

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

## MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

**REMOCIÓN DE  $Pb^{2+}$  EN FASE ACUOSA MEDIANTE SISTEMAS POR LOTE Y  
CONTINUO UTILIZANDO UN BIOADSORBENTE QUERATINOSO**

**BIODEGRADABLE**

PRESENTA:

**CLAUDIA ANGÉLICA SOLÍS MORENO**

**DIRECTOR DE TESIS:**

DRA. ELSA CERVANTES GONZÁLEZ

**ASESORES:**

DRA. CANDY CARRANZA ÁLVAREZ

DR. LUIS ARMANDO BERNAL JÁCOME

**14 de diciembre 2017**

# **CRÉDITOS INSTITUCIONALES**

**PROYECTO REALIZADO EN:**

**LA COORDINACIÓN ACADÉMICA REGIÓN ALTIPLANO (COARA)  
DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUÍS POTOSÍ**

**AGRADEZCO A CONACyT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-  
TESIS**

**Becario No. 696154**

**LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO  
ATRAVÉS  
DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS DE CALIDAD  
(PNPC)**

## **AGRADECIMIENTOS**

A los Programas Multidisciplinario de Posgrados en Ciencias Ambientales por brindarme la oportunidad de continuar con mi preparación profesional.

A la Dra. Elsa Cervantes González por brindarme la oportunidad de volver a trabajar bajo su dirección y seguir complementando mi desarrollo profesional, por sus enseñanzas, amistad y apoyo durante el transcurso de la presente investigación.

A la Coordinación Académica Región Altiplano por la oportunidad y apoyo para la realización del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Jaime García Mena por brindarme la oportunidad de trabajar y complementar la presente investigación en el Laboratorio de Referencia y Apoyo para la Caracterización de Genomas, Transcriptomas y Microbiomas del Departamento de Genética Y Biología Molecular en el Centro de Investigación de Estudios Avanzados (CINVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional.

Al Dr. Selvasankar Murugesan por su apoyo, enseñanzas y seguimiento durante y posterior a mi estancia en el CINVESTAV.

A mis compañeros del Laboratorio de Remediación Ambiental que está bajo la dirección de la Dra. Elsa Cervantes González por el proceso de enseñanza-aprendizaje generado en del trabajo diario.

## DEDICATORIAS

A mis padres y hermana por su amor y apoyo incondicional para continuar tanto en mi ejercicio profesional como en mi crecimiento personal. Gracias infinitas por creer en mi trabajo y siempre estar conmigo.

A mis abuelos José Moreno Ramírez y Maria Luisa Amada Carreto Pérez por su amor incondicional, por sus enseñanzas a lo largo de mi vida y por creer en mi ejercicio profesional. Gracias por todo.

A toda mi familia por su amor, ánimos y confianza en mi camino profesional. Gracias por creer en mí.

A Mariela Guevara García por su apoyo, amistad, compañía y cariño en cada momento de este camino. Gracias infinitas por estar a mi lado.

A mis amigos Anahí Velázquez Y Víctor Escot por su amistad y apoyo durante este proceso. Gracias por las risas, pláticas y enseñanzas sin fin.

A mis compañeros de la maestría Miriam López, Eduardo Bernal, Claudia Paz, Karla Alvarado y Tania Ramírez por ser el mejor factor multidisciplinario de este camino. Gracias por su amistad, apoyo, enseñanzas y trabajo en conjunto.

A la vida, por los momentos y libertad de decisión. Esto continúa.

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó la utilización de la pluma de pollo modificada mediante un proceso de oxidación como adsorbente para la remoción de plomo en sistemas líquidos tanto en estado estacionario como continuo y la posterior degradación del complejo obtenido en el proceso de remoción mediante un consorcio adicionado con *P. putida*, los cuales cuentan con capacidad queratinolítica – tolerante a plomo. Primeramente se llevó a cabo la obtención y caracterización de tres materiales, los cuales fueron la pluma de pollo sin tratamiento, la pluma coloidizada con  $H_3PO_4$  y la pluma oxidada con  $H_2O_2$  5%, y posteriormente fueron evaluados en cuanto a su capacidad de adsorción de  $Pb^{2+}$  mediante un diseño experimental de Box-Behnken con tres variables y tres niveles cada una para seleccionar el material con los mejores resultados y mediante las superficies de respuesta obtenidas determinar las mejores condiciones de operación. Al comparar las cargas obtenidas para cada material, se observó que la pluma oxidada obtuvo los mejores resultados y como condiciones óptimas del proceso de adsorción se seleccionaron 30 °C, pH 3.3 y nula agitación. Posteriormente, con estas condiciones se realizaron isothermas en un intervalo de temperatura de 5 a 60 °C y se analizaron mediante los modelos de Freundlich, Temkin, Dubinin-Radushkevich y Langmuir, siendo este último el que describe de mejor manera el proceso de adsorción y el cual define como capacidad máxima de la pluma oxidada 18.5 mg/g en promedio dentro del intervalo de temperaturas analizado. Además, el proceso de adsorción se describió termodinámicamente mediante la Energía libre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ), Entalpía ( $\Delta H^\circ$ ) y Entropía ( $\Delta S^\circ$ ), los cuales indicaron que el proceso es favorable y espontáneo, ligeramente irreversible y que cuenta con dos etapas en cuanto a su carácter térmico ya que antes de 15 °C el proceso tiene un comportamiento endotérmico y arriba de 15 °C es exotérmico, lo cual sumado a los resultados anteriores indica que el proceso de adsorción se lleva a cabo mediante una combinación de fisisorción y quimisorción. En cuanto a su comportamiento cinético, se evaluaron sistemas con diferentes concentraciones iniciales y se realizó el ajuste a los modelos de Pseudo-primer orden, Pseudo-segundo orden, Elovich y de Difusión intrapartícula, siendo el modelo de Pseudo-segundo orden el que obtuvo la mayor correlación y describe que el paso limitante en el proceso de adsorción son las interacciones químicas presentes entre los iones de  $Pb^{2+}$  y los sitios activos del adsorbente. Posteriormente se evaluó el proceso de adsorción en flujo continuo mediante el análisis de columnas empacadas donde se evaluó el efecto del caudal y concentración inicial sobre la capacidad del lecho, donde las curvas de rompimiento obtenidas se ajustaron a los modelos de Thomas, Clark, Adams-Bohart y Dosis-respuesta modificado, siendo éste último el que obtuvo una mayor correlación y denota que la transferencia de soluto hacia el adsorbente en la columna es la

fuerza que conduce el proceso de adsorción. Además, la mayor capacidad de lecho se obtuvo (15.65 mg/g) al trabajar en un flujo de 1mL/min y una concentración de 300 mg/L.

Para analizar el proceso de degradación del complejo obtenido en el proceso de adsorción, se monitorearon tres sistemas donde se evaluó la degradación de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada (ambos como controles) y el complejo “pluma+Pb” mediante un consorcio queratinolítico aislado de residuos avícolas adicionado de *P. putida* mediante las siguientes determinaciones: proteína soluble, actividad queratinolítica, actividad proteolítica, actividad de lipasa, productos ninhidrina positivos, concentración de grupos –SH, pH, liberación de plomo al medio y Microscopia Electrónica de Barrido. De acuerdo a los resultados obtenidos, se observó que el proceso de degradación de los materiales queratinosos se llevó a cabo al detectar la presencia de actividades enzimáticas responsables de desestabilizar y desnaturalizar la pluma así como subproductos resultantes (proteína soluble y aminoácidos). Además, mediante las micrografías obtenidas se observó la colonización y el daño a la estructura de la pluma por acción de la biomasa durante el proceso de degradación. Finalmente se describió la diversidad del consorcio queratinolítico durante el proceso de degradación del complejo “pluma+Pb”, ya que durante la cinética de degradación se observó que los iones metálicos en el complejo fueron bioacumulados por la biomasa. Al observar la diversidad a nivel de familia y género se presentó mayor abundancia de géneros como *Alcaligenes*, *Tissierella* y *Bacteroides*, descritos en diversos trabajos tanto por su capacidad queratinolítica como de tolerancia a metales pesados. Debido a lo anterior, se comprobó el carácter biodegradable del complejo “pluma+Pb” obtenido del proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma oxidada, lo cual describe una propuesta de biorremediación de  $Pb^{2+}$  completa.

## ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN .....	16
1.1	Metales pesados. Generalidades.....	16
1.2	El plomo: Características y aplicaciones.....	17
1.2.1	El plomo en México .....	17
1.2.2	Sitios contaminados por metales pesados en México.....	18
1.3	Toxicidad del plomo.....	20
1.3.1	Normatividad del plomo a nivel mundial y nacional .....	20
1.4	Tecnologías para el control de la contaminación de los metales pesados .....	22
1.4.1	Tecnologías biológicas de remediación .....	23
1.4.1.1	Fitorremediación .....	23
1.4.1.1.1	Fitofiltración/rizofiltración.....	25
1.4.1.1.2	Fitoestabilización .....	25
1.4.1.1.3	Fitovolatilización.....	25
1.4.1.2	Uso de microorganismos .....	25
1.4.1.2.1	Biosorción .....	27
1.4.1.2.2	Bioacumulación.....	28
1.4.1.2.3	Biolixiviación.....	28
1.4.2	Tecnologías fisicoquímicas .....	28
1.5	Procesos de adsorción .....	30
1.5.1.1	Adsorción física.....	30
1.5.1.2	Adsorción química .....	31
1.5.1.3	Adsorción electrostática .....	31
1.6	Materiales utilizados como adsorbentes.....	32
1.6.1	Adsorbentes sintéticos.....	32
1.6.2	Adsorbentes naturales .....	33

1.7	La pluma de pollo.....	35
1.7.1	La pluma de pollo como contaminante .....	36
1.8	Biodegradación de la pluma de pollo.....	37
2	JUSTIFICACIÓN.....	39
3	HIPÓTESIS.....	39
4	OBJETIVOS .....	40
4.1	Objetivo general .....	40
4.2	Objetivos específicos.....	40
5	MATERIALES Y MÉTODOS .....	41
5.1	Estrategia metodológica .....	41
5.2	Acondicionamiento de la pluma de pollo utilizada como adsorbente .....	42
5.2.1	Modificación química de la pluma de pollo.....	42
5.2.1.1	Proceso de oxidación.....	42
5.2.1.2	Proceso de coloidización .....	42
5.3	Identificación de grupos funcionales en los materiales a evaluar como adsorbentes.....	43
5.3.1	Análisis mediante Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR). 43	
5.3.2	Determinación de sitios activos en la superficie .....	43
5.3.3	Determinación del punto de carga cero.....	44
5.4	Evaluación del proceso de adsorción de $Pb^{2+}$ .....	45
5.4.1	Efecto de pH, temperatura y velocidad de agitación sobre la capacidad de adsorción de los materiales .....	45
5.4.2	Evaluación de isothermas de adsorción.....	46
5.4.3	Evaluación de cinéticas de adsorción.....	47
5.4.4	Estudio en columna de lecho empacada.....	48
5.5	Evaluación del proceso de biodegradación del complejo “pluma-Pb” .....	50
5.5.1	Preparación del complejo “pluma-Pb” .....	50
5.5.2	Preparación y monitoreo de los sistemas de degradación .....	50



5.5.2.1	Determinación de proteína soluble.....	51
5.5.2.2	Determinación de actividad queratinolítica.....	51
5.5.2.3	Determinación de actividad de lipasa.....	51
5.5.2.4	Determinación de actividad de proteasa.....	52
5.5.2.5	Determinación de productos ninhidrina positivos.....	52
5.5.2.6	Determinación de grupos sulfhidrilos .....	53
5.5.2.7	Evaluación de Pb <sup>2+</sup> liberado .....	53
5.5.2.8	Análisis por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersa (EDS).....	54
5.5.2.9	Análisis de la diversidad microbiana del consorcio queratinolítico durante el proceso de degradación .....	54
5.5.2.9.1	Extracción de ácidos nucleicos totales de los sistemas de degradación .....	54
5.5.2.9.2	Cuantificación de ácidos nucleicos totales extraídos .....	55
5.5.2.9.3	Caracterización de los ácidos nucleicos totales extraídos por fraccionamiento en gel de agarosa .....	55
5.5.2.9.4	Construcción de librerías del 16S rDNA.....	55
5.5.2.9.5	Secuenciamiento mediante Ion Torrent.....	56
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
6.1	Caracterización parcial.....	57
6.1.1	Grupos funcionales y sitios activos .....	57
6.1.2	Determinación del punto de carga cero .....	62
6.2	Evaluación del proceso de adsorción .....	65
6.2.1	Efecto de pH, temperatura y agitación sobre la capacidad de adsorción de Pb <sup>2+</sup> de los materiales .....	65
6.2.2	Evaluación de isotermas de adsorción.....	71
6.2.3	Análisis FTIR del complejo “pluma+Pb” .....	79
6.2.4	Evaluación de cinéticas de adsorción.....	81
6.2.5	Estudio en columna en lecho empacado.....	85

6.3	Biodegradación del complejo “pluma+Pb” .....	93
6.3.1	Descripción del complejo “Pluma+Pb” utilizado en el sistema de degradación .....	93
6.3.2	Proteína soluble y actividad queratinolítica .....	93
6.3.3	Productos ninhidrina positivos y actividad proteolítica .....	96
6.3.4	Actividad de lipasa y pH .....	98
6.3.5	Concentración de grupos –SH libres y liberación de Pb <sup>2+</sup> .....	101
6.3.6	Microscopía Electrónica de Barrido y fotografías de los sistemas de degradación evaluados	103
6.3.7	Análisis de la diversidad microbiana del consorcio queratinolítico durante el proceso de degradación.....	111
7	CONCLUSIONES .....	118
8	REFERENCIAS .....	120

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sitios contaminados por plomo en México .....	19
Tabla 2. Límites máximos permisibles establecidos por la legislación mexicana para plomo .....	21
Tabla 3. Diferentes técnicas de fitorremediación por Rezanian <i>et al</i> (2016). .....	24
Tabla 4. Subclasificación de adsorbentes naturales y ejemplos .....	33
Tabla 5. Adsorbentes naturales reportados para la remoción de metales pesados .....	34
Tabla 6. Relación entre sitios activos y soluciones neutralizantes .....	44
Tabla 7. Diseño experimental de Box-Behnken utilizando las variables de temperatura, pH y velocidad de agitación.....	45
Tabla 8. Ecuaciones de los modelos de adsorción de Langmuir, Freundlich, Temkin y Dubinin-Radushkevich .....	46
Tabla 9. Ecuaciones utilizadas para la obtención de parámetros termodinámicos.....	47
Tabla 10. Ecuaciones de los modelos cinéticos de Pseudo-primer orden, Pseudo-segundo orden, de Elovich y de Difusión intrapartícula .....	48
Tabla 11. Ecuaciones de los modelos de Thomas, Clark, Adams-Bohart y el modelo Modificado de dosis-respuesta para el modelado de columnas de lecho empacado .....	49
Tabla 12. Grupos funcionales reportados en la pluma de pollo. ....	58
Tabla 13. Concentración de sitios activos superficiales de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada y pluma coloidizada .....	60
Tabla 14. Resultados del diseño experimental de Box-Behnken para evaluar la adsorción de $Pb^{2+}$ mediante pluma sin tratamiento, pluma oxidada y pluma coloidizada. Concentración inicial 90 mg/L. ....	65
Tabla 15. Constantes de Langmuir y Freundlich a diferentes temperaturas para el proceso de adsorción de $Pb^{2+}$ utilizando pluma de pollo oxidada .....	74
Tabla 16. Constantes de Temkin y Dubinin-Radushkevich a diferentes temperaturas para el proceso de adsorción de $Pb^{2+}$ utilizando pluma de pollo oxidada .....	75
Tabla 17. Comparación de capacidades máximas de $Pb^{2+}$ con diversos adsorbentes naturales.....	76
Tabla 18. Parámetros termodinámicos del proceso de adsorción de $Pb^{2+}$ con pluma de pollo oxidada a 5, 11.5, 15 y 30 °C.....	77
Tabla 19. Parámetros termodinámicos del proceso de adsorción de $Pb^{2+}$ con pluma de pollo oxidada a 30, 45 y 60 °C.....	78

Tabla 20. Constantes de los modelos cinéticos de Pseudo-primer orden y Pseudo-segundo orden, a diferentes concentraciones del proceso de adsorción de $Pb^{2+}$ utilizando pluma de pollo oxidada ....	82
Tabla 21. Constantes de los modelos cinéticos de Elovich y Difusión intrapartícula a diferentes concentraciones del proceso de adsorción de $Pb^{2+}$ utilizando pluma de pollo oxidada .....	84
Tabla 22. Capacidades de los lechos de las curvas de rompimiento. ....	87
Tabla 23. Constantes de Thomas y Clark en diferentes condiciones de concentración y flujo para el proceso de adsorción de $Pb^{2+}$ utilizando pluma oxidada en flujo continuo .....	91
Tabla 24. Constantes de Adams-Bohart y de Dosis-respuesta modificado en diferentes condiciones de concentración y flujo para el proceso de adsorción de $Pb^{2+}$ utilizando pluma oxidada en flujo continuo.....	92
Tabla 25. Resultados del proceso de adsorción para la formación del complejo "pluma+Pb" .....	93
Tabla 26. Relación de absorbancias y concentraciones de DNA obtenidas en las muestras de los sistemas del complejo "pluma+Pb" y Pluma sin tratamiento.....	111

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Identificación de metales pesados en la tabla periódica .....	16
Figura 2. Principales estados productores de plomo en México .....	18
Figura 3. Clasificación de las estrategias de remediación de metales pesados (Ullah <i>et al.</i> , 2015)..	22
Figura 4. Interacción de los microorganismos con los iones metálicos (Tabak <i>et al.</i> , 2005).....	26
Figura 5. Estructuras de la pluma de pollo (Tesfaye <i>et al.</i> , 2017).....	35
Figura 6. Consumo de carne de pollo, 2006-2016 (Miles de toneladas).....	36
Figura 7. Producción mundial de carne de pollo, 2006-2016.....	37
Figura 8. Diagrama general de trabajo .....	41
Figura 9. Ejemplares de pluma de pollo seleccionados.....	42
Figura 10. Espectros FTIR de la pluma de pollo sin modificación, pluma oxidada al 5% y pluma coloidizada. ....	57
Figura 11. Mecanismo de oxidación de los puentes disulfuro en las queratinas (Tomado de Holkar <i>et al.</i> , 2016). ....	59
Figura 12. Deformación de grupos lactónicos por radicales hidroxilo (OH); formación de (a) grupos fenólicos y (b) grupos carboxílicos (Park & Seo, 2011) .....	61
Figura 13. Interacción propuesta del Rojo Congo con las plumas sin tratamiento a pH 7 (Tomado de Cervantes-González <i>et al.</i> , 2017). ....	62
Figura 14. Punto de carga cero y comportamiento de la carga superficial de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada y pluma coloidizada.....	63
Figura 15. Comportamiento anfotérico de las moléculas de queratina, mecanismo clave en la adsorción y desorción de iones metálicos (Ghosh & Collie, 2014). ....	64
Figura 16. Superficies de respuesta del proceso de adsorción de Pb <sup>2+</sup> utilizando A) pluma de pollo sin tratamiento, B) pluma oxidada y C) pluma coloidizada relacionando las variables de temperatura y pH.....	66
Figura 17. Superficies de respuesta del proceso de adsorción de Pb <sup>2+</sup> utilizando A) pluma de pollo sin tratamiento, B) pluma oxidada y C) pluma coloidizada relacionando las variables pH y agitación. ....	67
Figura 18. Diagrama de especiación de Pb <sup>2+</sup> en soluciones de agua a T = 25 °C (Tomada de Berber-Mendoza <i>et al.</i> , 2006).....	68
Figura 19. Mecanismos propuesto para la remoción de Pb <sup>2+</sup> utilizando hojas de <i>Cinnamomum camphora</i> (tomado de Chen <i>et al.</i> , 2010).....	69

Figura 20. Mecanismos de adsorción propuestos: (a) intercambio iónico; (b) complejación (Tomado de (Liang <i>et al.</i> , 2009)).	69
Figura 21. Superficies de respuesta del proceso de adsorción de Pb <sup>2+</sup> utilizando A) pluma de pollo sin tratamiento, B) pluma oxidada y C) pluma coloidizada relacionando las variables B) Temperatura y agitación.	70
Figura 22. Modelos de adsorción de Langmuir, Freundlich, Temkin y Dubinin-Radushkevich para la interacción de Pb <sup>2+</sup> en pluma de pollo oxidada en A) 5 °C, B) 11.5 °C, C) 15 °C, D) 30 °C, E) 45 °C y F) 60 °C.	73
Figura 23. Comportamiento de la Energía libre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ) contra temperatura (K).	77
Figura 24. Espectros FTIR de la pluma de pollo oxidada antes y después del proceso de adsorción de Pb <sup>2+</sup> .	80
Figura 25. Modelos cinéticos de Pseudo-primero orden, Pseudo-segundo orden, Elovich y Difusión intrapartícula del proceso de adsorción de Pb <sup>2+</sup> utilizando pluma de pollo oxidada para los sistemas de concentración inicial A) 100 mg/L, B) 200 mg/L y C) 300 mg/L.	82
Figura 26. Curvas de rompimiento de columna en el proceso de adsorción de Pb <sup>2+</sup> utilizando pluma oxidada en A) 300 mg/L, B) 400 mg/L y C) 500 mg/L.	86
Figura 27. Modelos de columnas de Thomas, Clark, Adams-Bohart y Dosis-respuesta modificado para la interacción de Pb <sup>2+</sup> en pluma oxidada en A) 1mL/min y B) 2mL/min. Concentración inicial: 300 mg/L.	88
Figura 28. Modelos de columnas de Thomas, Clark, Adams-Bohart y Dosis-respuesta modificado para la interacción de Pb <sup>2+</sup> en pluma oxidada en A) 1mL/min y B) 2mL/min. Concentración inicial: 400 mg/L.	89
Figura 29. Modelos de columnas de Thomas, Clark, Adams-Bohart y Dosis-respuesta modificado para la interacción de Pb <sup>2+</sup> en pluma oxidada en A) 1mL/min y B) 2mL/min. Concentración inicial: 500 mg/L.	90
Figura 30. Cuantificación de proteína soluble y actividad queratinolítica para los sistemas de degradación de A) Pluma sin tratamiento, B) Pluma oxidada y C) Pluma+Pb a 35°C.	94
Figura 31. Cuantificación de productos ninhidrina positivos y actividad proteolítica para los sistemas de degradación de A) Pluma sin tratamiento, B) Pluma oxidada y C) Pluma+Pb a 35°C.	97
Figura 32. Cuantificación de actividad de lipasa para los sistemas de degradación de pluma sin tratamiento, pluma oxidada y pluma+Pb a 35°C.	99
Figura 33. Monitoreo de pH durante la cinética de degradación de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada y complejo "pluma+Pb".	100

Figura 34. Concentración de grupos –SH para los sistemas de degradación de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada y del complejo “pluma+Pb” .....	101
Figura 35. Sistema utilizado para la degradación de pluma sin tratamiento en A) Tiempo 0, B) 4 días, C) 13 días, D) 24 días, E) 44 días, F) 55 días, G) 64 días y H) 70 días. ....	104
Figura 36. Sistema utilizado para la degradación de pluma oxidada en A) Tiempo 0, B) 4 días, C) 13 días, D) 24 días, E) 44 días, F) 55 días, G) 64 días y H) 70 días. ....	105
Figura 37. Espectro EDS del complejo "pluma+Pb" .....	105
Figura 38. Sistema utilizado para la degradación del complejo “pluma+Pb” en A) Tiempo 0, B) 4 días, C) 13 días, D) 24 días, E) 44 días, F) 55 días, G) 64 días y H) 70 días. ....	106
Figura 39. Micrografías electrónicas de barrido del proceso de degradación del complejo en el tiempo cero. A) X1000 y B) X3500.....	107
Figura 40. Micrografías electrónicas de barrido del proceso de degradación del complejo "pluma+Pb" al día 15. A) X1000, B) X5000, C) X2000 y D) X5000.....	108
Figura 41. Micrografías electrónicas de barrido del proceso de degradación del complejo "pluma+Pb" al día 45. A) X1000, B) X5000 y C) X2000.....	109
Figura 42. Micrografías electrónicas de barrido del proceso de degradación del complejo "pluma+Pb" al día 70. A) X1000, B) X2000, y C) X5000.....	110
Figura 43. Gel de agarosa al 0.05% de las muestras de DNA extraídas. Corrimiento de electroforesis a 100V durante 50 min. ....	112
Figura 44. Gel de agarosa al 2% de los productos de PCR obtenidos de la amplificación de la región V3. Marcador de peso molecular en el 5° carril. Corrimiento a 100V durante 50 min. ....	112
Figura 45. Diversidad microbiana en los sistemas de degradación del complejo “pluma+Pb” y pluma sin tratamiento a nivel de filo. ....	113
Figura 46. Diversidad microbiana en los sistemas de degradación del complejo “pluma+Pb” y pluma sin tratamiento a nivel de familia .....	114
Figura 47. Diversidad microbiana en los sistemas de degradación del complejo “pluma+Pb” y pluma sin tratamiento a nivel de género.....	116

# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 Metales pesados. Generalidades.

Los metales son elementos caracterizados por ser buenos conductores de la electricidad y calor, poseen brillo y son relativamente maleables y dúctiles; no existe una definición como tal de lo que son los metales pesados; sin embargo, este término agrupa a una categoría de elementos pertenecientes a diversos grupos en la tabla periódica (metales, metales de transición y metaloides) (Figura 1) que tienen un peso específico cinco veces mayor al del agua.

The figure shows the periodic table with heavy metals highlighted in orange. A legend box indicates the fields: Atomic Number, Symbol, Name, and Atomic Mass. The highlighted elements are: Al, Si, P, S, Cl, Ar, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Kr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Xe, Ba, Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi, Po, At, Rn, Fr, Ra, Rf, Db, Sg, Bh, Hs, Mt, Ds, Rg, Cn, Nh, Fl, Mc, Lv, Ts, Og, La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Ac, Th, Pa, U, Np, Pu, Am, Cm, Bk, Cf, Es, Fm, Md, No, Lr.

Figura 1. Identificación de metales pesados en la tabla periódica

Los metales se encuentran de manera natural en la corteza terrestre; no obstante, éstos son movilizados en el medio ambiente tanto por causas naturales (como la meteorización del suelo y rocas) como causas antropogénicas, siendo la más representativa de ellas la actividad minera ya que ha generado que grandes cantidades de estos materiales se movilicen a través de diversas matrices en los ciclos biogeoquímicos causando daños en las cadenas tróficas. El problema se incrementa al considerar que a diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales pesados no son biodegradables y tienden a acumularse en organismos vivos; además, una gran cantidad de iones de metales pesados son conocidos por ser tóxicos y carcinogénicos (Fu & Wang, 2001). Sin embargo, realizan funciones biológicas y en algunos casos son esenciales en cantidades traza para las funciones bioquímicas y fisiológicas vitales, entre ellos se pueden mencionar al Fe, Mn, Cu, Zn y Ni. Además, se han catalogados ciertos metales como no esenciales, debido a que no se ha



encontrado que tengan una función vital en el organismo, entre ellos se puede citar al Cd, Pb, As, Hg y Cr (Göhre & Paszkowski, 2006; Peng *et al.*, 2009).

## 1.2 El plomo: Características y aplicaciones

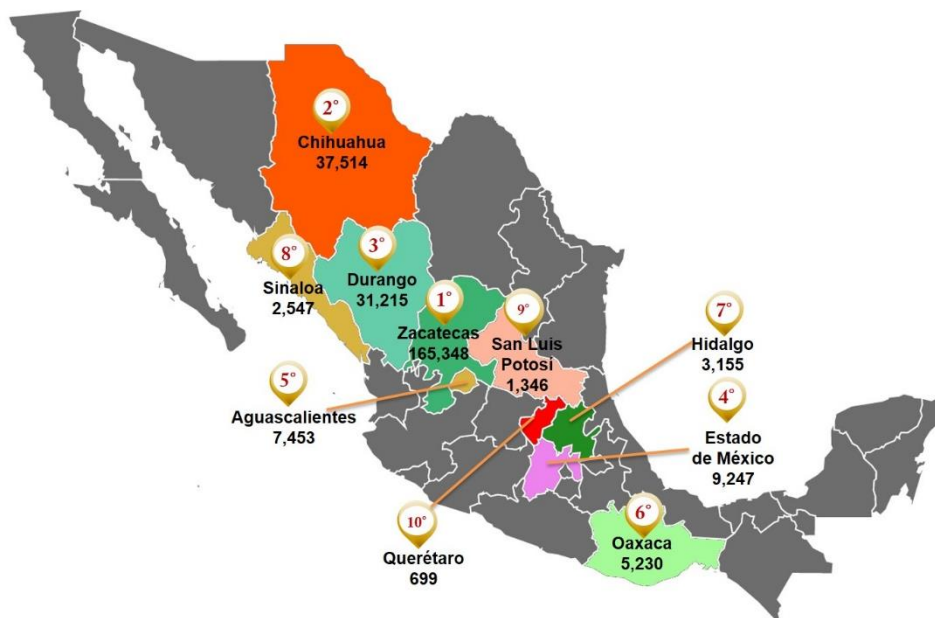
El plomo es un metal pesado de color gris azulado que pertenece al grupo IV de la tabla periódica y cuenta con dos estados de oxidación, los cuales son  $Pb^{4+}$  y  $Pb^{2+}$ , el cual es la especie más estable y predominante en el ambiente, además de serla más significativa desde un punto de vista toxicológico. Aunque el plomo puede encontrarse de manera natural como plomo elemental, es extremadamente raro, y se encuentra usualmente como  $Pb^{2+}$  en los depósitos, por lo que suele encontrarse combinado con otros elementos como azufre y oxígeno en una variedad de minerales que cuentan con un amplio intervalo de composiciones. La forma más común de encontrarlo es como  $PbS$  (galena), seguido de la cerusita ( $PbCO_3$ ), la anglesita ( $PbSO_4$ ), el litargirio ( $PbO$ ) y el minio ( $Pb_3O_4$ ), los cuales son los minerales más utilizados para la extracción de plomo (Casas & Sordo, 2011).

Debido a que el plomo es un elemento de gran abundancia en la corteza terrestre, puede ser utilizado como metal en su forma pura, en aleación con otros metales y en forma de sales. La importancia comercial del plomo se basa en su facilidad para hacer recubrimientos, su alta densidad, bajo punto de fusión, baja dureza, resistencia a los ácidos, aplicación en reacciones electroquímicas con ácido sulfúrico y su estabilidad química al aire, agua y suelo (Global Environmental Facility, 2002).

Actualmente este metal es utilizado mayormente en acumuladores plomo-ácido, para la construcción de hojas, para recubrimiento de cables, como blindaje para la radiación, aditivos de policloruro de vinilo, pigmentos y otros aditivos para pinturas, vidrio, esmaltes y cerámicas funcionales (Casas & Sordo, 2011).

### 1.2.1 El plomo en México

La minería es una de las principales actividades económicas del país, y de acuerdo al Informe Anual de la Cámara Minera de México (2015), el sector minero-metalúrgico tuvo una participación del 3% y 8.9% del PIB nacional e industrial, respectivamente. De acuerdo a reportes de la Cámara Minera, México contribuyó con el 4.7% de la producción de plomo mundial, mientras que a nivel nacional se obtuvo una producción de alrededor de 250,000 toneladas de este metal, siendo el estado de Zacatecas el principal productor del país, seguido de Durango y Chihuahua (Figura 2).



Fuente: AEMM (2015). Cifras preliminares expresadas en toneladas.

