UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

REMOCIÓN DE PLOMO Y COBRE EN SOLUCIÓN ACUOSA POR *Pycnoporus sanguíneus* (L.) Murrill (1904) EN BIORREACTORES AIR LIFT

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO AMBIENTAL

Presentado por:

MARJORI RODRIGUEZ GUIZABALO

Tingo María – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María – Perú

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 18 de Diciembre de 2018, a horas 10:00 a.m. en el Departamento Académico de Ciencias Ambientales de la Facultad de Recursos Naturales Renovables, para calificar la Tesis titulada:

"REMOCIÓN DE PLOMO Y COBRE EN SOLUCIÓN ACUOSA POR *Pycnoporus sanguíneus* (L.) Murril (1904) EN BIORREACTORES AIR LIFT"

Presentado por la Bachiller, **MARJORI, RODRIGUEZ GUIZABALO**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara APROBADA con el calificativo de : **BUENO.**

En consecuencia, la sustentante queda apta para optar el Título de **INGENIERO AMBIENTAL**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título correspondiente.

Tingo María, 06 de Marzo de 2019

Blgo. MSc. JOSÉ K. GUERRA LU
PRESIDENTE

Dr. JOSÉ ANTONIO BLAS MATIENZO
VOCAL

Ing. MSc. VICTOR M. BETETA ALVARADO
VOCAL

Blgo. CÉSAR AUGUSTO GOZME SULCA
ASESOR

DEDICATORIA

A mi Dios todopoderoso; quien mediante la guía de su Santo Espíritu me sustenta día a día, me regaló de su gracia y sabiduría para así poder culminar está etapa de mi formación profesional.

Con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron toda en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme su amor y apoyo incondicional, a ustedes por siempre mi corazón y agradecimiento, a mis queridos padres Guillermo Rodríguez Almerco y Tabita Guizabalo Campos.

A mi Tía Amandina Céspedes Bastidas por el apoyo incondicional y cariño que me tiene y a mi gran amigo Jorge Luis Chávez Del águila por todo el cariño y apoyo incondicional brindado.

AGRADECIMIENTOS

.

A mi alma mater Universidad Nacional Agraria de la Selva, Facultad de Recursos Naturales Renovables, escuela de ingeniería ambiental y plana docente, por la contribución en mi formación como profesional .

Al Blgo. César Augusto Gozme Sulca, asesor; por su apoyo, orientación y colaboración para poder realizar el presente trabajo de investigación.

Al Dr. Btcnlgo Mcblgo. César Samuel López López, asesor; por su paciencia, exigencia, enseñanzas, orientación y amistad que me brindó en este tiempo de investigación, como también durante el proceso de mi formación profesional.

Al Ing. Richard Sias Rodríguez, por su apoyo, orientación, amistad y colaboración para poder realizar el presente trabajo de investigación.

A todas las personas que de una u otra forma contribuyeron significativamente en la realización y culminación de la presente investigación.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN 1

1.1. Objetivo general 2

1.2. Objetivo específicos 2

II. REVISION BIBLIOGRÁFICA 4

2.1. Metales pesados 4

2.2. Metales pesados en el ambiente. 5

2.2.1. Plomo 9

2.2.2. Cobre 10

2.2.3. Impacto ambiental de los metales pesados 11

2.3. Fungi 12

2.4. Fungi ligninolíticos 13

2.4.1. *Pycnoporus sanguineus* 15

2.5. Procesos de remoción de metales pesados 16

2.5.1. Mecanismo del proceso de bioadsorción 17

2.5.2. Factores que afectan la remoción de metales 21

2.6. Aplicaciones de fungi en la remoción de metales pesados 23

2.7. Biorreactores 25

2.7.1. Tipos de biorreactores 27

Tanque agitado 27

Columna de burbujeo 27

Reactores de corrientes 27

Reactores de corrientes con impulsor 27

Biorreactores Air lift 27

III. MATERIALES Y MÉTODOS 31

3.1. Ubicación y descripción del área de estudio 31

3.1.1. Lugar de ejecución 31

3.1.2. Ubicación política 31

3.2. Equipos y materiales 32

3.2.1. Equipos 32

3.2.1. Materiales 33

3.2.2. Reactivos 33

3.3. Metodología 34

3.3.1. Recolección y aislamiento de *Pycnoporus sanguineus* 34

3.3.2. Determinación de los parámetros fisicoquímicos en los biorreactores 36

3.3.3. Determinación de la densidad celular fúngica 38

3.3.4. Determinación de metales pesados en el medio 39

3.4. Diseño de investigación 42

3.4.1. Variables en estudio 43

3.4.2. Tipo de investigación 43

3.4.3. Tratamientos 44

3.5. Análisis estadístico 45

3.5.1. Análisis de varianza (ANVA) 45

3.5.2. Prueba de múltiple rangos de diferencia francamente significativa de Tukey (HSD Tukey) 45

IV. RESULTADOS 46

4.2. Condiciones físico-químicas en la biorremoción de Pb (II) y Cu (II) 47

4.2.1. Oxígeno disuelto 47

4.2.2. Temperatura 53

4.2.3. Potencial de hidrógeno (pH) 60

4.3. Determinar la producción de biomasa de *Pycnoporus sanguíneus* resistentes a Pb (II) y Cu (II) 65

4.4. Determinación de la eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) 70

V. DISCUSIÓN 80

..... 87

VI. CONCLUSIONES 87

VII. RECOMENDACIONES 88

VIII. ABSTRACT 89

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 90

X. ANEXOS 99

INDICE DE CUADROS

Cuadro **Página**

Cuadro 1. Actividades industriales y comerciales que generan contaminantes del agua. 7

Cuadro 2. Grupos funcionales responsables de la bioadsorción de metales. ...18

Cuadro 3. Descripción de los tratamientos. 44

Cuadro 4. Análisis de varianza (ANVA). 45

Cuadro 5. Oxígeno disuelto en los biorreactores a 7 días de operación 47

Cuadro 6. Oxígeno disuelto en los biorreactores a 15 días de operación. 49

Cuadro 7. Oxígeno disuelto en los biorreactores a 20 días de operación. 50

Cuadro 8. Análisis de varianza para valores de oxígeno disuelto. 52

Cuadro 9. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para oxígeno disuelto en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor. 53

Cuadro 10. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para oxígeno disuelto en relación al tiempo de operación. 53

Cuadro 11. Temperatura en los biorreactores a 7 días de operación. 54

Cuadro 12. Temperatura en los biorreactores a 15 días de operación. 55

Cuadro 13. Temperatura en los biorreactores a 20 días de operación. 57

Cuadro 14. Análisis de varianza para temperatura. 58

Cuadro 15. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para temperatura en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor. 59

Cuadro 16. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para temperatura en relación al tiempo de operación. 59
Cuadro 17. Valores de pH en los biorreactores a 7 días de operación, obteniendo los datos anotados en el cuadro 17. 60
Cuadro 18. Valores de pH en los biorreactores a 15 días de operación. 62
Cuadro 19. Valores de pH en los biorreactores a 20 días de operación. 63
Cuadro 20. Análisis de varianza para valores de pH. 64
Cuadro 21. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para pH en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor. 65
Cuadro 22. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para pH en relación al tiempo de operación. 65
Cuadro 23. Producción de biomasa de *Pycnoporus sanguineus* a un tiempo de operación de 7 días. 66
Cuadro 24. Producción de biomasa de *Pycnoporus sanguineus* a un tiempo de operación de 15 días. 68
Cuadro 25. Producción de biomasa de *Pycnoporus sanguineus* a un tiempo de operación de 20 días. 69
Cuadro 26. Eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en un tiempo de operación de 7 días. 71
Cuadro 27. Eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en un tiempo de operación de 15 días. 72
Cuadro 28. Eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en un tiempo de operación de 20 días. 73

Cuadro 29. Eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en los diferentes tiempos de operación. 74
Cuadro 30. Análisis de varianza para la eficiencia de remoción Pb (II). 76
Cuadro 31. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para la eficiencia de remoción en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor en relación al Pb (II). 77
Cuadro 32. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para pH en relación al tiempo de operación en la remoción del Pb (II). 78
Cuadro 33. Análisis de varianza para la eficiencia de remoción Cu (II). 78
Cuadro 34. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para la eficiencia de remoción en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor en relación al Cu (II).....79
Cuadro 35. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para pH en relación al tiempo de operación en la remoción del Cu (II)…….. 79

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1. *Pycnoporus sanguíneus* (L.) Murrill (1904).....16

Figura 2. Configuración de diferentes biorreactores……30

Figura 3. *Pycnopurus sanguineus* (L.) Murrill (1904) sobre madera en descomposición…….. 34

Figura 4. Esquema de biorreactor Air Lift. 37

Figura 5. Diseño experimental. 42

Figura 6. *Pycnoporus sanguineus* aislado en medio PDA. 46

Figura 7. Determinación del oxígeno disuelto a 7 días de operación. 48

Figura 8. Comportamiento del oxígeno disuelto a 15 días de operación. 50

Figura 9. Comportamiento del oxígeno disuelto a 20 días de operación. 51

Figura 10. Comportamiento de la temperatura a tiempo de operación de 7 días. 55

Figura 11. Comportamiento de la temperatura a tiempo de operación de 15 días. 56

Figura 12. Comportamiento de la temperatura para un tiempo 58

Figura 13. Comportamiento del pH en un tiempo de operación de 7 días. 61

Figura 14. Comportamiento del pH en un tiempo de operación de 15 días. 62

Figura 15. Comportamiento del pH en un tiempo de operación de 20 días. 64

Figura 16. Producción de biomasa en los tratamientos a un tiempo de operación de 7 días. 67
Figura 17. Producción de biomasa en los tratamientos a un tiempo de operación de 15 días. 68
Figura 18. Producción de biomasa en los tratamientos a un tiempo de operación de 20 días. 70
Figura 19. Eficiencia de remoción de Pb (II) en los diferentes tiempos de operación. .....**¡Error! Marcador no definido.**
Figura 20. Eficiencia de remoción de Cu (II) en los diferentes tiempos de operación……...76
Figura 21. *Pycnoporus sanguineus* en el jardín botánico UNAS. 103
Figura 22. Recolección de carpóforos silvestres de *Pycnoporus sanguineus.*103
Figura 23. Obtención de muestras para la desinfección de *Pycnoporus sanguineus*. 104
Figura 24. Siembra de *Pycnoporus sanguineus* en PDA. 104
Figura 25. *Pycnoporus sanguineus* aislado en cultivo puro. 105
Figura 26. Reactivación de *Pycnoporus sanguineus.* 105
Figura 27. Incubación por 5 días a temperatura ambiente por reactivación de *Pycnoporus sanguineus.* 106
Figura 28. Acondicionamiento de biorreactores Air Lift. 106
Figura 29. Adicionando a los biorreactores medio 107
Figura 30. Inoculación de *Pycnoporus sanguineus* reactivado en los biorreactores Air Lift. 108
Figura 31. Biorreactores Air Lift en operación. 108

Figura 32. Centrifugación de muestras para su posterior lectura en el espectrofotómetro. 109

RESUMEN

La presente investigación se realizó para determinar la capacidad de remoción de plomo Pb (II) y cobre Cu (II) en medio acuoso, de *Pycnoporus sanguineus* (de la podredumbre blanca) en biorreactores Air Lift. El fungi se aisló a partir de madera en descomposición presentes en el Jardín Botánico de la UNAS, previa desinfección se obtuvieron cultivos puros, los micelios en cultivos se activaron para utilizarlos en la biorremoción de los metales pesados, para la evaluación de la remoción de metales pesados por *Pycnoporus sanguineus* en biorreactores air lift se probaron concentraciones (Pb (II) 100 mg/L más Cu (II) 200 mg/L y Pb (II) 200 mg/L más Cu (II) 300 mg/L) de manera conjunta de metales pesados, y de manera individual Pb (II) 300 mg/L y Cu (II) 400 mg/L con un testigo, con 3 repeticiones, a tres tiempos de operación de 7, 15 y 20 días, teniendo como variables intervinientes: oxígeno disuelto, pH, temperatura. Se obtuvieron altas eficiencias de remoción a pH 6.3 a 7.8 siendo óptimo para los tratamientos: La eficiencia de remoción de Pb (II) fue de 99.89 % a 7 días de operación y de Cu (II) 91.19 % a los 20 días de operación esto en presencia de un solo metal, de manera conjunta el mayor fue el tratamiento Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L) con 99.87 % y 99.35 % a 7 y 20 días de operación para Pb (II) y Cu (II) respectivamente.

Palabras claves: biorreactor air lift, remoción, metal pesado, plomo, cobre.

I. INTRODUCCIÓN

Existen aproximadamente 200,000 especies fúngicas reconocidas por la ciencia. Son considerados recursos del bosque con un potencial muy importante de aplicación en diversas áreas por lo que es necesario promover su estudio e investigación, en especial de los denominados macromicetos mayormente los poliporales de la pudrición blanca, que son destacables, por su ubicuidad, extensa e íntima integración en el medio y porque sus micelios pueden bioacumular metales pesados en sus carpóforos.

Los metales pesados son elementos tóxicos, cuya presencia en el ambiente se ha incrementado notablemente y presumen una amenaza ambiental importante para los seres vivos, es por eso que en el campo de la biorremediación se han implementado tratamientos de biorrecuperación utilizando fungí, poniendo en evidencia la capacidad degradadora del fungi sin afectar negativamente las condiciones ambientales naturales.

Tomando en consideración las condiciones de nuestra región del Alto Huallaga y su amplia biodiversidad, las posibilidades de incrementar el conocimiento sobre la micobiota, son muy alentadoras, sin embargo se conoce poco acerca de este recurso. Por eso, son significativos estudios conducentes a su descripción e identificación enfatizando sus propiedades y posibles usos en tratamientos de suelo, agua y aire en el futuro.

En vista del interés que han despertado los fungi por su capacidad para la biorremediación de aguas contaminadas y dada la problemática que se vive en el Perú, por el desarrollo de la minería, es propicio conocer más acerca de la capacidad de remoción de metales del fungi *Pycnoporus sanguíneus*, por lo que se plantea la siguiente problema: ¿Cuál será la eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II), en biorreactores Air Lift mediada por *Pycnoporus sanguíneus* actuando sobre un solo metal pesado como frente a los dos metales pesados combinados?

Formulándose la hipótesis siguiente: La eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) mediada por *Pycnoporus sanguíneus,* es mayor para un solo metal pesado que para dos metales pesados combinados.

1.1. Objetivo general

- Evaluar la remoción de Pb (II) y Cu (II) en solución acuosa mediada por medio del *Pycnoporus sanguíneus* (L.) Murrill (1904) en biorreactores Air Lift.

1.2. Objetivo específicos

- Aislar *Pycnoporus sanguíneus* (L.) Murrill (1904) a partir de muestras de madera en descomposición.
- Determinar los parámetros fisicoquímicos para la remoción de Pb (II) y Cu (II) en biorreactores Air Lift.
- Determinar la producción de biomasa de *Pycnoporus sanguíneus* (L.) Murrill (1904) en los biorreactores Air Lift.

- Determinar la eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en el bioproceso con la *especie Pycnoporus sanguíneus* en los biorreactores Air Lift.

II. REVISION BIBLIOGRÁFICA

2.1. Metales pesados

El término metal pesado abarca elementos con una densidad entre 4 y 7 g/cm^3, si bien a veces se incluyen en este grupo elementos tóxicos más ligeros, como es el caso del berilio y el aluminio, o semimetales, como el arsénico; poseen una conductividad eléctrica alta, son dúctiles, la mayoría son elementos de transición con capacidad para formar compuestos que pueden o no sufrir actividad redox. La toxicidad de estos elementos no viene provocada tanto por sus características como por la cantidad en que se presenten y el tipo de especie que forman en determinados medios. Cabe recordar que algunos de ellos, como el cobre, el manganeso, el hierro y el zinc, son requeridos en pequeñas concentraciones para el buen funcionamiento de los seres vivos; son elementos esenciales. Otros, como el plomo y el mercurio, han sido utilizados por el hombre en su vida cotidiana desde tiempos remotos. De los 902 elementos que se encuentran naturalmente 21 son no metales, 16 son metales ligeros y los tres restantes, incluyendo el As, son metales pesados. Se incluyen el Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Co, Hg, Ni, Pb, Al y Se (RABASCO y CARMEN, 2005; WEAST, 1984).

Aunque la presencia en el medio de los metales pesados no debería ser peligrosa, ya que es parte del equilibrio de la naturaleza, desde la Revolución Industrial su producción ha ascendido vertiginosamente y las emisiones que este crecimiento conlleva han causado algunos de los problemas ambientales más graves, como la degradación y muerte de flora y fauna y daños directos en el hombre. La actividad industrial y minera genera aguas residuales que contienen metales tóxicos como plomo, mercurio, cadmio, arsénico y cromo, todos muy dañinos para la salud humana y para la mayoría de formas de vida. Las aguas residuales no tratadas derivadas de estas actividades llegan a los ríos y mares, contaminando tanto las aguas superficiales como las subterráneas y acumulándose en las plantas y otros tejidos orgánicos, de aquí que pese a ser útiles sea imprescindible controlar su producción como los residuos generados.(RABASCO y CARMEN,2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estableció que la máxima concentración de iones de metales pesados en el agua debe estar en un rango de 0,01-1 ppm, sin embargo, en la actualidad se reportan concentraciones de iones de metales pesados hasta de 450 ppm en los efluentes (PINZON y CARDONA, 2010).

2.2. Metales pesados en el ambiente.

En la actualidad, existe una gran preocupación a nivel mundial, debido al considerable incremento en los índices de contaminación de

efluentes industriales por parte de metales pesados tales como el cromo, níquel, cadmio, plomo y mercurio (CARTAYA *et al.*,2008).

Estas sustancias tóxicas tienden a persistir indefinidamente en el medio ambiente, comprometiendo el bienestar y equilibrio no solo de la fauna y la flora existente en dicho ecosistema sino también la salud de las personas residentes en las comunidades aledañas, mediante su acumulación e ingreso a la cadena trófica (GARCIA *et al.,* 2011).

Entre los diversos efectos producidos por los metales pesados en las plantas se tiene, la necrosis en las puntas de las hojas, la inhibición del crecimiento de las raíces y en el peor de los casos la muerte total de la planta. En los seres humanos los metales pesados pueden llegar a ser muy tóxicos al introducirse en el organismo. En elevadas concentraciones, estos pueden ocasionar: erupciones cutáneas, malestar de estómago (úlceras), problemas respiratorios, debilitamiento del sistema inmune, daño en los riñones e hígado, hipertensión, alteración del material genético, cáncer, alteraciones neurológicas e incluso la muerte (GOMEZ *et al.,* 2013).

Dentro de los principales sectores industriales, que son fuentes de contaminación de metales pesados se encuentran: la minería, industria del cemento, colorantes, curtiduría, galvanoplastia, producción de acero, material fotográfico, pinturas corrosivas, producción de energía, fabricación de textiles, conservación de la madera, anodizado de aluminio, refrigeración por agua entre otras (PEREZ *et al.,* 2009).

Cuadro 1. Actividades industriales y comerciales que generan contaminantes del agua.

