana, G., Delgado, M. (1998) "Thermal and cation influence on IR vibrations of modified natural clinoptilolite" *Microporous Mesoporous Mater* 20:269–281.
- [53] Ali, I.O., El-Sheikh, S.M., Salama, T.M., Bakr, M.F. and Fodial, M.H. (2015) "Controllable synthesis of NaP zeolite and its application in calcium adsorption" *Sci China Mater*, 58:621–633.
- [54] Araujo, E.H., Gianesi, C.B.A., Ferreira da Rocha, C.A.J., Simões, R.A., Valenzuela-Diaz, F.R., de Freitas, R.N. (2014) "Synthesis and Characterization of Zeolite NaP Using Kaolin Waste as a Source of Silicon and Aluminum" *Materials Research*. 17(Suppl. 1):174-179.
- [55] Rodríguez-Iznaga, I.; Rodríguez-Fuentes, G. and Benítez-Aguilar, A. (2000) "The role of carbonate ions in the ion-exchange  $\text{Ni}^{2+} = 2\text{NH}_4 +$  in natural clinoptilolite". *Microporous and Mesoporous Materials* 41:129-136.
- [56] Kumar Gupta, V., Nayak, A., Agarwal, S. (2015) "Bioadsorbents for remediation of heavy metals: Current status and their future prospects". *Environ. Eng. Res.*20(1): 001-018.
- [57] Rodríguez-Fuentes, G., Ávila, P., Rodríguez-Iznaga, I., Rebollar, M., Betancourt, M., Concepción, B., Bogdanchikova, N. (2004) "Environmental remediation uses of honeycomb monoliths based on natural clinoptilolite". *Stud Surf Sci Catal* 154C:2555–2559.