**Figura 2. Principales estados productores de plomo en México**

La actividad minera se desarrolla principalmente en los estados del Norte y Centro del país, , donde se producen actualmente tres cuartas partes del valor total de la producción minera nacional y como resultado de esta actividad, en estas entidades federativas, se generan millones de toneladas de residuos por año (SEMARNAT, 2008).

### 1.2.2 Sitios contaminados por metales pesados en México

La producción de plomo es una actividad que se ha dado a lo largo de la historia alrededor del mundo, y aun cuando inicialmente las minas operaban a pequeña escala, las emisiones de plomo se vieron incrementadas a través de la fundición descontrolada de grandes cantidades de minerales en espacios abiertos, la introducción de grandes hornos durante el siglo XVI y el desarrollo de la manufactura durante la revolución industrial (Casas & Sordo, 2011).

En varias partes del territorio nacional se han acumulado pasivos ambientales durante décadas debido al depósito o vertimiento de residuos peligrosos sin ningún tipo de control. Como se sabe, la falta de infraestructura y de servicios para el manejo adecuado de residuos ha propiciado la proliferación de prácticas ineficientes de gran impacto ambiental (Instituto Nacional de Ecología, 2006). Lo anterior, da lugar a la movilización de contaminantes que de acuerdo a la matriz donde se encuentren y a las condiciones ambientales pueden estar biodisponibles para los organismos y así, generar diversos daños a la salud.

En cuanto a la contaminación por plomo en el país, se han reportado una gran cantidad de sitios donde se ha detectado la presencia de éste metal tanto en agua como en aire y suelo, presentando algunos de ellos en la Tabla 1.

**Tabla 1. Sitios contaminados por plomo en México**

Lugar	Matriz	Concentración	Referencia
Zona Metropolitana de la Ciudad de México	Suelo	7 – 452 mg/kg	(Morton-Bermea <i>et al.</i> , 2009)
Hermosillo, Sonora	Polvo	101.88 mg/kg	(Meza-Figueroa <i>et al.</i> , 2007)
Mazatlán, Sinaloa	Sedimentos	55 mg/kg	(Soto-Jimenez <i>et al.</i> , 2001)
Hermosillo, Guaymas y Nacozari, Sonora	Agua potable	0.05-0.12 ppm	(Wyatt <i>et al.</i> , 1998)
Culiacán, Sinaloa	Sedimentos	45 µg/g	(Ruiz-Fernandez <i>et al.</i> , 2003)
Santa Bárbara, Chihuahua	Jales, suelo y sedimentos	972 – 16,881 ng/kg 5 – 124 µg/g	(Gutiérrez-Ruiz <i>et al.</i> , 2007)
San Luis Potosí, San Luis Potosí	Sedimentos	20.3 – 55.2 mg/kg	(Carranza-Alvarez <i>et al.</i> , 2008)
Coatzacoalcos, Veracruz	Agua	3 – 90 ppm	(Rosales-Hoz <i>et al.</i> , 2003)
Río Baluarte, Durango-Sinaloa	Sedimentos	7 – 30 µg/g	(Ruelas-Inzunza <i>et al.</i> , 2011)
Zimapán, Hidalgo	Suelo	910 – 3,040 mg/kg	(Ortega-Larrocea <i>et al.</i> , 2010)
Río Tecate, Baja California	Sedimentos	0.32 – 28 mg/kg	(Wakida <i>et al.</i> , 2008)

Respecto a la actividad minera del estado de San Luis Potosí, el Servicio Geológico Mexicano (2014), describe que el estado cuenta con trece regiones mineras de las cuales ocho extraen productos metálicos, entre los que se puede resaltar la extracción de Au, Ag, As, Cd, Cu, Pb y Zn. Debido a la larga historia de explotación en el estado y a un mal manejo de los residuos provenientes de la explotación minera, se han reportado sitios contaminados por diversos metales, teniendo como ejemplo el caso del área de Villa de la Paz-Matehuala, donde se han reportado concentraciones de plomo en muestras de suelo (26-6270 mg/kg) y sedimentos (50-2160 mg/kg) (Razo *et al.*, 2004), por lo que la búsqueda y aplicación de técnicas de remediación es de gran relevancia debido a la naturaleza de éstos contaminantes.

### 1.3 Toxicidad del plomo

El principal riesgo del plomo es su toxicidad; la exposición humana a este metal generalmente ocurre por más de uno de los cuatro componentes principales del ambiente: el aire, suelo y polvo de varios tipos, agua y alimentos (Lippmann, 2009). Las principales rutas por las que el plomo puede entrar al organismo son la ingestión y la inhalación; sin embargo, sólo un pequeño porcentaje (5 – 10 %) del plomo ingerido pasa del tracto intestinal al flujo sanguíneo, mientras que para los niños éste porcentaje es más elevado (Singh, 2005), lo cual la posiciona en el porcentaje de la población que más es afectado por la contaminación de éste metal.

En el organismo humano, el plomo presenta procesos de distribución, adsorción y excreción que ocurren de manera simultánea. El plomo se distribuye en tres compartimentos: sangre, tejidos blandos (riñón, médula ósea, hígado y cerebro) y tejido mineralizado (huesos y dientes). El plomo del reservorio mineralizado en determinadas circunstancias de estrés (embarazo, lactancia o enfermedades crónicas) puede movilizarse y aumentar los niveles en sangre (Borodia *et al.*, 2007). La deposición del plomo en los tejidos blandos y mineralizados se lleva cabo debido a que los iones de  $Pb^{2+}$  desplazan a los iones  $Ca^{2+}$  ya que ambos cuentan con un radio iónico muy parecido (Rodríguez, 2005). En cuanto a los daños provocados en el sistema nervioso, tanto los sistemas central y pericentral son los objetivos más sensibles dentro de la toxicidad del plomo (Cory-Slechta, 1996). Mientras que el segundo es el más afectado en los adultos, el efecto del plomo en el sistema nervioso central es más pronunciado en los niños (Bellinger, 2004; Brent, 2006). De manera general, el plomo induce daño en la parte prefrontal de la corteza cerebral, el hipocampo y cerebelo, lo cual conlleva una variedad de daños neurológicos, como daño al cerebro, retraso mental, problemas de comportamiento, daño nervioso y posiblemente la enfermedad del Alzheimer, Parkinson y esquizofrenia (Carocci *et al.*, 2016). En el sistema hematológico, el plomo interfiere en la síntesis de hemoglobina al interferir en la vía metabólica del grupo hemo; disminuye la actividad de la ferroquelatasa produciendo un aumento en la concentración de la protoporfirina eritrocítica (Borodia *et al.*, 2007).

#### 1.3.1 Normatividad del plomo a nivel mundial y nacional

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, el plomo está catalogado dentro de las diez sustancias químicas de mayor preocupación para la salud pública debido a las consecuencias que conlleva la exposición a este contaminante. Por lo anterior, la organización define como límite máximo permisible en el agua potable una concentración de 0.01 mg/L, mientras que para el aire urbano establece una concentración de 0.15 y 0.5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Lo anterior es importante ya que la

normatividad mexicana toma como base diversos estudios emitidos por otras organizaciones para la definición de Límites Máximos Permisibles (LMP) para el control del plomo, los cuales se presentan en la Tabla 2.

**Tabla 2. Límites máximos permisibles establecidos por la legislación mexicana para plomo**

NOM	Nombre	Especificaciones
NOM-001-SEMARNAT-1996	Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales	Diferentes usos 0.2-0.5 mg/L
NOM-052-SEMARNAT-2005	Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos	Extracto PECT 5 mg/L
NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004	Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio	400 mg/kg (Uso agrícola, residencial y comercial) 800 mg/kg (Uso industrial) Concentración de referencia de contaminantes solubles: 0.5 mg/L
NOM-166-SEMARNAT-2014	Control de emisiones atmosféricas en la fundición secundaria de plomo	Entrada en vigor 14 mg/m <sup>3</sup> A partir de 8 años 0.2 mg/m <sup>3</sup>
NOM-199-SSA1-2000	Criterios para la determinación de los niveles de concentración de plomo en la sangre. Acciones para proteger la salud de la población no expuesta ocupacionalmente. Métodos de prueba	Atención a partir de 10 µg/dL
NOM-026-SSA1-1993	Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al plomo (Pb). Valor normado para la concentración de plomo (Pb) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población	1.5 µg/m <sup>3</sup>
NOM-127-SSA1-1994	Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización	0.01 mg/L
NOM-010-STPS-1999	Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se manejen, transporten, procesen o almacenen sustancias químicas capaces de generar contaminación en el medio ambiente laboral	Como arseniato de plomo 0.15 – 0.45 mg/m <sup>3</sup>

Como puede observarse, se especifican LMP tanto en agua, aire y suelo así como la concentración máxima de exposición para los trabajadores que estén en contacto con plomo, debido a los daños

previamente mencionados así como al considerar los diversos sitios que se ha reportado previamente donde se menciona la presencia de plomo por diversas actividades y donde ya se ha reportado el daño a la población.

#### 1.4 Tecnologías para el control de la contaminación de los metales pesados

La búsqueda y aplicación de técnicas para la remediación de metales pesados ha tomado una gran relevancia en las últimas décadas debido al aumento en su explotación por la demanda de actividades tecnológicas, lo cual ha propiciado que se posicionen como los contaminantes más comúnmente encontrados en aguas residuales (Sharma, 2014), lo cual como se mencionó anteriormente, tiene una gran repercusión sobre la salud humana.

Numerosas técnicas biológicas y fisicoquímicas han sido utilizadas para la eliminación de metales pesados, las cuales se consideran un trabajo desafiante con respecto al costo y complejidad técnica propia de cada estrategia (Barcelo & Poschenrieder, 2003; Sheoran *et al.*, 2010). Las técnicas previamente mencionadas utilizadas para la remoción de metales pesados se presentan en la Figura 3.

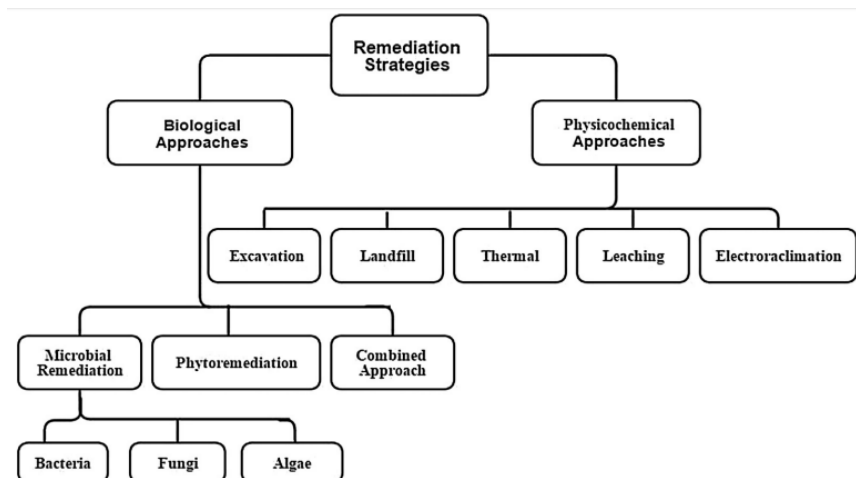


Figura 3. Clasificación de las estrategias de remediación de metales pesados (Ullah *et al.*, 2015)

#### 1.4.1 Tecnologías biológicas de remediación

El término remediación biológica se utiliza para describir un proceso complejo llevado a cabo por sistemas biológicos (plantas, hongos, bacterias, etc.) donde se interrelacionan factores biológicos, químicos y físicos con el fin de reducir, eliminar, contener o transformar diversos contaminantes en sustancias menos tóxicas o inocuas (Sharma, 2014; Uslu & Hanay, 2017). Dentro de las técnicas de remediación incluyen los procesos de bioventeo, bioquelación, composteo, bioaumentación y bioestimulación, fitorremediación y biorremediación, siendo éstas últimas las tecnologías más utilizadas para la remediación de sitios contaminados (Ullah *et al.*, 2015).

##### 1.4.1.1 Fitorremediación

La fitorremediación es una técnica de remediación biológica que utiliza plantas y microorganismos asociados a ellas para minimizar los efectos tóxicos de contaminantes potenciales en el ambiente (Greipsson, 2011). Particularmente, en esta técnica se utiliza un grupo específico de plantas conocidas como hiperacumuladoras para extraer y concentrar particularmente metales pesados del ambiente (Salt *et al.*, 1998), las cuales tiene la capacidad natural de acumular diferentes concentraciones de metales pesados (más de 100 mg/kg de peso seco de Cd, más de 1000 mg/kg de peso seco de Ni, Cu o Pb y más de 10,000 mg/kg de peso seco de Zn o Mn) en sus brotes por arriba que otras plantas no acumuladoras sin presentar algún síntoma de estrés (Kadukova *et al.*, 2008; Ullah *et al.*, 2015). Se han reportado aproximadamente 45 familias de plantas que tiene la capacidad de acumular metales pesados, siendo de las familias más importantes *Brassicacear*, *Euphorbiaceae*, *Asteracear*, *Fabaceae*, *Lamiaceae* y *Scrophulariaceae* (Ghosh & Singh, 2005).

Dentro de esta técnica se han identificado seis subgrupos, los cuales por la aplicación y el mecanismo en el que se basan son específicos para diversos tipos de contaminantes como puede observarse en la Tabla 3.

Como puede observarse en la tabla 3, sólo las técnicas de fitofiltración, fitoestabilización y fitovolatilización se aplican en ambientes acuáticos para la remoción de metales pesados, por lo cual se describen a continuación.

**Tabla 3. Diferentes técnicas de fitorremediación por Rezania et al (2016).**

Técnica	Aplicación	Contaminante	Mecanismo	Descripción	Sección de acumulación	Referencia
Fitofiltración / rizofiltración	Agua	Orgánicos Inorgánicos Metales pesados	Adsorción / absorción	Remoción de contaminantes por plantas acuáticas	Partes aéreas, raíz	(Sharma et al., 2015; Thakur et al., 2016; Ali et al., 2013)
Fitoextracción / fitoacumulación	Suelo Poco común en agua	Inorgánicos Metales pesados	Hiperacumulación	Acumulación de contaminantes por las raíces y traslocación a las partes superiores	Vainas	(Van Oosten & Maggio, 2015; Sharma et al., 2015; Ali et al., 2013)
Fitostabilización	Suelo Agua	Inorgánicos Metales pesados	Sorción, precipitación y complejación	Limitación de la movilidad de los contaminantes disponibles por las raíces	Reducción en la rizósfera	(Van Oosten & Maggio, 2015; Sharma et al., 2015; Thakur et al., 2016)
Fitovolatilización	Suelo Agua	Orgánicos Algunos metales pesados	Volatilización por las hojas	Conversión de contaminantes en su forma volátil	Liberación a la atmósfera	(Van Oosten & Maggio, 2015; Sharma et al., 2015; Thakur et al., 2016; Ali et al., 2013)
Fitodegradación / fitotransformación	Suelo Agua	Orgánicos	Degradación en la rizósfera	Degradación orgánica por enzimas de las plantas	Dentro de los tejidos vegetales	Van Oosten & Maggio, 2015; Thakur et al., 2016; Caçador & Duarte, 2015)
Rizodegradación	Suelo	Orgánicos Inorgánicos	Acumulación en la rizósfera	Degradación de orgánicos por la rizósfera	Rizósfera	(Mackova, et al., 2006; Sangeeta & Maiti, 2010))
Fitodesalinización	Suelo	Sales orgánicas	Reducción de sales por conversión	Remoción de sales del suelo por halófitos	Dentro de los tejidos vegetales	(Zorrig et al., 2012)



#### 1.4.1.1.1 Fitofiltración/rizofiltración

La fitofiltración se puede definir como el uso de las raíces de las plantas para absorber, concentrar y/o precipitar contaminantes nocivos o metales de corrientes acuáticas, los cuales pueden operar tanto en balsas hidropónicas como en humedales artificiales. Las plantas utilizadas son cosechadas periódicamente para la disposición de los metales recuperados de las raíces. Generalmente el agua contaminada se bombea a través de un sistema en flujo continuo, donde las plantas presentan un mejor crecimiento de las raíces (Srinivasan *et al.*, 2013, Sharma *et al.*, 2015).

#### 1.4.1.1.2 Fitoestabilización

La fitoestabilización no remueve los metales pesados como tal, sin embargo ésta técnica previene las rutas de exposición a metales hacia las aguas subterráneas y al espacio aéreo mediante la estabilización/inactivación física y química de los metales tóxicos y así prevenir su movilización o lixiviación. Se utilizan plantas perenes y no cultivables para suprimir la migración vertical de los iones metálicos mediante la adsorción y acumulación a través de las raíces, o la precipitación en la rizósfera. La tolerancia de la planta tiene un papel considerable en este proceso, mientras que la disposición de materiales peligrosos o de la biomasa no es necesaria (Srinivasan *et al.*, 2013).

#### 1.4.1.1.3 Fitovolatilización

Esta técnica involucra la conversión de metales a una forma volátil para posteriormente liberarlo a la atmósfera a través de los estomas (Ghosh & Singh, 2005). Esta técnica se utiliza principalmente para el Hg en su forma iónica y es transformado en una forma elemental relativamente menos tóxica. Como la forma volátil del Hg liberado a la atmósfera puede ser reciclada de vuelta al suelo por precipitación, esta técnica representa una solución temporal (Sarwar *et al.*, 2016).

#### 1.4.1.2 Uso de microorganismos

Se refiere a cualquier proceso que haga uso de diversos microorganismos para recuperar un ambiente alterado por contaminantes a su condición original (Sherameti & Varma, 2010). Dentro de las técnicas biológicas, el uso de microorganismos ha tomado relevancia debido a que aun cuando los microorganismos no pueden destruir los metales, son capaces de reaccionar con ellos en ambientes naturales y sintéticos, alterando su estado físico y químico a través de varios mecanismos dependiendo del contexto y del ambiente (Srinivasan *et al.*, 2013).

La habilidad de los microorganismos de sobrevivir y crecer en un hábitat contaminado por metales puede depender de adaptaciones genéticas y/o fisiológicas. Sólo los cambios fisiológicos en las células reducen la tasa de absorción del metal y la toxicidad intracelular, mientras que los cambios genéticos pueden resultar en la tolerancia de concentraciones intra y extracelular de las especies metálicas (Sherameti & Varma, 2010). Esta exposición a los iones metálicos permite que la población microbiana se especialice al crear sistemas de tolerancia/resistencia. La resistencia microbiana se define como la habilidad de los microorganismos de sobrevivir a los efectos tóxicos de la exposición a los metales mediante mecanismos de detoxificación producidos por las especies de los iones. La tolerancia microbiana se define como la habilidad de los microorganismos de sobrevivir a la toxicidad de los metales por propiedades intrínsecas y/o modificaciones ambientales sobre la toxicidad (Sucharita & Kuma, 2016).

Existen diversos mecanismos que utilizan los microorganismos para sobrevivir a la presencia de metales, los cuales pueden observarse en la Figura 4 y algunos se describen a continuación.

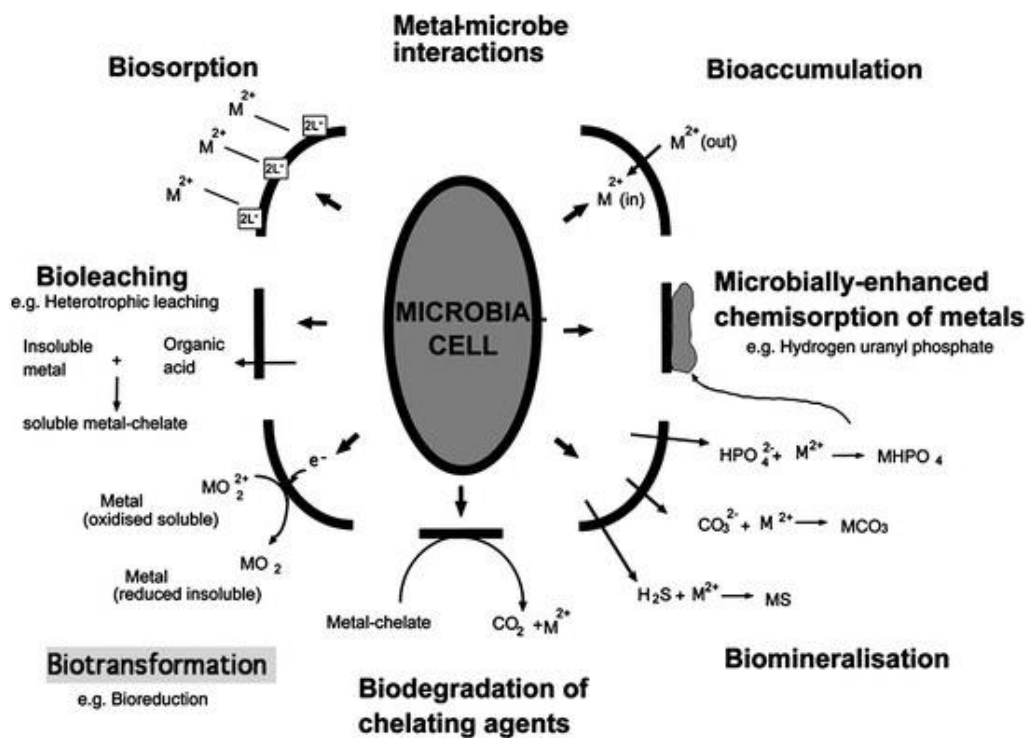


Figura 4. Interacción de los microorganismos con los iones metálicos (Tabak *et al.*, 2005)

#### 1.4.1.2.1 Biosorción

Puede definirse como un proceso independiente del metabolismo celular en el que ocurre la sorción de contaminantes en cantidades que dependen de la composición y cinética de equilibrio de la superficie celular. La superficie celular está cargada negativamente debido a la presencia de grupos carboxil, amina, hidroxil, fosfato y sulfhidril, capaces de absorber cantidades importantes de cationes metálicos (Sucharita & Kuma, 2016; Mosa *et al.*, 2016). Es un proceso complicado en el cual se involucran procesos de intercambio iónico, quelación, adsorción física, atrapamiento en capilares y espacios de la membrana estructural debido al gradiente de concentración dentro y fuera de la célula, dando como resultado la difusión de los iones metálicos a través de las paredes y membranas celulares (Rathoure & Dhatwalia, 2016).

Algunos de los mecanismos por los que se lleva el proceso de biosorción son los siguientes:

- Complejación con sideróforos

Los sideróforos son moléculas quelantes de hierro de bajo peso molecular. Su función biológica es concentrar los iones de hierro presentes en el ambiente y transportarlos a la célula. Metales como Cr, Al, y otros similares al Fe se unen a los sideróforos y reducen su biodisponibilidad y por tanto su toxicidad.

- Complejación por biosurfactantes

Estos son producidos por muchas bacterias, los cuales se unen a metales como Cd, Pb y Zn. Estos compuestos incrementan la solubilidad de los iones en el agua y al complejarse disminuyen su toxicidad para las células.

- Uniones con exopolímeros

Este proceso incluye sustancias como carbohidratos, ácidos nucleicos y ácidos grasos, los cuales cuentan con grupos funcionales cargados negativamente que fácilmente pueden unirse a las cargas positivas de los metales. Con este método los metales se inmovilizan y se restringe su entrada a las células (Kanwar *et al.*, 2017).

#### 1.4.1.2.2 Bioacumulación

La bioacumulación es el proceso de la remoción de metales mediante células vivas. El proceso ocurre en dos pasos, siendo el primero la adsorción física mediante fuerzas de Van der Waals, lo cual es independiente del metabolismo y es un mecanismo rápido de remoción, conocido como unión extracelular. El segundo paso es dependiente del metabolismo y es relativamente lento responsable de la penetración/transporte de los iones metálicos hacia el interior de la célula, los cuales se liberan de los puentes formados en la superficie celular y forman enlaces con estructuras intracelulares. La concentración de metal internalizado es regulado por un sistema homeostático, el cual involucra la complejación de ligandos y proteínas para evitar la reacción de los iones metálicos con otras biomoléculas (Mosa *et al.*, 2016; Chojnacka, 2010; Hansda & Kumar, 2016).

#### 1.4.1.2.3 Biolixiviación

El proceso de biolixiviación involucra la extracción de metales de depósitos mineros mediante medios biológicos; sin embargo, en años recientes este proceso se ha utilizado para la bioremediación de efluentes contaminados provenientes de distintas fuentes, generando la extracción de los metales pesados mediante el cambio de pH en el sistema, lo cual genera la disolución de moléculas estables a fracciones iónicas (Karthikeyan *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2017).

Existe una amplia variedad de microorganismos que pueden utilizarse para este proceso, como bacterias quimioautótrofas, heterotróficas, y organismos de los reinos archaica y fungi (Panda *et al.*, 2015), quienes son capaces de sobrevivir en ambientes ácidos y llevar a cabo la oxidación de compuestos insolubles de hierro y azufre. Durante el proceso, los metales pesados en los lodos residuales pueden ser estabilizados por el propio metabolismo o por productos derivados del proceso, ya que el proceso de biolixiviación puede agruparse en lixiviación directa o indirecta (Xu *et al.*, 2017).

### 1.4.2 Tecnologías fisicoquímicas

Los tratamientos fisicoquímicos utilizan las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para transformar, separar o inmovilizar el contaminante. Son tratamientos económicamente factibles y la mayoría se encuentran disponibles comercialmente, por lo cual son las técnicas más empleadas para la remediación de diferentes matrices contaminadas (Volke *et al.*, 2005). Estas tecnologías involucran una variedad de procesos como: precipitación, intercambio iónico, electrodiálisis, oxidación/reducción, sorción, floculación, entre otros.

- Precipitación química

Esta técnica es ampliamente aceptada, simple, fácil de operar y es una tecnología ya probada para la remoción de metales de efluentes. Esta técnica conlleva la reducción del contenido de metales de las aguas residuales a una concentración apropiada y aceptable mediante la formación de un precipitado sólido insoluble (hidróxido, sulfuro o carbonato). El precipitado formado puede ser filtrado o centrifugado de la porción líquida. El fenómeno es independiente de la solubilidad del producto o del metal involucrado, el pH del efluente y la concentración de los iones metálicos. La precipitación es promovida mediante el uso de coagulantes, los cuales actúan como un agente que provoca el cambio entre partículas suspendidas pequeñas a agregados de mayor tamaño (Srinivasan *et al.*, 2013).

- Intercambio iónico

Este método es un proceso de separación reversible y versátil que cuenta con ventajas inherentes, como cinéticas rápidas, capacidades de tratamiento elevadas y eficiencia en la remoción de impurezas iónicas indeseables de las aguas residuales. Involucra la transferencia de especies iónicas de la fase en medio líquido a una resina sólida. La transferencia se lleva a cabo sin ninguna alteración física del material de intercambio iónico. Para que esto ocurra, un grupo de especies iónicas presentes en solución son intercambiados por otro grupo de especies iónicas presentes en la fase sólida. Las resinas de intercambio iónico para la remoción de metales son sólidos sintéticos que concentran el metal en la superficie. Las resinas sintéticas son básicamente compuestos orgánicos polimerizados para formar una matriz tridimensional porosa, y su estructura y porosidad son determinadas por las condiciones de polimerización del polímero utilizado como materia prima. Las resinas de intercambio catiónico más comunes son resinas ácidas con grupos ácidos sulfonados (-SO<sub>2</sub>H) o resinas debilmente ácidas con grupos carboxílicos ácidos (-COOH) que contienen iones de hidrógeno intercambiables (Srinivasan *et al.*, 2013).

- Electrodialisis

Es el proceso de separación de componentes iónicos (iones metálicos) mediante el uso de membranas semipermeables de ión selectivo. Esto implica la aplicación de potencial eléctrico entre dos electrodos, lo cual causa la migración de cationes y aniones hacia el electrodo respectivo. Debido al espaciamiento horizontal de cationes, aniones y la membrana permeable, se forman celdas de sales concentradas y diluidas. Este proceso crea una corriente con una alta concentración de metal, la cual es efectiva para su recuperación. Esta es una de las técnicas que tiene más ventajas,

como evitar la producción de un lodo peligroso, requiere menos área, aplica un bajo voltaje y no requiere trabajar en modo isobárico; sin embargo, no es económicamente competitivo debido al alto costo de los electrodos y al relativo bajo tiempo de vida de las membranas debido a que trabajan bajo un campo de alta densidad eléctrica (Srinivasan *et al.*, 2013).

Como puede apreciarse en la descripción de las técnicas anteriores, estos procedimientos presentan diversas desventajas en cuanto a su utilización para la remoción de metales pesados en efluentes, las cuales como mencionan Anantha & Kota (2016) se refieren a su ineficiencia respecto al alto capital de inversión y costos de operación, su alta sensibilidad a las condiciones de operación, un consumo de energía elevado y a la generación de grandes cantidades de residuos.

## 1.5 Procesos de adsorción

En años recientes, la adsorción se ha posicionado como una de las técnicas más importantes para la remoción de metales pesados en efluentes debido a las ventajas que representa en diversos aspectos respecto a otras técnicas, como son la simplicidad en el diseño, bajo costo, alta eficiencia en la remoción, facilidad de operación y viabilidad (Gupta & Ali, 2013).

De manera general, la adsorción se define como la concentración de especies en una superficie sólida. En la interface sólido-líquido, las moléculas interactúan con la superficie como resultado de dos tipos de fuerza: las fuerzas de dispersión-repulsión (fuerzas de Van der Waals) y fuerzas electrostáticas, las cuales existen como resultado de las moléculas y de los grupos superficiales que tienen un momento eléctrico permanente de dipolo o cuadropolo o una carga eléctrica neta. Las fuerzas de repulsión a corta distancia son dominantes muy cerca de la superficie pero decrece rápidamente en tanto la distancia respecto a la superficie aumenta; en cambio, las fuerzas electrostáticas de atracción tienen un intervalo más amplio. Como resultado, la concentración de moléculas cerca de la superficie varía con las distancia (Cussler, 2009).

Dentro de las interacciones que ocurren entre el adsorbente a utilizar y el adsorbato de interés, se puede clasificar el proceso de adsorción en tres tipos, los cuales son adsorción física, adsorción química y adsorción electrostática.

### 1.5.1.1 Adsorción física

Este tipo de adsorción (también conocido como fisorción) es el resultado de fuerzas intermoleculares de atracción entre el adsorbente y el adsorbato. Las fuerzas de atracción molecular que pueden retener el adsorbato pueden ser el resultado de fuerzas de Van der Waals, potencial

intermolecular y fuerzas de dispersión, el cual es un fenómeno posiblemente reversible donde no se lleva a cabo un intercambio de electrones entre las moléculas del adsorbato y del adsorbente. Además, debido a las fuerzas que se estén presentando en el proceso, se puede llevar a cabo la formación de multicapas del adsorbato sobre la superficie del adsorbente. En este tipo de adsorción, se requiere de una cantidad de energía baja (5 a 40 kcal/mol), por lo que es estable sólo en temperaturas por debajo de 150 °C (Shemshadi *et al.*, 2012; Bhushan, 2013; Inglezakis & Pouloupoulos, 2006).

#### 1.5.1.2 Adsorción química

La quimisorción es un tipo de adsorción provocada por fuerzas electrostáticas fuertes que se asemejan a puentes covalentes o electrostáticos entre dos átomos. La quimisorción generalmente ocurre en sitios específicos de la superficie del adsorbente, y puede ser influenciado en gran manera por grupos funcionales específicos (Stroo & Ward, 2010). A diferencia de la fisisorción, en un proceso de quimisorción se comparten o intercambian electrones entre las moléculas del adsorbato y el adsorbente, por lo cual se presentan dos características importantes en el proceso: A) La formación de una monocapa sobre la superficie del adsorbente y B) El proceso requiere de una cantidad de energía comparable a aquella asociada a la formaciones de puentes químicos (40 a 800 kcal/mol). En consecuencia, la quimisorción es más fuerte y más estable a altas temperaturas que la fisisorción. (Bhushan, 2013; Inglezakis & Pouloupoulos, 2006).