Tipo de industria	Contaminantes del agua
Acumuladores / baterías	Plomo, Cromo, Níquel, Cadmio, Arsénico
Refinerías	Aceite/diesel, BTEX, Plomo
Pinturas / Lacados	Disolventes (clorados y otros), cromo, cobre cadmio, plomo, zinc, estaños, ftalatos
Curtidos	Disolventes (clorados y otros), cromo, cobre, cadmio, níquel, arsénico, zinc
Fábrica de gas	Fenoles, PAH, BTEX, cianuros, azufre
Galvanización	Disolventes, cromo, cobre, cadmio, zinc, arsénico, plomo, cianuros
Industria de plástico	Disolventes, ftalatos, plomo, cadmio
Química de síntesis	Disolventes (clorados y otros), arsénico, cromo
Astilleros	Disolventes (clorados y otros), PAH, aceite, cadmio, cobre, cromo, níquel, cadmio, aceites
Chatarrerías	Plomo, cobre, cromo, níquel, cadmio, aceites
Industria farmacéutica	Disolventes (clorados y otros)
Fundiciones / Acerías	Cadmio, cobre, cromo, níquel, plomo, zinc,

Continuación del *Cuadro 1. …*

Tipo de industria	Contaminantes del agua
Fundiciones / Acerías	Molibdeno, aceites, fenoles, BTEX, disolventes clorados
Gasolineras	Aceite / diesel, BTEX, plomo, MTBE
Textiles e impregnación	Disolventes (clorados y otros), pentaclorofenol, cromo, cadmio, níquel
Imprenta y artes gráficas	Disolventes (clorados y otros), plomo, cobre, mercurio, cromo, níquel
Talleres y garajes	Aceite, BTEX, mercurio, cadmio
Fabricación de pesticidas	Disolventes (clorados y otros), pesticidas, arsénico, mercurio, cromo, cobre

Fuente. Monreal *et al.,* 2006, citado por MORALES y RUIZ, (2008)

Cuando los contaminantes mencionados se encuentran en altos niveles en los vertimientos de industrias, pueden causar cambios físicos, químicos y biológicos dentro de los cuerpos de agua, tales como turbidez, viscosidad, aumento de la demanda de oxígeno, cambios bruscos en el pH, entre otros. Igual pueden generar a la muerte de organismos superiores, además de comprometer seriamente la calidad del agua que sea requerida para consumo humano (SARKAR *et al.,* 1997).

2.2.1. Plomo

En su forma elemental es de color blanco plateado y se vuelve de color gris azulado cuando se expone al aire. Pertenece al Grupo IVA de la Tabla Periódica. Sus propiedades incluyen: un bajo punto de fusión, alta densidad, facilidad de fundición, baja resistencia, maleabilidad, facilidad de fabricación, resistencia a los ácidos, y resistencia a la corrosión.

En la naturaleza el plomo se encuentra con el mineral de zinc, plata y cobre y se extrae junto con estos metales. La minería produce más del 90 por ciento del consumo mundial actual y el reciclaje representa alrededor del 10 por ciento del total del consumo mundial de plomo. Aproximadamente tres cuartas partes del consumo de plomo se utiliza principalmente en la fabricación de baterías, mientras que un quinto en láminas de plomo para el techado de viviendas, para la fabricación de municiones, balas de plomo para escopetas, en aleaciones metálicas, revestimientos de cables y para los aditivos de la gasolina.

Sobre los productos que contienen plomo, cabe señalar que el plomo se utiliza para un número de aplicaciones debido a su suavidad y plomo puro se utiliza sólo para unas pocas aplicaciones. En las aplicaciones metálicas, el plomo es más a menudo aleado con pequeñas cantidades de antimonio (por ejemplo, en baterías, revestimientos y envolturas de cables), de cobre (por ejemplo, en hojas de plomo y tuberías de plomo), de calcio (por ejemplo, en baterías) o de plata (por ejemplo en soldaduras). Además, el plomo se utiliza como elemento de aleación en las aleaciones de cobre, bronce y estaño.

El uso del plomo a gran escala se debe a su bajo punto de fusión, la facilidad de fundición, alta densidad, baja resistencia, facilidad de fabricación, resistencia a los ácidos, resistencia a la corrosión, reacción electroquímica con ácido sulfúrico y la capacidad para atenuar las ondas sonoras, las radiaciones ionizantes y las vibraciones mecánicas. Los cambios más significativos en el patrón de uso general son el aumento del consumo de baterías, y una disminución en las áreas de revestimiento de cables y aditivos de gasolina.

La toxicidad de este metal es altamente conocida y estudiada. El plomo puede ser absorbido por inhalación, ingestión, contacto dérmico o transferido por la placenta.

Los síntomas iniciales de intoxicación por plomo se relacionan con trastornos psíquicos, puesto que afecta al sistema nervioso central. Afecta también al hígado, riñón y sistema reproductivo.

Los niveles permitidos en la actualidad por la EPA y OMS para plomo en aguas potables se sitúan en 0.05 mg/L y 10 µg/L, respectivamente (MUDHOO *et al.,* 2012).

2.2.2. Cobre

El cobre es un metal rojo que aparece en la naturaleza principalmente como compuestos de Cu (II), que presentan propiedades muy distintas al metal. Una de las mayores aplicaciones es su utilización como conductor, ya que, además de la plata, el cobre es el elemento que presenta mejores propiedades para conducir el calor y la electricidad. También se

emplea cobre en tuberías, utensilios de cocina, en material químico y farmacéutico y como pigmento (MERIAN y CLARKSON, 1991).

Se trata de un elemento esencial para el ser humano, sin embargo grandes dosis pueden resultar extremadamente tóxicas para los organismos vivos. Algunas evidencias indican que incluso puede ser un elemento carcinogénico. Puede causar daños a la fauna acuática y es Fito-tóxico (MUDHOO *et al.,* 2012). Una acumulación de cobre en los tejidos puede dar lugar a la enfermedad de Wilson, que es hereditaria y que afecta al sistema neurológico, a la vista y al hígado (MERIAN y CLARKSON, 1991).

RODIER (1996) menciona que el cobre puede encontrarse en forma de trazas, es decir inferior a 1 mg/l en ciertas aguas naturales. Las normas americana y la reglamentación francesa indican como dosis limite la cantidad de 1 mg/l. las normas europeas precisan como concentraciones limite la dosis de 0.05 mg/l.

2.2.3. Impacto ambiental de los metales pesados

El impacto ambiental generado por estas sustancias toxicas ha llevado a la comunidad científica a desarrollar diferentes métodos para el tratamiento de los efluentes industriales contaminados con estas sustancias, entre los cuales están: precipitación, oxido-reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico, tecnologías de membrana y recuperación por evaporación. Sin embargo, estos métodos han resultado bastante costosos e ineficientes especialmente cuando la concentración de los metales es muy baja, además de la formación, disposición y almacenamientos de lodos y

desechos, originados durante los procesos, lo cual se convierte en un problema mayor a resolver (SALA *et al*., 2010).

La bioadsorción, surge como una alternativa que llama la atención en la remoción de iones de metales pesados en los efluentes industriales, ya que, es una tecnología que permite no solo removerlos, si no también, darle un tratamiento a los desechos agrícolas que antes no tenían ninguna utilidad, además, estos materiales biosorbentes son de bajo costo y fácil adquisición Entre las ventajas que presenta la bioadsorción, en comparación con las técnicas convencionales se tiene: bajo costo, alta eficiencia, minimización de productos químicos y lodos biológicos, no se requieren nutrientes adicionales, regeneración de los biosorbentes, y posibilidad de recuperación de metales. Sin embargo, a pesar de las ventajas que presenta este método de remoción de metales pesados, se encuentra aún en su etapa de investigación y no se le ha transferido conocimiento tecnológico, por esta razón en la actualidad no ha sido implementado a nivel industrial (TEJADA *et al*., 2014).

2.3. Fungi

Los fungí, taxonómicamente ubicado en el Dominio Eucarya, Reino Fungi, son organismos eucariotas, poseen pared celular y esporas de diversos tipos y forman un grupo coherente filogenéticamente hablando se reconocen tres grupos: fungí filamentosos (mohos), fungí unicelulares (levaduras) y las setas (micomicetos). Los hábitats de los fungí son bastante diversos. Algunos son acuáticos, la mayoría es terrestre, crecen en suelos o sobre materia orgánica en descomposición y contribuyen notablemente a la

mineralización del carbono orgánico. Un gran número son parásitos (BROCK y MADIGAN, 1982).

Tradicionalmente se agrupan aproximadamente. en 103 órdenes, 484 familias, 1979 géneros y unas 100 000 especies descritas. Se dividen en grupos o subdivisiones: *Ascomycotina, Basidiomycotina, Chytridiomycotina*, *Zygomycotina* y los Fungi Imperfecta (MUELLER, 2001).

2.4. Fungi ligninolíticos

Los fungi tanto por su capacidad ligninolítica como por su distribución, son los organismos ligninocelulolíticos por excelencia. Producen enzimas capaces de degradar todos los componentes de las paredes celulares de las plantas (celulasas, xilanasas, pectinasas y ligninasas). Entre ellos existen algunos con mayor capacidad degradativa de lignina, los que producen la llamada pudrición blanca u hongos de la podredumbre blanca y forman el grupo más importante de microorganismos responsables de la biodegradación del polímero natural más complejo que existe, la lignina (Kirk y Farrell, 1987; citados por CARABAJAL, 2014).

Polímero natural vegetal no polisacárido de estructura fenólica reticulada. Al ser la lignina de estructura compleja su degradación nos indica que este fungi presenta enzimas altamente especializadas en romper los enlaces entre los ácidos y alcoholes fenilpropílicos.

La capacidad de degradar la lignina se debe a la producción de enzimas extracelulares (catalizadores biológicos, que son producidos por los

fungi y secretan al exterior), las cuales oxidan la lignina para descomponerla. Este proceso de degradación se lleva a cabo, esencialmente por tres enzimas: la lacasa, manganeso peroxidasa y la lignina peroxidasa. Esta capacidad hace que estos fungi se puedan utilizar en diferentes industrias (GONZALEZ *et al.,* 2014).

Los fungi tienen muchas ventajas que facilitan su estudio en procesos de biorremediación, pues están presentes en sedimentos acuáticos y en hábitats terrestres y sus hifas pueden penetrar el suelo contaminado además de producir enzimas extracelulares que degradan los contaminantes (RODRÍGUEZ, 2005).

Los hongos, incluyendo las levaduras, han recibido especial atención con relación a la biosorción de metales, particularmente porque la biomasa fúngica se origina como un subproducto de diferentes fermentaciones industriales. La acumulación de iones por biomasa íntegra parece que se lleva a cabo principalmente por biosorción independiente del metabolismo, siendo la pared celular el principal sitio de acumulación. Células impermeabilizadas con carbonato o detergente, pueden aumentar su captación y acumular metales como gránulos o depósitos intracelulares (MARTIN *et al.*, 2004).

2.4.1. *Pycnoporus sanguineus*

2.4.1.1. Taxonomía

Reino: Fungi

División: Basidiomicetos

Clase: Agaricales

Subclase: Aphyllophomycetidae

Orden Polyporales

Familia: Polyporaceae

Género: *Pycnoporus*

Especie: *P. sanguineus* (L.) Murrill (1904)

2.4.1.2. Descripción

Pycnoporus sanguíneus (L.) Murrill (1904) es un fungi de la pudrición blanca saprófito. Fue descubierto en la isla de Guana (parte de las Islas Vírgenes), pero se produce en todos los trópicos, por lo general crecen en maderas muertas. Crece en la forma de un conk seco delgada con un accesorio lateral a su sustrato, es de color naranja brillante en todas las superficies con zonación concéntrica, y los poros de la parte inferior son minutos. Es comestible y probablemente tóxicos (LOMASCOLO *et al*., 2011).

Fuente. LOMASCOLO *et al*. (2011)

Figura 1. *Pycnoporus sanguíneus* (L.) Murrill (1904)

Este fungi forma parte de la familia Polyporaceae la cual abarca no solo los fungi más fuertemente ligninolíticos sino lo más eficientes degradadores de la madera. *P. sanguineus* (L.) Murrill (1904) es de color anaranjado intenso y es debido a ese carácter que este hongo es uno de los más fácilmente observables y además es muy frecuente; se le encuentra no solamente en ambientes naturales sino creciendo en troncos de parques y plazas en zonas urbanas. El característico color anaranjado se lo dan los compuestos cinabarina, tramesanguinea y ácido cinabarínico los cuales también poseen actividad antibiótica y antiviral (LOMASCOLO *et al*., 2011).

2.5. Procesos de remoción de metales pesados

La pared celular realiza la retención del metal mediante una interacción fisicoquímica del metal con grupos amino e hidroxilo propios de la quitina presentes en la pared, al igual que grupos fosfato, sulfhidrilo y carboxilo.

Esta interacción se traduce en la formación de un enlace covalente coordinado pues el ion metálico actúa como un átomo central que dispone de orbitales vacíos capaces de aceptar pares de electrones. Estos pares de electrones son precisamente donados. La formación de este enlace, puede estar acompañada por la dislocación de protones y dependiente en parte del grado de protonación de la pared que es determinado por el pH (Gupta *et al.*, 2000 y Navarro *et al*., 2006 citados por MORALES y RUIZ, 2008), en los biorreactores Air Lift se desarrolla un proceso de bioadsorción de metales pesados como Pb (II) y Cu (II) con las células vivas del hongo *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill (1904).

2.5.1. Mecanismo del proceso de bioadsorción

La biosorción de iones metálicos en microorganismos implica una combinación de varios mecanismos de unión de metal, incluida la adsorción física, intercambio iónico, complejación o secuestro y precipitación (AHALYA *et al.,* 2003):

2.5.1.1. Adsorción física

Las fuerzas de Van der Waals (interacción electrostática) toman un espacio entre los iones metálicos en la solución y la pared celular de los microbios.

El material biológico puede adsorber una variedad de metales. La respuesta de las células microbianas a altas concentraciones de metales pueden ser una o más de las siguientes (que en algunos casos pueden conferir un grado de tolerancia al metal):

- Exclusión del metal de la célula.
- Excreción dependiente de energía de los metales absorbidos en la célula.
- Secuestro intracelular mediante proteínas específicas, algunas de las cuales son conocidas como metalioninas.
- Secuestro extracelular, bien en la pared celular o en polisacáridos extracelulares y modificación química del metal.

2.5.1.2. Complejación

La eliminación de iones metálicos de una solución acuosa se produce por la formación compleja de metales en la superficie celular después de la interacción entre iones metálicos y grupos activos de la pared celular. Los iones metálicos pueden ser biosorbidos o complejados por grupos carboxilo encontrados en polisacáridos microbianos u otros polímeros.

Resultados similares en la biosorción de galvanoplastia de metales pesados fueron descritos para algunos fungi basidiomicotinos (JAVAID y BAJWA, 2008). Los grupos activos responsables son los siguientes:

Cuadro 2. Grupos funcionales responsables de la bioadsorción de metales.

Formula	Grupos básicos	Formula	Grupos ácidos
$-NH_2$	Amino	-COOH	Carboxilo
=NH	Imino	$-SO_3H$	Sulfónico

-N=	Nitrógeno cíclico y no cíclico	$-PO(OH)_3$	Fosfónico
=CO	Carbonil	-OH	Enolico, Fenólico
-O-	Éter	=N-OH	Oxima
-OH	Alcohol	-SH	Tiol

Fuente. Yahaya *et al.,* 2009; Birch y Bachofen, 1990; Le Cloirec *et al.,* 2003, citado por YUS y MASHITAH, (2014).

El secuestro o acomplejamiento interno o externo de los metales significa que el material biológico puede unirse a altos niveles de metales, de hasta el 30% del peso seco. El uso del material biológico para eliminar metales de los residuos puede hacerse de dos maneras, la primera es la destoxificación de las aguas residuales y la segunda la recuperación de metales valiosos como el oro (Vilchez *et al*., 1997 citado por SCRAGG, 2001).

La adsorción de metales de las aguas residuales por organismos vivos puede ser activa, pasiva o ambas. La adsorción pasiva es independiente del metabolismo celular e implica la unión de los metales a la pared celular polianiónica o el intercambio de iones de la pared celular. Los polisacáridos extracelulares microbianos también pueden unirse a metales (Richau *et al*., 1997 citado por SCRAGG, 2001).

La adsorción pasiva es rápida, y no se ve afectada por los inhibidores del metabolismo, pero se afecta por las condiciones físicas, tales como el pH y la fuerza iónica. La unión pasiva es reversible y puede ocurrir con material vivo o muerto (Lovley y Coates, 1997 citado por SCRAGG, 2001). La

adsorción activa de metales es más lenta que la adsorción pasiva, depende del metabolismo celular y se ve afectada por los inhibidores metabólicos, los desacopladores y la temperatura. En la adsorción activa de metales estos se acomplejan con proteínas específicas, tales como las metalotioneinas, o son contenidos en la vacuola. La adsorción activa y pasiva puede ocurrir al mismo tiempo y son relativamente no específicas en términos del metal adsorbido. Está demostrado que la bioadsorción puede ser económicamente competitiva con las técnicas químicas (Eccles, 1995; citado por SCRAGG, 2001).

2.5.1.3. Intercambio iónico

El intercambio iónico se expresa como una reacción en equilibrio en donde los reactivos que actúan, están en cantidades químicamente equivalentes y se desarrolla hasta que se ha agotado la capacidad estequiométrica (Castro, 1998, citado por MORALES y RUIZ, 2008).

Los polisacáridos que existen en las paredes celulares de microorganismos consisten en iones como K+, Na+, Ca2+, y Mg2+, este intercambio iónico con los iones metálicos resultan en la adsorción de los mismos (KUYUCAK y VOLESKY, 1988; MURALEEDHARAN y VENKOHACHR, 1990).

2.5.1.4. Precipitación o quelación

Este mecanismos depende del metabolismo celular; la eliminación de iones de metales pesados de soluciones acuosas a menudo se asocia con la defensa activa del sistema del microorganismo. Este sistema activo produce compuestos que pueden favorecer la precipitación.

La quelación implica inmovilizar un ion metálico con bajo peso molecular para crear un complejo o una molécula químicamente estable. Algunos estudios revelan que la resistencia de los fungi de la pudrición blanca y café de la madera a sales de metales pesados, se debe al desarrollo de sideróforos o quelantes, entre los que se destacan el catecol y el ácido oxálico. El catecol moviliza hacia el interior de la célula fúngica el hierro (Reyes, 2007 citado por MORALES y RUIZ, 2008).

El ácido oxálico es capaz de inmovilizar iones metálicos para formar sales de oxalato en forma de cristales disminuyendo la solubilidad por ende la disponibilidad de estos en el medio (Malagre *et al*. 2002 citado por MORALES y RUIZ, 2008).

2.5.2. Factores que afectan la remoción de metales

El proceso de adsorción se ve influenciado por diferentes factores como el pH, la temperatura, la naturaleza del adsorbente, el tipo y concentración de adsorbato, entre otros (Hidalgo *et al.*, 2004; citado por MORALES y RUIZ, 2008).

a. pH

La pared fúngica a pH menores de 3.5, sufre una protonación de los grupos fosfatos y carboxilos cargándolos positivamente o menos negativo, lo cual permite que se promueva una repulsión electrostática entre los iones metálicos y la pared, al mismo tiempo se origina una competencia entre protones como el H^+ y los metales. Por el contrario a pH por encima de 4 y menores de 6 la carga negativa de la pared favorece un acercamiento aniónico con los iones del metal (Loukidou, 2004 citado por MORALES y RUIZ, 2008).

b. Naturaleza del adsorbato

El adsorbato es un factor influyente en el equilibrio de adsorción. Existe una regla general consiste en que el soluto polar preferirá la fase que es más polar. En otras palabras, un soluto polar será fuertemente adsorbido por un adsorbente polar, cuando esté en un disolvente no polar (Castro, 1998 citado por MORALES y RUIZ, 2008).

Otro factor referente a la naturaleza del adsorbato en el caso de los metales, se refiere al radio atómico del metal, pues se cree que a mayor tamaño de este disminuye la afinidad por los ligandos de la pared (Quingbiao *et al.,* 2004 citado por MORALES y RUIZ, 2008).

c. Concentración inicial de metal

Para determinar la efectividad de un material sorbente hay que conocer cuál es la cantidad máxima de metal (la capacidad máxima) que puede

adsorber (Hidalgo *et al.*, 1998 citado por MORALES y RUIZ, 2008).

d. Temperatura

La temperatura adecuada para una alta remoción de metales con fungi está entre 25 – 30 °C, además sugiere que la temperatura puede afectar a la adsorción física entre el metal y el fungi (Quingbiao, 2004; citado por MORALES y RUIZ, 2008).

e. Mecanismos enzimáticos

Los fungi de la podredumbre blanca tienen un sistema enzimático el cual está comprendido por las enzimas Lignina peroxidasa (LiP), que por síntesis endógena de H_2O_2, oxida veratril alcohol, a la vez oxida compuestos aromáticos no fenólicos, Manganeso peroxidasa (MnP) que oxida componentes fenólicos de la lignina, mediante la reacción de oxidación del Mn^{2+} a Mn^{3+} , la cual es dependiente del H_2O_2 y Lacasa (LAC), una fenol oxidasa con cobre, que oxida anillos de la lignina (Pointing, 2001 citado por MORALES y RUIZ, 2008).