#### 1.5.1.3 Adsorción electrostática

Este tipo de adsorción también es conocido como intercambio iónico, donde se ven involucradas fuerzas de atracción de Coulomb entre los iones y los grupos funcionales que cuentan con una carga (Inglezakis & Pouloupoulos, 2006). Además, como menciona Gurdeep (2002), diversos sólidos al entrar en contacto con agua adquieren una carga electrostática, la cual puede ser positiva debido al atrapamiento de iones  $H^+$  o negativa debido al mismo fenómeno pero con los iones  $OH^-$  en la superficie del sólido, por lo que esta adquisición de carga tendrá la tendencia de atraer iones con carga opuesta del soluto en la solución. En este proceso, se espera que todos los iones de una valencia en específico sean absorbidas con una energía equivalente, considerando sólo alguna variación debido a la diferencia de tamaño de las especies iónicas. Estos iones adsorbidos pueden no estar enlazados a la superficie pero si podría existir en una región de doble capa (Moudgil & Soto, 1988).

## 1.6 Materiales utilizados como adsorbentes

El fenómeno de adsorción provee un método efectivo para la separación de una variedad de mezclas de fluidos, y se reconoce como una importante operación de transferencia de masa. La adsorción de una sustancia en una superficie sólida ocurre debido a la afinidad de la superficie por una sustancia específica, y es natural que una superficie sea variable en su afinidad por diferentes sustancias (Dutta, 2009).

Un adsorbente adecuado para procesos de adsorción de contaminantes debe cumplir varios requisitos: eficiente en la remoción de una amplia variedad de contaminantes, alta capacidad e intervalo de adsorción, importante selectividad de diferentes concentraciones, tipo granular con buena área de superficie, capacidad de ser regenerado si es requerido, tolerante a un amplio intervalo de parámetros de los efluentes y bajo costo (Shemshadi *et al.*, 2012).

Los materiales utilizados como adsorbentes pueden clasificarse bajo diversos criterios, que van desde su composición química, su porosidad, por su polaridad y por su origen, siendo esta última relevante debido a que describe la naturaleza del material y sus características en distintos aspectos. Bajo el concepto anterior, los materiales sólidos convencionales y no convencionales utilizados como adsorbentes se clasifican en sintéticos y naturales.

### 1.6.1 Adsorbentes sintéticos

Este tipo de adsorbentes son materiales porosos compuestos por polímeros sintéticos que comúnmente tienen la forma de cuentas esféricas con un tamaño entre 0.3 y 1.2 mm. Dentro de su estructura, éste tipo de adsorbentes cuentan con radicales capaces de formar puentes coordinados con los iones del adsorbato de interés. Los radicales contienen sitios de anclaje como nitrógeno, oxígeno o sulfuros obtenidos ya sea por polimerización del monómero o por una reacción química entre el polímero y un compuesto de peso molecular bajo que tenga la capacidad de coordinarse (Kantipuly *et al.*, 1990; Arsalani *et al.*, 2009 y Kaliyappan & Kannan, 2000). En los últimos años, se han hecho pruebas para mejorar estos adsorbentes que originalmente fueron desarrollados como bases para resinas de intercambio iónico (Dedek *et al.*, 1992). Por otro lado, el uso de nuevas tecnologías permite la producción de polímeros altamente porosos con una superficie específica de 500-2000 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup> que es similar a la superficie del carbón activado (Gupta *et al.*, 2016), siendo éste último el más utilizado.

Además, se ha reportado la aplicación de modificaciones químicas de materiales sintéticos previamente reportados como adsorbentes con el fin de incrementar su capacidad de adsorción, teniendo como ejemplos el poliestireno 6 (Wang *et al.*, 2008), polianilina (Eisazadeth, 2007),



polipirrol 8 (Eiasazadeth, 2008), poliacrilicester 9 (Pan *et al.*, 2008), poliestirendivinilbenceno 10 (Denizli *et al.*, 2004), entre otros. A pesar de lo mencionado anteriormente, el punto crítico en el uso de los adsorbentes sintéticos es que aún cuando han sido diseñados para ser regenerados y reutilizarse, esto no se logra totalmente; además, como mencionan Awokoya & Moronkoba (2012) posterior al proceso de adsorción, los complejos adsorbente-adsorbato formados son dispuestos de manera incorrecta (descargados en vertederos o tratados por incineración) o incluso confinados. Estos procesos suelen dar lugar a una contaminación secundaria debido a que éstos polímeros sintéticos son no renovables y no biodegradables.

### 1.6.2 Adsorbentes naturales

En años recientes, varios desechos naturales o agrícolas han sido utilizados para la remoción de metales pesados de efluentes de la industria debido a su bajo costo y su disponibilidad. Otra propiedad importante de los adsorbentes naturales, es que poseen un gran número de grupos funcionales como hidroxilo, aldehído, ácido alifático, alqueno, amida, nitro aromático, silicato, sulfonato, etc. (Singha *et al.*, 2011), lo cual es una ventaja debido a la variedad de materiales que pueden utilizarse. Este tipo de adsorbentes se usan generalmente sin ningún tratamiento, pero en algunos casos se emplean pretratamientos físicos como el uso de calor o tratamientos químicos con el fin de llevar a cabo modificaciones estructurales o la adición de especies que favorezcan el proceso de adsorción. De acuerdo a Worch (2012), los adsorbentes naturales pueden clasificarse de acuerdo a la Tabla 4.

**Tabla 4. Subclasificación de adsorbentes naturales y ejemplos**

Materiales naturales	Residuos agrícolas/subproductos	Residuos industriales/subproductos
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Madera</li> <li>• Carbón</li> <li>• Quitina/Quitosa</li> <li>• Arcillas</li> <li>• Zeolitas</li> <li>• Etc.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cáscaras, conchas, huesos de frutas</li> <li>• Aserrín</li> <li>• Mazorca de maíz</li> <li>• Tallos de girasoles</li> <li>• Paja</li> <li>• Etc.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cenizas</li> <li>• Lodos</li> <li>• Bagazo</li> <li>• Cenizas de aceites</li> <li>• Barro rojo</li> <li>• Etc.</li> </ul>

Pertencientes a esta clasificación, se han reportado diversos materiales para la remoción de metales pesados, nombrando algunos de ellos en la Tabla 5. Como puede observarse, la composición de los

materiales es diversa, por lo que la asociación de los metales pesados se debe a mecanismos específicos propios del material y de las condiciones en las que se desarrolla el proceso de adsorción.

**Tabla 5. Adsorbentes naturales reportados para la remoción de metales pesados**

Adsorbente	Metal(es)	Referencia
Hojas de arborvitae	Pb <sup>2+</sup>	(Shi <i>et al.</i> , 2016)
Hojas de maíz	Pb <sup>2+</sup>	(Petrović <i>et al.</i> , 2016)
Cáscara de cacahuete	Cu <sup>2+</sup>	(Ali <i>et al.</i> , 2016)
Residuos de té	Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup>	(Wan <i>et al.</i> , 2014)
Vermicomposta derivada de lodos residuales	Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	(He <i>et al.</i> , 2017)
Vainas de moringa	Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Cr <sup>3+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	(Matouq <i>et al.</i> , 2015)
Hojas de ricino	Cd <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	(Martins <i>et al.</i> , 2013)
Cáscara de melón y cáscara de aguacate	Pb <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup>	(Mallampati <i>et al.</i> , 2015)
Cáscara de nuez de anacardo	Cd <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Cr <sup>3+</sup>	(Coelho <i>et al.</i> , 2014)
Biomasa de <i>Portulaca oleracea</i>	Cd <sup>2+</sup>	(Dubey <i>et al.</i> , 2014)
Arcilla natural	Pb <sup>2+</sup>	(Sdiri <i>et al.</i> , 2016)
Bentonita	Cd <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	(Anna <i>et al.</i> , 2015)

Uno de los materiales que en años recientes se han utilizado como un adsorbente natural es la pluma de pollo, ya que ha presentado buenos resultados en la remoción de colorantes como el Amido negro 10B (Mittal *et al.*, 2013), el CI amarillo reactivo 39 (Freitas *et al.*, 2016), el azul ácido 80 (García-Sabido *et al.*, 2016) y el rojo congo (Cervantes-González *et al.*, 2017), hidrocarburos como fenoles (Ahmaruzzaman, 2008), ácidos naftéicos (Arshad *et al.*, 2016) y metales pesados como Cr<sup>6+</sup> (Ping *et al.*, 2009), Zn<sup>2+</sup> (Aguayo-Villarreal *et al.*, 2011), entre otros.

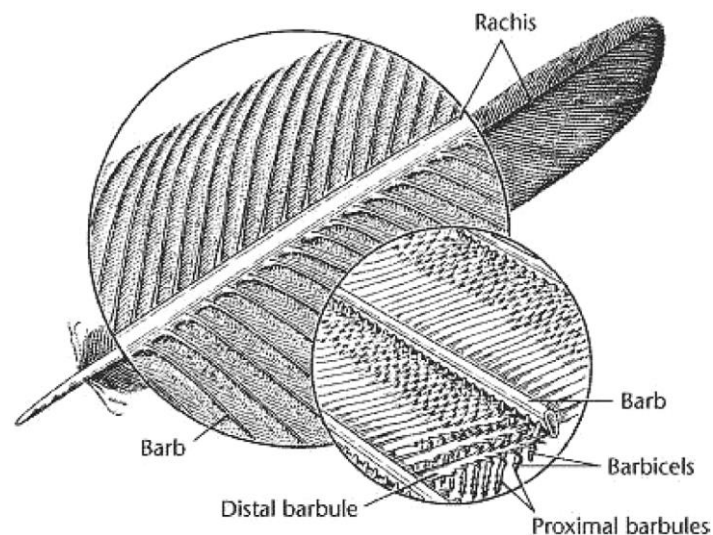
Lamentablemente en los procesos de adsorción, la transferencia de masa que ocurre en el proceso no elimina el problema, pues se forman complejos adsorbente-adsorbato que no siempre son tratados y solo llegan a ser confinados; por lo que resulta necesaria la búsqueda de tratamientos que

eliminen estos complejos; considerando que el adsorbente utilizado es natural, es factible su biodegradación.

## 1.7 La pluma de pollo

Las plumas se definen como formaciones epidérmicas desprovistas de células vivas, fuertemente queratinizadas y mineralizadas. Las plumas cumplen funciones diversas: ayudan a controlar la temperatura corporal, sirven de fuerza aerodinámica durante el vuelo, su coloración permite el camuflaje o la comunicación entre los distintos individuos (Gil, 2008).

De acuerdo a su morfología, las plumas están constituidas de tres unidades distintas: el raquis, la parte central de la pluma por la que corre toda la longitud de la pluma que está conectada con las estructuras secundarias, las barbas y las estructuras terciarias, las bárbulas (Figura 5).



**Figura 5. Estructuras de la pluma de pollo (Tefaye *et al.*, 2017)**

La longitud del raquis varía dependiendo de la posición de la pluma en el cuerpo del pollo; sin embargo, la longitud de las barbas y las bárbulas no cambia en gran medida, excepto a veces las estructuras presentes en la base del raquis, las cuales tienden a ser más largas que aquellas donde termina el raquis (Tefaye *et al.*, 2017).

En cuanto a su composición, es sabido que las plumas están compuestas mayormente de una proteína estructural, la queratina (>90%), la cual es una proteína semicristalina de bajo peso molecular (~10 kDa) rica en residuos hidrofóbicos como la cisteína, la cual promueve su

reticulación por los puentes disulfuro, así como por los puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (Dou *et al.*, 2015; Jeong *et al.*, 2010).

Harrap & Wood (1964) determinaron en sus investigaciones que el 85-90% de la proteína de las plumas es  $\alpha$ -queratina, familia de proteínas del tipo fibrosas constituidas por cadenas polipeptídicas, insolubles en agua y soluciones salinas diluidas. Las  $\alpha$ -queratinas son ricas en aminoácidos (aa) que poseen grupos R-hidrofóbicos como fenilalanina, isoleucina, valina, metionina y alanina que favorecen la formación de  $\alpha$ -hélices (González, 2007). Debido a su alta estabilidad, las plumas de pollo, residuo de la industria avícola, son consideradas un problema serio en muchos países debido a sus limitadas aplicaciones (Ayutthaya *et al.*, 2015).

### 1.7.1 La pluma de pollo como contaminante

El consumo de pollo se está incrementando día a día debido al avance tecnológico en la preparación de alimentos, mientras tanto, las plumas de pollo (el subproducto de los residuos de las plantas procesadoras de aves de corral comerciales y rastros) se está acumulando en niveles cada vez más altos (Agrahari & Wadhwa, 2010).

Considerando factores como el aumento en el consumo de carne de pollo a nivel mundial (Figura 6), la presencia de México en la producción en la misma escala (Figura 7) y al hecho de que las plumas representan del 5-7% del peso total del pollo (Rahayu & Bata, 2015), hace evidente que la pluma de pollo como un residuo es generada en grandes cantidades.

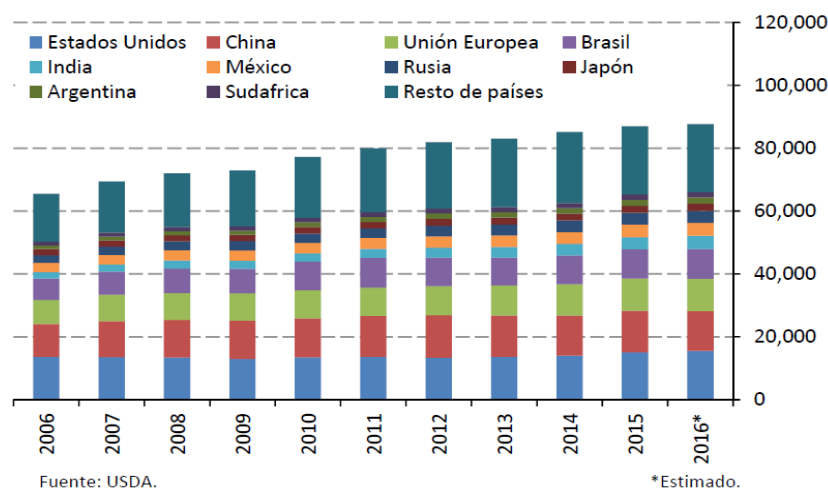
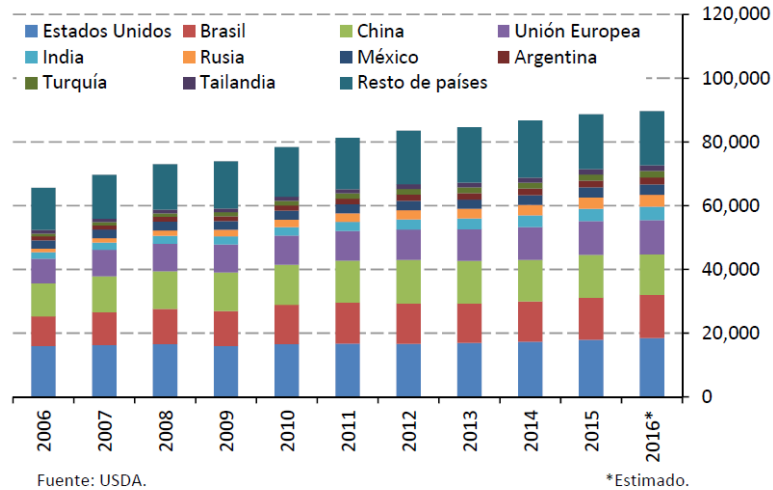


Figura 6. Consumo de carne de pollo, 2006-2016 (Miles de toneladas)



**Figura 7. Producción mundial de carne de pollo, 2006-2016**

De manera general, la disposición de las plumas de pollo suele ser en rellenos sanitarios o por incineración (Veerabadrán *et al.*, 2012; Stingone & Wing, 2011). Lo anterior, conlleva una disposición incorrecta de éste residuo biológico que contribuye a la contaminación ambiental y a la transmisión de enfermedades (Tronina & Bubel, 2008).

Debido a la estabilidad dada por los enlaces característicos de la queratina, las plumas son un material altamente recalcitrante, por lo que la búsqueda de medidas para su control es de gran interés. Diversos tratamientos físicos y químicos se han empleado para la degradación de las plumas; sin embargo, la cantidad de energía y recursos que requieren es alta y los lisados de plumas resultantes son deficientes en aminoácidos sensibles al calor como metionina, lisina y triptófano (Tiwary & Gupta, 2010). La hidrólisis de las plumas por microorganismos queratinolíticos representa un método alternativo para reducir el consumo de energía y la contaminación provocada por otros métodos para la eliminación de este residuo (Fang *et al.*, 2013).

### 1.8 Biodegradación de la pluma de pollo

Las plumas de pollo desechadas por las granjas avícolas contienen una porción importante de proteína, específicamente de queratina, en la cual las cadenas de polipéptidos están unidas por puentes de hidrógeno, y puentes disulfuro (Jain *et al.*, 2012). Los puentes disulfuro en la queratina impiden su degradación por enzimas proteolíticas conocidas (Shih, 1993), como tripsina, pepsina y papaína (Williams *et al.*, 1990). Sin embargo, la queratina es hidrolizada por algunos microorganismos que sintetizan queratinasas. Éstas enzimas tienen la capacidad de degradar la

queratina en cadenas de péptidos más pequeñas que pueden posteriormente ser absorbidas por las células (Rodrigues *et al.*, 2008).

Diversos grupos de microorganismos están reportados para producir queratinasa, como hongos (*Doratomyces microsporus*, *Alternaria radicina*, *Trichurus spiralis*, *Aspergillus sp.*, *Rhizomucor sp.*, *Absidia sp.*, *Stachybotrys alba*, etc.), actinomicetos (*Streptomyces pactum*, *S. alvs*, *S. thermoviolaceus*, *S. fradiae*, *Thermoactinomycescandidus* etc.) y diversas especies de bacterias (*Fervidobacterium islandicum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbacterium sp.*, y gran cantidad de especies del género *Bacillus* incluyendo *Bacillus licheniformis* y *B. pumilus*) (Han *et al.*, 2012; Deivasigamani & Alagappan, 2008; Mukhopadhyay & Chandra, 1993; Nam *et al.*, 2002; Suneetha & Lakshmi, 2005).

En la presente investigación, se pretende evaluar la capacidad de la pluma de pollo y de dos materiales obtenidos por modificación química de la misma como adsorbentes para la remoción de  $Pb^{2+}$  en fase acuosa y posteriormente, evaluar el proceso de degradación de los complejos adsorbente-adsorbato obtenidos.

## **2 JUSTIFICACIÓN**

El plomo es un metal pesado que en altos niveles de concentración en agua presenta efectos tóxicos sobre la salud, por lo que el empleo de tecnologías para su control es de vital importancia; aun cuando el proceso de adsorción se ha planteado como una alternativa efectiva para el control de este contaminante, la disposición final del residuo adsorbente-adsorbato formado representa una fuente de contaminación secundaria.

El presente trabajo propone el uso de la pluma de pollo oxidada como adsorbente de plomo debido a que presenta ventajas tales como el aprovechamiento de un residuo avícola que se está acumulando en grandes cantidades debido al aumento en la relación producción-consumo (6,300 miles de toneladas/año aproximadamente), así como la factibilidad de ser degradado por un consorcio especializado. La presente investigación evaluará la biodegradación del complejo obtenido en el proceso de adsorción, con lo anterior se propondría un tratamiento completo de biorremediación.

## **3 HIPÓTESIS**

La pluma de pollo oxidada es un adsorbente altamente eficiente en la remoción de plomo en medio líquido tanto en sistemas por lote como en flujo continuo; además, el complejo “pluma-plomo” que se obtiene del proceso de adsorción es biodegradable por un consorcio aislado de residuos avícolas, donde el metal es concentrado en la biomasa.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Evaluar una propuesta de biorremediación completa de Pb contenido en un efluente sintético mediante adsorción utilizando pluma de pollo oxidada y el posterior manejo del residuo obtenido “adsorbente-adsorbato” mediante un proceso de biodegradación.

### 4.2 Objetivos específicos

- Realizar la oxidación y/o coloidización de la pluma de pollo previamente acondicionada en cuanto a lavado y selección por tamaño.
- Identificación de grupos funcionales y determinación del punto de carga cero en pluma de pollo sin tratamiento, oxidada y coloidizada.
- Estudiar el proceso de adsorción de plomo sobre pluma de pollo sin tratamiento, oxidada y coloidizada en sistemas por lote, evaluando el efecto del pH, temperatura y agitación a través del diseño experimental de Box-Behnken; y seleccionar el material óptimo para el proceso.
- Estudiar el proceso de adsorción a diferentes temperaturas y describir su naturaleza termodinámica.
- Estudiar el comportamiento cinético de adsorción en sistemas por lote utilizando diferentes concentraciones de adsorbato.
- Estudiar el proceso de adsorción en flujo continuo mediante el análisis de curvas de rompimiento obtenidas evaluando flujo volumétrico y concentración del adsorbato.
- Evaluar la biodegradación del residuo “adsorbente-adsorbato” mediante el análisis de actividades enzimáticas y subproductos.
- Determinar la presencia de plomo adsorbido en la pluma de pollo mediante Espectroscopia de Energía Dispersa y obtener imágenes de la degradación del complejo “Pluma+Pb” mediante Microscopia Electrónica de Barrido.
- Evaluar la diversidad microbiana del consorcio mediante secuenciación masiva en diferentes tiempos del proceso de degradación.



## 5 MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Estrategia metodológica

Con el propósito de alcanzar los objetivos específicos planteados, se diseñaron seis etapas las cuales se presentan en la Figura 8.

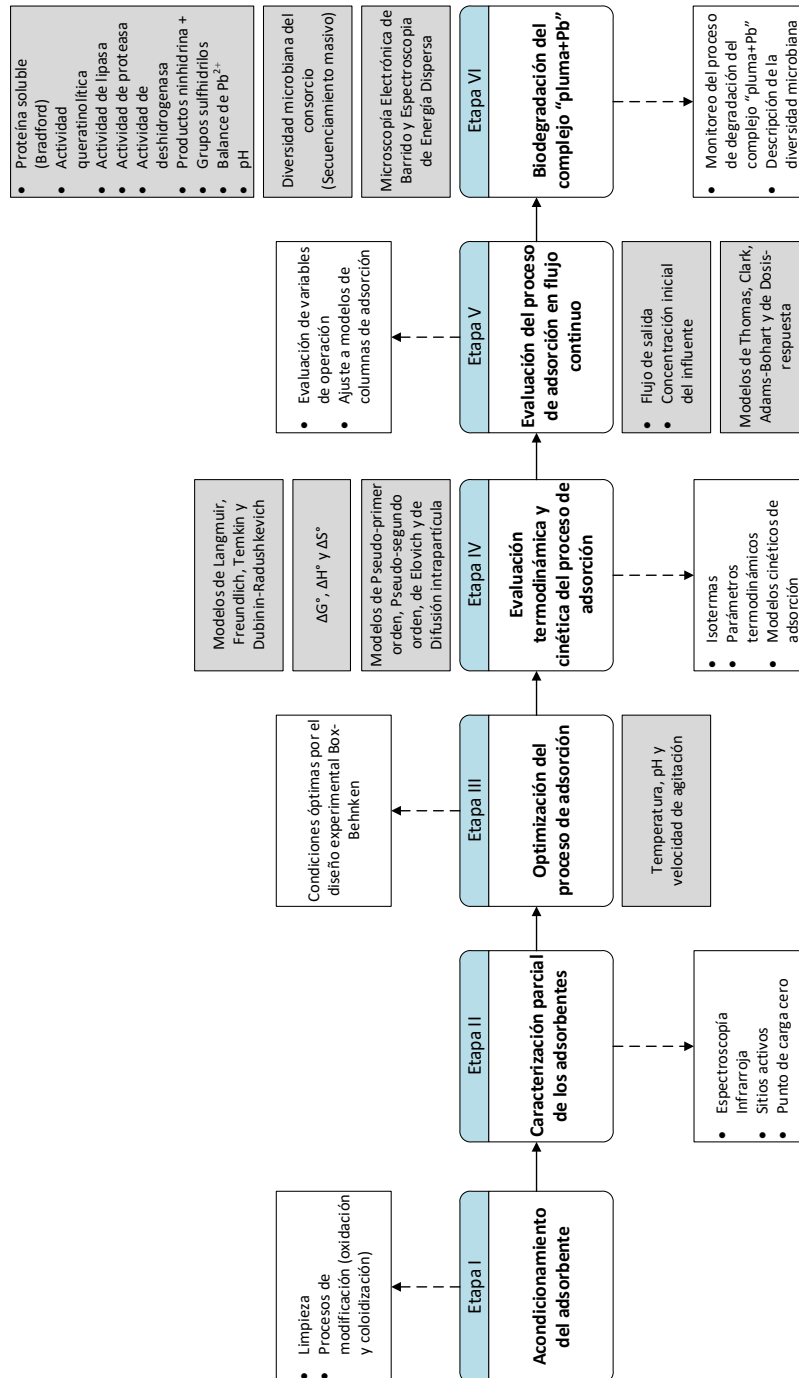


Figura 8. Diagrama general de trabajo

## 5.2 Acondicionamiento de la pluma de pollo utilizada como adsorbente

La pluma de pollo utilizada en el presente trabajo fue obtenida en un mercado localizado en el municipio de Nezahualcóyotl en el Estado de México. Las plumas se dejaron remojando en detergente neutro por 24 horas y posterior a este tiempo se enjuagaron y se dejaron secar al aire durante 24 horas. Finalmente se seleccionaron las plumas que contaran con un raquis de 1 mm de espesor aproximadamente (Figura 9).



**Figura 9. Ejemplares de pluma de pollo seleccionados**

### 5.2.1 Modificación química de la pluma de pollo

Las plumas seleccionadas se dividieron en tres grupos; dos de ellos se sometieron a una modificación química diferente cada uno con el objetivo de mejorar la capacidad de adsorción del material y el grupo restante no fue modificado.

#### 5.2.1.1 Proceso de oxidación

5 g de pluma de pollo fueron oxidadas mediante la adición de 100 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 5% dejándose en reposo por 24 h a temperatura ambiente, posteriormente las plumas fueron lavadas utilizando agua destilada hasta que el agua de lavado se encontrara a pH 7. Finalmente se secaron utilizando un horno de secado a 40 °C por 24 h.

#### 5.2.1.2 Proceso de coloidización

5 g de pluma de pollo se colocaron en una solución de 100 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  al 85% por 24 h a una temperatura de 4 °C; posterior a éste tiempo se realizó el lavado del material con agua destilada

hasta alcanzar pH 7 en el agua de lavado, por último se secó utilizando un horno de secado a 40 °C por 24 h.

### 5.3 Identificación de grupos funcionales en los materiales a evaluar como adsorbentes

#### 5.3.1 Análisis mediante Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

Se determinaron los grupos funcionales propios de cada material mediante (FTIR) en un equipo Cary 630-Agilent Technologies en un intervalo de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , con 64 exploraciones a una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.3.2 Determinación de sitios activos en la superficie

La cantidad de sitios ácidos y básicos en la superficie de cada material se determinó por medio de titulaciones ácido-base de acuerdo al método de Boehm (1979); para ello se colocaron 0.1 g de cada material en botellas serológicas con 25 mL de las siguientes soluciones: NaOH 0.05 M, HCl 0.05 M,  $\text{NaHCO}_3$  0.05 M y  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.05M. Las botellas fueron selladas con tapón de goma y se les hizo un cambio de atmosfera con nitrógeno, la cual fue mantenida durante los 7 días de contacto haciendo pasar una corriente del gas cada 24 h, los sistemas fueron incubados 25°C en agitación. Cada sistema se llevó a cabo por duplicado.

Finalmente, los sistemas fueron filtrados y de cada uno se tomó una alícuota de 20 mL la cual se valoró de manera potenciométrica utilizando un potenciómetro Oakton 300 series con soluciones estandarizadas de HCl 0.05 M y NaOH 0.05 M según el caso.

Con los resultados obtenidos de las titulaciones, se utilizó la ecuación 1 para conocer la concentración de sitios activos presentes en la superficie de los materiales analizados:

$$C_{SA} = \frac{V_i (C_i - C_f)}{m} \quad (1)$$

Donde:

$C_{SA}$  = Concentración de sitios activos (mM/g)

$V_i$  = Volumen inicial de la solución neutralizante, (L)

$C_i$  = Concentración inicial de la solución neutralizante (mol/L)

$C_f$  = Concentración final de la solución neutralizante (mol/L)

m = Masa del material (g)

Para obtener la concentración final de la solución a neutralizar ( $C_f$ ) se utilizan los mililitros empleados de la solución titulante (NaOH o HCl según el caso) utilizando la ecuación 2:

$$C_f = C_2 = \frac{V_1 \cdot C_1}{V_2} \quad (2)$$

Donde:

V1 = Volumen utilizando de la solución titulante (mL)

C1 = Concentración de la solución titulante (mol/L)

V2 = Volumen de la muestra de la solución neutralizante (mL)

De acuerdo a lo descrito por Boehm (1979), la relación entre las soluciones neutralizantes y los sitios activos se define de acuerdo a la Tabla 6:

**Tabla 6. Relación entre sitios activos y soluciones neutralizantes**

	Sitios activos	Solución neutralizante
Sitios ácidos	Sitios carboxílicos	NaHCO <sub>3</sub>
	Sitios carboxílicos	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
	Sitios lactónicos	
	Sitios carboxílicos	NaOH
	Sitios lactónicos	
	Sitios fenólicos	
Sitios básicos	HCl	

### 5.3.3 Determinación del punto de carga cero

El punto de carga cero se refiere al valor de pH en el que se neutraliza la carga superficial de un material, ésta se determinó por el método de adición del sólido (Balistreri & Murray, 1981). Se prepararon 6 botellas serológicas conteniendo 45 mL de KNO<sub>3</sub> 0.01 M con un ajuste de pH de 2, 4, 6, 8, 10 y 12 utilizando HCl o NaOH según el caso. Posteriormente se agregó a cada botella 0.1 g del adsorbente a evaluar, se taparon y se dejaron llegar al equilibrio durante 48 h con agitación manual intermitente; al término del tiempo establecido se midió el pH del sobrenadante con un potenciómetro Oakton 300 Series.

## 5.4 Evaluación del proceso de adsorción de Pb<sup>2+</sup>

### 5.4.1 Efecto de pH, temperatura y velocidad de agitación sobre la capacidad de adsorción de los materiales

Con el objetivo de buscar las condiciones óptimas del proceso de adsorción, se utilizó el diseño experimental de Box-Behnken con tres variables y tres niveles cada una para cada uno de los materiales a evaluar (pluma sin tratamiento, pluma oxidada y pluma coloidizada). Las variables independientes fueron temperatura, pH y agitación, las cuales se trabajaron en los intervalos especificados en la Tabla 7. Los sistemas se prepararon en tubos de fondo cónico de 15 mL conteniendo 10 mL de una solución de Pb<sup>2+</sup> de 90 mg/L procedente de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y 0.1 g del adsorbente a evaluar. El ajuste de pH se llevó a cabo con soluciones de HCl o NaOH según el caso y los sistemas fueron incubados a las temperaturas y velocidades de agitación correspondientes durante 2.5 h. Transcurrido el periodo de incubación, se cuantificó la concentración de plomo residual mediante las diluciones correspondientes para su lectura por absorción atómica (AAS por sus siglas en inglés, Atomic Absorption Spectroscopy) en un equipo Thermo Scientific E 3000 SERIES a 217 nm, flama de aire-acetileno con un flujo de 10 L/min y 1.1 L/min respectivamente y una altura del quemador de 7 mm.

Las superficies de respuesta y la ecuación de cada gráfico fueron obtenidas mediante la relación de la variable de respuesta (Concentración de Pb<sup>2+</sup> adsorbido) con las variables de temperatura, pH y velocidad de agitación utilizando el software Statistica Versión 6.1 y SigmaPlot 13.0.

**Tabla 7. Diseño experimental de Box-Behnken utilizando las variables de temperatura, pH y velocidad de agitación**

Experimento	T (°C)	pH	Agitación (rpm)
1	30	2	60
2	30	4	60
3	50	2	60
4	50	4	60
5	30	3	0
6	30	3	120
7	50	3	0
8	50	3	120
9	40	2	0
10	40	2	120
11	40	4	0
12	40	4	120
13	40	3	60
14	40	3	60
15	40	3	60

### 5.4.2 Evaluación de isotermas de adsorción

Se prepararon seis isotermas con el fin de observar el equilibrio entre la concentración del metal adsorbido y la concentración de éste en solución a una temperatura constante, mediante modelos que explican el comportamiento del proceso de adsorción. Para esto se estudiaron isotermas a 5, 10, 15, 30, 45 y 60 °C utilizando soluciones a 20, 40, 70, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 mg de Pb/L. Las isotermas se prepararon en tubos de fondo cónico con 10 mL de solución y 0.1% p/v de pluma oxidada. Después de 13 h de incubación se cuantificó la concentración de Pb residual por absorción atómica a las condiciones ya mencionadas. Con los resultados obtenidos, se realizó un análisis por medio del software Statistica Versión 6.1 para analizar el ajuste a los modelos matemáticos de Langmuir, Freundlich, Temkin y Dubinin-Radushkevich y se realizaron las gráficas correspondientes en Excel versión 2013. Los modelos anteriores se definen por las siguientes ecuaciones (Tabla 8):

**Tabla 8. Ecuaciones de los modelos de adsorción de Langmuir, Freundlich, Temkin y Dubinin-Radushkevich**

<p>Modelo de Langmuir</p> $q_e = \frac{Q_{m\acute{a}x}K_L C_{eq}}{1 + bC_{eq}}$ <p>Donde:  <math>Q_{m\acute{a}x}</math> = Capacidad de adsorción máxima (mg/g)  <math>K_L</math> = Afinidad de los sitios activos y la energía de adsorción (L/mg)</p> <p style="text-align: right;">(Langmuir, 1918)</p>	<p>Modelo de Freundlich</p> $q = K_F \left( C^{\frac{1}{n}} \right)$ <p>Donde:  <math>K_f</math> = Capacidad de adsorción (<math>\text{mg}^{1-1/n}\text{L}^{1/n}\text{g}^{-1}</math>)  <math>1/n</math> = Intensidad de la adsorción sobre el adsorbente (g/L)</p> <p style="text-align: right;">(Freundlich, 1906)</p>
<p>Modelo de Temkin</p> $q = \frac{RT}{b_T} \text{Ln}(a_T C_e)$ <p>Donde:  <math>R</math> = Constante universal de los gases (8.314 J/molK)  <math>T</math> = Temperatura absoluta (K)  <math>b_T</math> = Calor de adsorción (J/mol)  <math>a_T</math> = Unión en el equilibrio (L/mg)</p> <p style="text-align: right;">(Temkin &amp; Pyzhev, 1949)</p>	<p>Modelo de Dubinin-Radushkevich</p> $q = q_s \exp \left\{ -K_{ad} \left[ RT \text{Ln} \left( 1 + \frac{1}{C_e} \right) \right]^2 \right\}$ <p>Donde:  <math>q_s</math> = Capacidad del adsorbente (mg/g)  <math>K_{ad}</math> = Energía libre de adsorción (<math>\text{mol}^2/\text{KJ}^2</math>)  <math>R</math> = Constante universal de los gases (8.314 J/molK)  <math>T</math> = Temperatura absoluta (K)</p> <p style="text-align: right;">(Dubinin &amp; Radushkevich, 1947)</p>

Posteriormente, se obtuvieron los parámetros termodinámicos que describen el proceso de adsorción, los cuales son Energía libre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ), Entalpía ( $\Delta H^\circ$ ) y Entropía ( $\Delta S^\circ$ ). De acuerdo a lo reportado por Hossain *et al.* (2011), se utiliza la constante de Langmuir obtenida en cada isoterma dentro de la ecuación que define la Energía libre de Gibbs (Ec. 3), que al relacionarse con la ecuación linealizada de Van't Hoff (Ec. 4) permite obtener los valores de entalpía y entropía al graficar temperatura (K) contra  $\Delta G^\circ$  (Ec. 5) (Tabla 9):

**Tabla 9. Ecuaciones utilizadas para la obtención de parámetros termodinámicos**

$\Delta G^\circ = RT \ln K_a \dots\dots (3)$ <p>(Gibbs, 1948)</p>	$\ln K_a = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \dots\dots (4)$ <p>(Van't Hoff, 1884)</p>	$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \dots\dots (5)$ <p>(Gibbs, 1948)</p>
-------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------

#### 5.4.3 Evaluación de cinéticas de adsorción

Para analizar el comportamiento cinético del proceso de adsorción de plomo sobre pluma de pollo, se trabajaron sistemas con tres concentraciones iniciales (100, 200 y 300 mg/L) en frascos de vidrio con un volumen de 100 mL y 0.1% p/v de pluma oxidada a una temperatura de 30 °C con agitación constante de 140 rpm. Se tomaron muestras de 0.1 mL a determinados intervalos de tiempo por 6 h y se centrifugaron a 12,000 rpm por 5 min a 5 °C para posteriormente realizar las diluciones correspondientes y leer la concentración residual de cada sistema por absorción atómica bajo las condiciones previamente mencionadas. Con los resultados obtenidos, se realizó el ajuste a los modelos cinéticos de Pseudo-primer orden, Pseudo-segundo orden, modelo de Elovich y de Difusión intrapartícula por medio del software Statística Versión 6.1 y posteriormente se realizaron las gráficas correspondientes en Excel Versión 2013. Cada uno de los modelos mencionados anteriormente se define por las siguientes ecuaciones (Tabla 10):

**Tabla 10. Ecuaciones de los modelos cinéticos de Pseudo-primero orden, Pseudo-segundo orden, de Elovich y de Difusión intrapartícula**

<p>Modelo de Pseudo-primero orden</p> $q_t = q_e (1 - \exp^{-kt})$ <p>Donde:  <math>q_t</math> = Cantidad de adsorbato adsorbido en el tiempo t (mg/g)  <math>q_e</math> = Concentración de adsorbato en el equilibrio (mg/L)  <math>k</math> = Velocidad de adsorción (<math>\text{min}^{-1}</math>)</p> <p>(Lagergren, 1898)</p>	<p>Modelo de Pseudo-segundo orden</p> $q_t = \frac{q_e^2 kt}{1 + q_e kt}$ <p>Donde:  <math>q_t</math> = Cantidad de adsorbato adsorbido en el tiempo t (mg/g)  <math>q_e</math> = Concentración de adsorbato en el equilibrio (mg/L)  <math>k</math> = Velocidad de adsorción (g/mg·min)</p> <p>(Ho &amp; McKay, 1999)</p>
<p>Modelo de Elovich</p> $q_t = \frac{1}{b} \ln(a \cdot b) + \frac{1}{b} \ln(t)$ <p>Donde:  <math>q_t</math> = Cantidad de adsorbato adsorbido en el tiempo t (mg/g)  <math>b</math> = Constante de desorción (g/mg)  <math>a</math> = Tasa inicial de adsorción (mg/g min)</p> <p>(Elovich, 1959)</p>	<p>Modelo de Difusión intrapartícula</p> $q_t = k \sqrt{t}$ <p>Donde:  <math>q_t</math>: Capacidad del adsorbente (mg/g)  <math>k</math> = Tasa constante de difusión intrapartícula (mg/ g min)</p> <p>(Weber &amp; Morris, 1963)</p>

#### 5.4.4 Estudio en columna de lecho empacada

Con el fin de describir el proceso de adsorción en flujo continuo y obtener los modelos que expliquen la operación sucesiva de una columna a escala laboratorio hacia operaciones industriales, se utilizó una columna de vidrio (25 cm de altura por 1.2 cm de diámetro) empacada con 1 g de pluma oxidada, que corresponde a una altura del empaque de 10 cm aproximadamente. Se determinó el efecto de dos variables (flujo volumétrico y concentración inicial) con dos y tres niveles respectivamente (1 y 2 mL/min y 50, 100 y 400 mg/L). Cada una de las soluciones se alimentó a la columna por la parte superior utilizando un volumen determinado a través de una bomba peristáltica Masterflex L/S; se tomaron muestras de 0.5 mL a la salida de la columna en diferentes intervalos de tiempo hasta alcanzar el punto de rompimiento. Las muestras se



centrifugaron a 7,000 rpm por 10 minutos a 5°C y se realizaron las diluciones correspondientes para la lectura de la concentración residual mediante AAS a las condiciones previamente mencionadas.

Con los resultados obtenidos, se obtuvieron las curvas de rompimiento de cada uno de los sistemas analizados para determinar su mejor ajuste hacia los modelos de Thomas, Clark, Adams-Bohart y el modelo modificado de dosis-respuesta, los cuales se definen por las siguientes ecuaciones (Tabla 11):

**Tabla 11. Ecuaciones de los modelos de Thomas, Clark, Adams-Bohart y el modelo Modificado de dosis-respuesta para el modelado de columnas de lecho empacado**

<p>Modelo de Thomas</p> $\frac{C_t}{C_0} = \frac{1}{1 + \exp\left[\left(\frac{k_{Th}}{Q}\right)(q \cdot w - C_0 \cdot Q \cdot t)\right]}$ <p>Donde:</p> <p><math>C_t</math> = Concentración en el efluente (mg/L)  <math>C_0</math> = Concentración inicial (mg/L)  <math>k_{Th}</math> = Constante de Thomas (L/h mg)  <math>q_0</math> = Concentración del adsorbato en el adsorbente (mg/g)  <math>w</math> = Cantidad de adsorbente en la columna (g)  <math>Q</math> = Flujo volumétrico de la solución (L/h)  <math>t</math> = Tiempo (h)</p> <p style="text-align: right;">(Clark, 1987)</p>	<p>Modelo de Clark</p> $\frac{C_t}{C_0} = \left(\frac{1}{1 + Ae^{-rt}}\right)^{\frac{1}{(n-1)}}$ <p>Donde:</p> <p><math>C_t</math> = Concentración en el efluente (mg/L)  <math>C_0</math> = Concentración inicial (mg/L)  <math>A</math> = Constante de Clark  <math>r</math> = Tasa de transferencia de masa (L/min)  <math>n</math> = Constante de Freundlich  <math>t</math> = Tiempo (h)</p> <p style="text-align: right;">(Thomas, 1944)</p>
<p>Modelo de Adams-Bohart</p> $\frac{C_t}{C_0} = \frac{\exp(k_{AB}C_0t)}{\exp\left(k_{AB}N_0\left(\frac{Z}{V}\right)\right) - 1 + \exp(k_{AB}C_0t)}$ <p>Donde:</p> <p><math>C_t</math> = Concentración en el efluente (mg/L)  <math>C_0</math> = Concentración inicial (mg/L)  <math>k_{AB}</math> = Constante cinética (L/mg h)  <math>t</math> = Tiempo (min)  <math>N_0</math> = Concentración en el punto de saturación (mg/L)  <math>Z</math> = Altura del empaque (cm)  <math>V</math> = Velocidad de flujo superficial (cm/h)</p> <p style="text-align: right;">(Bohart &amp; Adams, 1920)</p>	<p>Modelo modificado de dosis-respuesta</p> $\frac{C_t}{C_0} = 1 - \left(\frac{1}{1 + \left(\frac{V_{eff}}{b}\right)^a}\right)$ <p>Donde:</p> <p><math>C_t</math> = Concentración en el efluente (mg/L)  <math>C_0</math> = Concentración inicial (mg/L)  <math>V_{eff}</math> = Volumen de la solución que pasa a través de la columna (L)  <math>b</math> y <math>a</math> = Constantes del modelo</p> <p style="text-align: right;">(Yan <i>et al.</i>, 2001)</p>

## 5.5 Evaluación del proceso de biodegradación del complejo “pluma-Pb”

Con el objetivo de proporcionar una estrategia de manejo al residuo obtenido en el proceso de adsorción (complejo pluma-Pb) se evaluó la biodegradación de este residuo utilizando un consorcio queratinolítico.

### 5.5.1 Preparación del complejo “pluma-Pb”

Se preparó un sistema de adsorción con 300 mg/L de  $Pb^{2+}$  en una botella de vidrio de 500 mL y se le adicionó 1 % p/v de pluma oxidada y se mantuvo en agitación constante a 30 °C por 48 h. Posterior al tiempo de contacto se cuantificó la concentración residual de Pb en el equipo de AAS (condiciones ya mencionadas) y mediante un balance se conoció la carga de Pb en la pluma a ser biodegradada.

### 5.5.2 Preparación y monitoreo de los sistemas de degradación

Con el propósito de monitorear el proceso de biodegradación del complejo “pluma-Pb”, se evaluaron tres sistemas, el primero conteniendo el complejo “pluma-Pb”, y los otros dos usados como controles conteniendo pluma oxidada y pluma sin tratamiento respectivamente. Los sistemas se prepararon en lote en un volumen de 800 mL adicionados con peptona de caseína 0.5% p/v. Posteriormente en condiciones estériles, se adicionó a cada sistema 0.7% p/v del complejo “pluma-plomo” y/o material queratinoso a evaluar y se inocularon con 0.275% v/v de un consorcio queratinolítico, el cual fue aislado previamente de residuos avícolas y previamente sincronizado (datos no publicados), además de 0.125% v/v de *Pseudomonas putida*, la cual fue aislada de suelos contaminados con petróleo y de la cual se tiene antecedente que presenta actividad queratinolítica (Cervantes-González *et al.*, 2008). Los sistemas se incubaron a 35 °C y se monitorearon por 70 días, siendo re-inoculados a los 8, 16, 24 y 35 días con 0.5 mL del consorcio queratinolítico y con 0.25 mL de *P. putida*.

Las determinaciones realizadas en cada tiempo de medición fueron: cuantificación de proteína soluble, determinación de actividades enzimáticas como queratinasa, lipasa y proteasa; determinación de productos ninhidrina positivos, determinación de grupos sulfhidrilos, evaluación de plomo liberado en el sistema y medición de pH. Además, se tomaron muestras de los tres sistemas de degradación en diferentes tiempos para observar mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) la degradación del material queratinoso evaluado, así como para realizar un análisis por Espectroscopia de Energía Dispersa (EDS) para detectar la presencia de plomo

Paralelamente, se analizó la diversidad microbiana del consorcio queratinolítico presente en los sistemas de degradación de la pluma sin tratamiento y del complejo “pluma-Pb” mediante la amplificación parcial del gen 16S rDNA.

#### 5.5.2.1 Determinación de proteína soluble

Se utilizó el método de Bradford (1979), para lo cual se tomó 1 mL del sobrenadante previamente centrifugado y se colocó en tubos de ensayo, después se agregó 1 mL del reactivo de Bradford (Sigma-Aldrich), se agitó y se leyó la absorbancia a 595 nm en el espectrofotómetro UV-VIS GENESYS 10S. El blanco se realizó utilizando 1 mL de agua y los resultados se interpolaron en una curva de 0-8 µg/mL de albúmina sérica de bovina (ImmucorGamma). Los ensayos de cada sistema se realizaron por duplicado.

#### 5.5.2.2 Determinación de actividad queratinolítica

Ésta actividad se evaluó por la degradación de lana molida teñida con azul brillante de remazol por medio de las enzimas producidas en los sistemas. Las fibras de lana fueron lavadas y tratadas con sulfito de sodio 0.3M, después se tiñeron con azul brillante de remazol al 1%; el color se fijó con dicromato de potasio al 3% y ácido tartárico al 3%. El exceso de colorante fue removido lavando primero con agua caliente y luego con etanol. La lana teñida y seca se molió en un molino Willey con una malla 40.

En tubos Eppendorf con 20 mg de lana teñida y 0.5 mL de Buffer de Glicina-NaOH 0.2M pH 9 se adicionó 1 mL del sobrenadante previamente centrifugado y se incubaron a 37 °C por una hora agitando cada 10 minutos de manera manual. Después se detuvo la reacción en un baño de agua a temperatura de ebullición durante 15 minutos y se dejaron reposar las muestras a 4°C por 30 minutos, posteriormente se centrifugaron a 14,000 rpm por 15 minutos y se leyeron a 590 nm en el equipo de UV-VIS para evaluar la absorbancia de color liberado (El blanco se trabajó con 0.5 mL de agua), realizando cada muestra por duplicado. Una unidad de queratinasa se define como la cantidad de enzima que produce un aumento de 0.01 de absorbancia (UK/mL) (Rojas *et al.*, 1999).

#### 5.5.2.3 Determinación de actividad de lipasa

La actividad de lipasa se evaluó debido a que aun cuando el mayor porcentaje dentro de la composición de la pluma es proteína, se ha reportado que contiene una porción de grasa (2 – 28 %)

que induce la producción de ésta enzima y se relaciona directamente con la degradación de la pluma (Parrado *et al.*, 2014).

Se tomaron 0.75 mL de sobrenadante previamente centrifugado en tubos de vidrio y se agregaron 0.75 mL de buffer TRIS-HCl 0.05M pH 7.2, se agitaron manualmente y se incubaron en baño maría a 30 °C por 10 minutos. Posteriormente se agregaron 30 µL de p-nitrofenil butirato 100 mM a cada muestra, se agitaron nuevamente y se incubaron a 30 °C por 10 minutos. Finalmente, se detuvo la reacción en hielo por 10 minutos, se centrifugaron a 2000 rpm por 5 minutos a 4 °C y se leyeron a 400 nm en el espectrofotómetro UV-VIS (Para el blanco se utilizaron 0.75 mL de agua). El contenido de lipasa en cada sistema se determinó interpolando los datos en una curva p-nitrofenol de 0 – 20 µg/mL (Shirai & Jackson, 1982).

#### 5.5.2.4 Determinación de actividad de proteasa

La cuantificación de proteasas en los sistemas de degradación se realizó de acuerdo al método de Kunitz (1947), el cual se basa en el uso de la caseína como sustrato para determinar la cantidad de péptidos liberados por acción de enzimas proteolíticas presentes en las muestras.

Para ello, se tomaron 1.5 mL de sobrenadante previamente centrifugado y se preincubaron a 35 °C por 10 minutos, a la par de 1.5 mL de caseína al 1% en buffer de fosfatos 0.1M pH 7.6 (previamente esterilizado por 15 minutos a 121 °C) a intervalos de 1 minuto. Posteriormente, se tomó 0.5 mL de muestra en un tubo de vidrio y se adicionó 0.5 mL de caseína 1%, se homogenizó cada muestra y se incubaron por 20 minutos a 35 °C; al terminar el periodo de incubación se detuvo la reacción con 1.5 mL de ácido tricloroacético al 10 % (TCA por sus siglas en inglés) agitando vigorosamente. Por último, se dejaron reposar las muestras por 30 minutos a temperatura ambiente, se centrifugaron a 12,000 rpm a 4 °C por 5 minutos y se leyeron a 280 nm en el equipo UV-VIS, el cual se ajustó con el blanco que contenía 1.5 mL de agua y 1.5 mL de TCA 10% (Las muestras se realizaron por duplicado). Además, se realizó un testigo por muestra adicionando en un tubo de vidrio 0.5 mL de muestra, 1.5 mL de TCA 10 % y 0.5 mL de caseína 1%, los cuales siguieron el mismo procedimiento que las muestras a partir del proceso de homogenización. El contenido de proteasas en cada sistema se determinó al interpolar los datos en una curva de tripsina de 0.04 – 0.2 mg/mL.

#### 5.5.2.5 Determinación de productos ninhidrina positivos

El contenido de productos ninhidrina positivos fue cuantificado de acuerdo al método de Harding (Block & Weiss, 1956), el cual se basa en la reacción de ninhidrina con grupos amino primarios

para formar el complejo púrpura denominado “púrpura de Ruhemann”, por lo tanto, su determinación cuantifica los posibles aminoácidos presentes en este caso como resultado de la degradación del residuo queratinoso.

Se tomaron 1.5 mL de sobrenadante previamente centrifugado en tubos de vidrio y se colocaron en un baño de agua a temperatura de ebullición por 15 minutos. Después se tomaron 1.2 mL del sobrenadante, se centrifugaron a 7000 rpm por 15 minutos y del sobrenadante se tomaron 0.95 mL en tubos de vidrio a los cuales se les agregó 0.05 mL del reactivo de ninhidrina (5 partes de ninhidrina al 1% en piridina y 1 parte de ácido acético glacial). Se colocaron las muestras en un baño de agua a temperatura de ebullición por 20 minutos, se dejaron reposar a 4 °C por 15 minutos y se leyeron a 570 nm en el equipo UV-VIS (El blanco se procesó con 1.5 mL de agua). Los resultados se interpolaron en una curva de leucina con una concentración de 0 - 90 µg/mL.

#### 5.5.2.6 Determinación de grupos sulfhidrilos

La determinación de grupos sulfhidrilo en el medio de cultivo apoya el papel de la sulfitólisis durante la queratinólisis (Onifade *et al.*, 1998) por lo que la liberación de grupos sulfhidrilos se relaciona con la degradación de la pluma. Se cuantificó utilizando método de Ellman (Ellman, 1959), el cual se basa en la reacción del 5,5'-dinitro-bis-(2-ácido nitrobenzónico), conocido como DNTB por sus siglas en inglés. El objetivo del DTNB en esta reacción es la formación de la base conjugada (R-S-) de un grupo sulfhidrilo libre ya que éstos producen un disulfuro mixto y ácido 2-nitro-5-tiobenzóico (TNB).

Se tomaron 50 µl de sobrenadante previamente centrifugado y en tubos de vidrio se les adicionó 1 mL del reactivo de Ellman (0.25M de TRIS-HCl pH 8.2, 10mM de DNTB), se incubaron por 15 minutos a temperatura ambiente y se leyeron a 412 nm en el equipo UV-VIS (Ajustando con agua) realizando una dilución 1:10. El contenido de grupos -SH se calculó usando el coeficiente de absorción molar de  $13.600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  tras sustracción de la absorbancia del blanco de la absorbancia de la muestra (Babusikovaa *et al.*, 2013).

#### 5.5.2.7 Evaluación de Pb<sup>2+</sup> liberado

El objetivo de evaluar la liberación de plomo en el medio es seguir el proceso de degradación de la pluma por la ruptura del complejo pluma-plomo. Para la determinación se realizó una dilución 1:10 colocando 0.5 mL de cada muestra en 4.5 mL de agua (previamente ajustada a pH 3.3) y se leyeron

en el equipo de AAS (condiciones ya mencionadas). Los datos se interpolaron en una curva tipo de Pb de 0-20 mg/L.

#### 5.5.2.8 Análisis por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersa (EDS)

Con el fin de obtener imágenes donde se evidencie la modificación estructural de la pluma de pollo debido a la acción del consorcio, se prepararon muestras del sistema de degradación del complejo “pluma-Pb” al día 0, 15, 45 y 70.

Para esto, se tomó la muestra de cada sistema a los tiempos mencionados y ésta se lavó con medio LB dos veces mediante inversión por 1 minutos y en seguida se dejaron reposar por 10 minutos. Después se decantó la solución de lavado y se agregaron 500  $\mu$ L de glutaraldehído al 25% a cada muestra, las cuales se agitaron lentamente por inversión a temperatura ambiente por 1.5 h y posterior a éste tiempo, se incubaron en hielo por el mismo intervalo de tiempo. A continuación, se lavaron las muestras con medio LB tres veces por 1 min cada una y se agregaron 500  $\mu$ L de OsO<sub>4</sub>, las muestras se incubaron en la oscuridad y se agitaron de manera intermitente por 1.5 h. Posteriormente, se lavaron las muestras de nueva cuenta con medio LB tres veces por 1 min cada una y con el último lavado, se refrigeraron a 4 °C por 12 h. Después de éste tiempo se procedió a realizar un deshidratado paulatino de las muestras con el fin de que los microorganismos adheridos al sustrato se observen de mejor manera, para lo cual se realizó un primer lavado con etanol al 60% y se agitaron las muestras lentamente por 15 minutos, se decantó la muestra y se realizó el mismo procedimiento con las siguientes concentraciones: etanol al 70%, 80%, 90% y tres lavados con etanol absoluto agitando 20 min en cada ocasión. Finalmente las muestras se dejaron secando para ser trasladadas al Centro de nanociencias y Micro y Nanotecnologías del Instituto Politécnico Nacional, donde se realizó la adición a cada muestra de oro coloidal para poder observarse en el Microscopio Electrónico de Barrido.

#### 5.5.2.9 Análisis de la diversidad microbiana del consorcio queratinolítico durante el proceso de degradación

##### 5.5.2.9.1 Extracción de ácidos nucleicos totales de los sistemas de degradación

La extracción del DNA total de cada uno de los sistemas de degradación evaluados se llevó a cabo mediante el kit de extracción Power Soil (MO BIO) siguiendo la metodología establecida por el fabricante y al final del procedimiento, se obtuvieron alrededor de 50  $\mu$ L de cada muestra.

#### 5.5.2.9.2 Cuantificación de ácidos nucleicos totales extraídos

El DNA total extraído de cada sistema se cuantificó mediante el uso del equipo NanoDrop 2000 Spectrophotometer (Thermo-Scientific) y se determinó la pureza del DNA con base en la razón obtenida de las lecturas a las longitudes de onda de 260 y 280 nm.

#### 5.5.2.9.3 Caracterización de los ácidos nucleicos totales extraídos por fraccionamiento en gel de agarosa

Se preparó un gel de agarosa al 0.5% disolviendo 0.1 g de agarosa en 20 mL de TBE 0.5X (5.4 g Tris base, 2.75 g de ácido bórico, 0.37 g EDTA) mediante calentamiento, la gelificación se realizó en un molde de geles adicionado de 0.8  $\mu$ L de Midori Green (1 mg/mL). Posteriormente se realizó la electroforesis utilizando TBE 0.5 % y se depositó en cada pozo un volumen de 6  $\mu$ L (2  $\mu$ L de muestra + 4  $\mu$ L de buffer de carga). El corrimiento se llevó a cabo a 100 volts por 50 minutos y al final del tiempo establecido, se observó el gel en un fotodocumetador BIO-RAD XR+.

#### 5.5.2.9.4 Construcción de librerías del 16S rDNA

Una vez que se comprobó la obtención y la calidad del DNA de cada una de las muestras, se llevó a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) con el fin de obtener un amplicon de cada muestra de 263 pb, el cual incluye la región polimórfica V3 del gen 16S rDNA para llevar a cabo un análisis taxonómico de la microbiota en cada sistema.

Se utilizaron el primer sentido V3-341F, el cual contiene una etiqueta particular de 12 pb (Fierer *et al.*, 2008) y un adaptador para el Secuenciamiento masivo mediante la tecnología Ion Torrent PGM (Life Technologies), y el primer antisentido V3-518R que contiene el adaptador P1 (Whitney *et al.*, 2012). Posteriormente la amplificación se llevó a cabo en un termociclador GeneAmp 2720 (Applied Biosystem) utilizando el siguiente programa: 5 minutos a 95 °C, seguido de 25 ciclos de 15 s a 94 °C, 15 s a 62 °C y 15 s a 72 °C; y finalmente 10 min a 72 °C.

Para comprobar que la reacción se llevó a cabo, se preparó un gel de agarosa al 2 % en 20 mL de TBE 0.5 X mediante calentamiento, la gelificación se realizó en un gel adicionado de 0.8  $\mu$ L de Midori Green (1 mg/mL). Posteriormente se realizó la electroforesis utilizando TBE 0.5 %, depositando en cada pozo un volumen de 6  $\mu$ L (5  $\mu$ L de muestra + 1  $\mu$ L de buffer de carga, incluyendo entre las muestras un control [+] y un control [-]) y se utilizó 1.5  $\mu$ L del marcador de peso molecular de 100 pb. El corrimiento del gel se llevó a cabo a 100 volts por 50 minutos y al término de éste tiempo, se observó en un fotodocumetador BIO-RAD XR+.

#### 5.5.2.9.5 Secuenciamiento mediante Ion Torrent

Con las muestras obtenidas en la amplificación, se llevó a cabo la preparación para el análisis por la tecnología Ion Torrent PGM. Para esto, se utilizaron 10 µg de cada muestra y se fraccionaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2 %, de los cuales se cortaron y pasaron por un proceso de purificación mediante el kit Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Después se cuantificó la concentración de DNA de cada biblioteca utilizando el NanoDrop 2000 Spectrophotometer (Thermo-Scientific) y se calculó la concentración y el tamaño de cada amplicon obtenido mediante un Agilent 2100 Bionalyzer para llevar a cabo la dilución de cada uno y obtener una concentración de 26 pM. Con esto, se llevó a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando el Ion One Touch™ 200 Kit Plantilla DL v2 (Life Technologies) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Posteriormente se realizó el enriquecimiento de amplicones con esferas de iones utilizando el Ion OneTouch ES y en seguida se llevó a cabo el proceso de secuenciación utilizando el chip ion 316 v2 Kit y el sistema PGM Ion Torrent. Al finalizar la secuenciación, las lecturas obtenidas fueron filtradas por el software PGM para eliminar segmentos de baja calidad y posibles secuencias policlonales. Durante este proceso, las secuencias que coinciden con el adaptador 3' se recortaron y se filtraron de forma automática por el programa.

Para llevar a cabo el análisis bioinformático, inicialmente se utilizó el software de Ion Torrent PGM (Torrent Suite v4. 0.2) para decodificar las secuencias obtenidas de acuerdo al barcode asignado a cada muestra y para eliminar las lecturas de baja calidad. Con esto, se obtuvieron fragmentos entre 150 y 200 pb de cada una de las muestras, las cuales se separaron para tener un mejor control de la información. Posteriormente se agruparon los datos de acuerdo a las comparaciones a realizar y los datos filtrados fueron exportados como archivos FASTQ. Después mediante el software QIIME software v1. 8.0 (Caporaso *et al.*, 2010) se analizaron las secuencias decodificadas, para lo cual fue necesario convertir los archivos de formato FASTQ a formato FASTA. Posteriormente, se determinaron las unidades taxonómicas operacionales (OTUs) de acuerdo a un nivel de similitud del 97 % utilizando el algoritmo UCLUST (Edgar, 2010), con los cuales se generó el análisis taxonómico comparando tanto con las bases de datos y/o generando el análisis de novo.