2.6. Aplicaciones de fungi en la remoción de metales pesados

Estudios hecho por varios investigadores muestran que *Pycnoporus sanguineus* es adecuado para eliminar metales de aguas residuales a diferencia de otros microbios debido a su tolerancia hacia los metales pesados y otras condiciones adversas, como pH bajo, presentan una pared celular densa, toda capacidad de unión de enlace y alta capacidad de

captación de metal intracelularmente (GADD, 1989; MASHITAH *et al.,* 2008). Se reportó la capacidad de adsorción de iones metálicos (Cd, Cu y Pb) de soluciones acuosas con células muertas y vivas de *P. sanguineus*, en lotes o columnas (CRUZ *et al*., 2004; MASHITAH *et al*., 1999; ZULFADLY *et al*., 2001; YUZ *et al.,* 2008; YAHAYA *et al.,* 2009).

Según MORALES y RUIZ (2008) indican que *Phanerochaete chrysosporium* fue la cepa con mayor tolerancia a cadmio, níquel y plomo. Creciendo en concentraciones de 1500 mg/L, 300mg/L y 10000 mg/L, con tiempos mínimos de dos, cinco y tres días respectivamente.

ACOSTA *et al. (*s.d.) realizaron un estudio donde aislaron 7 fungi resistentes (5 *Aspergillus flavus* I, II, III, IV, V y 2 *Aspergillus fumigatus I, II*) a metales pesados a partir de desechos mineros y determinaron la capacidad de remoción de metales pesados y flúor en solución, en el cual se concluyó que presentan resistencia a 500 ppm de Pb, Cu y Zn, y a 200 mg/L de Ag, mientras que son muy sensibles a Cd, As y Hg. Sus biomasas muestran diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de captación de los distintos metales pesados y flúor en solución. El Cu fue removido en un rango de 17.2% a 51% por los 7 fungi y el cadmio entre 8% y 47%.

Según SÁNCHEZ *et al.* (2014), mencionan que el fungi *Penicillium sp.*, es un potencial biosorbente de metales pesados ya que presenta alta capacidad de eliminar plomo, cadmio y mercurio en solución acuosa. A 51.5 mg/L se pudo encontrar los mayores porcentajes de remoción de los

contaminantes tóxicos.

A medida que aumentan las concentraciones (hasta 103 mg/L) de los metales en la solución la capacidad de adsorción se va manteniendo constante, esto es debido a la saturación de los sitios disponibles en la superficie de biosorbente. A mayor temperatura hasta 60°C mayor es la eficiencia de remoción de estos metales.

MARTIN *et al*. (2004) menciona que el elevado valor de la relación superficie/volumen celular de los fungi filamentosos les convierte en eficaces degradadores en determinados nichos como los suelos contaminados. Por otra parte, los fungi tienen una capacidad muy notable para acumular metales pesados como cadmio, cobre, mercurio, plomo y zinc, lo que está demostrado por los aislamientos realizados en minas de cobre, zinc o plomo.

2.7. Biorreactores

Un biorreactor es cualquier dispositivo empleado para que se lleven a cabo una o más reacciones bioquímicas para convertir cualquier material inicial (sustrato) en productos. La conversión ocurre a través dela acción de un biocatalizador como las enzimas, microorganismos, células de animales y plantas, o estructuras sub celulares como cloroplastos y mitocondrias (LOPEZ, 2018).

El sustrato inicial puede ser un compuesto orgánico simple, un compuesto inorgánico o materiales complejos. Los productos de conversión

pueden ser células (biomasa) y compuestos químicos de diversas clases. El proceso que ocurre en un biorreactor puede ser resumido como la biocatálisis de un sustrato que forma productos deseados. Los biorreactores son utilizados en toda clase de procesos, incluyendo aquellos relacionados con la preparación de alimentos, para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales, en la fabricación de vacunas y antibióticos, etc. (LOPEZ, 2018).

Existen diferentes tipos de biorreactores, entre los que se puede mencionar a los que utilizan agitación mecánica (Reactores Agitados Mecánicamente o RAM); algunos que aprovechan el aire suministrado con fines de mezclado (reactores con agitación neumática) como son las columnas de burbujeo o los reactores airlift; los que utilizan el bombeo de parte del mismo medio para el mezclado (biorreactores de chorro) y otros que se utilizan para el cultivo de células o enzimas inmovilizadas, como los reactores de lecho fijo, lecho fluidizado y los de membrana. De todos éstos los más comunes son los RAM, las columnas de burbujeo y los reactores air lift (LOPEZ, 2018).

Los biorreactores no convencionales son actualmente el objeto de estudio en muchos laboratorios de ingeniería bioquímica; el éxito de un proceso de fermentación industrial depende altamente del desempeño del reactor (LOPEZ, 2006).

2.7.1. Tipos de biorreactores

Tanque agitado

Reactor con agitación mecánica interna y entrada del gas en el fondo por medio de una flauta u otro tipo de dispersor –Figura 3 a-. En éste grupo se incluye el tradicional tanque agitado (STR).

Columna de burbujeo

Es el equipo de contacto gas-líquido más sencillo que podemos, consiste en un tubo largo con una boquilla de entrada del gas en el fondo, pueden contener platos perforados para la redistribución de la fase gaseosa

Reactores de corrientes

En este tipo encontramos todos aquellos que poseen lazos internos de recirculación:

Reactores de corrientes con impulsor

Son aquellos en que el movimiento se produce por el uso de un impulsor que genera un lazo interno de recirculación.

Biorreactores Air lift

En esta categoría se incluyen las columnas de burbujeo que poseen recirculación, la cual es producida por el movimiento fluido de las fase gaseosa dispersa. Los reactores Air lift están agitados neumáticamente y la circulación tiene lugar en un modelo cíclico definido a través de un conducto que divide el reactor en dos zonas: una de flujo ascendente y una de flujo descendente. La zona de difusión de gas del aro, tiene mayor retención de gas que la zona relativamente libre de gas, dónde el flujo es descendente. Un sistema de tratamiento biológico tipo Air lift, consiste básicamente en una

columna en cuyo interior se encuentra una fase liquida móvil que contiene al lecho filtrante en suspensión y una fase continua de reacción de gas o líquido (LOPEZ, 2006).

Para BLENKLE *et al.*, (2002), un reactor de biopelicula de lecho circulante típico tiene dos fases: una fase sólida y una fase liquida que crean el movimiento de los sólidos dentro del biorreactor. Pueden estar presente también una fase gaseosa la cual proporciona el sustrato gaseoso y/o generar el movimiento de la biopelícula. Los contaminantes a ser degradados por la biopelícula deben estar presentes en la fase liquida.

Según ZUBER *et al.*, (1997), los biorreactores del tipo Airlift son extensamente utilizados para el tratamiento de agua; sin embargo, su aplicación al tratamiento de gases ha sido escasamente desarrollada. Originalmente los biorreactores Airlift se desarrollaron para el pos tratamiento de aguas industriales tratadas anaeróbicamente, existiendo instalaciones a nivel industrial en funcionamiento.

Los biofiltros han sido utilizado extensamente en el pasado para tratar gases contaminantes, sin embargo en la actualidad los reactores Airlift han sido recientemente estudiados y utilizados para la eliminación de hidrocarburos volátiles, de los solventes y d e otros contaminantes orgánicos, tales como el benceno, xileno y etilbenceno). A pesar de que los biofiltros han ganado la aceptación pública como sistema de tratamiento, presentan ciertas desventajas a largo plazo, las que repercuten en la eficiencia de eliminación de estos sistemas (EDWARDS *et al.,* 2002).

El desempeño del bioreactor Airlift, depende del tipo de contaminante tratado y sus concentraciones, así como también de los criterios de diseño. Cuando se encuentran los criterios óptimos de diseño y operación, las bacterias con capacidad de formar biopelícula se adsorberán sobre el lecho lecho de soporte y permitirán posteriormente la corrección del pH (MITRANDA *et al*., 2006).

El biorreactor Airlift, así como la columna de burbujeo, son reactores sin agitación mecánica, en los que la aireación y la mezcla se realizan mediante la inyección de gas, estos sistemas son de difícil escalado. Como alternativa se puede considerar el uso de microburbujeadores, que aunque involucran un costo de capital relevante, la inversión se puede recuperar en el escalado de la producción por los bajos costos de operación.

Una gran cantidad de procesos químicos o bioquímicos en ingeniería se basan en reacciones que ocurren entre moléculas que se encuentran separadas por una fase gaseosa y una líquida. Los dispositivos utilizados para cumplir con la operación, recibe el nombre de aireadores, contactores gas líquido, absorbedores, etc.

La propiedad más importante de estos equipos es la de mejorar el contacto gas-líquido para que la reacción pueda ser llevada a cabo.

Estos equipos se dividen en dos según la forma en que ocurre la transferencia a la fase líquida: contactores de superficie y contactores de volumen, (o aireadores de superficie y volumen respectivamente). Y según su eficacia en la aireación:

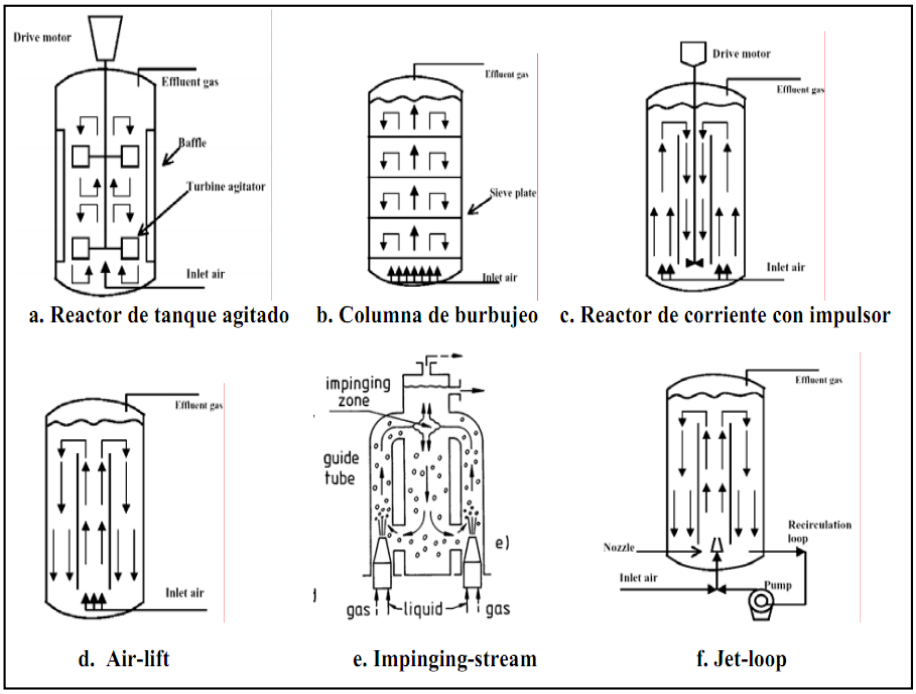


Figura 2. Configuración de diferentes biorreactores.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación y descripción del área de estudio

3.1.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se ejecutó en las instalaciones del laboratorio de Microbiología de la carrera profesional de ingeniería ambiental de la facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

3.1.2. Ubicación política

El laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicado en el Distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado y Región Huánuco. Se encuentra al margen derecha del rio Huallaga, por la carretera Fernando Belaunde Terry.

3.1.2. Ubicación geográfica

Geográficamente la ciudad de Tingo María está ubicado entre las siguientes coordenadas: latitud 09° 18' 00'' longitud 76° 01' 00'' a una altitud de 660 m.s.n.m. y el Laboratorio de Microbiología general en las coordenadas UTM (E: 390533M y N: 8970291m) a una altitud de 668 m.s.n.m. dentro del

empalme Tingo María hoja 19-k de la Carta Nacional del Instituto Geográfico Nacional - Región Selva.

3.1.3. Condiciones climáticas

Esta zona se caracteriza por presentar un clima tropical (selva alta), con una temperatura media anual de oscilante entre 22 ^{0}C y 32 ^{0}C alcanzando una temperatura máxima de 36 ^{0}C y disminuyendo a aun mínimo de 17 0^{C}. Durante la ejecución del presente trabajo la temperatura ambiental tomada oscila entre 24^{0}C Y 30 ^{0}C.

Presenta una humedad relativa máxima de 88% y una minina de 74% con una precipitación media anual de 33000mm. Con una presión atmosférica de 0.802 atm.

3.2. Equipos y materiales

3.2.1. Equipos

- Balanza analítica, grado de exactitud de 0.0001g, marca MEDILAB
- pH-metro, marca EXTECH
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica
- Medidor de oxígeno disuelto (Oxímetro), marca HANNA
- Termómetros digitales, marca ROAC
- Centrifuga, marca MIN-Z400
- Cámara de flujo laminar, marca EEE - 1000
- Microscopio binocular CX31- P-Laboratory, marca LEICA
- Autoclave vertical de 20 litros, marca AMERICAN CLINICAL

- Bombas Peristálticas de doble canal, marca EPPENDORF
- Cámara fotográfica, marca SAMSUNG

3.2.1. Materiales

- Reactores biológicos
- Placas petri 100 x 20 mm
- Algodón
- Matraz 250 mL

3.2.2. Reactivos

- Sulfato de plomo ($PbSO_4$)
- Sulfato de cobre ($CuSO_4$)
- Glucosa
- Peptona
- Extracto de levadura
- Fosfato de potasio dibásico 5g/L
- Fosfato de potasio monobásico 1.91g/L
- Sulfato de magnesio 1.09g/L
- Sulfato de Amonio 1g/L
- Alcohol
- Lejía

3.3. Metodología

3.3.1. Recolección y aislamiento de *Pycnoporus sanguineus*

3.3.1.1. Colección y registro de las características de *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill (1904)

Las muestras fueron colectadas a partir de residuos orgánicos (madera en descomposición) del Jardín Botánico de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para ello durante la colección se usó una navaja para extraer los especímenes (carpóforos silvestres), ya que los fructificaciones están fuertemente adheridos al sustrato.

Figura 3. *Pycnoporus sanguineus* sobre madera en descomposición en el Jardín Botánico UNAS.

Posteriormente fueron guardadas en sobres de papel manila y rotulado, tal como lo recomienda CORDOVA (2010), para ser llevados al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Agraria de la Selva para ser

sometidos al proceso de desinfección y posteriormente sembrarlas en su medio de cultivo.

3.3.1.2. Desinfección y aislamiento *Pycnoporus sanguineus*

La desinfección y siembra de las muestras para el aislamiento abordó la limpieza de la cámara de flujo laminar. Se utilizaron placas petri, pinzas y azas de siembra que fueron esterilizadas en la estufa a 160°C por 2 horas o por flameo. Una vez esterilizados se colocaron todos los materiales en la cámara de flujo laminar y se activó la esterilización con luz UV de la cámara por 15 minutos para asegurar su desinfección.

La etapa de desinfección de los tejidos se realizó de acuerdo al protocolo recomendado por CÓRDOVA (2010) y RUIZ (1993) utilizando alcohol al 70% por 1 minuto, hipoclorito de sodio (NaHCl) al 1.5 % por 3 minutos y tres enjuagues en agua destilada estéril. Para ello antes de someter los especímenes a los desinfectantes, las muestras fueron cortadas en pequeños trozos de aproximadamente 0.5 x 0.5 mm, terminada la desinfección estas fueron sembradas en placas con Agar Papa Dextrosa (PDA) y en Agar Extracto de Malta (EM), las cajas Petri fueron selladas con PARAFILM para dejar incubándose a temperatura ambiente hasta que se pudo apreciar el desarrollo micelial. Para asegurar la pureza de los cultivos, se realizó observaciones en estereoscopio de los mismos. Se repicaron en tubos 20 x 150 mm con Agar Sabouraud inclinando para mantenerlos como cepas en refrigeración.

3.3.1.3. Activación de *Pycnoporus sanguineus*

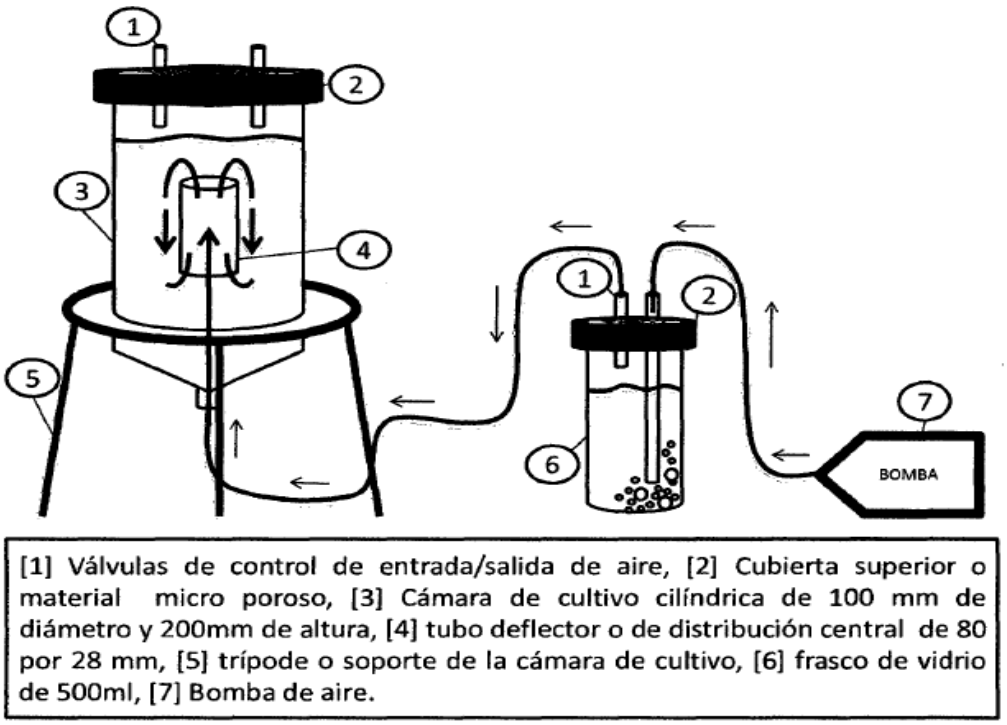
Los fungi se activaron en matraces conteniendo Caldo Sabouraud con glucosa al 4 %.

Previo a la siembra de reactivación, los matraces conteniendo Caldo Sabouraud se esterilizaron en la autoclave luego se dejaron enfriar y se agregó Ceftriaxona (50 mg/L), seguidamente se repicó a partir de los tubos con micelios de las cepas almacenadas en refrigeración, en placas con Agar Sabouraud y se incubó por 5 días a temperatura ambiental.

3.3.2. Determinación de los parámetros fisicoquímicos en los biorreactores

3.3.2.1. Acondicionamiento y desinfección de los biorreactores Air Lift

Los biorreactores que se utilizaron para este trabajo de investigación fueron acondicionados en el laboratorio, se desinfectó con alcohol acido al 1% por 2 días y luego se añadió al biorreactor agua con hipoclorito de sodio por 1 día y finalmente se enjuagó con agua destilada. La fuente de aireación se realizó con una bomba de aire de pecera la que proporcionó 1100 mililitro aire/ min, unos 0.72 vvm (volumen de aire/minuto).



Fuente. CORNEJO, 2015.

Figura 4. Esquema de biorreactor Air Lift.

3.3.2.2. Proceso de fermentación sumergida para la biodegradación

Primeramente se prepararon la solución de medio mínimo de Davis agregado con glucosa (0.25 g/L), extracto de levadura (0.1 %), sulfato de plomo en las concentraciones de 300 mg/L, sulfato de cobre 400 mg/L y en forma conjunta [Pb(II) y Cu(II)] en concentraciones de 300 mg/L y 500 mg/L luego se esterilizó y vertió en los biorreactores cuando la solución se encontraba más o menos a 70 °C para prevenir contaminación del medio. Una vez que la solución en los biorreactores se encuentran a una temperatura de aproximadamente 30°C se procedió a inocular el *Pycnoporus sanguineus* activado.

3.3.2.3. Determinación de las condiciones fisicoquímicas

- **Oxígeno disuelto**

El oxígeno disuelto fue determinado mediante el oxímetro (electrodo de membrana) poniendo el medidor en operación y sumergiendo el electrodo en las muestras, según el método recomendado por la APHA (1992).

- **Temperatura**

La temperatura interna de operación fue medida con termómetros digitales introducidos a los biorreactores.

- **Determinación del pH**

Se tomaron muestras del agua contaminada con los metales pesados, durante el bioproceso, la muestra de agua fue de 20 ml en un vaso de precipitado, a partir de esto se determinó usando el potenciómetro/pH-metro, siguiendo el método indicado por la APHA (1992).

3.3.3. Determinación de la densidad celular fúngica

En un tubo de centrifuga de PVC (VWR) con tapa rosca se tomó una fracción de 50 mL del biorreactor en funcionamiento y totalmente homogéneo, se realizó la disociación por medio de centrifugación a 3500 rpm por 20 minutos para separar la biomasa (sedimento) del sobrenadante en el cual se encontró el plomo y cobre en solución, estos sedimentos fueron enjuagados con agua destilada y fue pasado por un filtro, estos filtros

seguidamente se llevaron a una estufa durante 8 h a 80 °C. Luego fue llevado a un desecador a temperatura ambiente, se pesó y secó por 1 h a 80 °C, esta operación fue repetida hasta que se verificó un peso constante, los resultados fueron expresados en miligramos por mililitro (LÓPEZ, 1998).

$$Biomasa\ \left(\frac{mg}{ml}\right) = X_2 - X_1$$

Donde

X_1: Peso del papel solo

X_2: Peso del papel con biomasa

Los sobrenadantes (efluentes) fueron almacenados en refrigeración (4 a 8 °C) hasta la realización de las pruebas cuantitativas de la presencia del plomo y cobre.

3.3.4. Determinación de metales pesados en el medio

El sobrenadante fue analizado para determinar la concentración de los metales pesados, los datos obtenidos en los análisis de agua nos sirvieron para determinar la eficiencia de remoción del Pb (II) y Cu (II) en el agua mediada por la especie *Pycnoporus sanguíneus.*

3.3.4.1. Plomo

Se determinó la concentración de plomo por el método de absorción atómica a longitud de onda de 217 nm, recomendado por la APHA (1992), utilizado por BELTRAN (2010).

- **Principio**

La muestra está dirigida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por espectrofotometría de absorción atómica (EAA) a una longitud de onda de 217 nm. El contenido de plomo se determinó mediante una curva de calibración.

- **Solución estándar**

Solución estándar de plomo de 1000 mg/L

- **Expresión de los resultados**

Los resultados se expresaron en miligramos de plomo por litro.

3.3.4.2. Cobre

Se determinó la concentración de cobre mediante el método de absorción atómica (APHA, 1992).

- **Principios**

La muestra está dirigida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con llama a 324,8 nm. El contenido de plomo se determinó mediante una curva de calibración.

- **Solución estándar**

Solución estándar de cobre de 1000 mg/L.

- **Expresión de los resultados**

Los resultados se expresaron en miligramos de cobre por litro.

3.3.4.3. Determinación de la eficiencia de remoción

Se calculó mediante una correlación porcentual entre la concentración inicial y final del plomo y cobre en el agua presente en cada biorreactor, según el tratamiento del mismo, mediante la siguiente fórmula:

$$E_r = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

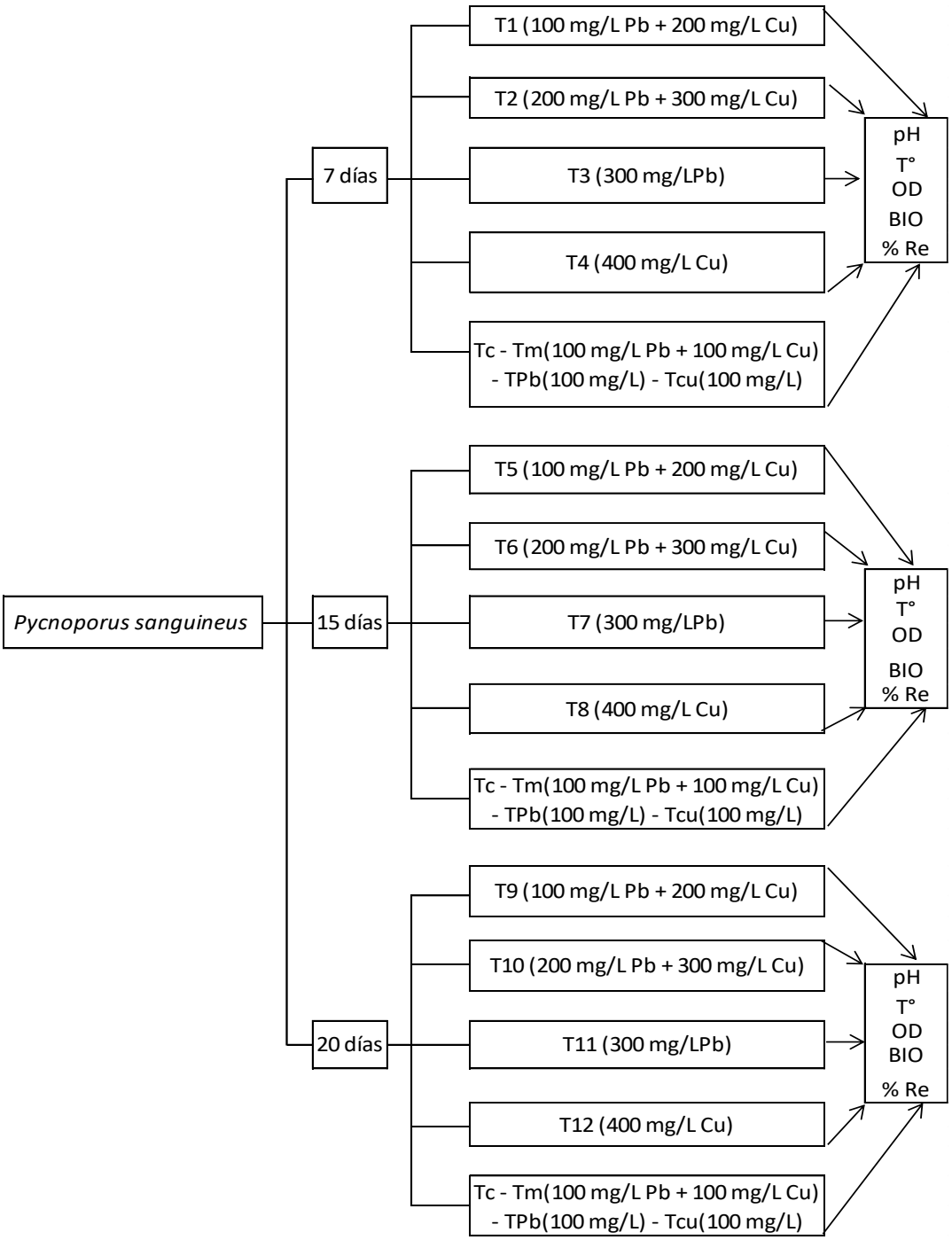
Dónde:

E_r = eficiencia de remoción (%)

C_i = Concentración inicial de metal pesado (mg/L)

C_f = Concentración final de metal pesado (mg/L).

3.4. Diseño de investigación



Leyenda: [Pb]: Plomo (mg/L), [Cu]: Cobre (mg/L), [Dc]: Densidad celular (mg/ml), [%Re]: Eficiencia de remoción, [OD]: Oxígeno disuelto (mg/L), [T]: Temperatura (°C), [pH]: Potencial de hidrógeno.

Figura 5. Diseño experimental.

3.4.1. Variables en estudio

3.4.1.1.Variable independiente

- Presencia del Pb (II) y Cu (II) (Conjunta e individual)

3.4.1.2. Indicador variable independiente

- Concentración de Pb y Cu en mg/mL

3.4.1.3. Variable dependiente

- Remoción de Pb (II) y Cu (II) individual y en forma conjunta por *Pycnoporus sanguineus*

3.4.1.4. Indicador variable independiente

- Eficiencia de remoción en porcentaje (%)

3.4.1.5. Variables intervinientes

- Oxígeno disuelto, temperatura, pH, días de operación

3.4.2. Tipo de investigación

Es experimental de estímulo creciente con cuatro tratamientos, tres tiempos de operación y tres repeticiones. Se aplicó igual volumen de inóculo de *Pycnoporus sanguíneus* y diferentes concentraciones de Pb (II) y Cu (II). Se determinó la eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II), en forma individual y conjunta, y se determinó las densidades celulares en los distintos tratamientos, a tres tiempos de operación. Se procesaron asimismo un testigo de crecimiento fúngico (Tc) sin metales pesados, otro testigo con ambos metales pesados sin fungi (Tm) y testigos individuales de cada metal sin el fungi (T_{Pb} y T_{Cu}). Durante los días de operación se evaluaron las variables intervinientes.

3.4.3. Tratamientos

Los tratamientos estudiados a diferentes tiempos de operación fueron los siguientes:

Cuadro 3. Descripción de los tratamientos.

Tratamientos			Concentración	Concentración
7 días	**15 días**	**20 días**	**Pb**	**Cu**
T1	T5	T9	100 mg/L	200 mg/L
T2	T6	T10	200 mg/L	300 mg/L
T3	T7	T11	300 mg/L	0 mg/L
T4	T8	T12	0 mg/L	400 mg/L
Tc	Tc	Tc	0 mg/L	0 mg/L
Tm	Tm	Tm	100 mg/L	100 mg/L
T_{Pb}	T_{Pb}	T_{Pb}	100 mg/L	0 mg/L
T_{Cu}	T_{Cu}	T_{Cu}	0 mg/L	100 mg/L

Fuente. Elaboración propia.

3.5. Análisis estadístico

3.5.1. Análisis de varianza (ANVA)

Se realizó el ajuste estadístico con un diseño factorial completamente al azar (DCA) con un nivel de significación del 5%. Asimismo se realizó la prueba multiple rangos de diferencia francamente significativo de tukey (HSD Tukey). Se compararon los resultados para su interpretación definitiva con el programa computacional (software) Statgraphics Centurión XV.II en español.

Cuadro 4. Análisis de varianza (ANVA).

Fuente de variación	GL	F_{tab}
A:Presencia del metal pesado	1	3.961
B:Tiempo de operación	2	3.086
C:Concentración	2	3.086
Error experimental	102	
Total	107	

3.5.2. Prueba de múltiple rangos de diferencia francamente significativa de Tukey (HSD Tukey)

Se empleó la diferencia francamente significativa de tukey (HSD – Tukey) afin de determinar entre que tratamientos hubo diferencias significativas, para un nivel de significancia del 5%.

IV. RESULTADOS

4.1. Aislamiento de *Pycnoporus sanguíneus* a partir de muestras residuales orgánicos.

Se obtuvieron 50 cepas de Pycnopurus Sanguineus luego del procesamiento de la muestra (Fig.6)

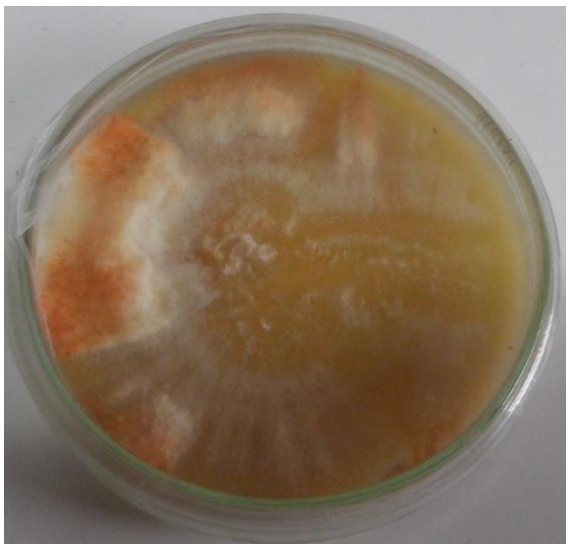


Figura 6. *Pycnoporus sanguineus* aislado en medio PDA.

En la Figura 6. Se muestra el desarrollo micelial fue activado e incubado a temperatura ambiente en medio BHI (Brain Heart Infussion).

4.2. Condiciones físico-químicas en la biorremoción de Pb (II) y Cu (II)

La biorremoción de metales pesados como el Pb (II) y Cu (II) por *Pycnoporus sanguineus* fue evaluada a tres tiempos de operación: 7 días, 15 días y 20 días de operación de los biorreactores Air Lift.

4.2.1. Oxígeno disuelto

Los resultados del oxígeno disuelto en los 3 tiempos de operación en los biorreactores Air Lift se muestran en el cuadro 5 y figura 7.

Cuadro 5. Oxígeno disuelto en los biorreactores a 7 días de operación

Tratamientos		Oxígeno disuelto (mg/L)		
		Inicio	**Día 3**	**Final**
T1	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	6.66	4.46	3.44
T2	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	6.63	3.68	3.35
T3	Pb (300 mg/L)	7.07	5.08	3.69
T4	Cu (400 mg/L)	6.96	4.46	3.54
Tc	Testigo de crecimiento	6.58	4.57	3.29
Tm	Testigo de metales	7.0	6.97	6.7
T_{Pb}	Testigo de Plomo	7.12	7.1	7.0
T_{Cu}	Testigo de Cobre	7.07	6.82	6.64

En el cuadro 5, observamos que los valores obtenidos en el bioproceso, el mayor consumo de oxígeno se detectó en el tratamiento T2 con un valor de 3.35 mg/L, en tanto que valores más altos registraron, al final del bioproceso a 7 días. Los tratamientos T3 (300 mg/L de Pb) con 3.69 mg/L y T4 (400 mg/L de Cu) con 3.54 mg/L. El testigo de crecimiento fúngico mostró valores muy bajos de oxígeno disuelto y una alta densidad de biomasa. Los testigos de metales pesados solos y combinados no registraron variaciones significativas del OD.

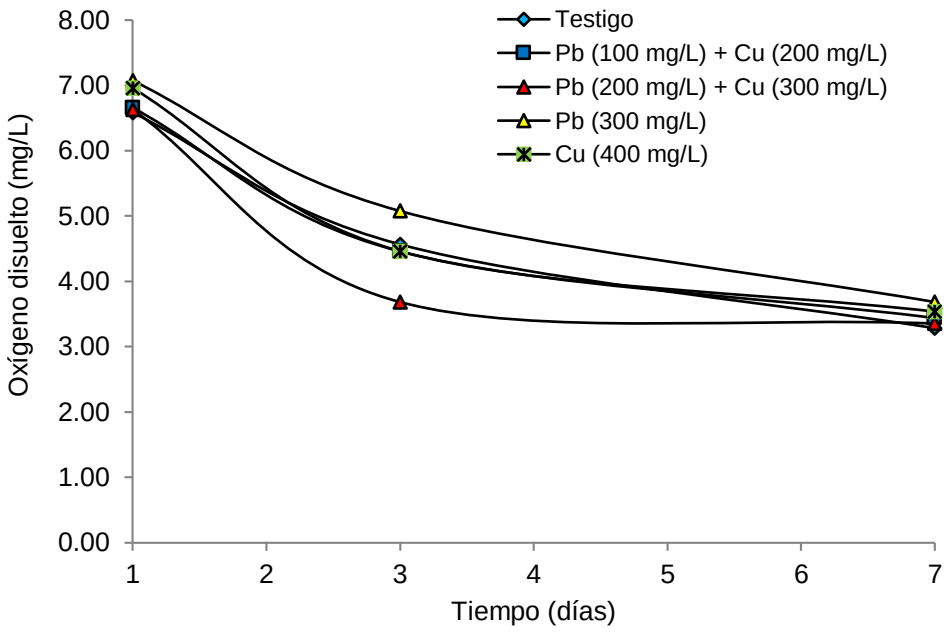


Figura 7. Determinación del oxígeno disuelto a 7 días de operación.

El cuadro 6 y Figura 8 muestra la variación de OD en los tratamientos a 15 días de operación.

Cuadro 6. Oxígeno disuelto en los biorreactores a 15 días de operación.

Tratamiento		Oxígeno disuelto (mg/L)			
		Inicio	5	10	Final
T5	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	6.52	4.27	3.44	3.28
T6	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	6.61	4.55	3.47	3.85
T7	Pb (300 mg/L)	6.59	4.64	3.73	3.52
T8	Cu (400 mg/L)	6.36	4.56	3.57	3.38
Tc	Testigo de crecimiento	6.47	5.14	4.35	4.58
Tm	Testigo de metales	7.05	6.91	6.7	6.7
T_{Pb}	Testigo de Plomo	7.1	7.1	7.0	7.0
T_{Cu}	Testigo de Cobre	7.2	6.93	6.73	6.4

En el Cuadro 6, observamos que los valores más bajos de oxígeno en un bioproceso a 15 días de operación con *Pycnoporus sanguineus,* se registraron al final del bioproceso con valores 3.28 mg/L y 3.38 mg/L para los tratamientos T5 y T8.

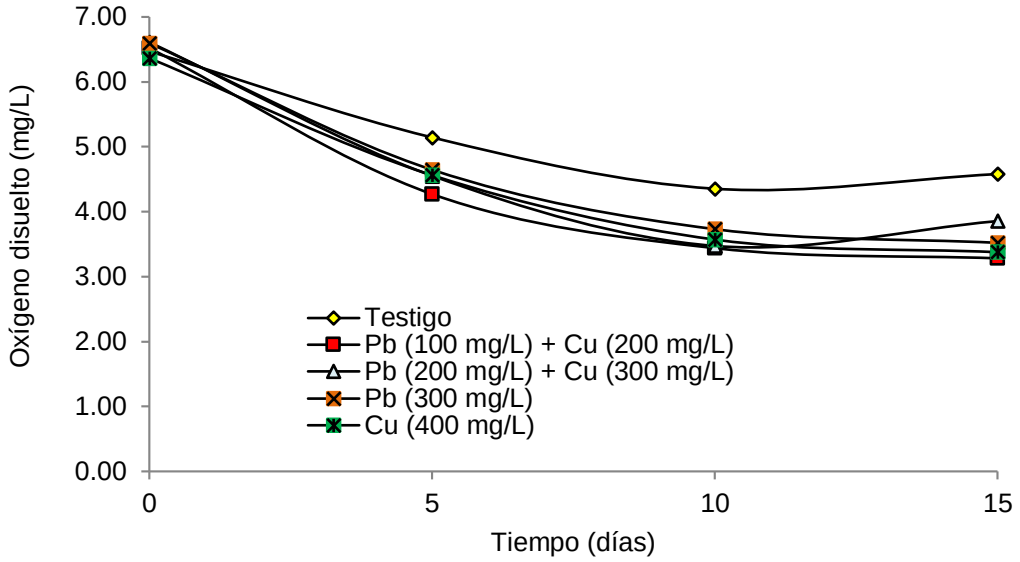


Figura 8. Comportamiento del oxígeno disuelto a 15 días de operación.

En el cuadro 7. Se anotan los valores de OD a los 20 días de operación.

Cuadro 7. Oxígeno disuelto en los biorreactores a 20 días de operación.

Tratamiento		*Oxígeno disuelto (mg/L)*				
		Inicio	*5*	*10*	*15*	*Final*
T9	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	6.16	5.40	4.38	3.40	3.11
T10	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	6.13	5.28	4.17	3.84	3.31
T11	Pb (300 mg/L)	6.31	5.82	4.11	3.42	3.22
T12	Cu (400 mg/L)	6.28	4.84	4.49	3.20	3.30
Tc	Testigo de crecimiento	6.7	5.59	4.97	4.94	4.90

Tm	Testigo de metales	6.93	6.9	6.83	6.67	6.65
T_{Pb}	Testigo de Plomo	7.0	7.01	7.0	7.0	7.0
T_{Cu}	Testigo de Cobre	6.9	6.7	6.66	6.41	6.1

Durante el bioproceso a 20 días de operación se registraron al último día valores bastante bajos de OD (3.11mg/L, 3.31 mg/L, 3.22 mg/L, 3.30 mg/L en los tratamientos T9, T10, T11 y T12 respectivamente.)