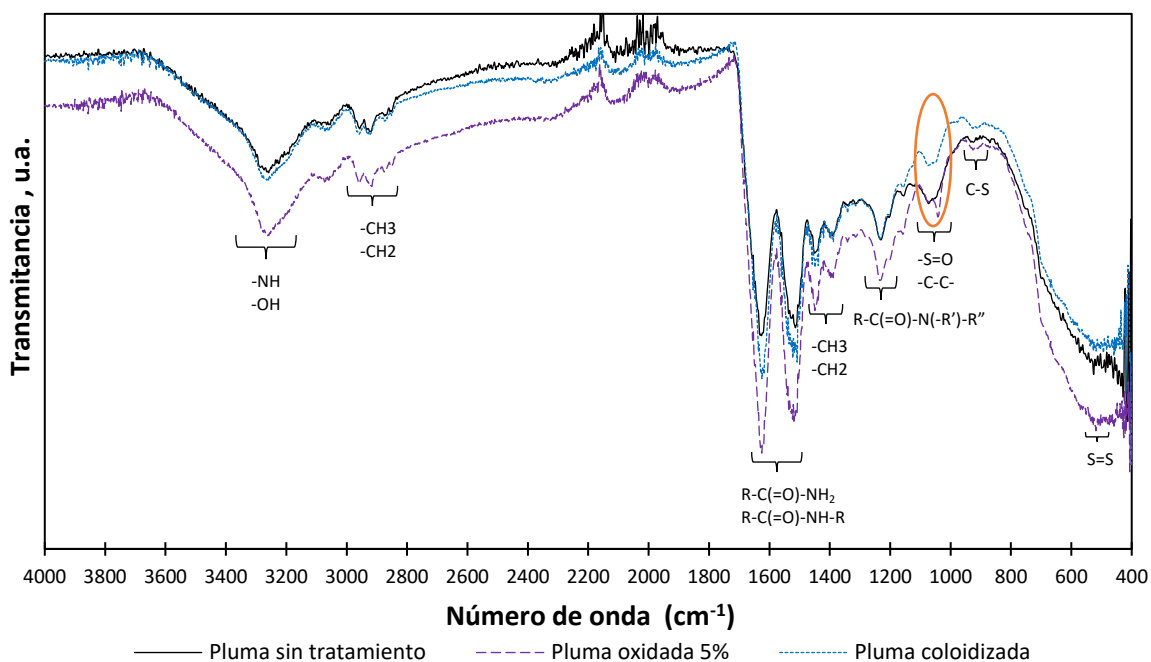


## 6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Caracterización parcial

#### 6.1.1 Grupos funcionales y sitios activos

Como parte de la caracterización parcial de los materiales, se realizó el análisis FTIR y se obtuvieron los espectros de cada material (Figura 10), en los cuales se resaltan las señales más importantes observadas y su correspondencia con los enlaces propios de cada región. La mayoría de las señales observadas corresponden a los grupos amida, amina y carbonilos, lo cual es congruente con el alto contenido de proteína que contiene la pluma. Además, estos grupos funcionales presentes en la queratina la hacen químicamente reactiva bajo ciertas condiciones de reacción (Khosa & Ullah, 2013).



**Figura 10. Espectros FTIR de la pluma de pollo sin modificación, pluma oxidada al 5% y pluma coloidizada.**

Con el fin de relacionar de mejor manera las señales obtenidas respecto a la estructura de la pluma, en la tabla 12 se presentan las señales más importantes observadas en los espectros de cada material así como los enlaces a los que corresponden; además, se recopiló la interpretación reportada por diversos autores que han analizado los grupos funcionales de la pluma de pollo tanto antes como después de un proceso de modificación química o producto de un proceso de degradación.

**Tabla 12. Grupos funcionales reportados en la pluma de pollo.**

Grupo funcional	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Descripción
-NH, -OH	3200 - 3300	Vibración de la amidas (A y B) e hidroxilo (lateral de la cadena) (Senoz & Wool, 2010)
-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub>	2970 - 2850	Vibraciones que indican la exposición de éstos grupos a los lados de las cadenas (Stuart, 2005).
R-C(=O)-NH <sub>2</sub>	1600 - 1690	Vibración mayormente del grupo carbonilo en amida I (Khosa & Ullah, 2014).
R-C(=O)-NH-R	1500 - 1530	Vibraciones del grupo amino y el enlace C-N en amida II (Senoz & Wool, 2010).
-CH <sub>2</sub> , -CH <sub>3</sub>	1380 - 1450	Vibraciones de radicales
R-C(=O)-N(-R')-R''	1240 - 1230	Vibración de amida III por enlaces C-N, N-H, C-C y C=O (Martinez-Hernandez & Velasco-Santos, 2012).
-S=O, -C-C-	1040-1070	Vibración de puentes salinos (Berlía <i>et al.</i> , 1999; Ayutthaya <i>et al.</i> , 2015).
C-S	880-940	Vibración del enlace (Khosa & Ullah, 2014; Paul <i>et al.</i> , 2014).
S-S	400-600	Vibración del enlace disulfuro (Kumar <i>et al.</i> , 2008; Paul <i>et al.</i> , 2014).

Como puede observarse, los materiales modificados (pluma oxidada y pluma coloidizada) presentaron señales similares a las obtenidas en la pluma sin tratamiento, lo cual va de acuerdo a los resultados esperados ya que se buscaba que los tratamientos seleccionados generaran la exposición y/o modificaciones menores en grupos funcionales específicos para conservar tanto la estructura del material así como su capacidad de biodegradarse. Al comparar las señales obtenidas se observó que las señales características del material original se conservaron y la mayoría de ellas sólo varían en intensidad, lo cual posiblemente sea debido a la exposición de ciertos grupos superficiales sobre otros, producto de los tratamientos empleados. Además, es importante señalar que los materiales modificados conservaron la señal perteneciente a los puentes disulfuro presentes en la región de 400-600 cm<sup>-1</sup>, los cuales son los responsables de darle estabilidad a la queratina, proteína predominante en la pluma.

En el caso de la pluma coloidizada se observó que las señales características de la pluma se conservaron, por lo que se sugiere que el tratamiento de coloidización no tuvo efecto sobre la estructura de la pluma debido posiblemente a la alta estabilidad que presenta la queratina por su alto grado de cruzamiento de enlaces de los puentes disulfuro, puentes de hidrógeno e interacciones hidrófobas. No obstante, es importante señalar que en la región de 1040 y 1070 cm<sup>-1</sup> se observó una disminución de la señal en este intervalo correspondiente a la vibración del enlace C-C en la estructura, lo cual posiblemente sea resultado de un proceso de hinchamiento de la estructura

inducido por el  $\text{H}_3\text{PO}_4$  sin llegar a la generación de un proceso de hidrólisis (Jeong *et al.*, 2010; Ramírez *et al.*, 2004).

En cuanto a la pluma oxidada, se observó de igual manera que ésta conservó señales propias del material original; sin embargo, se observó una modificación respecto a las señales obtenidas en la pluma sin tratamiento, la cual se ubica en la región de  $1030 - 1070 \text{ cm}^{-1}$  (marcada en la Figura 6) correspondiente a la vibración del grupo tiosulfato, la cual se relaciona con la presencia de puentes salinos dentro de la estructura de la pluma. Al ser la única modificación observada, se sugiere que la mayor transformación en el proceso de modificación fue la oxidación de los puentes disulfuro presentes en la estructura de la queratina para su conversión en grupos sulfónicos ácidos (Holkar *et al.*, 2016; Sinkiewicz *et al.*, 2016) (Figura 11), lo cual coincide con lo reportado por de Guzman *et al.* (2011) quienes mencionan que en un proceso de modificación química de la queratina, se lleva a cabo la ruptura y conversión de los enlaces disulfuro presentes en la estructura, lo cual deriva en la obtención de compuestos conocidos como queratosas, materiales que cuentan con propiedades tanto físicas como bioquímicas diferentes a la queratina original.

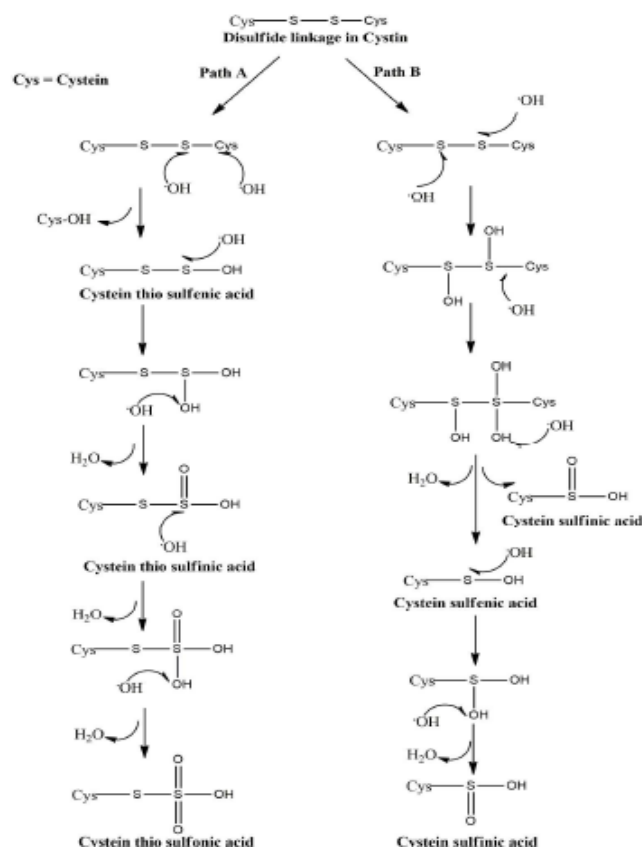


Figura 11. Mecanismo de oxidación de los puentes disulfuro en las queratinas (Tomado de Holkar *et al.*, 2016).

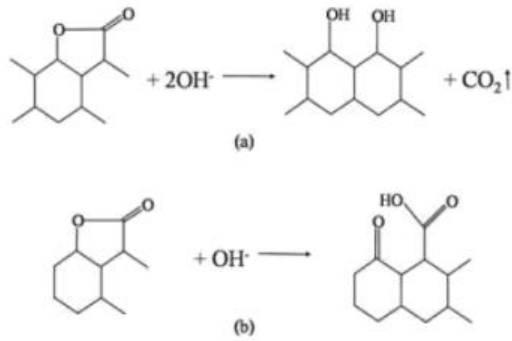
Lo anterior sugiere que el proceso de oxidación produjo una modificación superficial de la pluma, mientras que el tratamiento de coloidización no tuvo efecto sobre la superficie del material. Además, es importante resaltar que se sugiere que no existió una degradación química agresiva de los materiales debido a que no se observó disminución de alguna de las señales en las regiones características de las amidas, las cuales son los grupos funcionales característicos de las queratinas (Martinez-Hernandez & Velasco-Santos, 2012).

En cuanto a la cuantificación de los sitios activos se observó que aún cuando se conservó la estructura de la pluma posterior a los tratamientos de oxidación y coloidización, la cantidad de sitios activos de ambos materiales resultaron diferentes respecto a los obtenidos en la pluma sin tratamiento. La concentración de cada tipo de sitios se presenta en la tabla 13, donde de manera general se puede observar que la concentración de sitios ácidos totales es mayor que la de los grupos básicos totales, lo cual coincide con lo reportado por Aguayo-Villarreal *et al* (2011), quienes analizaron el proceso de adsorción de diversos iones metálicos mediante pluma de pollo. Además, se observó la variación en la proporción de los distintos sitios activos determinados de los materiales modificados respecto a la pluma sin tratamiento, lo cual posiblemente sea producto de los tratamientos empleados.

**Tabla 13. Concentración de sitios activos superficiales de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada y pluma coloidizada**

Adsorbente	Grupos ácidos totales (mmol/g)	Grupos fenólicos (mmol/g)	Grupos lactónicos (mmol/g)	Grupos carboxílicos (mmol/g)	Grupos básicos totales (mmol/g)
Pluma sin tratamiento	1.183	0.2047	0.804	0.176	0.432
Pluma oxidada	1.0028	0.401	0.177	0.424	0.652
Pluma coloidizada	0.893	0.406	0.232	0.255	0.712

Al analizar los resultados obtenidos en la pluma oxidada, se observó que si bien la cantidad de grupos ácidos totales disminuyó ligeramente, es en la proporción en los sitios fenólicos, lactónicos y carboxílicos donde se observó la mayor variación. Lo anterior posiblemente sea debido a que en el proceso de oxidación realizado en la pluma utilizando  $H_2O_2$ , los iones  $OH^-$  reaccionaron con los sitios lactónicos presentes en la superficie del material y éstos se convirtieron en sitios carboxílicos y fenólicos (Figura 12).



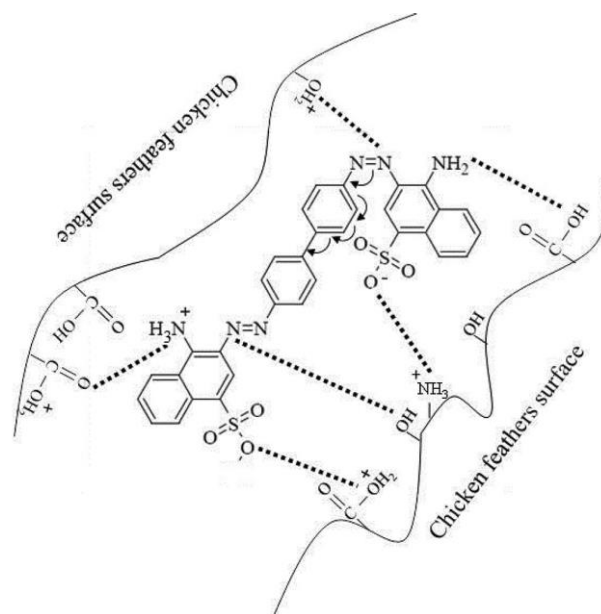
**Figura 12. Deformación de grupos lactónicos por radicales hidroxilo (OH); formación de (a) grupos fenólicos y (b) grupos carboxílicos (Park & Seo, 2011)**

En cuanto a los grupos básicos de la pluma oxidada se observó de igual manera que éstos aumentaron respecto a la concentración obtenida en la pluma sin tratamiento, lo cual posiblemente sea debido a la interacción del peróxido de hidrógeno con grupos que contiene nitrógeno como las aminas presentes en las plumas o por la formación de bases de Lewis libres de oxígeno sobre la superficie, lo cual coincide con lo reportado por Pereira *et al* (2003) quienes describieron el efecto del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sobre la superficie y grupos presentes en el carbón activado.

Al comparar la proporción de los sitios carboxílicos en los tres materiales, se observó que la pluma oxidada es el material que contiene la mayor cantidad, la cual es el 42.31% respecto a los sitios ácidos totales. Lo anterior es importante debido a que en diversos estudios se ha reportado la participación de estos grupos en el proceso de adsorción de diversos contaminantes; tal es el caso de lo reportado por Khosa & Ullah (2014) quienes mencionan que los resultados positivos que obtuvieron al estudiar la remoción de As mediante materiales basados en queratina posiblemente fueron debido a la esterificación de los grupos carboxílicos presentes en el material. Además, Kar & Misra (2004) de igual manera reportaron la participación de grupos carboxílicos sobre el proceso de adsorción de metales, reportando que estos grupos al estar en un sistema entre pH 2 y 6 se cargan positivamente y los iones metálicos son capaces de competir por los sitios carboxílicos disponibles.

Respecto a la totalidad de los grupos funcionales, Aguayo-Villarreal *et al* (2011) quienes estudiaron el proceso de adsorción del azul de metileno mediante el uso de plumas de pollo, mencionan que las plumas son predominantemente ácidas y que cuando se sumergen en agua, los grupos funcionales presentes se cargan negativamente y pueden interaccionar con las cargas positivas del azul de metileno. Relacionado a esto, Cervantes-González *et al* (2017) proponen un mecanismo mediante el cual los grupos carbonilo, carboxilo, y amino (el cual es un grupo básico) presentes en la pluma

interaccionan con la molécula del rojo congo mediante interacciones iónicas y puentes de hidrógeno (Figura 13).

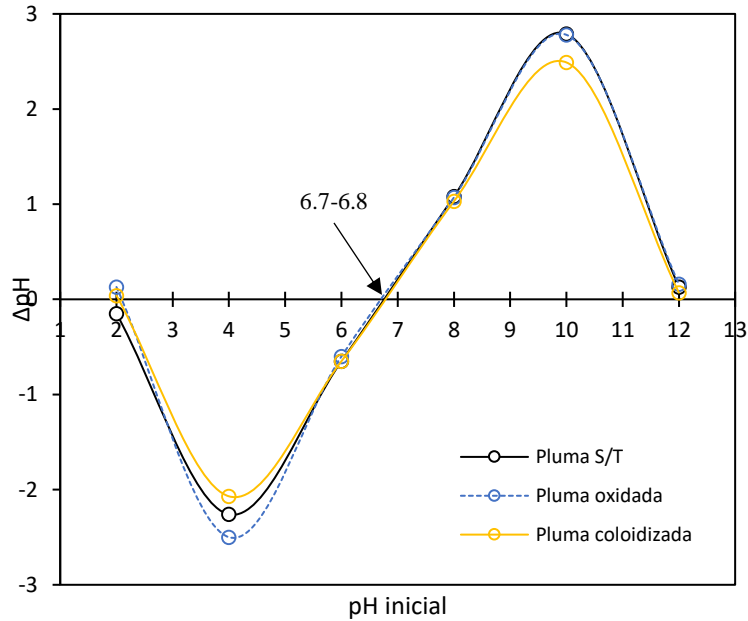


**Figura 13. Interacción propuesta del Rojo Congo con las plumas sin tratamiento a pH 7 (Tomado de Cervantes-González *et al.*, 2017).**

Respecto a lo reportado por Reynel-Avila *et al* (2015) la concentración de sitios ácidos y básicos de la pluma es de 0.52 y 0.42 mmol/g respectivamente, valores que difieren de lo obtenido en el presente estudio posiblemente debido a factores como la preparación de la pluma, tipo de pluma empleada respecto a la rigidez de la misma o tiempo de contacto del material con las soluciones.

### 6.1.2 Determinación del punto de carga cero

Con el fin de describir el comportamiento de la carga superficial de cada uno de los materiales a evaluar, se presentan en la figura 14 los resultados obtenidos en la determinación del punto de carga cero ( $\text{pH}_{\text{PZC}}$  por sus siglas en inglés).



**Figura 14. Punto de carga cero y comportamiento de la carga superficial de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada y pluma coloidizada.**

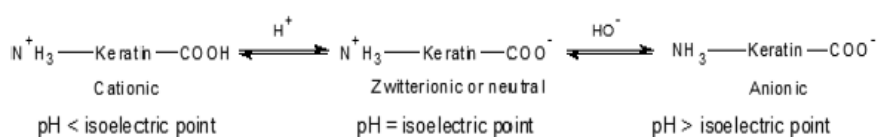
El punto de carga cero describe el valor de pH al cual la densidad de la carga eléctrica en la superficie del adsorbente es igual a cero; éste parámetro es relevante en términos de explicar la eficiencia del proceso de adsorción respecto a atracciones iónicas (Jung *et al.*, 2013). Cuando un material se encuentra en contacto con un medio donde el  $\text{pH} < \text{pH}_{\text{PZC}}$ , se describe que la superficie del material se encuentra cargada de manera positiva debido a la protonación de grupos funcionales como hidroxilos, carboxilos y aminas, mientras que cuando el material se encuentra en un medio donde el  $\text{pH} > \text{pH}_{\text{PZC}}$ , la superficie del material adquiere una carga positiva debido a la desprotonación de los grupos funcionales en la superficie (Jorgetto *et al.*, 2014).

Al analizar los resultados se observó que los tres materiales presentan un comportamiento similar en cuanto a la distribución de las cargas superficiales, obteniendo que tanto la pluma sin tratamiento como coloidizada obtuvieron un  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  de 6.8 mientras que la pluma oxidada obtuvo un  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  de 6.7, lo cual describe que la superficie de cada uno de los materiales presenta un carácter ligeramente ácido y/o neutro. Los valores de  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  obtenidos son similares a lo reportado por Reynel-Avila *et al* (2015), quienes determinaron que el punto de carga cero de la pluma de pollo sin tratamiento es de 6.25.

En cuanto a la pluma oxidada y la pluma coloidizada, se sugiere que el haber obtenido valores de  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  similares a la pluma sin tratamiento se relaciona con lo mencionado anteriormente sobre la mínima o nula modificación de la estructura superficial de la pluma. Sin embargo, existen

tratamientos que modifican el  $pH_{PCZ}$ , tal como lo reportado por algunos estudios donde se compara el  $pH_{PCZ}$  de adsorbentes naturales como la planta *Azolla filiculoides* (Arshadi *et al.*, 2017) y sintéticos como carbón-TiO<sub>2</sub> (Jafari *et al.*, 2016) antes y después de realizar procesos de modificación. En ambos estudios, se reportaron diferencias en el material evaluado antes y después del proceso de modificación desde la identificación de grupos funcionales mediante FTIR, lo cual se vio reflejado al obtener valores de  $pH_{PCZ}$  diferentes antes y después de modificar los materiales.

De acuerdo a los grupos funcionales detectados y los valores de  $pH_{PCZ}$  obtenidos de los tres materiales, se sugiere que el proceso de adsorción pueda llevarse mediante cambios electrostáticos o por interacciones iónicas, dependiendo del pH de la solución en los sistemas. Al respecto, Ghosh & Collie (2014) mencionan que la queratina contiene una gran cantidad de grupos ionizables, lo cual influye sobre las propiedades tanto de su estructura como de su superficie, estimando que esto puede tener un efecto importante sobre las características de adsorción-desorción de los materiales basados en queratina (Figura 15).



**Figura 15. Comportamiento anfotérico de las moléculas de queratina, mecanismo clave en la adsorción y desorción de iones metálicos (Ghosh & Collie, 2014).**

De acuerdo a la caracterización parcial realizada de la pluma de pollo sin tratamiento, pluma oxidada y pluma coloidizada, se sugiere que los tres materiales obtengan resultados favorables al evaluar su capacidad para la adsorción de plomo debido a los sitios activos que presentan en su estructura así como la capacidad anfotérica dada por su composición reflejada principalmente por los grupos carboxilo y amina (García-Sabido *et al.*, 2016); factores que los hacen materiales versátiles en cuanto a su capacidad para remover diversos tipos de contaminantes.



## 6.2 Evaluación del proceso de adsorción

### 6.2.1 Efecto de pH, temperatura y agitación sobre la capacidad de adsorción de $Pb^{2+}$ de los materiales

Los resultados obtenidos del diseño experimental para cada uno de los materiales se muestran en la Tabla 14, donde puede observarse que de una concentración inicial de 90 mg/L se absorbieron entre 2 y 89 mg/L, lo cual indica que las variables consideradas en el modelo tuvieron un efecto importante sobre el proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$ .

**Tabla 14. Resultados del diseño experimental de Box-Behnken para evaluar la adsorción de  $Pb^{2+}$  mediante pluma sin tratamiento, pluma oxidada y pluma coloidizada. Concentración inicial 90 mg/L.**

Experimento	T (°C)	pH	Agitación (rpm)	Pluma sin tratamiento	Pluma oxidada	Pluma coloidizada
				mg/L $Pb^{2+}$ adsorbidas	mg/L $Pb^{2+}$ adsorbidas	mg/L $Pb^{2+}$ adsorbidas
1	30	2	60	2.50	0.75	2.82
2	30	4	60	60.97	62.48	62.70
3	50	2	60	0.69	0.95	0.66
4	50	4	60	60.23	62.20	62.99
5	30	3	0	60.91	85.36	58.56
6	30	3	120	58.85	87.90	52.25
7	50	3	0	58.83	86.50	63.91
8	50	3	120	57.06	88.69	65.91
9	40	2	0	0.55	0.15	0.30
10	40	2	120	0.81	0.06	1.32
11	40	4	0	61.96	63.01	60.68
12	40	4	120	61.40	62.87	61.99
13	40	3	60	66.04	87.29	59.63
14	40	3	60	58.06	85.95	59.37
15	40	3	60	59.95	89.05	61.90

\*Se denotan en color azul los experimentos con mejores resultados respecto a la remoción

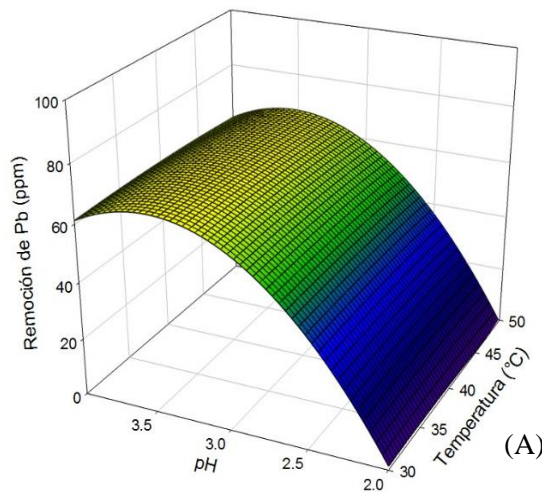
De manera general se observó que los sistemas en los que se utilizó pluma oxidada se removió una mayor cantidad de  $Pb^{2+}$  (entre 85 y 90 mg/L) en comparación a los sistemas que contenían pluma sin tratamiento y pluma coloidizada, los cuales removieron entre 60 y 66 mg/L.

En cuanto al diseño experimental de la pluma oxidada se observó que las condiciones de pH de los sistemas que obtuvieron la mayor remoción de  $Pb^{2+}$  (experimentos 5, 6, 7, 8, 13, 14 y 15) fueron en el intervalo de 3 a 4, lo cual sugiera que es una condición favorable para el proceso de adsorción,

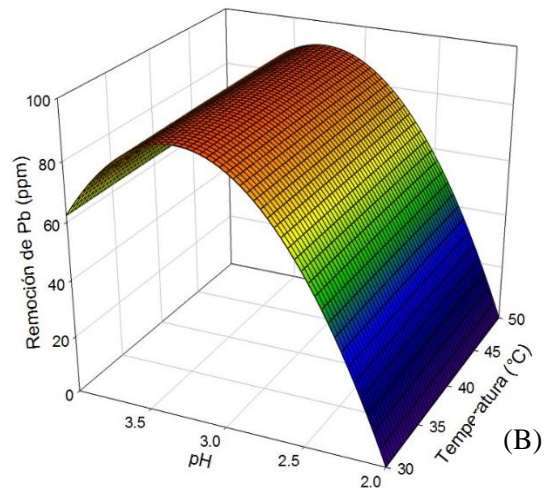
mientras que los experimentos que se sometieron a pH 2 (experimentos 1, 3, 9 y 10) obtuvieron un porcentaje de remoción muy bajo (alrededor del 0.15%). Además, cabe señalar que el efecto descrito anteriormente se presentó de manera similar para los diseños experimentales tanto de la pluma sin tratamiento como de la pluma coloidizada.

Para observar de mejor manera la interacción entre las variables analizadas, se presentan en las figuras 16, 17 y 21 las superficies de respuesta correspondientes al diseño experimental de cada uno de los tres materiales analizados.

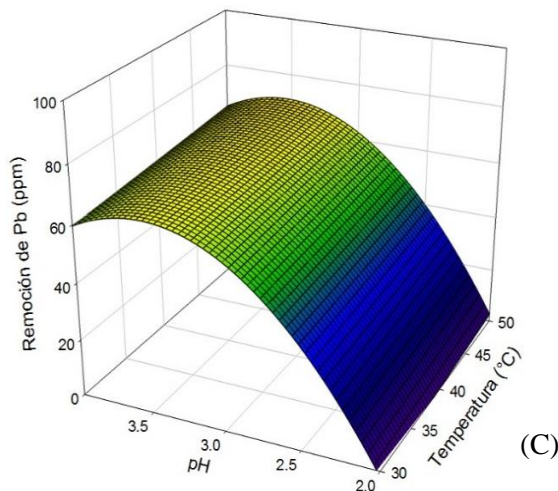
$$z = -300.9275 + 0.6313x + 203.4979y - 0.0099x^2 - 0.0001xy + 0.0004y^2$$



$$z = -511.4815 + 0.166x + 365.6785y - 0.0024x^2 + 0.0116xy - 55.824y^2$$



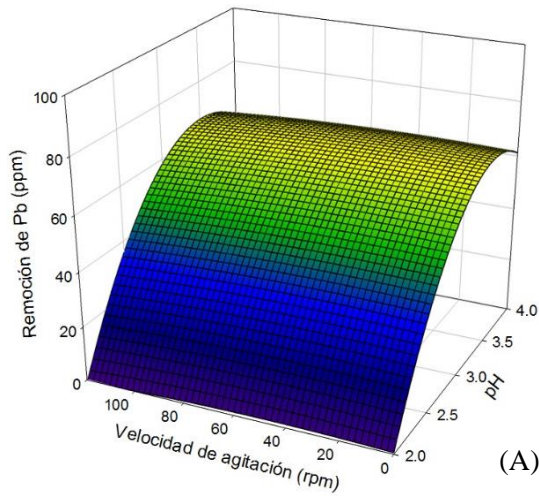
$$z = -299.8438 + 0.12x + 204.3366y + 0.0012x^2 + 0.0073xy - 28.9639y^2$$



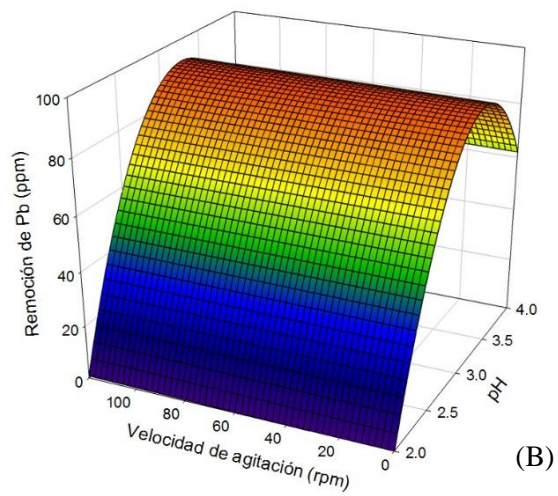
**Figura 16. Superficies de respuesta del proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando A) pluma de pollo sin tratamiento, B) pluma oxidada y C) pluma coloidizada relacionando las variables de temperatura y pH.**

En las figuras 16 y 17 donde se relaciona la interacción del pH con la temperatura y la agitación respectivamente, se observa que se tienen un efecto similar sobre el proceso de adsorción utilizando los tres materiales, obteniendo que para el proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma oxidada el pH óptimo es 3.3 (Figura 16B y 16B) mientras que en el caso de la pluma sin tratamiento y coloidizada es de 3.4 (Figura 16A, 16A y 17C y 17C, respectivamente).

$$z = -292.6686 + 204.7772x + 0.04y - 29.0774x^2 - 0.0023xy - 0.0004y^2$$



$$z = -509.2751 + 366.0787x + 0.0119y - 55.8111x^2 - 0.0002xy - 1.5629 \times 10^{-5}y^2$$



$$z = -292.8765 + 204.7183x + 0.0008y - 28.9911x^2 + 0.0012xy - 7.111 \times 10^{-5}y^2$$

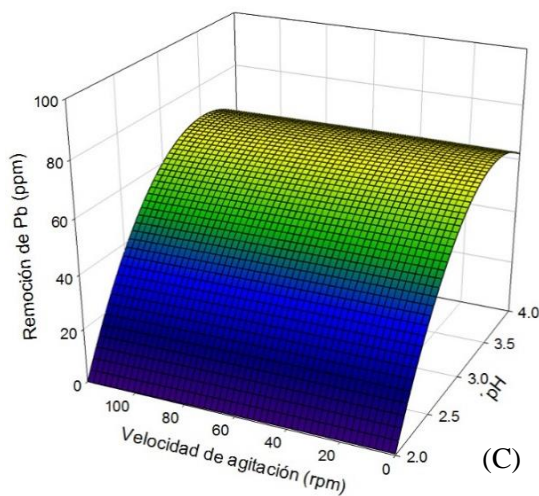
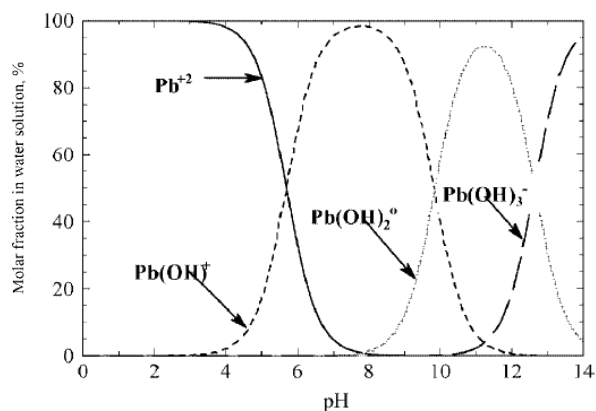


Figura 17. Superficies de respuesta del proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando A) pluma de pollo sin tratamiento, B) pluma oxidada y C) pluma coloidizada relacionando las variables pH y agitación.