En la Figura 9, podemos observar que los valores OD descienden a los 20 días

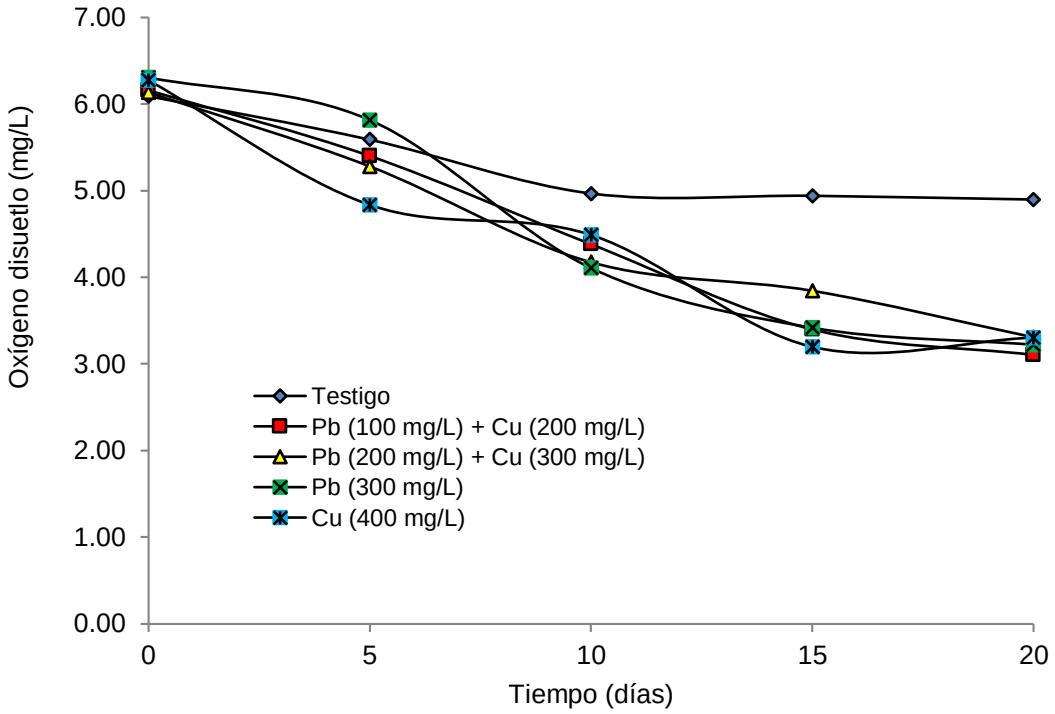


Figura 9. Comportamiento del oxígeno disuelto a 20 días de operación.

En el cuadro 8 se representa los datos registrados en el ANVA para la variación de OD durante el proceso de remoción de Pb y Cu, a lo largo de los bioprocesos en los tres tiempos de operación probados.

Cuadro 8. Análisis de varianza para valores de oxígeno disuelto.

Fuente de variación	*SC*	*GL*	*CM*	F_c	*Signif.*
A:Presencia del metal pesado	0.5766	1	0.5766	0.29	0.5940
B:Días de operación	3.24564	2	1.6228	0.80	0.4500
C:Concentración	0.16267	2	0.0813	0.04	0.9605
Erro experimental	205.65	102	2.0162		
Total	209.81	107			

Los valores P no presentan un efecto estadísticamente significativo en la concentración de oxígeno disuelto, con un nivel de confianza del 95%.

Esto se corrobora con la prueba de rango multiple HSD de tukey (cuadro 9). No existiendo diferencias estadísticamente significativas con respecto a la presencia de los metales pesados en los biorreactores.

Cuadro 9. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para oxígeno disuelto en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor.

Presencia del metal pesado	*Media (mg/L)*	*Grupos Homogéneos*
Conjunta	4.560	X
Individual	4.767	X

Mediante la prueba de Tukey se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de operación de los biorreactores en referencia al oxígeno disuelto en el medio (Cuadro 10).

Cuadro 10. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para oxígeno disuelto en relación al tiempo de operación.

Tiempo de operación (días)	*Media (mg/L)*	*Grupos Homogéneos*
15	4.516	X
20	4.569	X
7	4.907	X

4.2.2. Temperatura

La temperatura fue determinada en los días de evaluación en los diferentes tiempos de operación de los biorreactores Air Lift.

En el cuadro 11, se anota la temperatura más alta registrada alcanzó a los 7 días de operación en el tratamiento T4 con 28.43 °C y T3 con 28.27 °C, las temperaturas más bajas fueron en el T2, T3 con 27.20 °C y 27.23 °C.

Cuadro 11. Temperatura en los biorreactores a 7 días de operación.

Tratamientos		*Temperatura (°C)*		
		Inicio	*Día 3*	*Final*
T1	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	27.73	27.33	27.73
T2	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	27.63	27.20	27.93
T3	Pb (300 mg/L)	27.43	27.23	28.27
T4	Cu (400 mg/L)	27.40	27.40	28.43
Tc	Testigo de crecimiento	27.57	27.37	27.70
Tm	Testigo de metales	27.6	27.67	27.6
T_{Pb}	Testigo de Plomo	27.57	27.37	27.70
T_{Cu}	Testigo de Cobre	27.5	27.3	27.4

En la Figura 10, se observa el comportamiento ascendente de la temperatura después del tercer día.

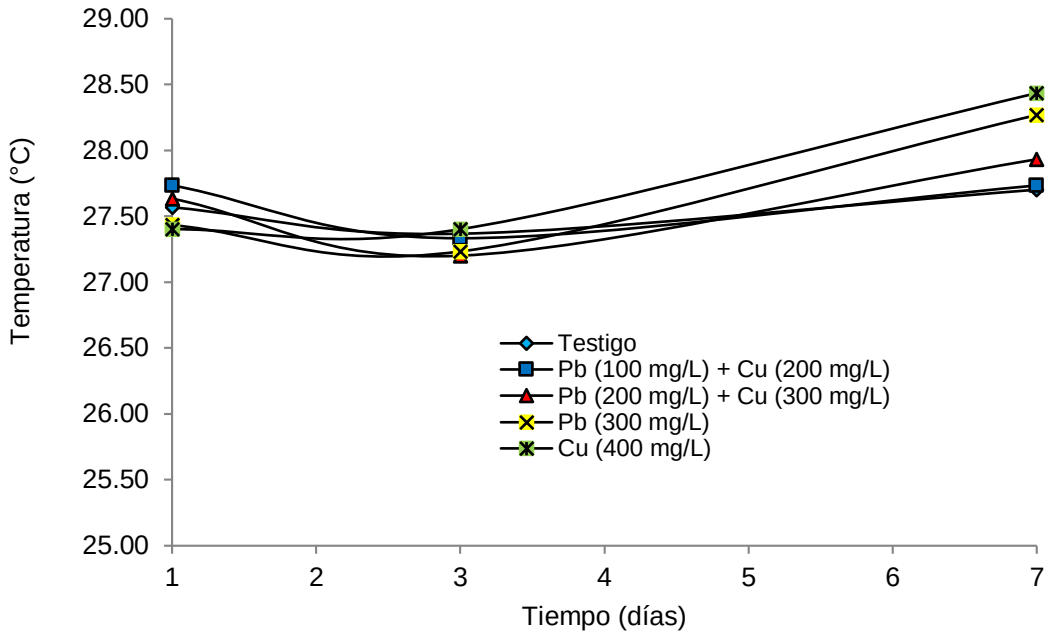


Figura 10. Comportamiento de la temperatura a tiempo de operación de 7 días.

Del Cuadro 12 y la Figura 11, se observa que las temperaturas más altas son alcanzadas son alcanzadas en el bioproceso de 15 días de operación con 28.10 ^{0}C, 28.03^{0}C, 28.17^{0}C, 28.23^{0}C y 28.20 ^{0}C en los tratamientos T0, T1, T3 y T4 respectivamente

Cuadro 12. Temperatura en los biorreactores a 15 días de operación.

Tratamiento		*Temperatura (°C)*			
		Inicio	*Día 5*	*Día 10*	*Final*
T5	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	27.20	27.20	27.23	28.03
T6	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	27.30	27.23	27.20	28.17
T7	Pb (300 mg/L)	27.20	27.07	27.33	28.23

T8	Cu (400 mg/L)	27.10	27.13	27.33	28.20
Tc	Testigo de crecimiento	27.27	27.30	27.23	28.10
Tm	Testigo de metales	27.3	27.37	27.2	27.2
T_{Pb}	Testigo de Plomo	27.5	27.5	27.5	27.48
T_{Cu}	Testigo de Cobre	27.4	27.32	27.4	27.28

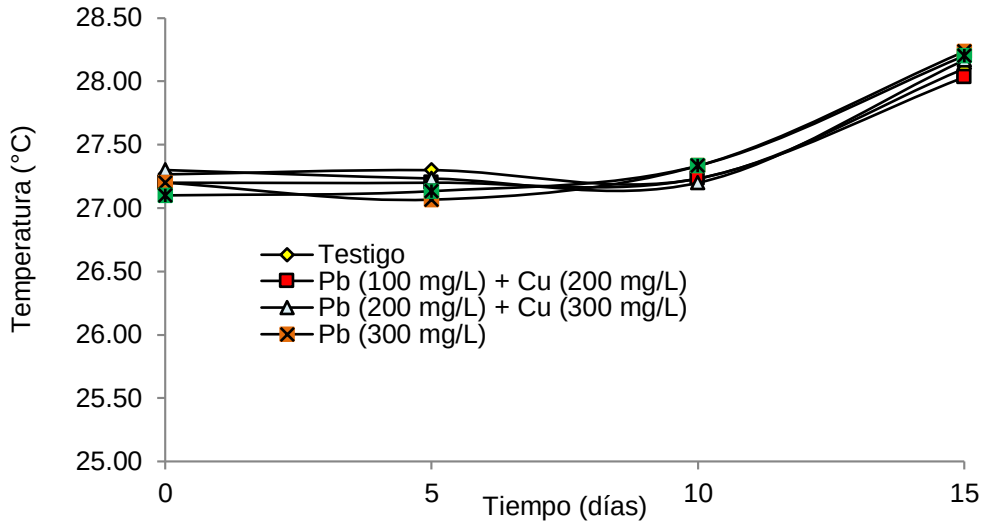


Figura 11. Comportamiento de la temperatura a tiempo de operación de 15 días.

En el Cuadro 13 y Figura 12, se muestran los valores de temperatura para un bioproceso de operación de 20 días, los valores más altos se alcanzaron entre el quinto y décimo día de operación, todos los valores se encuentran en un rango de 26.27 °C a 29.03 °C.

Cuadro 13. Temperatura en los biorreactores a 20 días de operación.

Tratamiento		*Temperatura (°C)*				
		Inicio	*Día 5*	*Día 10*	*Día 15*	*Final*
T9	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	28.23	29.03	27.37	26.37	27.17
T10	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	28.67	29.03	27.70	26.40	27.10
T11	Pb (300 mg/L)	28.20	29.07	27.73	26.37	26.97
T12	Cu (400 mg/L)	28.70	28.80	27.63	26.27	27.10
Tc	Testigo de crecimiento	28.53	28.53	27.53	26.57	26.90
Tm	Testigo de metales	28.5	28.5	28.5	28.4	28.4
T_{Pb}	Testigo de Plomo	28.6	28.4	28.7	28.6	28.6
T_{Cu}	Testigo de Cobre	28.4	28.5	28.5	28.5	28.6

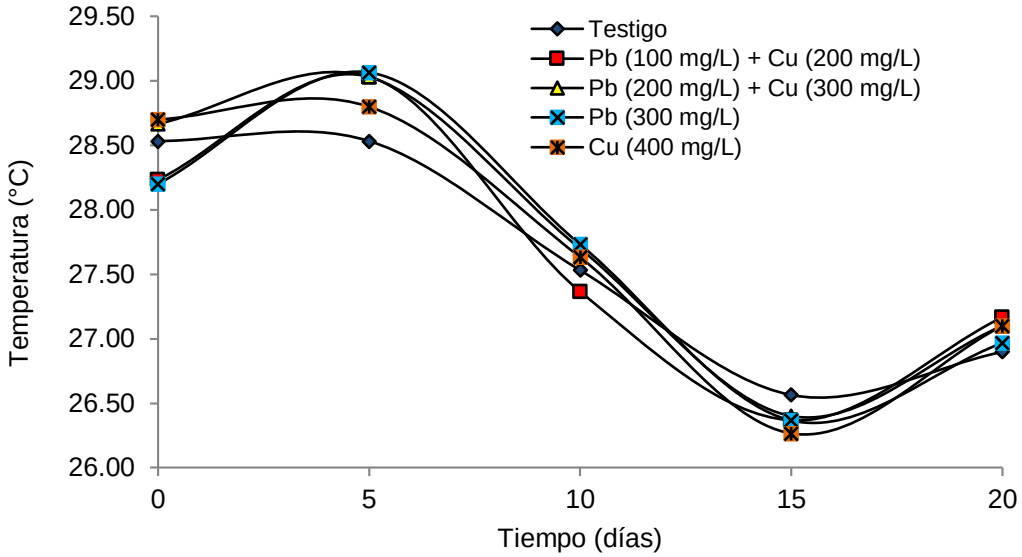


Figura 12. Comportamiento de la temperatura para un tiempo de operación de 20 días.

En el cuadro 14, del ANVA puede aproximarse que los valores de P no presentan un efecto estadísticamente significativo en la temperatura, con un nivel de confianza del 95%.

Cuadro 14. Análisis de varianza para temperatura.

Fuente de variación	*SC*	*GL*	*CM*	F_c	*Signif.*
A:Presencia del metal pesado	0.05415	1	0.05415	0.20	0.6579
B:Tiempo de operación	0.522613	2	0.261306	0.95	0.3895
C:Concentración	0.206076	2	0.103038	0.38	0.6881
Erro experimental	28.0096	102	0.274604		
Total	28.8167	107			

Mediante la prueba de Tukey se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas con respecto a la presencia de los metales pesados en los biorreactores en referencia a los valores de temperatura.

Cuadro 15. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para temperatura en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor.

Presencia del metal pesado	*Media (°C)*	*Grupos Homogéneos*
Conjunta	27.6172	X
Individual	27.6805	X

Mediante la prueba de Tukey (Cuadro 15) se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de operación de los biorreactores en referencia la temperatura en el medio y (cuadro 16).

Cuadro 16. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para temperatura en relación al tiempo de operación.

Tiempo de operación (días)	*Media (°C)*	*Grupos Homogéneos*
15	27.5589	X
20	27.6592	X
7	27.7284	X

4.2.3. Potencial de hidrógeno (pH)

De igual manera se realizó las mediciones de pH, a los diferentes tiempos de operación.

Cuadro 17. Valores de pH en los biorreactores a 7 días de operación, obteniendo los datos anotados en el cuadro 17.

Tratamientos		*pH*		
		Inicio	*Día 3*	*Final*
T1	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	7.77	6.74	6.28
T2	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	7.78	6.51	6.30
T3	Pb (300 mg/L)	7.83	6.57	6.30
T4	Cu (400 mg/L)	7.82	6.58	6.31
Tc	Testigo de crecimiento	6.7	6.0	5.67
Tm	Testigo de metales	6.8	7.0	7.0
T_{Pb}	Testigo de Plomo	6.9	6.8	6.9
T_{Cu}	Testigo de Cobre	6.8	6.6	6.7

En cuanto a los valores de pH en los tratamientos con *Pycnoporus sanguineus*, se mantuvieron en un rango de pH neutro de un rango de 6.30 a 7.83, pero en base a la Figura 13, se ve un comportamiento descendente con el pasar los días.

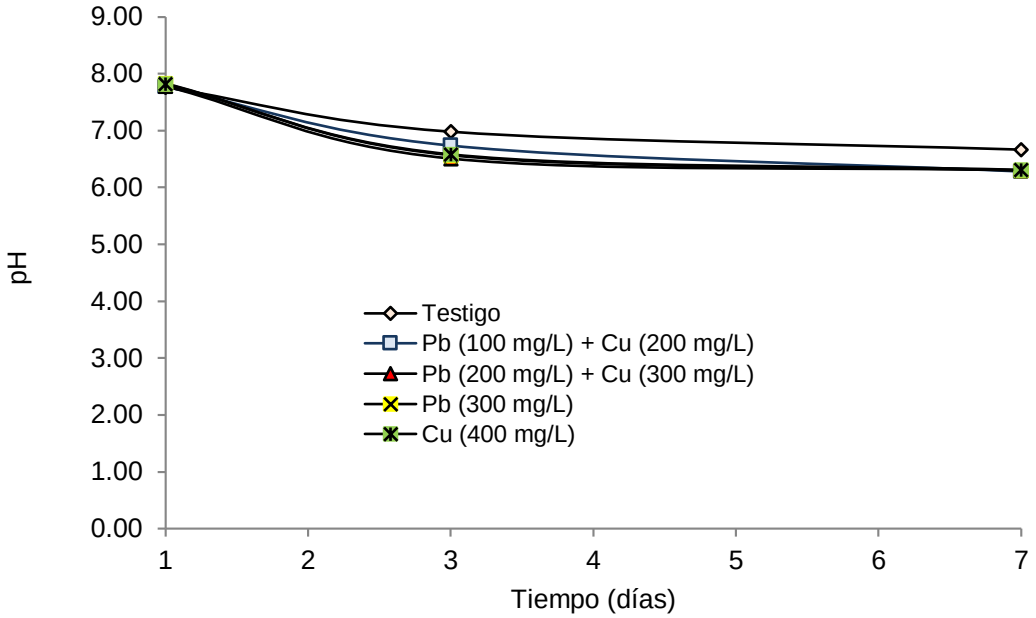


Figura 13. Comportamiento del pH en un tiempo de operación de 7 días.

Con respecto a la variación obtenida a los datos de operación el valor más bajo de pH se encontró en el tratamiento Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L) con un valor de 6.28.

En el Cuadro 18 y Figura 14 se presenta el comportamiento descendente, que al igual que en el caso anterior alcanzando valores más bajos en T1 y T2 con valores 6.28 y 6.30 respectivamente, estos valores a un tiempo de operación de 15 días se encuentran en el rango de pH neutro.

Cuadro 18. Valores de pH en los biorreactores a 15 días de operación.

Tratamiento		*pH*			
		Inicio	5	10	Final
T5	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	7.25	7.08	6.42	6.28
T6	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	7.34	6.87	6.47	6.30
T7	Pb (300 mg/L)	7.49	7.04	6.54	6.55
T8	Cu (400 mg/L)	7.10	6.93	6.58	6.61
Tc	Testigo de crecimiento	7.0	7.2	6.1	6.4
Tm	Testigo de metales	6.8	6.9	7.0	7.0
T_{Pb}	Testigo de Plomo	6.9	6.8	6.8	6.9
T_{Cu}	Testigo de Cobre	6.8	6.6	6.7	6.7

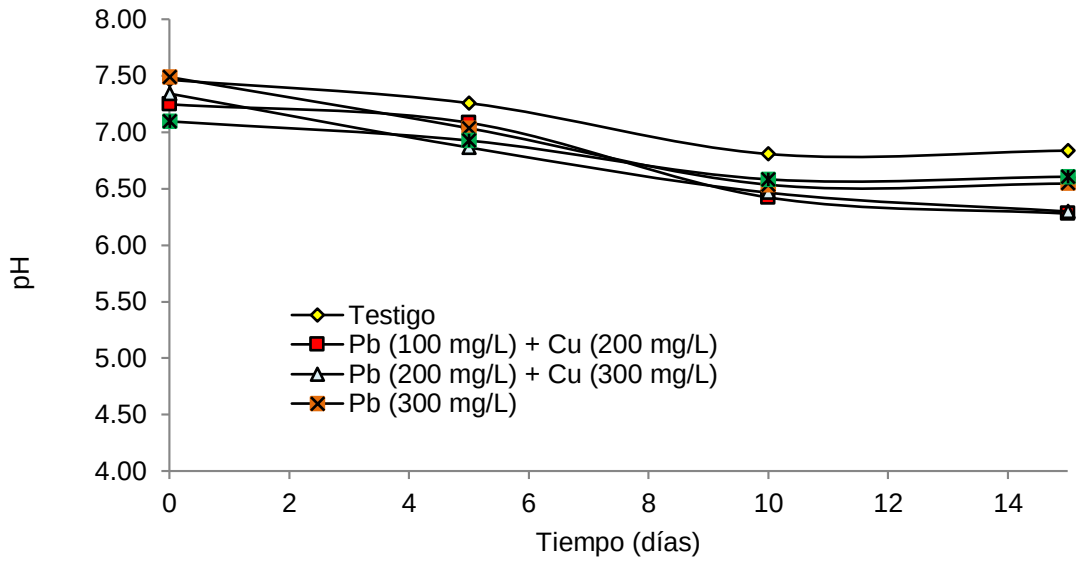


Figura 14. Comportamiento del pH en un tiempo de operación de 15 días.

Los valores de pH en los biorreactores a un tiempo de operación de 20 días (Cuadro 19), presentan valores de pH en el rango del neutro entre 6.17 a 7.2. En el caso del testigo de crecimiento el pH tiene un comportamiento normal hasta llegar a un valor de 6.1 en el último día de operación (Figura 15).

Cuadro 19. Valores de pH en los biorreactores a 20 días de operación.

Tratamiento		*pH*				
		Inicio	*5*	*10*	*15*	*Final*
T9	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	7.12	6.86	6.78	6.26	6.2
T10	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	7.2	6.84	6.6	6.56	6.3
T11	Pb (300 mg/L)	7.07	6.91	6.76	6.44	6.17
T12	Cu (400 mg/L)	7.04	6.83	6.7	6.49	6.2
Tc	Testigo de crecimiento	7.1	6.95	6.88	6.55	6.1
Tm	Testigo de metales	6.8	6.9	7	7	6.9
T_{Pb}	Testigo de Plomo	6.9	6.8	6.8	6.9	6.8
T_{Cu}	Testigo de Cobre	6.8	6.6	6.7	6.7	6.7

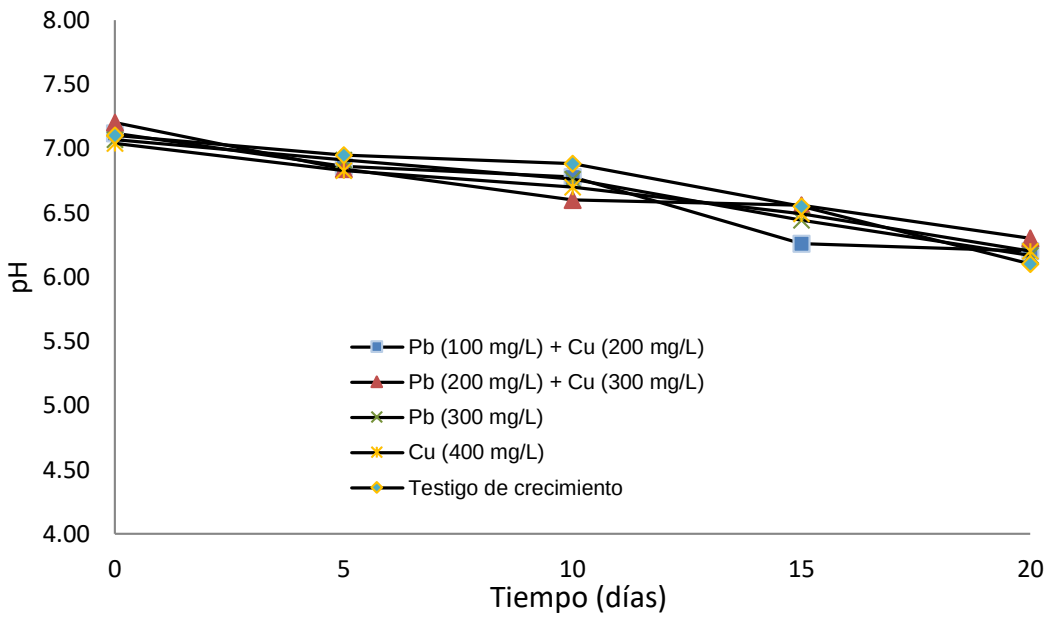


Figura 15. Comportamiento del pH en un tiempo de operación de 20 días.

En el ANVA (Cuadro 20) los valores P no presentan un efecto estadísticamente significativo en el pH, con un nivel de confianza del 95%.

Cuadro 20. Análisis de varianza para valores de pH.

Fuente de variación	SC	GL	CM	F_c	Signif.
A:Presencia del metal pesado	0.0104	1	0.0104	0.04	0.8363
B:Tiempo de operación	0.4680	2	0.2340	0.96	0.3848
C:Concentración	0.1754	2	0.0877	0.36	0.6976
Erro experimental	24.7579	102	0.2427		
Total	25.401	107			

Mediante la prueba de Tukey se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas con respecto a la presencia de los metales pesados en los biorreactores en referencia a los valores de pH.

Cuadro 21. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para pH en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor.

Presencia del metal pesado	Media pH	Grupos Homogéneos
Conjunta	6.80716	X
Individual	6.83494	X

Mediante la prueba de Tukey (Cuadro 21) se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de operación de los biorreactores en referencia al pH en el medio.

Cuadro 22. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para pH en relación al tiempo de operación.

Tiempo de operación	Media pH	Grupos Homogéneos
15	6.73086	X
20	6.84614	X
7	6.88614	X

4.3. Determinar la producción de biomasa de *Pycnoporus sanguíneus* resistentes a Pb (II) y Cu (II)

En el cuadro 23 se anota la producción de biomasa, registrándose mayor Se registró mayor producción en el testigo con un valor de 0.0578 g/ml, en el tratamiento T4 con 0.0478 g/ml al final del proceso en un tiempo de operación de 7 días, el valor más bajo registrado fue en el

tratamiento T2 con un valor de 0.0072 g/ml y T1 0.0087 g/ml, esto a la mitad del proceso de biorremoción (Figura 16).

Cuadro 23. Producción de biomasa de *Pycnoporus sanguineus* a un tiempo de operación de 7 días.

Tratamiento		*Biomasa fúngica (g/ml)*		
		Inicio	*Medio*	*Final*
T1	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	0.0125	0.0087	0.0437
T2	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	0.0315	0.0072	0.0393
T3	Pb (300 mg/L)	0.0268	0.0345	0.0210
T4	Cu (400 mg/L)	0.0412	0.0394	0.0478
Tc	Testigo de crecimiento	0.0354	0.0211	0.0578
Tm	Testigo de metales	0	0	0
T_{Pb}	Testigo de Plomo	0	0	0
T_{Cu}	Testigo de Cobre	0	0	0

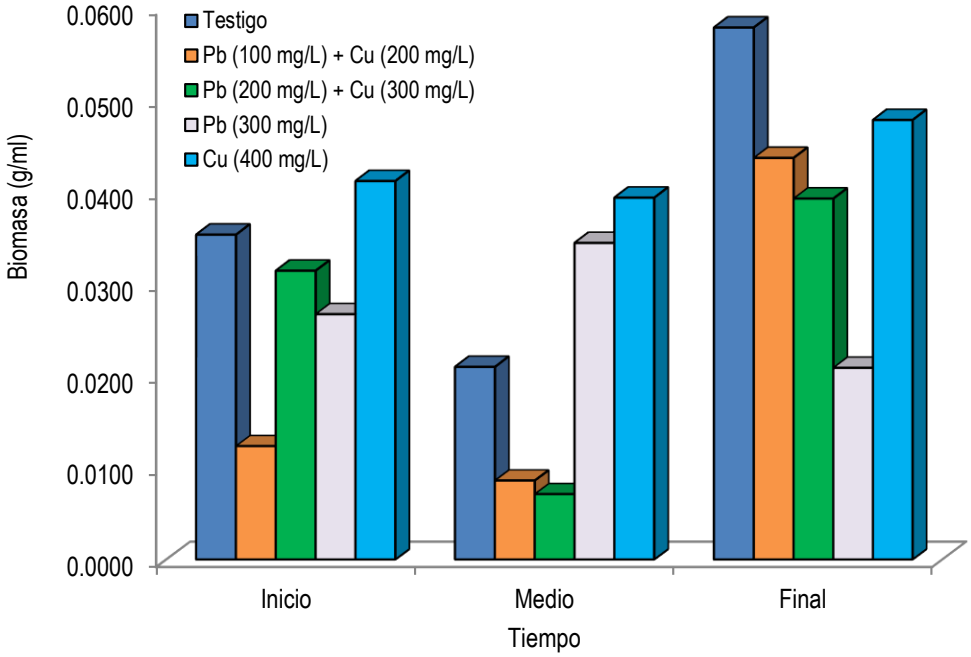


Figura 16. Producción de biomasa en los tratamientos a un tiempo de operación de 7 días.

Del Cuadro 24 y Figura 17, se observa que hay mayor producción de biomasa a la mitad del proceso de biorremoción en un tiempo de 15 días de operación de los biorreactores Air Lift. El valor más alto se registró en el tratamiento T4 con 0.0469 g/ml a la mitad del proceso de biorremoción, asimismo el valor más bajo registrado fue 0.0067 g/ml al finalizar el proceso en el tratamiento T4.

Cuadro 24. Producción de biomasa de *Pycnoporus sanguineus* a un tiempo de operación de 15 días.

Tratamiento		*Biomasa fúngica (g/ml)*		
		Inicio	*Medio*	*Final*
T1	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	0.0080	0.0346	0.0141
T2	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	0.0247	0.0381	0.0141
T3	Pb (300 mg/L)	0.0247	0.0399	0.0151
T4	Cu (400 mg/L)	0.0123	0.0469	0.0067
Tc	Testigo de crecimiento	0.0219	0.0290	0.0283
Tm	Testigo de metales	0	0	0
T_{Pb}	Testigo de Plomo	0	0	0
T_{Cu}	Testigo de Cobre	0	0	0

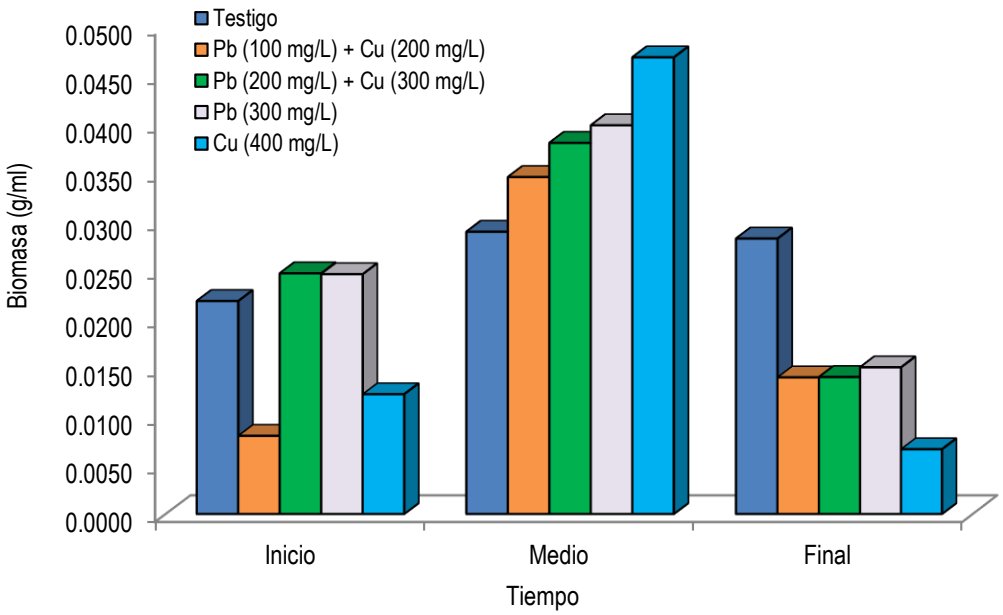


Figura 17. Producción de biomasa en los tratamientos a un tiempo de operación de 15 días.

La producción de biomasa en un tiempo de operación de 20 días registró altos valores en los tratamientos Tc y T1, con 0.0659 g/ml y 0.0506 g/ml respectivamente al finalizar el tiempo de operación. Los valores más bajos se registraron a la mitad del proceso en los tratamientos T1 y T2 con 0.0059 g/ml y 0.0061 g/ml respectivamente (Cuadro 25).

Cuadro 25. Producción de biomasa de *Pycnoporus sanguineus* a un tiempo de operación de 20 días.

Tratamiento		Biomasa fúngica (g/ml)		
		Inicio	Medio	Final
T1	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	0.0165	0.0059	0.0506
T2	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	0.0189	0.0061	0.0116
T3	Pb (300 mg/L)	0.0283	0.0236	0.0161
T4	Cu (400 mg/L)	0.0350	0.0197	0.0133
Tc	Testigo de crecimiento	0.0644	0.0418	0.0659
Tm	Testigo de metales	0	0	0
T_{Pb}	Testigo de Plomo	0	0	0
T_{Cu}	Testigo de Cobre	0	0	0

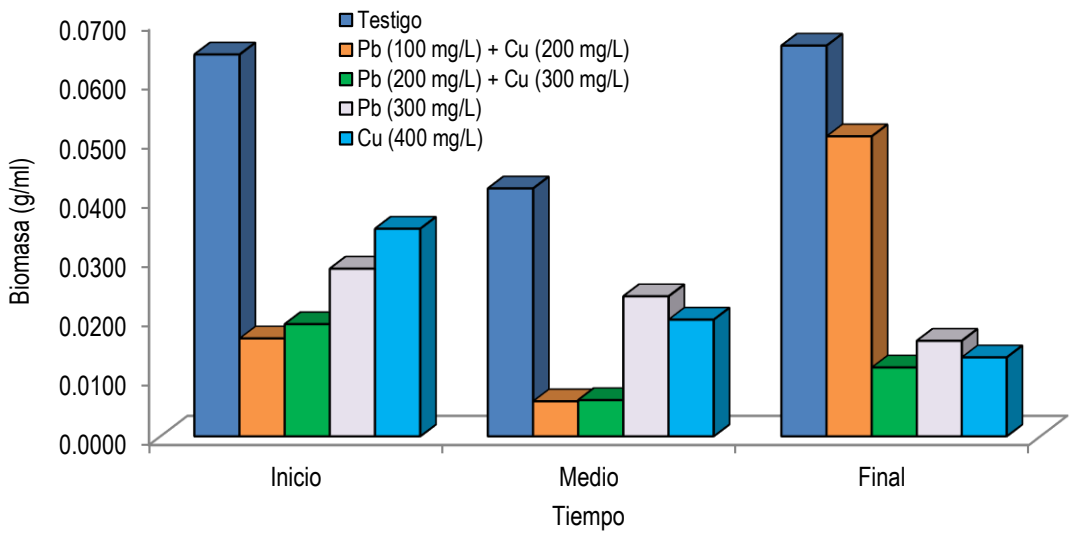


Figura 18. Producción de biomasa en los tratamientos a un tiempo de operación de 20 días.

4.4. Determinación de la eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II)

Se determinó la eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en los diferentes tiempos de operación de los biorreactores Air Lift.

En el Cuadro 26, se puede apreciar que a un tiempo de operación de 7 días se obtuvo una mayor remoción en el tratamiento T3 (Pb=300 mg/L) con una eficiencia de remoción de 99.89 %, asimismo en el tratamiento T2 Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L) 99.87% en remoción de Pb (II) y en remoción de Cu(II) con un valor 96.02%, un valor menor a este fue T4 (Cu=400 mg/L) con un promedio de 87.11%.

Cuadro 26. Eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en un tiempo de operación de 7 días.

Tratamiento	*Concentración de metal pesado*	*Concentración final de Pb (II) (mg/L)*			*Concentración final de Cu (II) (mg/L)*		
		1R	*2R*	*3R*	*1R*	*2R*	*3R*
T1	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	0.21	0.20	0.19	5.68	5.42	5.59
Eficiencia de remoción (%)		99.79	99.80	99.81	97.16	97.29	97.21
T2	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	0.28	0.24	0.29	12.01	11.58	12.14
Eficiencia de remoción (%)		99.86	99.88	99.86	95.99	96.14	95.95
T3	Pb (300 mg/L)	0.32	0.35	0.33	-	-	-
Eficiencia de remoción (%)		99.89	99.88	99.89	-	-	-
T4	Cu (400 mg/L)	-	-	-	54.47	45.85	54.38
Eficiencia de remoción (%)		-	-	-	86.38	88.54	86.41

En un tiempo de operación de 15 días, se registraron mayores porcentajes de eficiencia de remoción, así en el tratamiento T7 con remoción de Pb (II) de 99.59 %, y en el T5 con 99.03 % de remoción de Cu (II), valores menores a estos se obtuvieron en los tratamientos T8 con un promedio de remoción para Cu (II) de 90.19 % y en T5 con una remoción promedio de Pb (II) de 98.74 % (Cuadro 27).

Cuadro 27. Eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en un tiempo de operación de 15 días.

Tratamiento	*Concentración de metal pesado*	*Concentración final de Pb (mg/L)*			*Concentración final de Cu (mg/L)*		
		1R	*2R*	*3R*	*1R*	*2R*	*3R*
T5	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	1.26	1.26	1.25	1.99	1.91	1.93
Eficiencia de remoción (%)		98.74	98.74	98.75	99.01	99.05	99.04
T6	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	1.25	1.2	1.27	7.13	6.75	7.28
Eficiencia de remoción (%)		99.37	99.4	99.37	97.62	97.75	97.57
T7	Pb (300 mg/L)	1.23	1.22	1.25	-	-	-
Eficiencia de remoción (%)		99.59	99.59	99.58	-	-	-
T8	Cu (400 mg/L)	-	-	-	39.19	38.78	39.77
Eficiencia de remoción (%)		-	-	-	90.20	90.31	90.06

En el cuadro 28 se reportan los resultados obtenidos en un tiempo de operación de remoción a 20 días con *Pycnoporus sanguineus*, se obtuvo mayor promedio de remoción en T11 (Pb = 300 mg/L) con 94.64%, en tanto que en T10 (Pb =200 mg/L) un 99.51 % para Pb y solo un 98.20 % para Cu (II) 98.20 %, tratado en conjunto en el tratamiento mencionado.

Cuadro 28. Eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en un tiempo de operación de 20 días.

Tratamiento	*Concentración de metal pesado*	*Concentración final de Pb (mg/L)*			*Concentración final de Cu (mg/L)*		
		1R	*2R*	*3R*	*1R*	*2R*	*3R*
T9	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	0.91	0.96	0.97	1.24	1.35	1.33
Eficiencia de remoción (%)		99.09	99.04	99.03	99.38	99.33	99.34
T10	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	0.94	0.98	0.99	5.34	5.41	5.39
Eficiencia de remoción (%)		99.53	99.51	99.51	98.22	98.19	98.20
T11	Pb (300 mg/L)	1.06	1.08	1.08	-	-	-
Eficiencia de remoción (%)		99.65	99.64	99.64	-	-	-
T12	Cu (400 mg/L)	-	-	-	35.12	35.18	35.39
Eficiencia de remoción (%)		-	-	-	91.22	91.21	91.15

En el Cuadro 29 se presentan los promedios de la eficiencia de remoción (PR) de Pb (II) y Cu (II) en los diferentes tiempo de operación, el mayor porcentaje de remoción (PR) en el caso de Pb (II) se observa en el T3 (99.89 %) con un tiempo de operación de 7 días. En tanto que para la remoción de Cu (II) el mayor PR se visualiza en el T9 a los 20 días de operación con un 99.35 %.

Cuadro 29. Eficiencia de remoción de Pb (II) y Cu (II) en los diferentes tiempos de operación.

Tratamiento	*Concentración Inicial de metal pesado*	*Concentración final de Pb (mg/L)*			*Concentración final de Cu (mg/L)*		
		7 días	*15 días*	*20 días*	*7 días*	*15 días*	*20 días*
T1-T5-T9	Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)	0.20	1.26	0.94	5.56	1.94	1.31
PR (%)		99.80	98.74	99.05	97.22	99.03	99.35
T2-T6-T10	Pb (200 mg/L) + Cu (300 mg/L)	0.27	1.24	0.97	11.91	7.05	5.38
PR (%)		99.865	99.38	99.52	96.03	97.65	98.20
T3-T7-T11	Pb (300 mg/L)	0.333	1.233	1.07	-	-	-
PR (%)		99.89	99.59	99.64	-	-	-
T4-T8-T12	Cu (400 mg/L)		-	-	51.56	39.25	35.23
PR (%)		-	-	-	87.11	90.19	91.19

En la Figura 19, se visualiza la predominancia de las eficiencias de remoción de Pb a los 7 y 20 días de operación, resaltando que en los tratamientos solo con Pb (II), tienen una mayor PR que otros tratamientos procesados.