Es importante resaltar que las condiciones de pH son adecuadas para obtener el plomo en su forma  $Pb^{2+}$  ya que a valores de pH más cercano a la neutralidad o en valores alcalinos, se puede presentar formación de otras especies producto de la interacción con iones  $OH^-$  presentes en el sistema, como  $Pb(OH)^-$  o  $Pb(OH)_2^0$ , los cuales pueden disminuir la adsorción y favorecer la precipitación de los iones metálicos respectivamente (Berber-Mendoza *et al.*, 2006) (Figura 18).

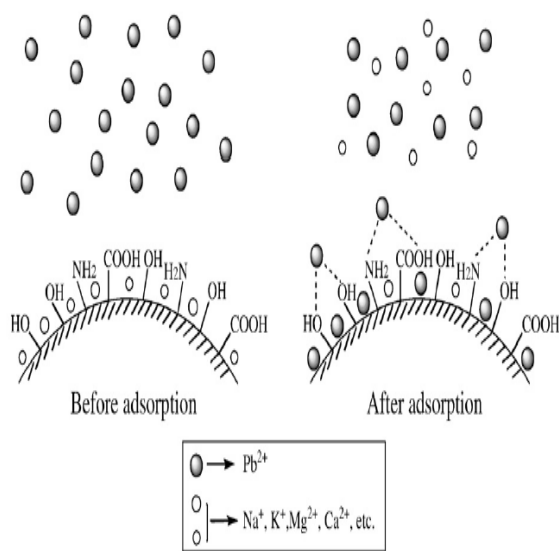


**Figura 18. Diagrama de especiación de  $Pb^{2+}$  en soluciones de agua a  $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$  (Tomada de Berber-Mendoza *et al.*, 2006).**

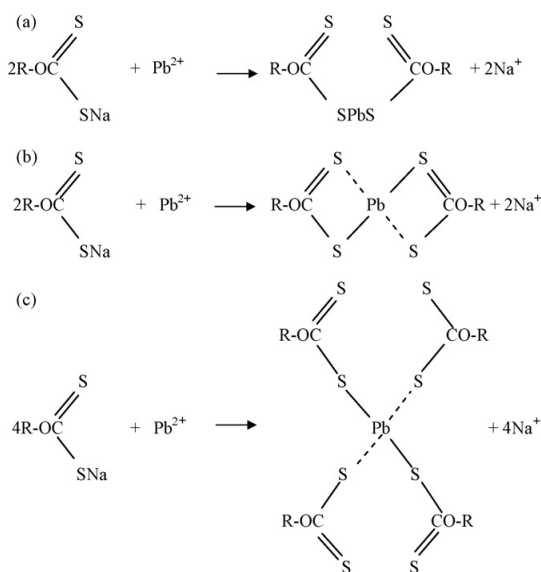
Al analizar el efecto del pH respecto a las variables de temperatura y velocidad de agitación, se observó que al decrecer el pH de los sistemas la remoción de plomo en los tres materiales disminuyó, lo cual sugiere que la desprotonación de los grupos funcionales que intervienen en el proceso de adsorción contribuye de manera importante el mecanismo de unión entre los iones metálicos y la pluma (Reynel-Avila *et al.*, 2015). Cuando el  $pH < 4$ , una alta cantidad de  $H^+$  compiten con los iones  $Pb^{2+}$  por la ocupación de sitios activos en la superficie, lo cual puede derivar en un proceso de repulsión electrostática (Aguayo-Villarreal *et al.*, 2011). Además, es importante señalar que a valores de  $pH > 3.5$  aproximadamente, de igual manera se observó una disminución en la remoción de  $Pb^{2+}$ , lo cual se sugiere es debido a la precipitación de los iones metálicos debido a la asociación con iones  $OH^-$  presentes en el sistema, lo cual hace que el proceso de adsorción sea incierto.

Es importante señalar que aun cuando los valores de pH evaluados están por debajo del  $pH_{PZC}$ , el proceso de adsorción se llevó a cabo en los tres materiales, por lo que de manera preliminar se sugiere que un mecanismo de atracción electrostática entre la pluma y los iones  $Pb^{2+}$  se puede excluir fácilmente, por lo que el proceso de adsorción se puede asociar a otros mecanismos, como intercambio iónico, quelación, interacciones electrostáticas, complejación, etc. (Chen *et al.*, 2010;

Reynel-Avila *et al.*, 2011). Los métodos anteriormente mencionados han sido reportados por diversos autores que han analizado el proceso de remoción tanto de  $Pb^{2+}$  con otros adsorbentes naturales que presentan sitios activos similares a los detectados en la pluma (Figura 19 y 20) así como por otros que han analizado el proceso de adsorción de diversos contaminantes además el  $Pb^{2+}$ .



**Figura 19. Mecanismos propuesto para la remoción de  $Pb^{2+}$  utilizando hojas de *Cinnamomum camphora* (tomado de Chen *et al.*, 2010).**

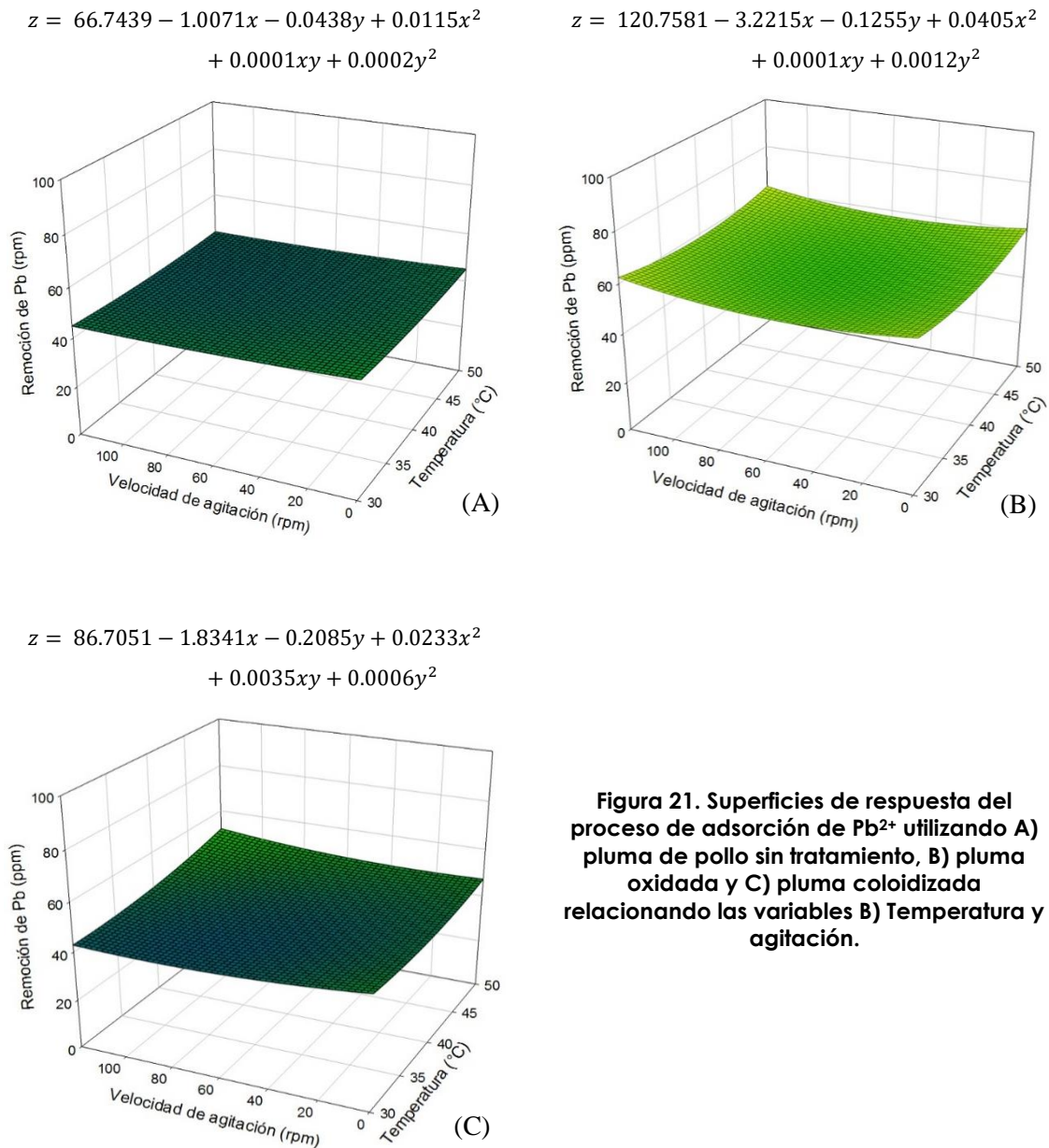


**Figura 20. Mecanismos de adsorción propuestos: (a) intercambio iónico; (b) complejación (Tomado de (Liang *et al.*, 2009).**

Como puede observarse se reporta la participación de grupos amino, hidroxilo y sulfuro durante el proceso de adsorción, los cuales fueron identificados previamente en la caracterización de los materiales. De acuerdo a Reynel-Avila *et al* (2015), la preferencia de las plumas por los iones  $Pb^{2+}$  puede deberse a la electronegatividad del metal y debido a su bajo radio iónico, comparado con otros iones metálicos. Además, es importante resaltar que al haber obtenido la pluma oxidada los mejores resultados en comparación con la pluma sin tratamiento y la pluma coloidizada, se sugiere que la presencia de los grupos  $S=O$  detectados en la caracterización del material juegan un papel importante debido al ser el único grupo funcional diferente respecto a los otros dos materiales, en los cuales puede suceder alguno de los métodos de asociación previamente mencionados.

En cuanto a la temperatura (Figura 21 y 16) se observa que tiene un ligero efecto positivo en el proceso de adsorción utilizando pluma coloidizada tanto al relacionarse con las variables de pH y velocidad de agitación, donde en ambos casos la adsorción de  $Pb^{2+}$  se favorece al aumentar la

temperatura y trabajar en la velocidad de agitación más elevada (Figura 17C) y en un pH de 3.4 (Figura 5C). Sin embargo, este efecto no se detectó en los sistemas donde se utilizó pluma oxidada y coloidizada, posiblemente debido al intervalo de temperaturas utilizado o por no alcanzar las condiciones de equilibrio, aunado al utilizar una concentración baja de adsorbato.



**Figura 21. Superficies de respuesta del proceso de adsorción de Pb<sup>2+</sup> utilizando A) pluma de pollo sin tratamiento, B) pluma oxidada y C) pluma coloidizada relacionando las variables B) Temperatura y agitación.**

Respecto a la agitación, se observa que ésta variable no presenta un efecto sobre el proceso de adsorción en los tres materiales, posiblemente debido a la que en los sistemas la pluma se encontraba completamente sumergida, por lo que se encontraba en condiciones apropiadas de

contacto. Se prevé que al utilizar sistemas de mayor volumen y cantidad de adsorbente la agitación sea necesaria para favorecer el contacto.

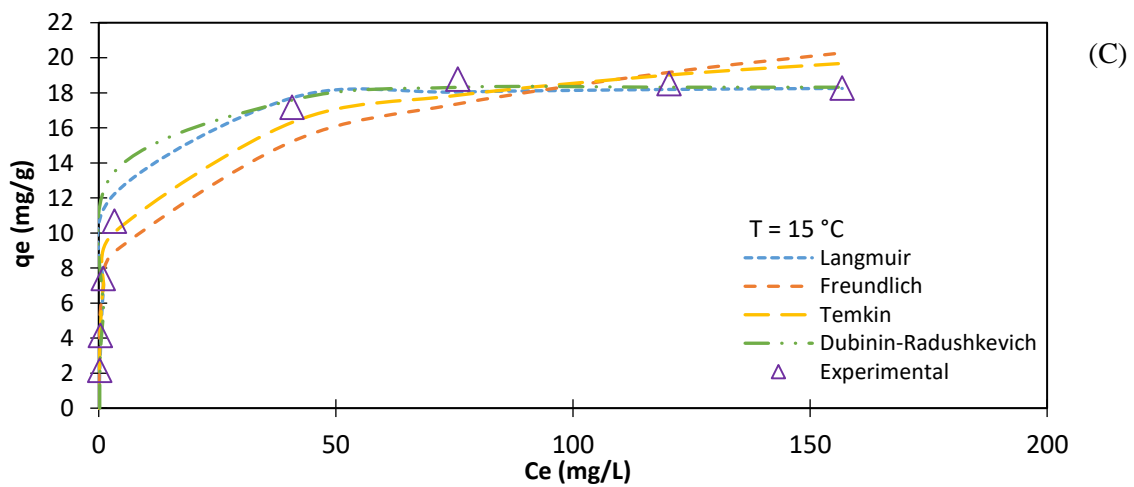
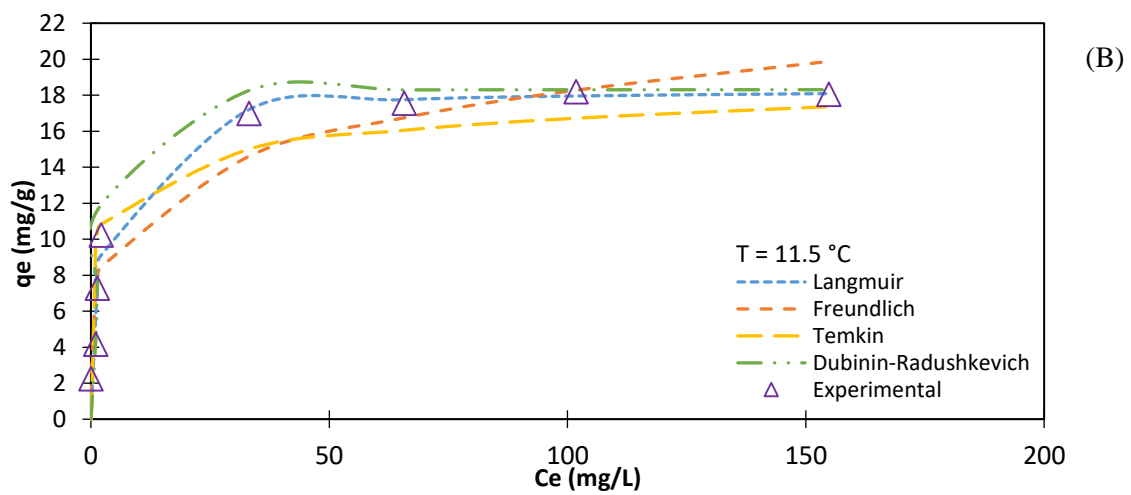
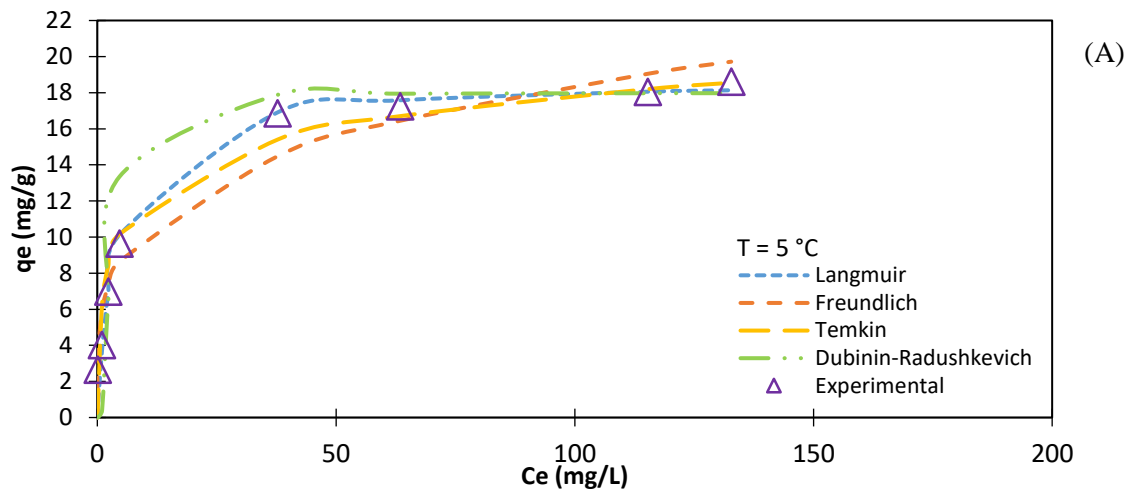
Con los resultados anteriores, se determina que la pluma oxidada presenta los mejores resultados de en cuanto al proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  y que las condiciones óptimas para llevar a cabo el proceso son pH 3.3 de acuerdo a lo observado en las superficies de respuesta, temperatura de 30 °C y nula agitación, las cuales se seleccionaron debido al ahorro energético que representa trabajar en éstas condiciones en caso de llevar a cabo el proceso en una escala mayor.

### 6.2.2 Evaluación de isotermas de adsorción

Con las condiciones obtenidas a partir del diseño experimental, se procedió a evaluar las isotermas previamente mencionadas que describan el perfil termodinámico del proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma de pollo oxidada.

Al analizar los datos obtenidos, se observa que la temperatura no tiene un efecto sobre la adsorción de plomo aun cuando se evaluó su efecto en un intervalo de temperatura y de concentración mayor al analizado en el diseño experimental, obteniendo cargas entre 17 y 19 mg/g, por lo que se sugiere que el efecto de la temperatura tendría un efecto en cuanto a la velocidad del proceso. Con estos resultados, se llevó a cabo el ajuste a los modelos matemáticos de Langmuir, Freundlich, Temkin y Dubinin-Radushkevich, los cuales pueden observarse en la figura 22.

De manera general, se puede observar que al inicio del proceso, la remoción de plomo aumenta de manera lineal en las primeras concentraciones evaluadas, lo cual puede indicar que los sitios activos de la pluma son suficientes para que el proceso de adsorción se lleve a cabo y que éste depende de la transferencia de los iones  $Pb^{2+}$  de la solución hacia la superficie del adsorbente; mientras, se observa que a concentraciones iniciales más elevadas, los sitios activos en la superficie están saturados, por lo que el proceso de adsorción alcanza el equilibrio (Chen *et al.*, 2015).





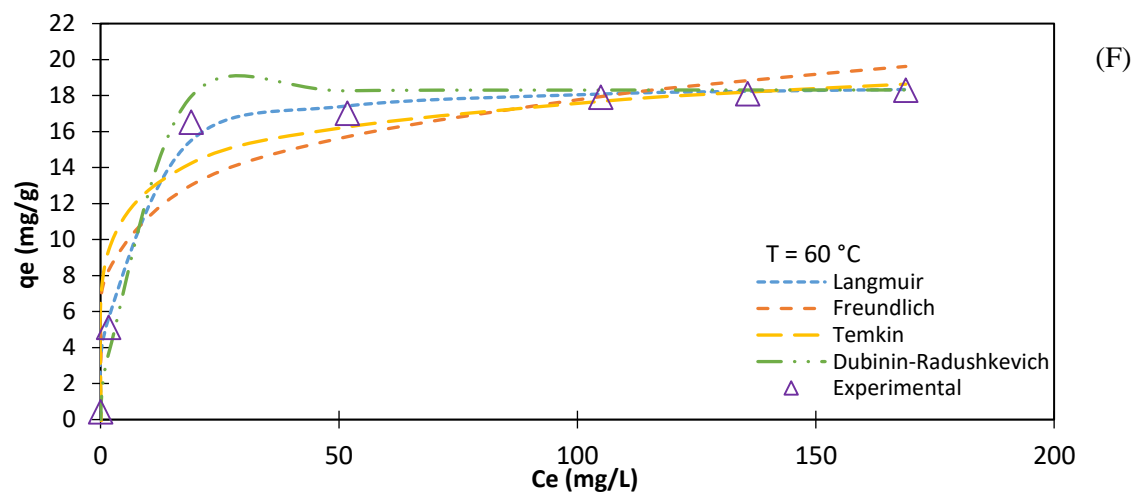
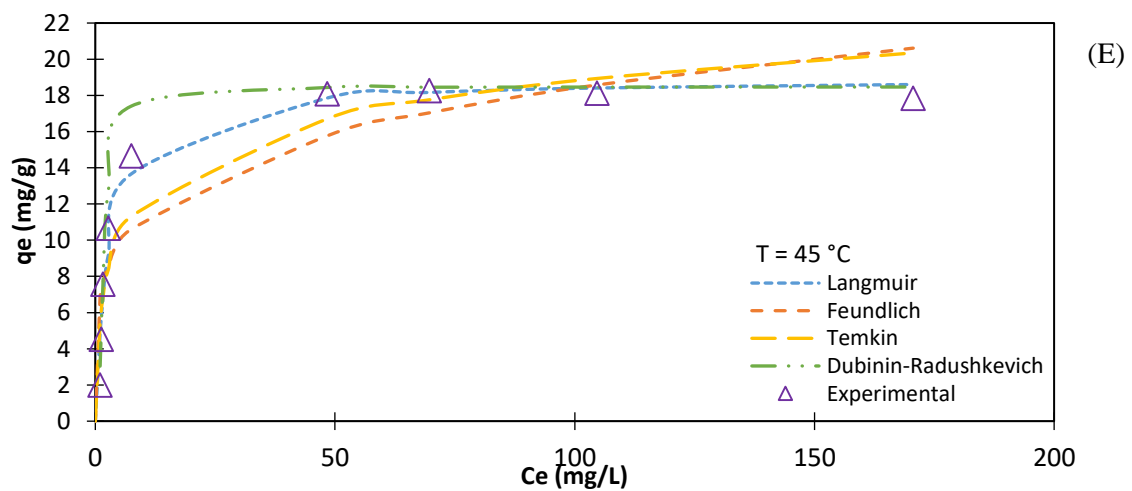
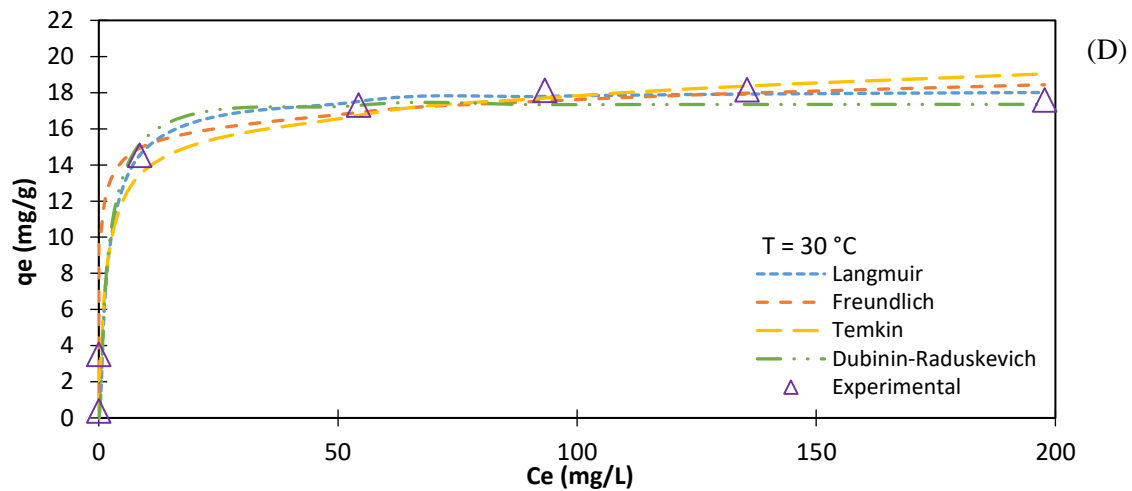


Figura 22. Modelos de adsorción de Langmuir, Freundlich, Temkin y Dubinin-Radushkevich para la interacción de  $Pb^{2+}$  en pluma de pollo oxidada en A) 5 °C, B) 11.5 °C, C) 15 °C, D) 30 °C, E) 45 °C y F) 60 °C.

Las constantes de cada modelo matemático se muestran en las tablas 15 y 16. De acuerdo al coeficiente de correlación ( $r^2$ ) obtenido para cada temperatura en cada uno de los modelos evaluados, se observa que el modelo de Langmuir obtuvo los valores de correlación más elevados en las seis temperaturas analizadas. Lo anterior sugiere que los iones  $Pb^{2+}$  sólo pueden interaccionar con la superficie de la pluma por sitios activos similares en cuanto a la homogeneidad de su energía de adsorción, sugiriendo que la remoción ocurre sobre una monocapa donde no hay interacción entre las moléculas adsorbidas (Dada *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2014).

Lo anterior mencionado coincide con otros estudios reportados donde se ha analizado la adsorción de iones metálicos mediante plumas sin modificación (Reynel-Avila *et al.*, 2011), plumas modificadas (Gao *et al.*, 2014) y residuos queratinosos modificados y sin modificar (Kong *et al.*, 2014) por lo que se sugiere que el tipo de interacción adsorbente-adsorbato descrita por el modelo de Langmuir es propia del material.

**Tabla 15. Constantes de Langmuir y Freundlich a diferentes temperaturas para el proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma de pollo oxidada**

Temperatura (°C)	Langmuir				Freundlich		
	$K_L$ (L/mol)	$Q_{m\acute{a}x.}$ (mg/g)	$R_L$	$r^2$	$K_F$ ( $mg^{1-1/n}L^{1/n}g^{-1}$ )	n (g/L)	$r^2$
5	52656.36	18.67	0.9778 - 0.0306	0.9911	5.932	4.069	0.9779
11.5	93673.46	18.34	0.9995 - 0.0140	0.9856	7.2475	4.9981	0.9549
15	122129.07	18.44	0.8879 - 0.0107	0.9918	6.9061	4.6926	0.9651
30	96078.02	18.2	0.9953 - 0.0107	0.981	12.9274	14.8908	0.9794
45	71963.46	18.91	0.7422 - 0.0165	0.9846	6.9084	4.7012	0.9258
60	51677.34	18.77	0.9975 - 0.0231	0.9973	7.9447	5.336	0.9583

Respecto a las constantes que describe el modelo de Langmuir, se observa que el valor de  $Q_{m\acute{a}x.}$  se mantiene en un intervalo entre 18.2 y 18.91 mg/g, lo que sugiere que la temperatura no tiene un efecto importante en cuanto a la capacidad de adsorción de la pluma oxidada, posiblemente por el comportamiento energético del sistema, el cual se analizará de mejor manera al obtener los parámetros termodinámicos. En cuanto a lo anterior también se relaciona el comportamiento de los valores obtenidos en la constante  $K_L$  (que se relaciona con el carácter energético de los sitios activos) donde se observa que dentro del intervalo de temperaturas analizado presentan un comportamiento similar antes y después de 15 °C, donde al acercarse a los extremos del intervalo los valores descienden.

Respecto al modelo de Freundlich, se observó que los valores obtenidos por  $n$  son superiores a 1, lo que indica una adsorción favorable (Freitas *et al.*, 2016) al igual que los parámetros de Temkin  $a_T$  y  $b_T$  que describe la máxima energía de enlace y el calor de adsorción respectivamente (Oguzie *et al.*, 2007). Al analizar la razón  $1/n$  obtenidas en el modelo de Freundlich para cada una de las isotermas se obtiene un valor menor a 1, lo cual confirma que la isoterma de Langmuir es aplicable al proceso de adsorción (Mallampati *et al.*, 2015).

Otra constante utilizada para describir si el proceso es favorable o no es el que se obtiene por el método de Weber & Chakraborty (1974) relacionado con la constante adimensional  $R_L$ , donde de acuerdo a los parámetros establecidos se tiene un proceso favorable de adsorción al obtener valores entre 0 y 1 en todas las temperaturas analizadas, observando que al aumentar la concentración éstos valores tienden más a 0 (valor relacionado con la irreversibilidad del proceso).

**Tabla 16. Constantes de Temkin y Dubinin-Radushkevich a diferentes temperaturas para el proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma de pollo oxidada**

Temperatura (°C)	Temkin			Dubinin-Radushkevich			
	$A_T$ (L/g)	$b_T$ (J/mol)	$r^2$	$q_s$ (mg/g)	$K_{D-R}$ (mol <sup>2</sup> /KJ <sup>2</sup> )	$E_a$ (KJ/mol)	$r^2$
5	12.4175	923.4664	0.9132	17.9801	1.47E-06	582.9541	0.94
11.5	533.6022	1543.186	0.9034	18.306	5.39E-07	963.14	0.9835
15	16.6439	957.758	0.9918	18.3192	1.04E-07	2192.64	0.858
30	224.69	1416.675	0.9864	17.3477	1.75E-06	534.52	0.9794
45	6.6723	914.7456	0.9363	18.4676	5.36E-07	965.83	0.9853
60	62.33	1376.682	0.9586	18.3171	1.00E-06	707.10	0.9935

Una de las ventajas de analizar el proceso de adsorción utilizando la isoterma de Dubinin-Radushkevich es que puede utilizarse tanto para superficies homogéneas como heterogéneas (Dubinin & Radushkevich, 1947). Al analizar los parámetros obtenidos para este modelo, se observa que se obtuvieron capacidades máximas de adsorción similares a las obtenidas por el modelo de Langmuir, donde de igual manera no se observa un efecto de la temperatura sobre la capacidad del adsorbente. Dentro de los parámetros determinados mediante el modelo de Dubinin-Radushkevich se encuentra el factor  $E_a$ , el cual se refiere a la energía de adsorción. Este término hace mención al cambio de energía libre que ocurre cuando una mol de iones es transferida de la infinidad de la solución hacia la superficie del sólido, por lo que el valor de éste parámetro puede dar información importante sobre el mecanismo de adsorción (Tahir & Rauf, 2006; Chen *et al.*,

2010). Al analizar los valores obtenidos para las isoterms analizadas, se obtiene que los valores de  $E_a$  se encuentran entre 500 y 2100 KJ/mol, los cuales son valores elevados indicativos de un proceso de quimisorción (Rieman & Walton, 1970). Lo anterior se describirá de mejor manera al analizar la cinética del proceso de adsorción.

La capacidad máxima de la pluma oxidada obtenida se comparó respecto a otros materiales adsorbentes reportados para la remoción de plomo, los cuales se presentan en la tabla 17. Como puede apreciarse en la tabla, el tipo de materiales reportados para la remoción de  $Pb^{2+}$  es muy diverso tanto en su origen, composición, como en las modificaciones que algunos reportan. Sin embargo, es importante señalar que debido a esto, la pluma oxidada propuesta en este trabajo es un material competitivo debido a que aún cuando cuenta con una capacidad máxima menor a otros materiales, tiene la ventaja de ser estable en un amplio intervalo de temperaturas, que su modificación representa un mejor costo respecto a otros materiales modificados y como se ha mencionado anteriormente, a su factibilidad de disposición por degradación. Cabe señalar que en los trabajos mencionados en la tabla como en otros trabajos revisados, no se describe el tratamiento del complejo “adsorbente-adsorbato” obtenido en el proceso.