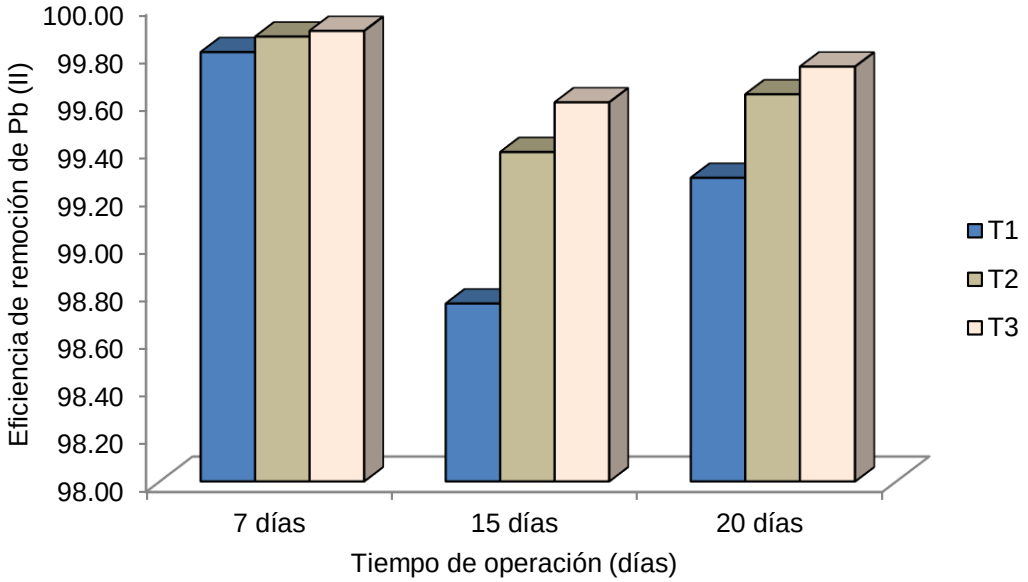


Figura 19. Eficiencia de remoción de Pb (II) en los diferentes tiempos de operación.

De la Figura 20, se observa que a mayor tiempo de operación se logró una mayor eficiencia de remoción de Cu (II) obteniendo mayor remoción a los 20 días, en el tratamiento T9 (Cu = 200 mg/L) con un valor de 99.35 %, quedando al final del proceso 1.31 mg/L, asimismo en T10 (Cu = 300 mg/L) un valor de 98.20 % quedando 5.38 mg/L del metal.

Como podemos ver, los tratamientos llevados a 15 días y 20 días de operación obtuvieron los mayores promedios de remoción de Cu (II) en los biorreactores Air Lift.

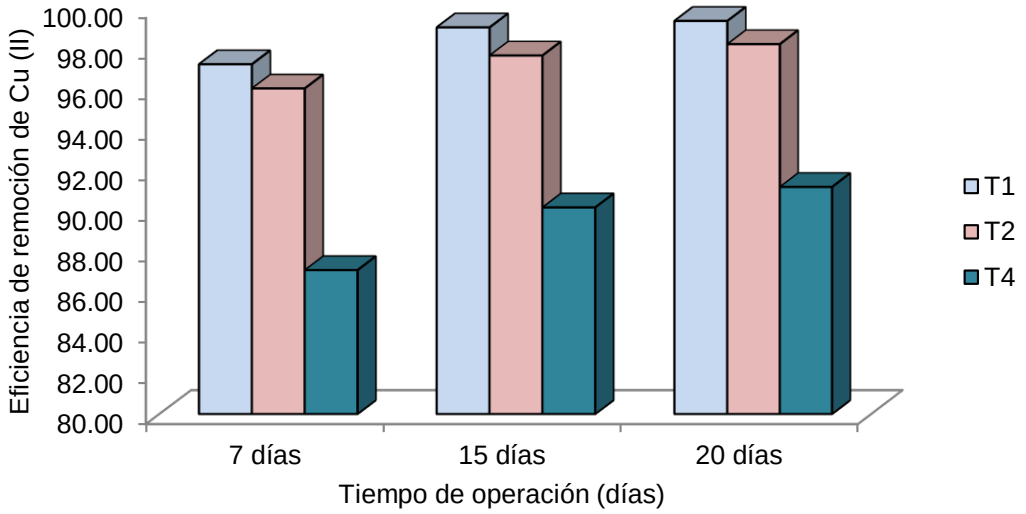


Figura 20. Eficiencia de remoción de Cu (II) en los diferentes tiempos de operación.

En el cuadro 30 se presenta el ANVA para la eficiencia de remoción, podemos apreciar los valores P no presentan un efecto estadísticamente significativo en la eficiencia de remoción a diferencia de la concentración del metal pesado el valor P es menos a 0.05 este factor tiene un efecto estadísticamente significativo en la eficiencia de remoción, con un nivel de confianza del 95%.

Cuadro 30. Análisis de varianza para la eficiencia de remoción Pb (II).

Fuente de variación	*SC*	*GL*	*CM*	F_c	*Signif.*
A:Presencia del metal pesado	0.975529	1	0.975529	0.00	0.9784
B:Tiempo de operación	598.555	2	299.278	0.23	0.7988

C:Concentración	34982.6	2	17491.3	13.16	0.0000
Erro experimental	135604.	102	1329.45		
Total	188370.	107			

Mediante la prueba de Tukey se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas con respecto a la presencia de los metales pesados en los biorreactores en referencia a los valores de la eficiencia de remoción (Cuadro 31).

Cuadro 31. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para la eficiencia de remoción en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor en relación al Pb (II).

Presencia del metal pesado	*Media %*	*Grupos Homogéneos*
Conjunta	33.6978	X
Individual	33.966	X

Asimismo, mediante la prueba de Tukey se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de operación de los biorreactores en referencia a la remoción de Pb (II) (Cuadro 32).

Cuadro 32. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para pH en relación al tiempo de operación en la remoción del Pb (II).

Días de operación	*Media (%)*	*Grupos Homogéneos*
7	31.4266	X
20	33.0418	X
15	37.0283	X

El Cuadro 33 nos muestra el análisis de varianza para la eficiencia de remoción de Cu (II), presentando un efecto estadísticamente significativo en la eficiencia de remoción, con un nivel de confianza del 95%.

Cuadro 33. Análisis de varianza para la eficiencia de remoción Cu (II).

Fuente de variación	*SC*	*GL*	*CM*	*Fc*	*Signif.*
A:Presencia del metal pesado	34194.1	1	34194.1	28.12	0.0000
B:Días de operación	719.701	2	359.851	0.30	0.7445
C:Concentración	28237.8	2	14118.9	11.61	0.0000
Error experimental	124038.	102	1216.06		
Total	172734.	107			

Por otro lado mediante la prueba de Tukey se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas con respecto a la presencia de los metales pesados en los biorreactores en referencia a los valores de la eficiencia de remoción de Cu (II) (Cuadro 34).

Cuadro 34. Pruebas de Múltiples Rangos HSD de Tukey para la eficiencia de remoción en relación a la presencia del metal pesado en el biorreactor en relación al Cu (II).

Presencia de los metales pesados	*Media (%)*	*Grupos Homogéneos*
Individual	14.9584	X
Conjunta	65.2863	X

Del mismo modo mmediante la prueba de Tukey se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de operación de los biorreactores en referencia a la remoción de Cu (II) (Cuadro 35).

Cuadro 35. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para pH en relación al tiempo de operación en la remoción del Cu (II) (Cuadro 35).

Días de operación	Media (%)	Grupos Homogéneos
7	37.1154	X
20	39.8329	X
15	43.4187	X

V. DISCUSIÓN

Se aisló el fungi de la podredumbre blanca *Pycnoporus sanguineus* para ser utilizado en la remoción de iones de Pb (II) y Cu (II), coincidiendo con lo realizado por RUIZ *et al*. (2014), quienes aíslan esta especie ligninolítica a razón de que son los organismos eficientes en la degradación de lignina y de polímeros recalcitrantes presentes en el ambiente. Estudios recientes mencionan que la prospección enzimática en la micobiota nativa es una herramienta biotecnológica para enfrentar problemas ambientales como la contaminación del agua con metales pesados (HERNÁNDEZ *et al.,* 2008, TAPIA *et al.,* 2011 y CRUZ *et al.,* 2012) estas características propias de la micobiota las señalarían como las indicadas para utilizar sus células vivas en procesos con biorreactores Air Litf para la remoción de Pb (II) y Cu (II).

Para iniciar el bioproceso en los biorreactores Air Lift, las muestras fúngicas aisladas fueron previamente reactivadas en caldo BHI, esto se realiza porque las células vivas a utilizar deben poseer su potencial de reproducción y de adaptación rápida en el medio acuoso, tal como lo reporta AZILA (2008) que menciona que la biomasa de micelio utilizada en su estudio como biosorbente

para eliminar metales pesados [cadmio CD (II), cobre CU (II) y plomo Pb (II)] fue elegida del cultivo en el medio que presentaba fase de crecimiento exponencial.

Los parámetros evaluados en el sistema fueron el oxígeno disuelto, temperatura y pH a tres (3) tiempos de operación diferentes (7, 15 y 20 días). Respecto al oxígeno disuelto los valores presentaron rangos que van 7.07 mg/L a 3.29 mg/L (a 7 días), 6.61 mg/L a 3.28 mg/L (a 15 días) y 6.31 mg/L a 3.11 mg/L (a 20 días), estos valores se registraron en los diferentes días de muestreo en cada uno de los biorreactores utilizados, estando todos ellos en el rango normal de oxígeno recomendado por diferentes autores (AZILA, 2008; CRUZ *et al.,* 2012) y evitando condiciones de anoxia en todo el sistema. En los procesos aerobios un suministro adecuado de oxígeno que satisfaga los requerimientos metabólicos de los organismos empleados, en nuestro caso el *Pycnoporus sanguineus*. La oxidación de la fuente de carbono y su transformación en células, productos y CO_2 establece una demanda de oxígeno que es esencial satisfacer a través de la aireación y mezclado del cultivo, el oxígeno es el receptor final de los electrones producidos en las reacciones de oxidación, tal como lo fundamentan SCRIBAN (1980) y QUINTERO (1985). Las moléculas de oxígeno deben superar una serie de resistencias al transporte antes de que sean utilizadas por las células en el lugar de reacción en el interior celular (DORAN, 1995), teniendo en cuenta que para determinar la adecuada demanda de oxígeno, se debe conocer aspectos fundamentales siendo la especie celular lo más importante y en segundo

término la fase de crecimiento en que se halla el cultivo así como la naturaleza de la fuente de carbono en el medio, concordando con lo mencionado por TORRES y QUINTERO (2008), respecto a los procesos aerobios con alta demanda de oxígeno en cultivos sumergidos, además el comportamiento descendente del oxígeno observado en todo el proceso pueda deberse a la muerte celular de *Pycnoporus sanguineus* en desarrollo y a la reducción de la población fúngica en los biorreactores.

La temperatura en los tratamientos con *Pycnoporus sanguineus* para los tres tiempo de operación establecidos se encuentra en un rango de 26 °C a 29 °C, respecto a esto ABBAS *et al.* (2014) y YAYUZ *et al.* (2006), mencionan que muchos estudios de biosorción registraron mayores tasas de eliminación de metales pesados en un rango de temperatura de 25 °C a 35 °C, por lo que los resultados obtenidos en esta investigación corroboran dicho reporte y estos datos se encontrarían en un rango óptimo para una eficiente remoción de Pb (II) y Cu (II), con respecto al pH sus valores variaron según los tiempos de operación en biorreactores, encontrándose en un rango de 6.28 a 7.83 a los 7 dias de operación, de 7,10 a 6.28 a los 15 días, en tanto que a los 20 días el pH se varió de 7.12 a 6.17 debido a la acidificación por la biomasa con respecto a la disponibilidad de nutriente carbonado. Esto coincide con estudios que muestran que el rango de pH para mayores eficiencias de remoción reportadas para fungi en función al metal pesado tratado se ubican entre 5.5 a 7.0 de pH para Pb (II) y 5.0 a 6.0 para Cu (II) (ABBAS *et al.,* 2014; YAVUZ *et al.,* 2006). Por lo mencionado se puede apreciar que el rango de pH

alcanzado durante el bioproceso se encuentra dentro del rango indicado, con excepción de los valores iniciales en cada tratamiento que estuvo sobre 7.0, debido al proceso de arranque del sistema de biodepuración y que a medida de su estabilización metabólica dentro del proceso adquirieron un comportamiento descendente del pH en el rango indicado.

En cuanto a la producción de biomasa en función a los diferentes tiempos de operación de los biorreactores, se presentó mayor producción en el testigo de crecimiento con un valor de 0.0578 g/mL a los 7 días de operación; una biomasa de 0.0469 g/mL a los 15 días de operación en el tratamiento Cu 400 mg/L y 0.0506 g/mL al final del proceso (20 días de operación) con la combinación Pb 100 mg/L + Cu 200 mg/L.

La biomasa se ha incrementado en todos los tratamientos en los tres tiempos de operación, lo que ha permitido la degradación de los metales pesados en estudio, a pesar que no ha alcanzado los valores referidos por AZILA (2008) de 1.0 a 6.0 g/L de biomasa en la eliminación de Cd (II), Cu (II) y Pb (II), el porcentaje de eliminación en nuestro estudio ha sido elevado. Esto se debería a que en los estudios del citado autor se manifestó la influencia del pH (2 – 6), la baja concentración del metal que fue de 50 a 300 mg/L y la temperatura que en su estudio osciló de 30 °C a 40 °C, además utilizó células suspendidas (o plantónicas) e inmovilizadas de *Pycnoporus sanguineus* observando que la absorción del metal aumentó al aumentar el pH, la concentración inicial del metal y la temperatura, sin embargo, detectó una

tendencia inversa a medida que la carga de biomasa aumentaba y que las células inmovilizadas de *Pycnoporus sanguineus* mostraron una mayor afinidad en comparación a las células libremente suspendidas para adsorber los iones metálicos.

Considerando lo señalado en el párrafo anterior, en nuestro estudio las condiciones fueron diferentes, se trabajó con células *Pycnoporus sanguineus* suspendidas, bajo la influencia de varios tiempos de operación y la concentración de los metales pesados, de moderada a alta, revelan la diferencia en la producción de biomasa fúngica, presentando mayor producción en el testigo debido a la no interferencia en el crecimiento al tener como única fuente de carbono a la glucosa, pero cuando en el biorreactor no solo está solo un metal pesado sino dos [(Pb (II) y Cu (II)] la producción de biomasa disminuye en comparación de los otros tratamientos por la mayor energía utilizada en la biosorción de éstos que requiere también mayor consumo de carbono provocando un equilibrio del crecimiento (fase estacionaria).

La mayor eficiencia de remoción se alcanzó probando Pb 100 mg/L + Cu 200 mg/L con 99.80 %, 98.74 % y 99.27 % a los 7, 15 y 20 días de operación en la remoción de Pb(II) respectivamente; y con un 97.22 %, 99.03 % y 99.35 % para la remoción de Cu(II) respectivamente. En el caso de la remoción de Pb 200 mg/L + Cu 300 mg/L, un 99.85 %, 99.38 % y 99.62 % en los tres tiempos de operación para Pb(II) y 96.03 %, 97.65 % y 98.21 % para la

remoción de Cu(II). En cuanto a la remoción de Pb 300 mg/L, la mayor eficiencia se produjo a los 7 días de operación pero no existen diferencias significativas con respecto a los otros tiempos de operación ya que obtuvieron valores 99.59 % y 99.74 % a los 15 y 20 días de operación y en la remoción de Cu 400 mg/L con 91.19 % a los 20 días de operación en biorreactores. Estos resultados son similares a los reportados por NAVARRO (2006) quién considera que los altos porcentajes de remoción obtenidos, se pueden explicar en el sentido que los metales son sustancias electropositivas que ceden cargas positivas a la superficie del sorbente, en este caso las células vivas de *Pycnoporus sanguineus*, y va aumentado el número de cargas negativas para lograr la adsorción que se facilita en soluciones ácidas, manifestando asimismo que en una solución alcalina los metales pesados tienden a formar hidroxicompuestos, los cuales posteriormente se precipitan.

Por otro lado en nuestra investigación, se alcanzaron altos porcentajes de remoción los cuales estuvieron en un rango de pH correspondiente al rango 4.0 a 6.0, que facilitó la adsorción de los metales en las células fúngicas, concordando con lo indicado por LOUKIDOU (2004), quién fundamenta que la pared fúngica a pH menores de 3.5 sufre una protonación de los grupos fosfatos y carboxilos cargándolos positivamente o menos negativo, lo cual permite que se promueva una repulsión electroestática entre los iones metálicos y la pared, al mismo tiempo se origina una competencia entre protones como el H+ y los metales; por el contrario a pH por encima de

4.0 y menores de 6.0 la carga negativa de la pared favorece un acercamiento aniónico con los iones del metal.

VI. CONCLUSIONES

1. Se aisló *Pycnoporus sanguineus* a partir de muestras de madera en descomposición.
2. Se determinó que *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill (1904) se desarrolló óptimamente a con un nivel del oxígeno que va desde 7.07 mg/L hasta 3.28 mg/L (7 días), de 6.61 mg/L a 3.28 mg/L (a 15 días) y de 6.31 mg/L a 3.11 mg/L (a 20 días). La temperatura osciló entre 26°C a 28°C y el pH de 6.3 a 7.8. Parámetros que se encuentran en rango óptimo para alcanzar altas eficiencias de remoción.

3. La biomasa fúngica manifestó un comportamiento de ligero incremento en presencia de un solo metal deduciéndose que estos inducen el desarrollo del fungi teniendo como comparación el testigo de crecimiento fúngico.

4. Se obtuvo altas eficiencias de remoción de Pb (II) con un 99.89 % a 7 días de operación y Cu (II) con un 91.19 % a los 20 días de operación en bioproceso con un solo metal en el biorreactor, y eficiencias del 99.87 % para Pb (II) y 99.35 % para Cu (II). a los 7 y 20 días de operación en bioproceso con metales en conjunto [Pb (100 mg/L) + Cu (200 mg/L)].

5. No existe relación significativa de la remoción con el tiempo de operación del bioproceso.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar tratamiento de remoción de metales pesados con *Pycnoporus sanguineus* para determinar el % de eficiencia en el proceso de biodepuración in situ.
2. Evaluar tratamientos considerando el pH como factor independiente y así explicar claramente cuál es su influencia en la eficiencia de remoción de metales pesados.
3. Operar los biorreactores de sustrato sólidos para comparar la eficiencia de remoción de metales pesados respecto a lo obtenido en los air lift.

VIII. ABSTRACT

This research was carried out to determine the ability of Pycnoporus sanguineus (fungi of white rot) to remove lead Pb (II) and copper Cu (II) from an aqueous medium, in cultures submerged Air Lift bioreactors. The fungi were isolated from decaying wood located in the Botanical Garden of the UNAS. After the previous disinfection process, pure culture was obtained, later the mycelia were activated to be used in bioremoving of heavy metals in air lift bioreactors. Concentrations (Pb (II) 100 mg/L + Cu (II) 200 mg/L and Pb (II) 200 mg/L + Cu (II) 300 mg/L) were tested both together and individually Pb (II) 300 mg/L and Cu (II) 400 mg/L with a control, with three repetitions, at three operation times of 7, 15 and 20 days, having as intervening variables: dissolved oxygen, pH, temperature. High removal efficiencies were obtained at pH 6.3 to 7.8, this range being the optimum for the treatments. The removal efficiency of Pb (II) was 99.89% at 7 days of operation and Cu (II) 91.19% at 20 days of operation, considering the presence of a single metal; jointly the highest performance was that shown by the treatment Pb (100 mg / L) + Cu (200 mg / L) with 99.87% and 99.35% at 7 and 20 days of operation for Pb (II) and Cu (II) respectively.

Keywords: bioreactor air lift, removal, heavy metal, lead, copper.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, I., DEL PILAR, M., DE GUDALUPE, M. s.d. Aislamiento de fungi resistentes a metales pesados a partir de desechos mineros y su capacidad de remoción de metales pesados y flúor en solución. [En línea]: BVSDE,http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/mexico13/071.pdf,documento , 03 ene. 2015).

ABBAS, S., ISMAIL, I., MOSTAFA, T., SULAYMON, A. 2014. Biosorption of heavy metals: A review, Journal of Chemical Science and Technology. 3: 74 – 102.

AHALYA, N., RAMACHANDRA, T., KANAMADI, R. 2003. Biosorption of heavy metals. Res. J. Chem. Environ., 7:71 – 79.

APHA (American Public Health Association). 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 17 Ed. Washington, U.S. Editorial Diaz de Santos. 1830 p.

BROCK, T., MADIGAN, M. 1982. Microbiología. Ed. Por Hidalgo, 6 ed. México, México, Hispanoamericana S.A. 920 p.

CARBAJAL, M. 2014. Degradación de compuestos fenólicos por el fungi causante de pudrición blanca Trametes versicolor. [En línea]: Fungi

lignolíticos (http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_5571_Carabajal.pdf. 05 ene. 2015).

CARTAYA, O., REYNALDO, I., PENICHE, C. 2008. Cinética de adsorción de iones cobre (II) por una mezcla de oligogalacturónidos, Rev. Iberoam. Polímeros, 9 (5): 47 – 479.

CHISTI, M., MOO-YOUNG, M. 1987, Airlift reactors: Applications and desing considerations. Chem. Engng Commun. Ontario, Canada. 60: 195-242.

CÓRDOVA, H. 2010. Desinfección y cultivo de Aurciularia auricula (L.:Fr.) Under y Auricularia delicata (Fr.) Henn a partir de Basidiocarpo y Basidiosporas. Tesis para Obtener el Título de Ingeniero en Recursos Naturales Renovable, Universidad Nacional Agraria de la Selva - Tingo María, Perú. 73 p.

CORNEJO, S. 2015. Biotransformación de cadmio por medio de bacterias del suelo en biorreactores Air Lift. Tesis para optar el título de Ingeniero Ambiental. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú 120p.

CRUZ, M., RIVERA, J., TÉLLEZ, A., MAQUEDA, A., MERCADO, Y., ARANA, A. 2012. Screening for thermotolerant ligninolytic fungi with laccase, lipase, and protease activity in Mexico. J. Environ. Manage. 95: 256-259.

CRUZ, C. C. V. et al. 2004. Kinetic modeling and equilibrium studies during cadmium biosorption by dead Sargassum sp. biomass. Biores. Technol., 91: 249 – 257.

DORAN, P. 1995. Princípios de Ingeniería de los Bioprocesos. 1ª Ed. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 207 p.

GADD, G. 1989. Fungal responses towards heavy metals. In Herbert, R. A & Codd, G. A. (Eds). Microbes in extreme environments. London: Academic Press, 83 – 110.

GARCÍA, V., YIPMANTIN, A., GUZMÁN, E., PUMACHAGUA, R., MALDONADO, H. 2011. Estudio de la cinética de biosorción de iones plomo en pectina reticulada proveniente de cáscaras de cítricos," Rev. la Soc. Química del Perú, 77 (3): 173 -181.

GONZÁLEZ, A., ARANA, A., VILLAR, J. 2014. Biodegradación de compuestos aromáticos por hongos basidiomicetos. Biotecnología y medioambiente. Madrid, Ephemera.

GÓMEZ, V., VELÁSQUEZ, J., QUINTANA, G. 2013. Lignina como adsorbente de metales pesados: Revisión del estado del arte, Rev. Investig. Apl., 7(2): 74 – 85.

HERNÁNDEZ, E., GUTIÉRREZ, G., SALCEDO, S. 2007. Screening for decolorization basidiomycetes in Mexico: Screening and selection of ligninolytic basidiomycetes with ability in North-east Mexico. World J. Microbiol. Biotechnol. 24: 465-473.

JAVAID, A., BAJWA, R. 2008. Biosorption of electroplating heavy metals by some basidiomycetes. Mycopath. 6:1 – 6.

KUYUCAK, N., VOLESKY, B. 1988. Biosorbent for recovery of metals from industrial solution. Biotechnol. Lett., 10: 137 – 142.

LÓPEZ, C. 1998. Transformación de tetracloroetano (TcCA) mediada por biopelículas de Pseudomonas aeruginosa, Tesis de Maestría en Biotecnología y Bioingeniería, Escuela de Post Grado, Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.

LÓPEZ, C., VIVAR, L., MAZABEL, C., GARCIA, R., SIAS, R. 2006. Biorremediación de contaminantes por fermentación sumergida utilizando biopelículas de microorganismos nativos de suelos tropicales de la zona de Tingo María. Facultad de Recursos Naturales de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María-Perú.

LOMASCOLO. A., BOUKHRIS E., GIMBERTI. 2011. Peculiarities of Pycnoporus species for applications in biotechnology. Appl. Micribiol.Botechnol 92: 1129 – 1149.

LOUKIDOU, M., ZOUBOULIS, A., KARAPANTSIOS, T., MATIS, K. 2004. Equilibrium and kinetic modeling of chromium (VI) biosorption by *Aeromonas caviae*. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 242: 93 – 104.

MARTIN, C., GONZALES, A., BLANCO, M. 2004. Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de fungi en tratamientos de biorrecuperación. [En línea]: REVIBEROAMMICOL, (http://www.reviberoammicol.com/2004-21/ 103 120.pdf, documento, ene. 2015)

MARTINEZ, M., PEDROSA, A., RODRIGUEZ, R., ROSAS, J. 2004. Efecto dela glucosa y nitrato de amonio sobre las enzimas ligninolíticos producidas

por Trametes versicolor inmovilizado en espuma y la decoloración de un efluente papelero en un biorreactor de lecho fluidizado. Pontifica universidad javeriana, Bogotá.

MASHITAH, M., ZULFADHLY, Z., BHATIA, S. 1999. Ability of Pycnoporus sanguineus to remove copper ions from aqueous solution. J. Artif. Cells Blood Subst. Immobil. Biotechnol., 27(5/6): 429 – 433.

MASHITAH, M., YUS, Y., BHATIA, S. 2008. Biosorption of cadmium (II) ions by immobilized cells of Pycnoporus sanguineus from aqueous solution. Biores. Technol., 99: 4742 – 4748.

MERIAN, E., CLARKSON T. 1991. Metals and their compounds in the environment: occurrence, analysis, and biological relevance. VCH, Weinheim; New York

MORALES, D., RUIZ, J. 2008. Determinación de la capacidad de remoción de cadmio, plomo y niquel por fungi de la podredumbre blanca inmovilizados. [En línea]: Javeriana (http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis148.pdf, documento, ene.2015).

MUDHOO, A., GARG V., WANG S. 2012. Removal of heavy metals by biosorption. Environmental Chemistry Letters 10:109 - 117.

MUELLER, G., BILLS, G., FOSTER, M. 2001. Biodiversity of fungy inventory and monitoring methods. Editorial Materils. USA. 234 p.

MURALEEDHARAN, T., VENKOHACHR, C. 1990. Mechanism of biosorption of copper (II) by *Ganoderma lucidium*. Biotechnol. Bioeng. 35: 320 – 325.

NAVARRO, A., RAMOS, K., CAMPOS K., MALDONADO, H. 2006. Elucidación del efecto del pH en la adsorción de metales pesados mediante biopolímeros naturales: cationes divalentes y superficies activas. Revista Iberoamericana de Polímeros. Volumen 7(2):113 – 126.

PÉREZ, A., AGUILAR, M., MESEGUER, V., ORTUÑO, J., SÁEZ, J., LLORÉNS, M. 2009. Biosorption of chromium (III) by orange (*Citrus cinensis*) waste: Batch and continuous studies," Chem. Eng. J., 155 (1 - 2): 199 - 206.

PINZÓN, M., CARDONA, A. 2010. Influencia del pH en la bioadsorción de Cr (III) sobre cáscara de naranja: Determinación de las condiciones de operación en proceso discontinuo. Rev. la Fac. Ciencias Básicas, 8(1): 21 – 30.

QUINTERO, R. 1981. Ingeniería bioquímica: teoría y aplicaciones. En: Ingeniería bioquímica: teoría y aplicaciones. Alhambra Mexicana.

RABASCO. M., CARMEN, M. 2005. Valoración del residuo de rapa de uva como bioadsorbente para la eliminación de cadmio de efluentes acuosos. Universidad Politécnica de Cataluña. [En línea]: Metales pesados en efluentes.(http://upcommons.upc.edu/handle/2099.1/3126;jsessionid=0D83CDDE615DBF6C44571E43ADFC54C9.) 01 nov. 2017.

RODIER J.1996. Análisis de las aguas naturales, aguas residuales, aguas de mar. 1 ed. Barcelona, Omega. 1059 p.

RODRIGUEZ, K. 2005. Eficacia del hongo Pleurotus ostreatus como biorremediador de suelos contaminados con metales pesados. Trabajo de grado para título de Microbiólogo. Universidad de Puerto Rico.

SALA, L., GARCÍA, S., GONZÁLEZ, J., FRASCAROLI, M., BELLÚ, S., MANGIAMELI, F., BLANES, P., MOGETTA, M., ANDREU, V., ATRIA, A., Salas, J. 2010. Biosorción para la eliminación de metales pesados en aguas de desecho, An. la Real Soc. Española Química, 106 (2): 114-120.

SANCHEZ, J., MARRUGO, J., URANGO, I. 2014. Remoción de plomo, cadmio y mercurio en un efluente minero por medio de biomasa de fungi Penicillium sp.

SANDOVAL, F. 2006. Según Disminución de la demanda química de oxígeno (DQO) en vinazas mediante tratamiento biológico. Huajapán de León, México.

SARKAR S, YADAV P, BHATNAGAR D. 1997. Cadmium induced lipid peroxidation and the antioxidant system in rat erythrocytes: the role of antioxidants. J Trace Elem Med Biol; 11: 8 – 13.

SCRAGG, A. 2001. Biotecnología medioambiental. Ed. Por Pueyo J. 1 Ed. España, Zaragoza, Acribia S.A. 299 p.

SCRIBAN, R. 1985. Biotecnología. México. 2. ed. El Manual moderno. 170-183.

TAPIA, R., PÉREZ, D., ROJAS, R., CORTES, C., RIVERA, G., SOLIS, S. 2011. New laccase-producing fungi isolates with Biotechnology potential in dye decolorization. Afr. J. Biotechnol. 10: 10134 – 10142.

TEJADA, C. VILLABONA, A. y GARCÉS, L. 2014. Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. Rev. Tecno Lógicas. s. l. 18 (34): 1 - 46 p.

TORRES, M., QUINTERO, J. 2008. Determinación de la velocidad específica de consumo de oxígeno en microorganismos incluyendo el tiempo de respuesta del electrodo de oxígeno Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia n°4.

VILLANUEVA, T. 2016. Eficiencia de remoción de cadmio en medio acuoso utilizando fungi ligninolítico en biorreactores Air Lift. Tesis para optar el título de Ingeniero Ambiental. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú 84 p.

WEAST, T. 1984. Metales pesados en ciclos biológicos. Editorial Iberoamericana. Guadalajara, México. 421 - 423.

YAVUZ, H., DENIZLI, A., GUNGUNES, H., SAFARIKOVA, M., Safarik, I. 2006. Biosorption of mercury on magnetically modified yeast cells, Separation and Purification Technology, 52: 253 – 260.

YAHAYA, Y., MASHITAH, M., BHATIA, S. 2009. Biosorption of copper (II) onto immobilized cells of Pycnoporus sanguineus from aqueous solution: Equilibrium and kinetic studies. J. Hazard. Mater., 161: 189 – 195.

YUS Y., MASHITAH, M., BHATIA, S. 2008. Process optimization studies of lead (Pb (II)) biosorption onto immobilized cells of *Pycnoporus sanguineus* using response surface methodology. Biores. Technol., 99: 8549 – 8552.

YUS, Y. 2008. Biosorption of selected heavy metals by free and immobilized *Pycnoporus sanguineus*: Batch and column studies. MSc. diss., Universiti Sains Malaysia, Malaysia.

YUS, Y., MASHITAH, M. 2014. *Pycnoporus sanguineus* as potencial biosorbent for havy metal removal from aqueous solution: A review. Universiti Sains Malaysia. Journal of Physical Science, 25(1): 1 – 32.

YUS, Y., MASHITAH, M., BHATIA, S. 2008. Biosorption of cadmium (II) ions by immobilized cells of *Pycnoporus sanguineus* from aqueous solution. Biores. Technol., 99: 4742 – 4748.

ZULFADLY, Z., MASHITAH, M., BHATIA, S. 2001. Heavy metals removal in fixed bed column by the macrofungi, *Pycnoporous sanguineus*. Environ. Pollut., 112: 463 – 470.

X. ANEXOS

APÉNDICE A. Cálculo de Pb y Cu

Para calcular la pureza del Pb (II) y Cu (II) se utilizó la siguiente formula:

$$[\text{Sustrato X necesitado}] = \frac{PM\ de\ Sustrato\ X}{[a]en\ sustrato\ X} x[a]nesecitido$$

$$Masa\ en\ Gramos\ (g) = N\ x\ PM$$

Cálculo para el T1:

1. Para calcular 100 mg /L de Pb, se realizó lo siguientes cálculos:

PbSO4 = 207 +32+ 64 = 303

$$100\frac{mg}{l}Pb\ x\frac{PbSO4}{Pb}$$

$100x\frac{303}{207}$ = 146.37 mg/L $PbSO_4$ al 98%

146.37----------98%
X----------100%

X = 149.35 g de $PbSO_4$

2. Para calcular 200 mg /L de Cu, se realizó lo siguientes cálculos:

CuSO4 = 64+32+64 = 160

$$200\frac{mg}{l}x\frac{CuSO4}{Cu}$$

$200x\frac{160}{64}$ = 500 g de $CuSO_4$ al 98%

500----------98%
X----------100%

X = 510.20 g de $CuSO_4$

Cálculo para el T2:

1. Para calcular 200 mg /L de Pb, se realizó lo siguientes cálculos

PbSO4 = 207 +32+ 64 = 303

$$200\frac{mg}{l}x\frac{PbSO4}{Pb}$$

$200x\frac{303}{207}$ = 292.75 g de $PbSO_4$ al 98%

292.75----------98%
X----------100%

X = 298.72 g de $PbSO_4$

2. Para calcular 300 mg /L de Cu, se realizó lo siguientes cálculos

CuSO4 = 64+32+64 = 160

$$300\frac{mg}{l}x\frac{CuSO4}{Pb}$$

$300x\frac{160}{64}$ = 500 g de $CuSO_4$ al 98%

768.75----------98%
X----------100%

X = 784.43 g de $CuSO_4$

Cálculo para el T3:

1. Para calcular 300 mg /L de Pb, se realizó lo siguientes cálculos

PbSO4 = 207 +32+ 64 = 303

$$300\frac{mg}{l}x\frac{PbSO4}{Pb}$$

$300x\frac{303}{207}$ = 439.13 g de $PbSO_4$ al 98%

439.13----------98%
X----------100%

X = 448.09 g de $PbSO_4$

Cálculo para el 4:

2. Para calcular 300 mg /L de Cu, se realizó lo siguientes cálculos

CuSO4 = 64+32+64 = 160

$$400\frac{mg}{l}x\frac{CuSO4}{Pb}$$

$400x\frac{160}{64}$ = 1000 g de $CuSO_4$

1000----------98%
X----------100%

X = 1020.40 g de $CuSO_4$

APÉNDICE B. Panel fotográfico

Figura 21. *Pycnoporus sanguineus* en el jardín botánico UNAS.

Figura 22. Recolección de carpóforos silvestres de *Pycnoporus sanguineus.*

Figura 23. Obtención de muestras para la desinfección de *Pycnoporus sanguineus*.

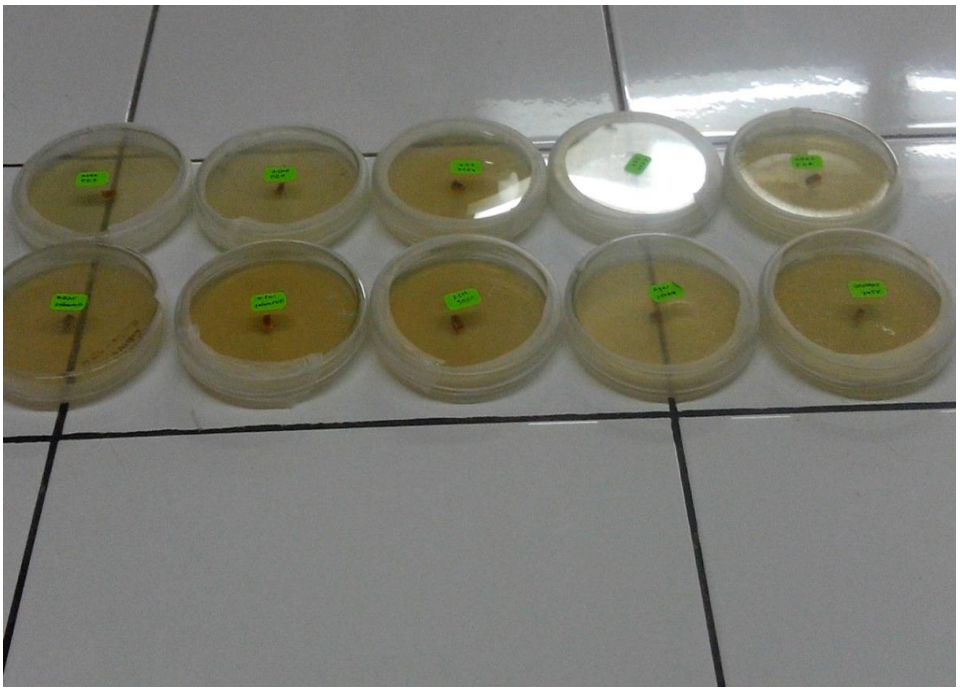


Figura 24. Siembra de *Pycnoporus sanguineus* en PDA.

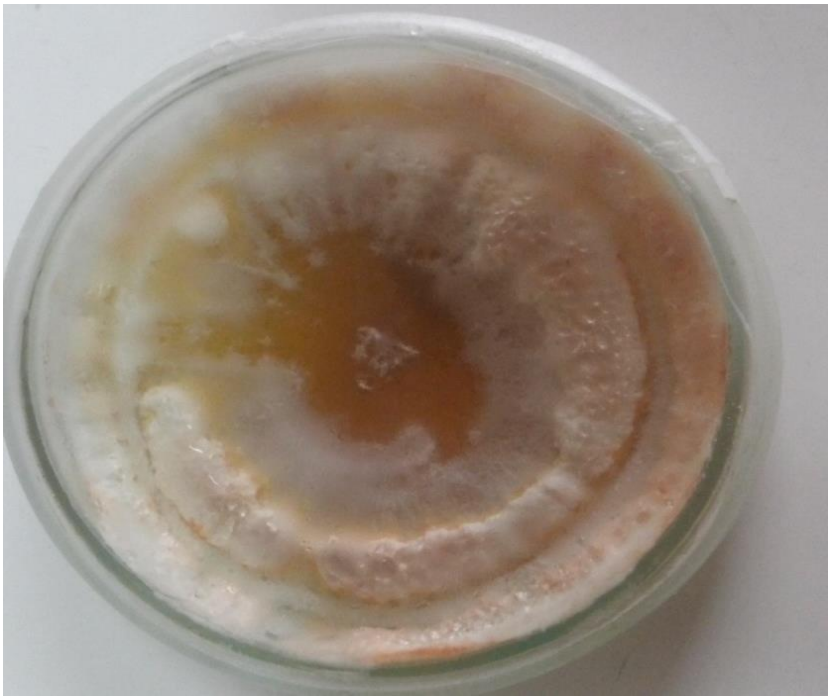


Figura 25. *Pycnoporus sanguineus* aislado en cultivo puro.

Figura 26. Reactivación de *Pycnoporus sanguineus.*

Figura 27. Incubación por 5 días a temperatura ambiente por reactivación de *Pycnoporus sanguineus.*

Figura 28. Acondicionamiento de biorreactores Air Lift.

Figura 29. Adicionando a los biorreactores medio mínimo de sales según DAVIS.

Figura 30. Inoculación de *Pycnoporus sanguineus* reactivado en los biorreactores Air Lift.

Figura 31. Biorreactores Air Lift en operación.

Figura 32. Centrifugación de muestras para su posterior lectura en el espectrofotómetro.