**Tabla 17. Comparación de capacidades máximas de  $Pb^{2+}$  con diversos adsorbentes naturales.**

Adsorbente	Temperatura (°C)	$Q_{máx.}$ (mg/g)	Referencia
Pluma de pollo	30	9.8	(de la Rosa <i>et al.</i> , 2008)
Cáscara de naranja	30	89.77	(Liang <i>et al.</i> , 2009)
Hojas de canela	30 - 60	73.12 - 75.82	(Chen <i>et al.</i> , 2010)
Residuos de té	15 - 45	25.09 - 33.49	(Wan <i>et al.</i> , 2014)
Cáscara de nuez	30	17.82	(Senthil-Kumar, 2014)
Zeolita-NaX	30	14.22	(Pandey <i>et al.</i> , 2015)
Semilla de mango	30	2.62	(Kanjilal <i>et al.</i> , 2015)
Cáscara de melón	30	7.89	(Mallampati <i>et al.</i> , 2015)
Cáscara de aguacate		4.93	
Cáscara de pitahaya		4.6	
Montmorilonita-quitosana	25	29.85	(Tsai <i>et al.</i> , 2016)
Conchas de almeja modificadas	10 - 50	4.85 - 4.92	(Sun <i>et al.</i> , 2016)
Compositos de pluma-quitosana	10 - 50	70.42	(Anantha & Kota, 2016)
Cáscara de piña oxidada	25	28.55	(Ahmad <i>et al.</i> , 2016)
Compositos celulosa-acetato/TiO <sub>2</sub>	25-55	31.9	(Gebbru & Das, 2017)
Pluma de pollo oxidada	5-60	18.2 – 18.91	Éste trabajo

En cuanto a los parámetros termodinámicos del proceso de adsorción, se obtuvieron los valores de cada parámetro de acuerdo a las ecuaciones 1, 2 y 3 previamente mencionadas. Al graficar los valores obtenidos de  $\Delta G^\circ$  para cada temperatura, se identificaron dos pendientes teniendo como punto en común 15 °C (288.15 K) (Figura 23).

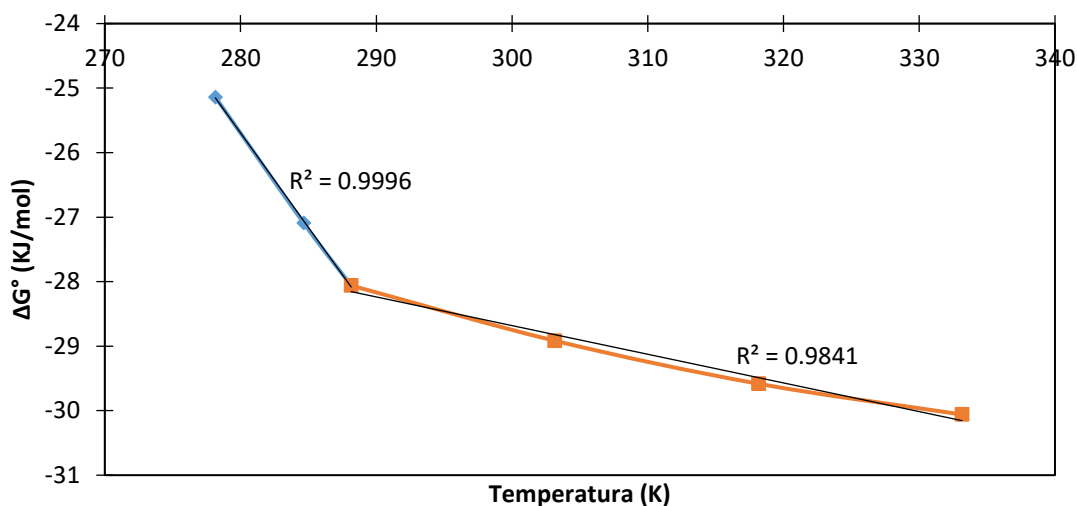


Figura 23. Comportamiento de la Energía libre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ) contra temperatura (K).

Al observar el comportamiento de los resultados obtenidos, se confirma que dentro del proceso existen dos etapas en cuanto al comportamiento energético que rige al sistema. Por lo anterior, los valores de entalpía ( $\Delta H^\circ$ ) y entropía ( $\Delta S^\circ$ ) se obtuvieron para el intervalo de 5 a 15 °C y para el intervalo de 15 a 60 °C, los cuales se presentan en las tablas 18 y 19. Es importante señalar que como puede observarse en la Figura 23, los dos comportamientos previamente mencionados mantienen la linealidad dentro de los intervalos de temperaturas analizados.

Tabla 18. Parámetros termodinámicos del proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  con pluma de pollo oxidada a 5, 11.5, 15 y 30 °C

Temperatura (°C)	$K_L$ (L/g)	$\Delta G^\circ$ (KJ/mol)	$\Delta H^\circ$ (KJ/mol)	$\Delta S^\circ$ (KJ/molK)
5	52656.36	-24.99	56.0185	-0.2918
11.5	93673.46	-27.09		
15	122129.07	-28.06		

**Tabla 19. Parámetros termodinámicos del proceso de adsorción de Pb<sup>2+</sup> con pluma de pollo oxidada a 30, 45 y 60 °C**

Temperatura (°C)	K <sub>L</sub> (L/g)	ΔG° (KJ/mol)	ΔH° (KJ/mol)	ΔS° (KJ/molK)
15	122129.07	-28.06	-15.3492	-0.0444
30	96078.02	-28.91		
45	71963.46	-29.58		
60	51677.34	-30.06		

Aun cuando se presentaron dos comportamientos de los parámetros, se observó que los valores de ΔG° en todas las temperaturas evaluadas obtuvieron valores negativos, lo cual indica que el proceso de adsorción es termodinámicamente favorable y espontáneo en las condiciones utilizadas. Además, es importante señalar que los valores de la Energía libre de Gibbs disminuyen con el gradiente de temperatura evaluado, lo cual sugiere que el proceso de adsorción es energéticamente más favorable en altas temperaturas (Atia *et al.*, 2008; Saha & Chowdhury, 2011; Sevim *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2010).

En cuanto a los valores obtenidos de entalpía, en la primera etapa (de 5 a 15 °C) este parámetro obtuvo un valor positivo, lo cual describe que el proceso en el intervalo mencionado se comporta de manera endotérmica y de acuerdo a Uslu & Tanyol (2006) mencionan que en un comportamiento como éste posiblemente ocurran enlaces fuertes entre el metal y el adsorbente. En cambio, en la segunda etapa (de 15 a 60 °C) se obtuvo un valor negativo de entalpía, lo cual indica que en el intervalo de temperaturas mencionado el proceso tiene una naturaleza exotérmica y sugiere la presencia de enlaces débiles entre el adsorbato y la superficie bajo estas condiciones de operación (Febrianto *et al.*, 2008). Generalmente, el cambio en los valores de entalpía en los procesos de fisisorción se encuentran entre 2 a 21 KJ/mol, mientras que un cambio de entalpía para quimisorción está en el rango de 80-200 KJ/mol (Liu & Liu, 2008), lo cual deja un hueco de energía en el cual se ubica el valor de entalpía obtenido al analizar el proceso de adsorción entre 5 y 15 °C. De acuerdo a lo anterior, se sugiere que el proceso de adsorción de plomo utilizando pluma oxidada puede ser causado por una combinación de adsorción tanto física como química.

A diferencia de lo anterior, los valores de entropía son negativos en ambas etapas, lo cual indica que el ligero es irreversible y sugiere la presencia de enlaces fuertes entre el metal y el adsorbente (Uslu & Tanyol, 2006). Como puede apreciarse, el valor de ΔS° es ligeramente menor en la primera etapa del proceso respecto a la segunda, lo cual sugiere que en el primer intervalo del proceso el grado de libertad de los iones metálicos adsorbidos es menor debido al desplazamiento de iones a un nivel más alto de orden en la fase sólida comparado a aquellos en la fase acuosa, lo que resulta

en una pérdida de movilidad cuando los iones son atrapados en la superficie del adsorbente (Khazali *et al.*, 2007). En la segunda etapa del proceso, se observó que el valor obtenido para este intervalo se acerca más a 0 o a los valores positivos, por lo que se sugiere que al aumentar la temperatura, la aleatoriedad en la interfase sólido-líquido aumenta de igual forma (Ahmad *et al.*, 2016).

Se induce que el comportamiento dual respecto a la temperatura observado en este trabajo es propio del adsorbente ya que se han reportado resultados similares en su uso para la remoción de  $Zn^{2+}$  (Aguayo-Villarreal *et al.*, 2011),  $Pb^{2+}$  (de la Rosa *et al.*, 2008)  $Cd^{2+}$  y  $Ni^{2+}$  (Reynel-Avila *et al.*, 2011) y va de acuerdo a lo mencionado por Kar & Misra (2004), quienes señalan que la remoción de metales pesados por queratina (proteína predominante en la composición de la pluma de pollo) ocurre por una combinación de ambos procesos, donde el proceso de fisisorción puede ocurrir por la captura de iones metálicos en la red de nanoporos de las plumas mientras que la quimisorción se cree que puede ocurrir en sitios activos propios de la pluma, denotando la acción de los sitios carboxílicos.

Con lo anterior, el proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma oxidada puede describirse como un proceso espontáneo y favorable que a bajas temperaturas requiere de energía externa al sistema mientras que a partir de 15 °C presenta una liberación de energía resultante del proceso de adsorción, siendo en ambas etapas ligeramente irreversible.

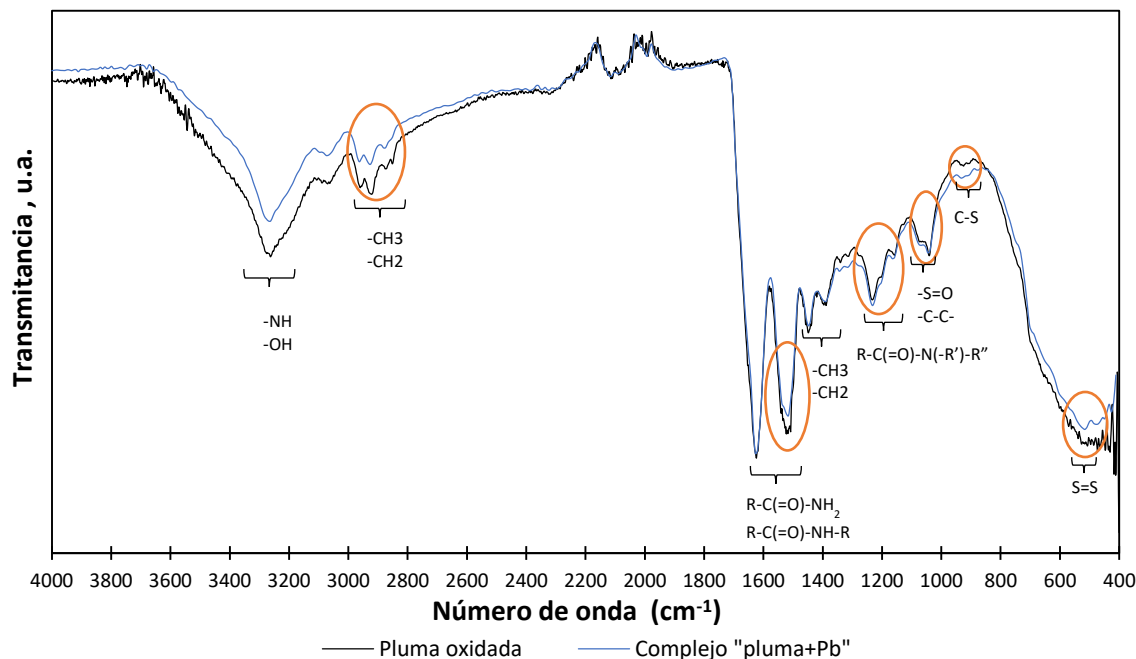
Cabe resaltar el hecho de que son pocos los trabajos donde se analizan isothermas y parámetros termodinámicos en bajas temperaturas y aunado a que la capacidad máxima del adsorbente es de 18.5 mg/g en promedio desde 5 hasta 60 °C, denota que el proceso propuesto en el presente trabajo es muy flexible en cuanto a ésta condición de operación.

### 6.2.3 Análisis FTIR del complejo “pluma+Pb”

Con el fin de observar cambios en las señales de los grupos funcionales de la pluma oxidada (descritos en la sección 7.1) y relacionarlos con el proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$ , se obtuvo el espectro por FTIR del complejo “pluma+Pb” obtenido (Figura 29).

De manera general se observó que las señales características del material se mantuvieron posterior al proceso de adsorción y sólo se desplazaron, disminuyeron o aumentaron de manera ligera en ambos casos (señales marcadas en la figura 24). Respecto a las señales de las amidas II y III (1515 y 1224  $cm^{-1}$  respectivamente) se observó que en ambos casos las señales disminuyeron, mientras que en el caso de las señales correspondientes a los grupos sulfonados presentaron comportamientos diferentes. En el caso del grupos  $-S=O$  correspondiente a los puentes salinos en la estructura de la queratina, se observó que la señal de 1045  $cm^{-1}$  disminuyó ligeramente al igual que la señal en 922

$\text{cm}^{-1}$  correspondiente al enlace C-S. Además, se observó que la señal del enlace disulfuro ( $515 \text{ cm}^{-1}$ ) se acentuó posterior al proceso de adsorción de  $\text{Pb}^{2+}$ .



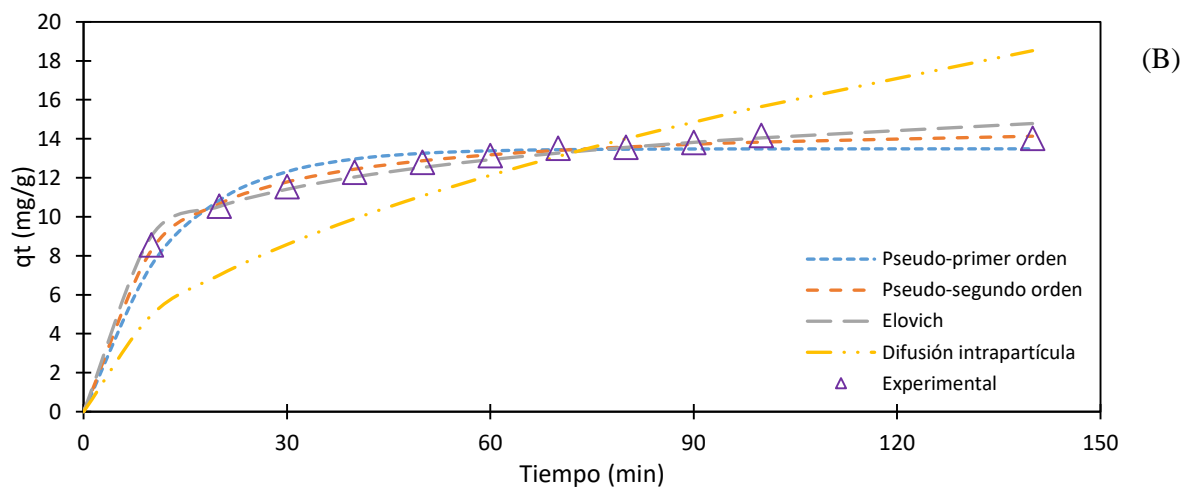
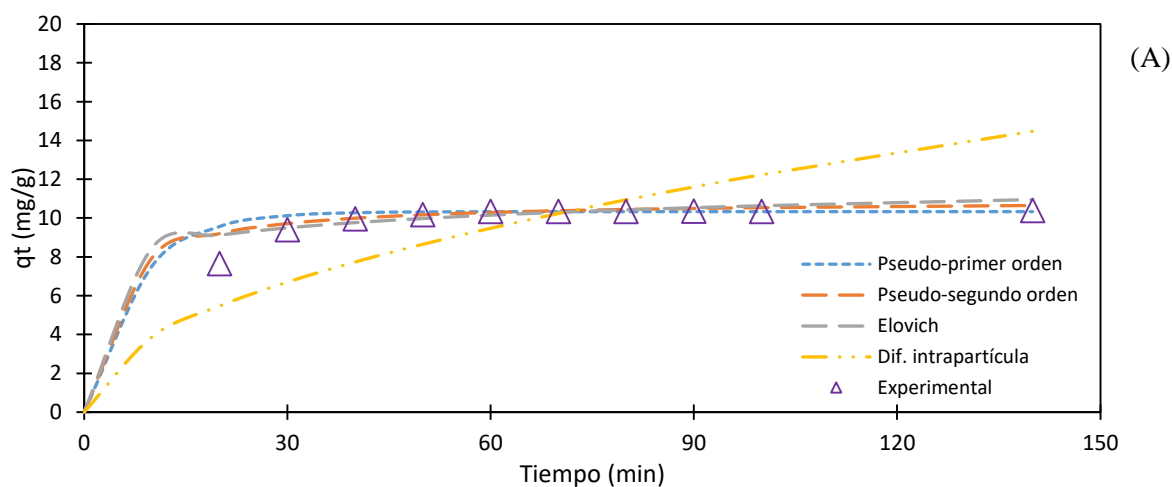
**Figura 24. Espectros FTIR de la pluma de pollo oxidada antes y después del proceso de adsorción de  $\text{Pb}^{2+}$**

Las modificaciones anteriormente mencionadas han sido reportadas por diversos autores que han analizado el proceso de adsorción de  $\text{Pb}^{2+}$  en otros materiales así como la adsorción de otros iones metálicos en residuos queratinolíticos. Gao *et al* (2014) observaron que posterior al proceso de adsorción de  $\text{Cr}^{6+}$  utilizando plumas modificadas, la intensidad de los puentes peptídicos disminuyó, mientras que tanto Chen *et al* (2010) como Ahmad *et al* (2016) quienes analizaron el proceso de adsorción de  $\text{Pb}^{2+}$  mediante adsorbentes naturales tanto modificados como sin modificar, reportan que posterior al proceso de adsorción las señales de los materiales se desplazan ligeramente y cambian su intensidad. Por lo tanto, se sugiere que tanto los grupos carboxil, amino y sulfónicos participan en el proceso de adsorción mediante procesos de atracción electrostática, complejación, quelación y/o intercambio iónico.



#### 6.2.4 Evaluación de cinéticas de adsorción

Posterior a la descripción de la termodinámica del proceso, se dio paso al análisis de las condiciones cinéticas que rigen al proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  sobre la pluma de pollo oxidada. Con los resultados obtenidos de cada sistema se obtuvieron los valores de la concentración en el equilibrio de cada tiempo y se utilizaron para analizar el ajuste a los modelos cinéticos previamente mencionados. El comportamiento de cada sistema respecto a los modelos se presenta en la figura 25. Al analizar el comportamiento de los datos experimentales en los tres sistemas se observa que existió una mayor cantidad de  $Pb^{2+}$  adsorbido sobre la pluma de pollo durante los primeros 20 minutos de las cinéticas y a partir de los 30 (sistema de 100 mg/L) y 50 minutos (sistemas de 200 y 300 mg/L), no hubo variación de las concentraciones de  $Pb^{2+}$  adsorbidas en los sistemas. No obstante, se monitoreo cada sistema hasta alcanzar el equilibrio, el cual fue aproximadamente a los 140 minutos.



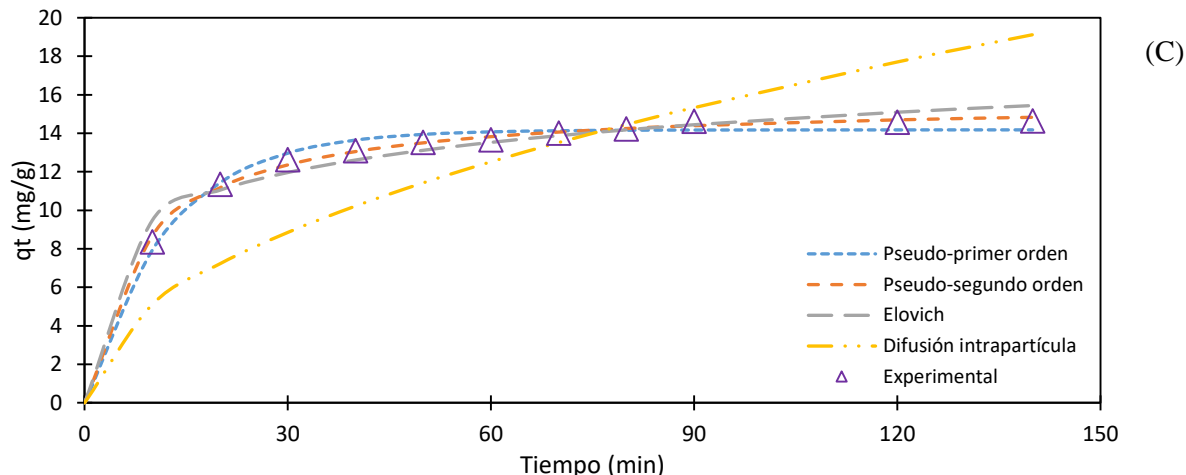


Figura 25. Modelos cinéticos de Pseudo-primer orden, Pseudo-segundo orden, Elovich y Difusión intrapartícula del proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma de pollo oxidada para los sistemas de concentración inicial A) 100 mg/L, B) 200 mg/L y C) 300 mg/L.

En la tabla 20 y 21 se presentan los resultados de las constantes obtenidas para cada modelo cinético evaluado. De acuerdo a los valores del coeficiente de correlación de cada modelo, se observa que aun cuando los modelos de pseudo-segundo orden y pseudo-primer orden obtuvieron valores cercanos a 1, el modelo de pseudo-segundo orden es el que obtuvo la mejor correlación para el proceso de adsorción y el valor de  $q_e$  es más cercano a los datos experimentales. Además, la descripción del proceso por el modelo de pseudo-segundo orden da un panorama más completo del comportamiento cinético que el de pseudo-primer orden, debido a que el primero modelo mencionado incluye los diferentes pasos dentro del proceso de adsorción mientras que el segundo sólo es capaz de describir la primera etapa rápida (Chen, 2012).

Tabla 20. Constantes de los modelos cinéticos de Pseudo-primer orden y Pseudo-segundo orden, a diferentes concentraciones del proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma de pollo oxidada

Concentración (mg/L)	Pseudo-primer orden			Pseudo-segundo orden				
	$q_e$ (mg/L)	$K_1$ (L/min)	$r^2$	$q_e$ (mg/L)	$K_2$ (g/mg·min)	$U$ (mg·g/min)	$t_{1/2}$ (min)	$r^2$
100	10.3307	0.1300	0.993	10.9346	0.0243	2.9007	3.7697	0.9984
200	13.4858	0.0813	0.9902	14.946	0.0083	1.8559	8.0534	0.9991
300	14.1772	0.0811	0.996	15.6854	0.0079	1.9409	8.0813	0.9991

El que el proceso de adsorción se obtenga un mejor ajuste hacia el modelo de Pseudo-segundo orden, sugiere que un proceso de quimisorción podría ser el paso limitante en la adsorción de  $Pb^{2+}$

sobre la pluma oxidada; este paso limitante describe que el proceso se lleva a cabo por medio de interacciones químicas entre los grupos superficiales y los iones  $Pb^{2+}$ , lo cual envuelve fuerzas de valencia a través de compartir o el intercambio de electrones entre el adsorbente y el adsorbato por fuerzas covalentes. Además, de acuerdo al modelo se plantea que los iones adsorbidos forma una monocapa sobre la superficie del adsorbente y que la energía de adsorción de cada ión es la misma y que a la vez es independiente de la cobertura de la superficie (Cho *et al.*, 2010), lo cual va de acuerdo a la evaluación termodinámica previamente descrita. Por lo anterior, se sugiere que el paso limitante dentro del proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando la pluma oxidada es como tal las interacciones químicas que ocurren entre los iones y los sitios activos del adsorbente.

Como puede observarse, al aumentar la concentración inicial de los sistemas la  $k_2$  disminuye, lo cual indica que a bajas concentraciones la competencia por los sitios activos del material es menor, mientras que al aumentar la concentración la competencia por los sitios aumenta y en consecuencia hay menores tasas de adsorción (Chen *et al.*, 2010). Este mismo efecto se observó al determinar la tasa de adsorción inicial (U) y el tiempo medio de adsorción ( $t_{1/2}$ ) (Ecuaciones 4 y 5), donde de igual manera la tasa inicial de adsorción disminuyó con el aumento de la concentración, mientras que el tiempo medio de adsorción aumentó.

$U = k_2 q_e^2 \dots \dots (6)$	$t_{1/2} = \frac{1}{k_2 q_e} \dots \dots (7)$
Donde:	Donde:
U = Tasa inicial de adsorción (mg/g·min)	$t_{1/2}$ = Tiempo medio de adsorción (min)

Aun cuando el modelo de Elovich no predice un mecanismo definido, se ha encontrado que es útil para describir predominantemente procesos de quimisorción en adsorbentes altamente heterogéneos (Gupta & Bhattacharyya, 2006). Teng & Hsieh (1999) propusieron que la constante a se relaciona con la tasa de quimisorción, mientras que la constante b se relaciona con la cobertura de la superficie. Como puede observarse al analizar los valores obtenidos en la constante a, se obtuvieron valores elevados, lo cual indica que se puede describir el proceso por un mecanismo específico (Aroua *et al.*, 2008). En cuanto al comportamiento de la variable b, se observa de nueva cuenta un descenso respecto al aumento de la concentración, efecto que posiblemente se deba a que el aumento en la competencia de sitios activos dificulta la cobertura del adsorbente.

En cuanto al modelo de Difusión intrapartícula se observó que el ajuste hacia los sistemas analizados fue nula, lo cual denota que este modelo no es apropiado para la descripción del proceso de adsorción del presente trabajo debido a que en este modelo se describe un comportamiento parabólico donde el aumento en la adsorción de iones varía con el tiempo siguiendo este comportamiento, lo cual no sucede al observar los datos experimentales obtenidos. Por lo tanto, se confirma que la transferencia del adsorbato hacia los sitios activos en la superficie del material no es un paso limitante dentro del proceso de adsorción.

**Tabla 21. Constantes de los modelos cinéticos de Elovich y Difusión intrapartícula a diferentes concentraciones del proceso de adsorción de Pb<sup>2+</sup> utilizando pluma de pollo oxidada**

Concentración (mg/L)	Elovich			Difusión intrapartícula	
	a (g/mg·min)	b (g/mg)	r <sup>2</sup>	k (g/mg·min)	r <sup>2</sup>
100	713.0621	1.0559	0.8822	1.223	---
200	13.379	0.4567	0.9823	1.5653	---
300	15.04375	0.4428	0.9535	1.6158	---

El obtener tasas rápidas de adsorción refleja la buena accesibilidad de los sitios activos del material para los iones metálicos en la solución, lo cual representa ventajas en términos de la reducción del volumen del reactor y el tiempo de permanencia (Liang *et al.*, 2009).

Además, el modelo de Pseudo-segundo orden asume que durante el proceso de adsorción dos sitios activos pueden interaccionar con un ión del adsorbato, por lo que se sugiere que es un modelo más apropiado para el modelado del proceso de adsorción de iones metálicos divalentes (Aguayo-Villarreal *et al.*, 2011).

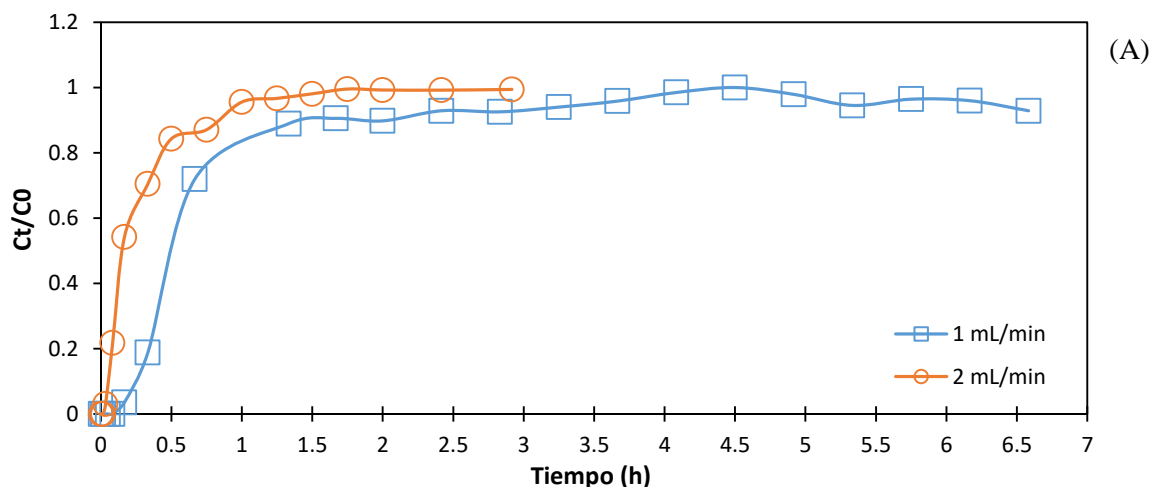
Con la información brindada por el análisis de la cinética de adsorción del presente trabajo, se sugiere que tanto los mecanismos descritos por Chen *et al* (2010) y Liang *et al* (2009) presentados en la sección 7.2 pueden representar la interacción de los iones Pb<sup>2+</sup> con la pluma de pollo oxidada debido a que ambos autores describen la interacción de dos sitios activos con un ion del adsorbato (lo cual fue descrito por el modelo de Pseudo-segundo orden) así como la posible captura de iones por nanoporos presentes en la superficie del material (proceso descrito por el comportamiento termodinámico del sistema).

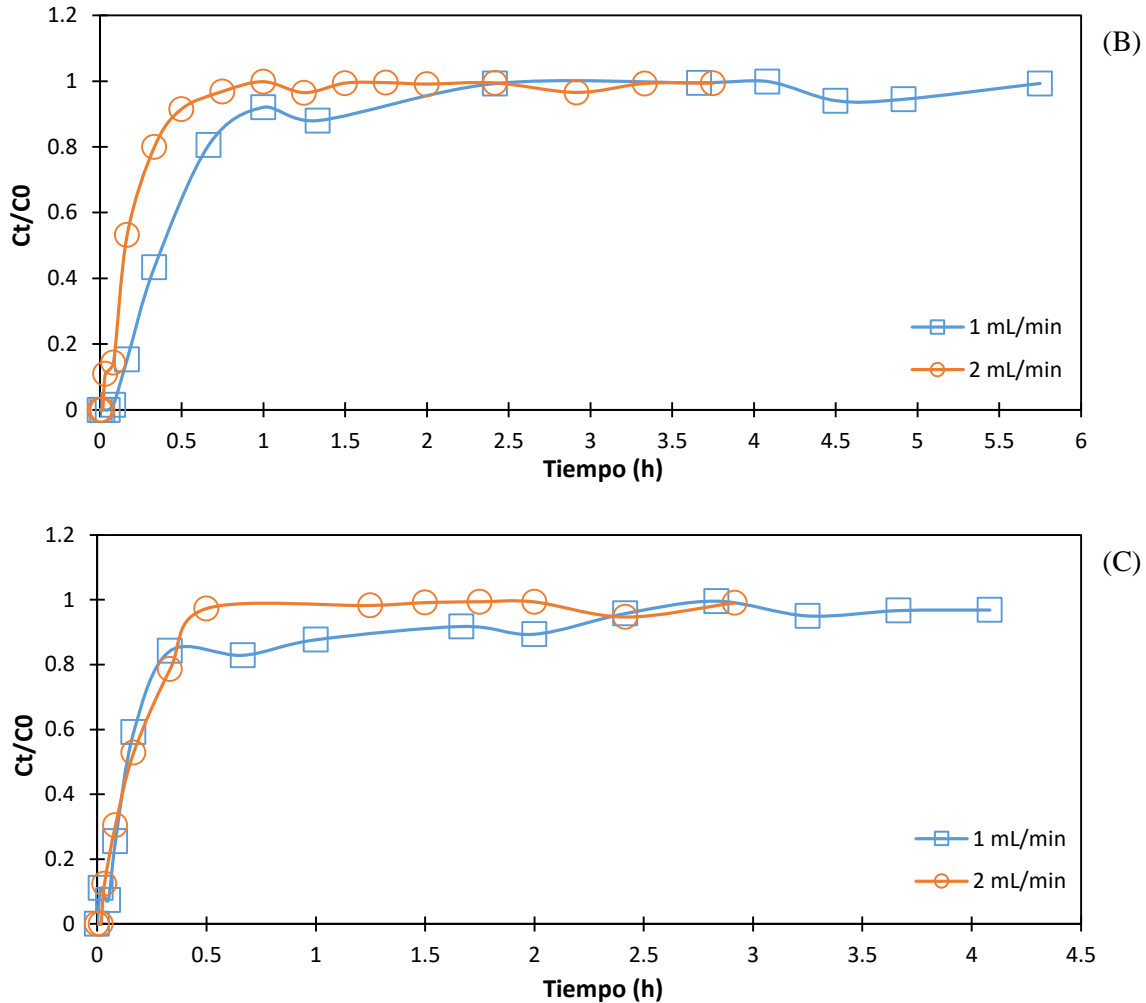
### 6.2.5 Estudio en columna en lecho empacado

Habiendo analizado el proceso de adsorción de plomo utilizando pluma oxidada en flujo estacionario, se dio paso a evaluar el proceso de adsorción en flujo continuo debido a las ventajas que representa el llevar a cabo el proceso de esta manera, como la reducción en el volumen del reactor a utilizar, el constante contacto entre el adsorbente y el adsorbato, entre otros; además, resulta relevante en caso de llevar a cabo el proceso de adsorción en una escala mayor de modo continuo (Vijayaraghavan *et al.*, 2005) cuyo comportamiento es descrito en términos de la relación de la concentración en el efluente – tiempo. Esta relación se refleja en curvas de rompimiento, donde la zona de transferencia de masa disminuye hasta alcanzar la saturación del lecho.

Con los datos experimentales obtenidos de acuerdo a las variables evaluadas, se graficaron las curvas de rompimiento de cada columna bajo las condiciones previamente descritas (Figura 26) y se obtuvo el área antes de llegar a la curva con el fin de obtener la capacidad experimental del lecho en cada columna (Tabla 22).

De manera general se puede observar que el tiempo de saturación de las columnas se encuentra entre 3 y 4.5 h dependiendo de las condiciones de concentración inicial y flujo de cada columna. De acuerdo a Mlayah & Jellali (2015), los tiempos de equilibrio cortos se pueden considerar una ventaja importante en aplicaciones prácticas debido a que las tasas de remoción son altamente importantes en el desarrollo de tecnologías con materiales de bajo costo.





**Figura 26.** Curvas de rompimiento de columna en el proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma oxidada en A) 300 mg/L, B) 400 mg/L y C) 500 mg/L.

Respecto a las variables evaluadas, la concentración inicial es de los parámetros más importantes a analizar debido a que tiene una alta influencia sobre el desarrollo de las columnas empacadas así como en las características de las curvas de rompimiento (Aguayo-Villarreal *et al.*, 2011). Como puede observarse, al utilizar una concentración inicial de 300 mg/L se obtienen curvas de rompimiento donde la forma sigmoideal es más evidente, lo cual denota tiempos de rompimiento y de saturación más elevados. Caso contrario ocurre cuando se trabajan concentraciones más elevadas, ya que en las columnas donde se utilizó una concentración de 400 y 500 mg/L se obtuvieron curvas con una mayor pendiente, lo cual deriva en tiempos de rompimiento y saturación de la columna menores, así como en zonas de transferencia de masa más cortas.

En cuanto al efecto de flujo se observó que tiene una influencia similar a la concentración inicial sobre los tiempos de rompimiento y saturación de la columna debido a que al trabajar en un flujo de

1 mL/min dentro del intervalo de concentraciones evaluado, se observó que tanto el tiempo de rompimiento como de saturación de las columnas fueron mayores respecto a los obtenidos en las columnas donde se trabajó en un flujo de 2 mL/min, lo cual denota que al trabajar en flujos bajos se cuenta con una mayor área de transferencia de masa.

**Tabla 22. Capacidades de los lechos de las curvas de rompimiento.**

Concentración	Flujo	$q_{exp}$ (mg/g)
300	0.06	15.6519
	0.12	11.0418
400	0.06	11.0502
	0.12	12.4719
500	0.06	13.3011
	0.12	13.9759

Al relacionar el efecto de ambas variables respecto a la capacidad del lecho (Tabla 22), de manera general se observó que la capacidad del lecho oscilaron en un intervalo entre 11 y 16 mg/g aproximadamente. Al mantener una concentración constante (300 mg/L) se denota que al aumentar el flujo la capacidad del lecho disminuye, debido posiblemente a un bajo tiempo de residencia de los iones metálicos en la columna, el cual no es suficiente para establecer una condición de equilibrio causado por la salida de los iones antes de establecer esta condiciones y/o por una baja difusión (Mlayah & Jellali, 2015; Babu *et al.*, 2015). Respecto a las columnas donde se trabajó una concentración de 400 y 500 mg/L, se observó que en ambos grupos la diferencia entre las capacidades de los lechos de las columnas que operaron a 1 y 2 mL/min es menor a lo observado en las columnas donde se trabajó a 300 mg/L. El efecto anterior sugiere que en concentraciones elevadas, se le da una mayor fuerza a la transferencia de masa en el proceso de adsorción que es capaz de superar la resistencia a la misma transferencia por parte del material (Lakshmiathy & Sarada, 2015). Además, el trabajar con concentraciones elevadas en el influente, genera que la cantidad de iones metálicos que ingresan a la columna sea mayor, lo cual hace que éstos altamente disponibles para los sitios activos presentes en el adsorbente y que se genere un aumento en el gradiente de concentración que favorezca el transporte de iones (Su *et al.*, 2013; Fadzil *et al.*, 2016). En cuanto al efecto del flujo sobre la capacidad del lecho, es importante resaltar que los flujos analizados son bajos respecto a otras investigaciones donde se evalúan intervalos mayores, lo cual posiblemente delimite el efecto sobre el proceso de adsorción; sin embargo, de acuerdo a Aguayo-Villarreal *et al* (2011) quienes analizaron el proceso de adsorción de  $Zn^{2+}$  mediante columnas

empacadas con pluma de pollo, indican que el trabajar en flujos menores de 5 mL/min permite que se lleve a cabo una remoción de metales más efectiva en columnas empacadas con plumas de pollo.

Posteriormente, con las curvas de rompimiento se realizó el ajuste de cada una a los modelos de columnas de Thomas, Clark, Adams-Bohart y de Dosis-respuesta modificado (Figuras 27, 28 y 29) con el fin de predecir el comportamiento dinámico de la columna y obtener algunos parámetros cinéticos importantes así como parámetros propios de cada modelo (Tablas 23 y 24).

De acuerdo a los coeficientes de correlación ( $r^2$ ) obtenido para cada columna en cada modelo, se observa que el modelo de Dosis-respuesta modificado obtuvo los valores de correlación más elevados, seguido del modelo de Thomas que también obtuvo una buena aproximación.

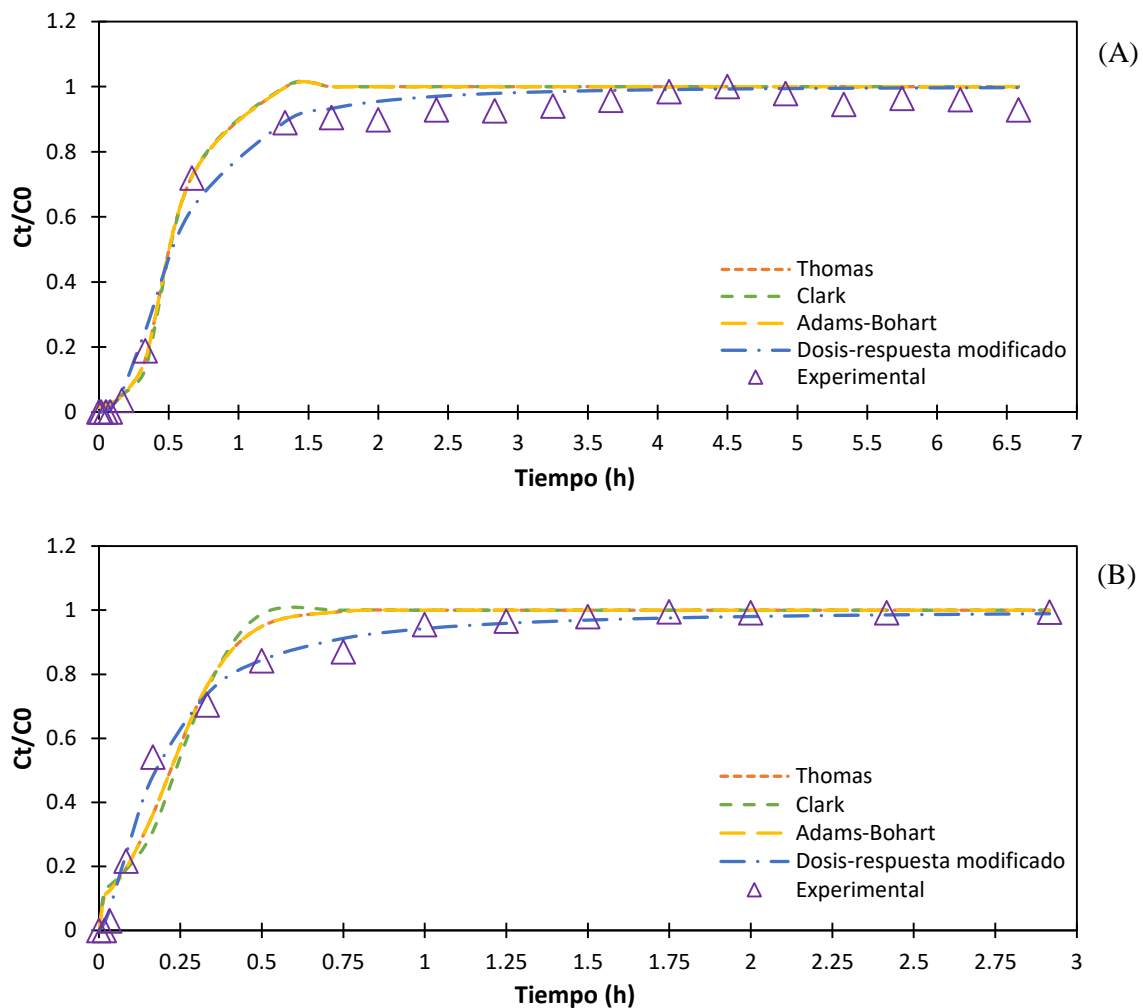


Figura 27. Modelos de columnas de Thomas, Clark, Adams-Bohart y Dosis-respuesta modificado para la interacción de  $Pb^{2+}$  en pluma oxidada en A) 1mL/min y B) 2mL/min. Concentración inicial: 300 mg/L.



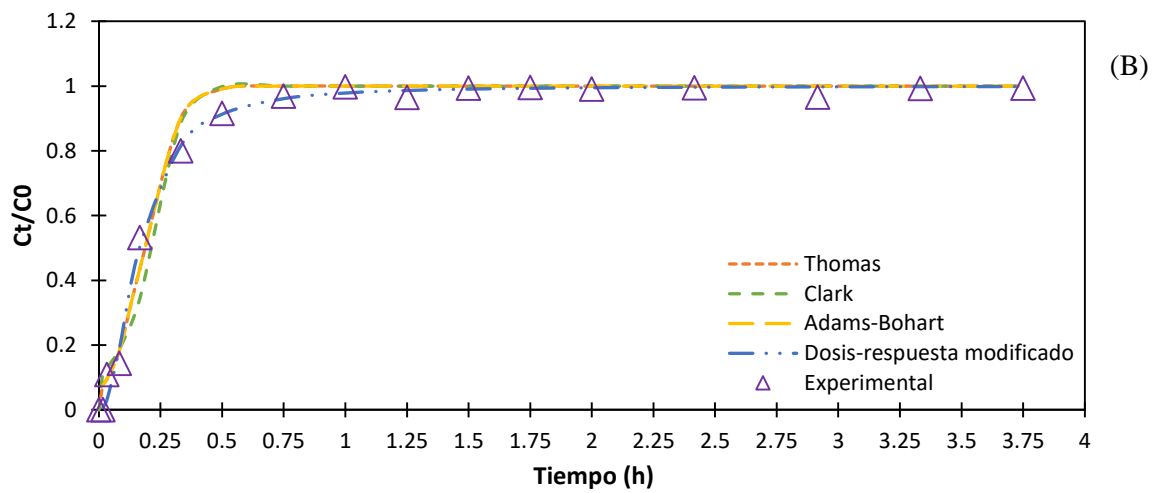
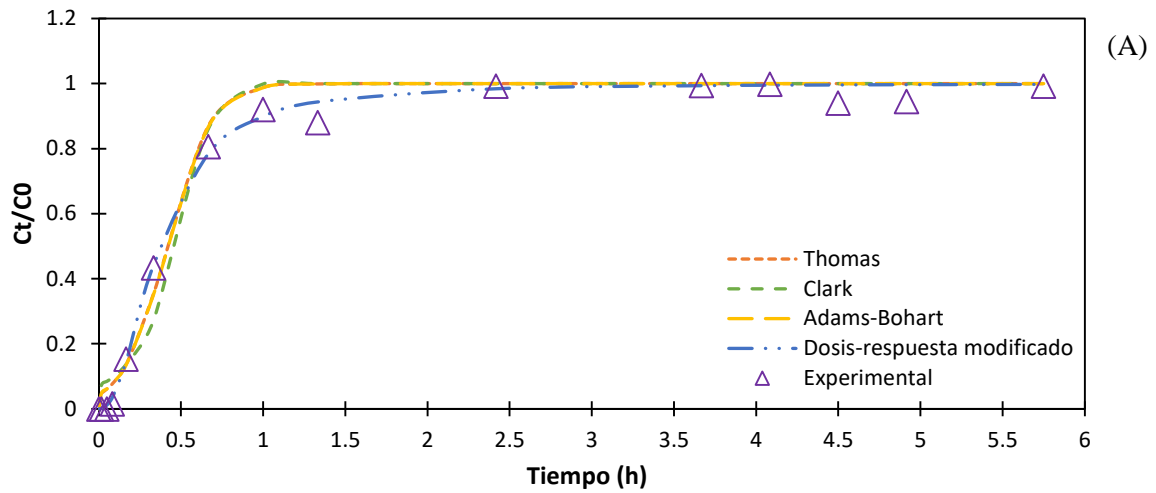
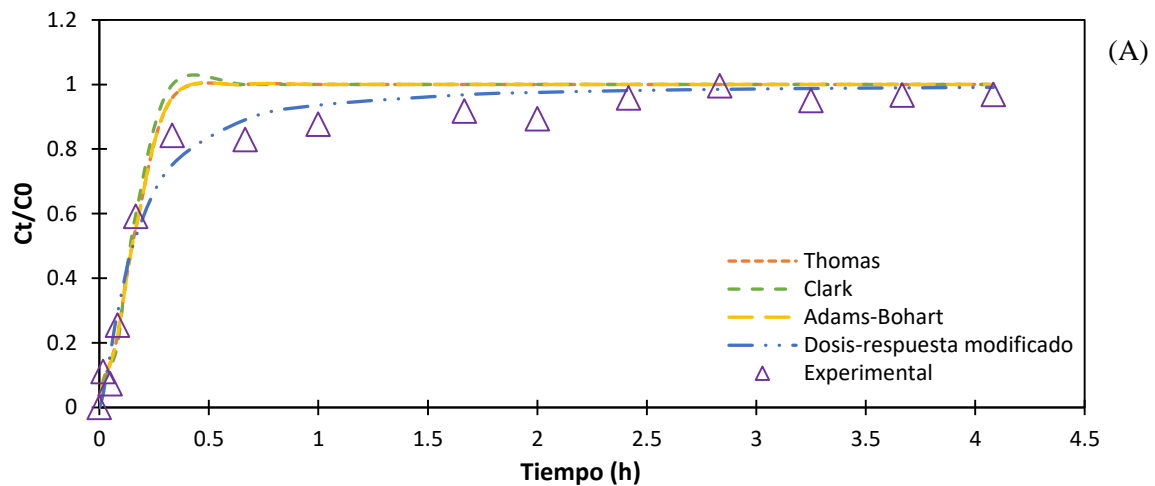
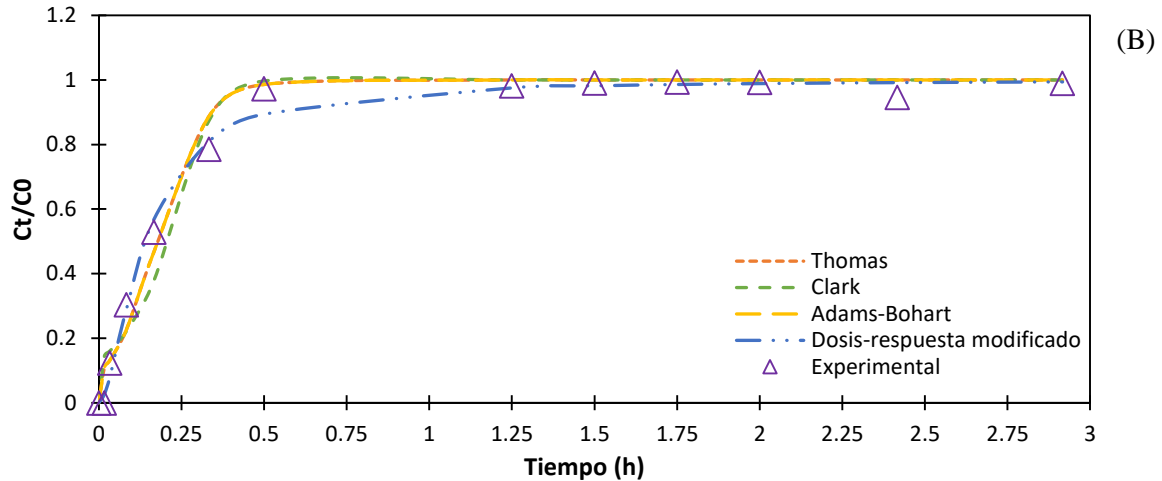


Figura 28. Modelos de columnas de Thomas, Clark, Adams-Bohart y Dosis-respuesta modificado para la interacción de  $Pb^{2+}$  en pluma oxidada en A) 1mL/min y B) 2mL/min. Concentración inicial: 400 mg/L.





**Figura 29. Modelos de columnas de Thomas, Clark, Adams-Bohart y Dosis-respuesta modificado para la interacción de  $Pb^{2+}$  en pluma oxidada en A) 1 mL/min y B) 2 mL/min. Concentración inicial: 500 mg/L.**

En el caso del modelo de Thomas, el cual está basado en la cinética de Langmuir (Thomas, 1944) se observó que los valores de la constante  $k_{Th}$ , la cual denota la transferencia de soluto transferido de la fase líquida a la fase sólida, aumentan con el gradiente de concentración y flujo, lo cual puede relacionarse con la fuerza que conduce el proceso de adsorción (Cheraghi *et al.*, 2016). En cuanto a la capacidad obtenida, se observó que no siguen como tal un comportamiento respecto al gradiente de concentración y flujo, posiblemente debido a lo anteriormente descrito sobre el efecto de ambas variables.

En cuanto al modelo de Clark, el cual se fundamenta en el concepto de transferencia de masa en combinación con el modelo de Freundlich, se observó que las constantes  $r$  de igual manera aumentan con los gradientes de concentración y flujo, lo cual sugiere que la cinética del proceso de adsorción podría verse dominada por una transferencia de masa externa (Cheknane *et al.*, 2012).

**Tabla 23. Constantes de Thomas y Clark en diferentes condiciones de concentración y flujo para el proceso de adsorción de Pb<sup>2+</sup> utilizando pluma oxidada en flujo continuo**

Concentración	Flujo (L/h)	Thomas			Clark		
		$k_{Th}$ (L/h·mg)	$q_0$ (mg/g)	$r^2$	A	$r$ (L/h)	$r^2$
300	0.06	0.026	9.7741	0.9912	1287832	19.877	0.9905
	0.12	0.0348	7.9095	0.9789	2946.39	22.1858	0.969
400	0.06	0.0187	9.9168	0.9911	19498.56	15.2867	0.9851
	0.12	0.0372	8.8153	0.992	4538.364	27.0603	0.9841
500	0.06	0.0351	4.6147	0.9756	29174	51.3168	0.9727
	0.12	0.0263	10.5966	0.9893	1925.565	24.0036	0.9803

El modelo de Adams-Bohart está basado en la teoría de reacción superficial y asume que el equilibrio no es instantáneo ya que el proceso de adsorción es controlado por la reacción en la superficie entre el adsorbato y el adsorbente no saturado (Bohart & Adams, 1920). De acuerdo a diversos estudios este modelo aplica sólo para describir la parte inicial de las curvas de rompimiento y presenta tendencia similar al comportamiento del modelo de Thomas, lo cual puede denotarse al observar la similitud de ambos modelos al momento de graficar así como en los coeficientes de correlación obtenidos.

En cuanto a las constantes de este modelo, se observó que las constantes  $N_0$  y  $k_{AB}$  siguen una tendencia similar a lo observado en las constantes de Thomas; sin embargo, se observó discrepancia entre los datos experimentales y las curvas teóricas obtenidas por el modelo de Adams-Bohart, por lo que se sugiere que no es pertinente para la descripción del proceso debido a que su validez es limitada por el intervalo de condiciones utilizadas (Han *et al.*, 2008).

El modelo de Dosis-respuesta, el cual fue propuesto por Yan *et al* (2001) para modelar curvas de rompimiento de columnas empacadas para procesos de biosorción de metales, minimiza el error que resulta de utilizar el modelo de Thomas especialmente en tiempos bajos y altos en las curvas de rompimiento (Song *et al.*, 2011); además, considera la transferencia de masa en la superficie del sólido como el paso limitante del proceso (de Franco *et al.*, 2017). Al observar el comportamiento de las variables  $b$  y  $a$  del modelo de Dosis-respuesta, se observa que siguen una tendencia similar a las variables de modelos previamente descritas.

**Tabla 24. Constantes de Adams-Bohart y de Dosis-respuesta modificado en diferentes condiciones de concentración y flujo para el proceso de adsorción de Pb<sup>2+</sup> utilizando pluma oxidada en flujo continuo**

Concentración	Flujo	Adams-Bohart			Dosis-respuesta modificado			
		k <sub>AB</sub> (L/h·mg)	N <sub>0</sub> (mg/L)	r <sup>2</sup>	b	a	q <sub>0</sub> (mg/g)	r <sup>2</sup>
300	0.06	0.026	867.1358	0.9912	0.03208	2.3112	9.624	0.9949
	0.12	0.0348	728.4589	0.9789	0.0208	1.5967	6.24	0.9979
400	0.06	0.0186	893.2627	0.9911	0.0222	2.2029	8.88	0.9978
	0.12	0.0372	797.3144	0.992	0.0198	2.1224	7.92	0.9971
500	0.06	0.0351	417.8326	0.9756	0.0092	1.432	4.6	0.9878
	0.12	0.0263	974.4201	0.9893	0.01702	1.6915	8.51	0.9967

Al analizar los valores obtenidos en la constante  $q_0$  tanto en el modelo de Thomas como en el de Dosis-respuesta se observó que ambos modelos obtuvieron valores similares, los cuales al compararse con los valores experimentales obtenidos, se identifica que en algunos casos los valores teóricos de un modelo son más cercanos hacia los datos experimentales y en otros casos lo son hacia el otro modelo. Sin embargo, al comparar el ajuste de los modelos hacia los datos experimentales de manera gráfica y con los coeficientes de correlación, el modelo de Dosis-respuesta modificado describe de mejor manera el proceso de adsorción. Sin embargo, en algunos estudios se sugiere que al obtener ambos modelos una buena correlación, ambos pueden utilizarse para predecir la remoción de Pb<sup>2+</sup> por la pluma pluma oxidada en columnas empacadas (Su *et al.*, 2013; Lakshmiathy & Sarada, 2015; Cheraghi *et al.*, 2016). Además, en las secciones 7.2.2 y 7.2.3, se determinó que el proceso de adsorción de Pb<sup>2+</sup> utilizando la pluma de pollo oxidada en estado estacionario se describe mediante el modelo de Langmuir y sigue una cinética de pseudo-segundo orden, lo cual va de acuerdo a las consideraciones de Thomas y el modelo de Dosis-respuesta modificado.

## 6.3 Biodegradación del complejo “pluma+Pb”

### 6.3.1 Descripción del complejo “Pluma+Pb” utilizado en el sistema de degradación

El complejo “pluma-Pb” obtenido como residuo en el proceso de adsorción fue sometido a un proceso de degradación. Para ello se puso en contacto una solución de 300 mg/L de  $Pb^{2+}$  con la cantidad de adsorbente definida en la metodología y posterior al tiempo de contacto se obtuvo la concentración residual y removida en el sistema de adsorción para conocer la carga del adsorbente. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 25.

**Tabla 25. Resultados del proceso de adsorción para la formación del complejo "pluma+Pb"**

Cantidad de $Pb^{2+}$ inicial (mg)	Cantidad de $Pb^{2+}$ residual (mg)	Cantidad de $Pb^{2+}$ adsorbida (mg)	Cantidad de adsorbente en el sistema (g)	Carga del adsorbente (mg/g)
117.42	37.93	79.49	5.9	13.47

Al comparar la carga del complejo “pluma-Pb” con lo reportado previamente en el análisis termodinámico se observa que se obtuvo una carga menor respecto a la máxima, lo cual posiblemente sea debido a que debido a las dimensiones del sistema, sea necesaria una mayor agitación para favorecer el contacto entre el adsorbente y el adsorbato.

### 6.3.2 Proteína soluble y actividad queratinolítica

De acuerdo a lo observado en los sistemas de degradación y teniendo como antecedente la capacidad queratinolítica tanto del consorcio aislado de residuos avícolas como de *P. putida*, en la Figura 30 se presentan los resultados de proteína soluble y actividad queratinolítica de cada uno de los sistemas de degradación analizados.

De manera general puede observarse que al cuantificar el tiempo cero de los tres sistemas se obtuvo una cantidad de proteína soluble entre 1 y 4  $\mu\text{g/mL}$  posiblemente debido a su arrastre al momento de inocular los sistemas ya que el inóculo del consorcio se preparó en medio adicionado de pluma. De igual manera en los tres sistemas se observó un comportamiento similar, donde la producción de proteína soluble aumentó paulatinamente desde el inicio de la cinética, siendo el sistema que contenía pluma oxidada el que obtuvo las mayores cuantificaciones tanto de proteína soluble como de queratinasa.

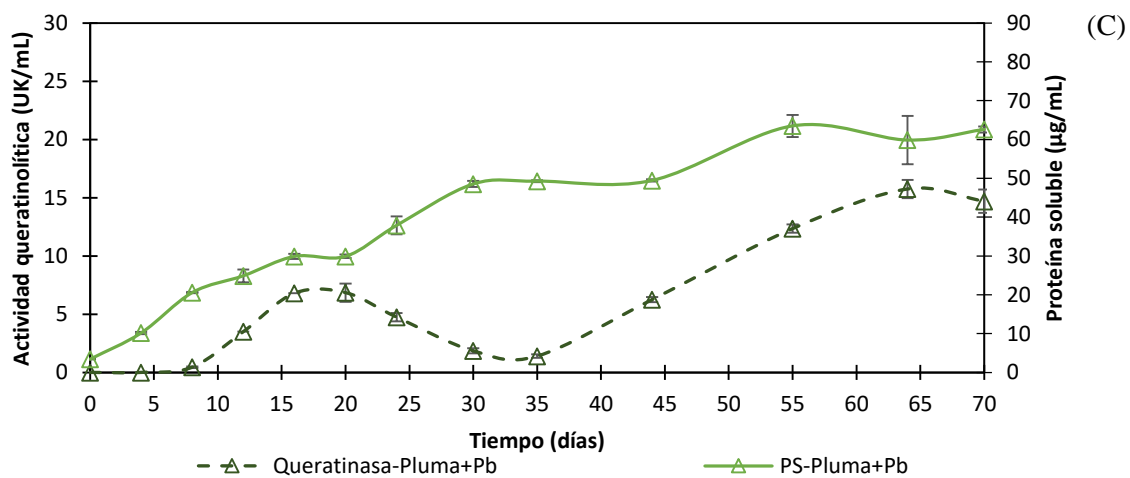
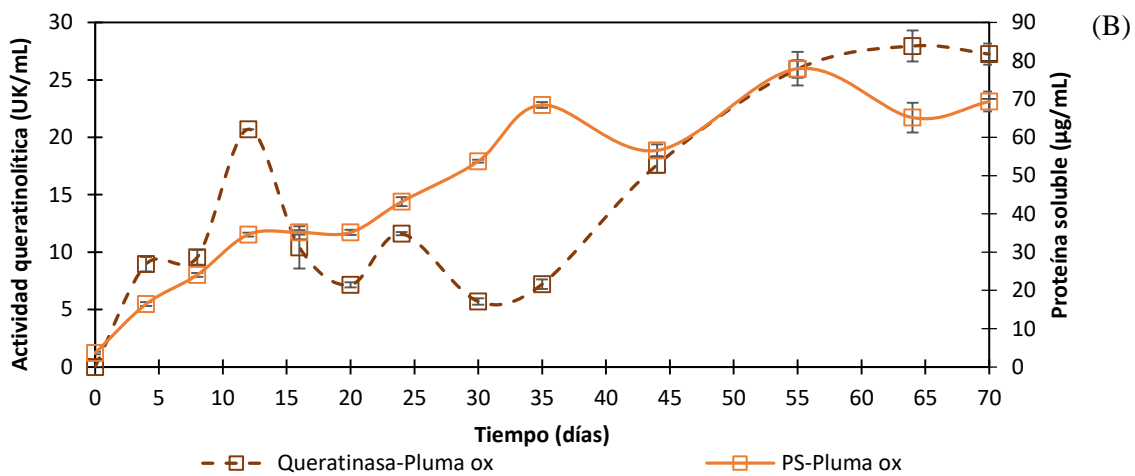
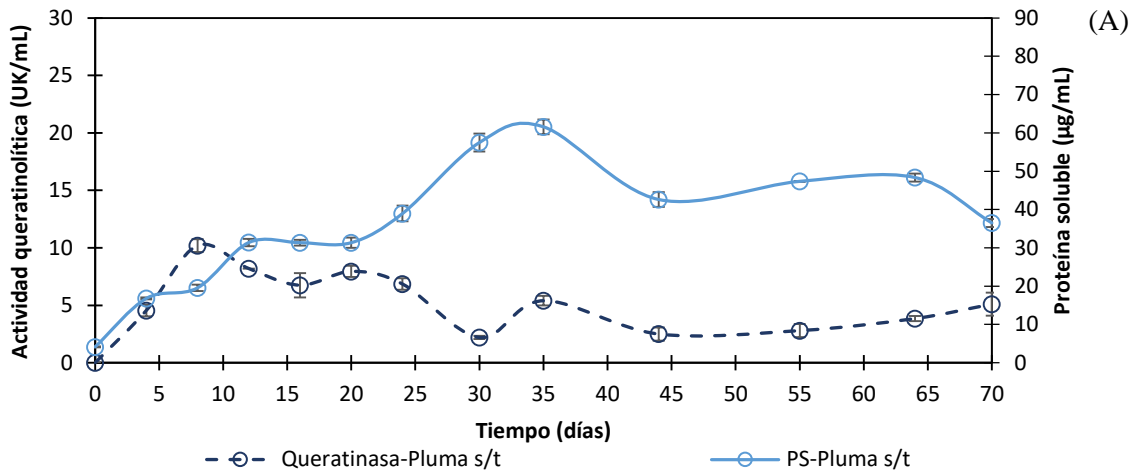


Figura 30. Cuantificación de proteína soluble y actividad queratinolítica para los sistemas de degradación de A) Pluma sin tratamiento, B) Pluma oxidada y C) Pluma+Pb a 35°C.

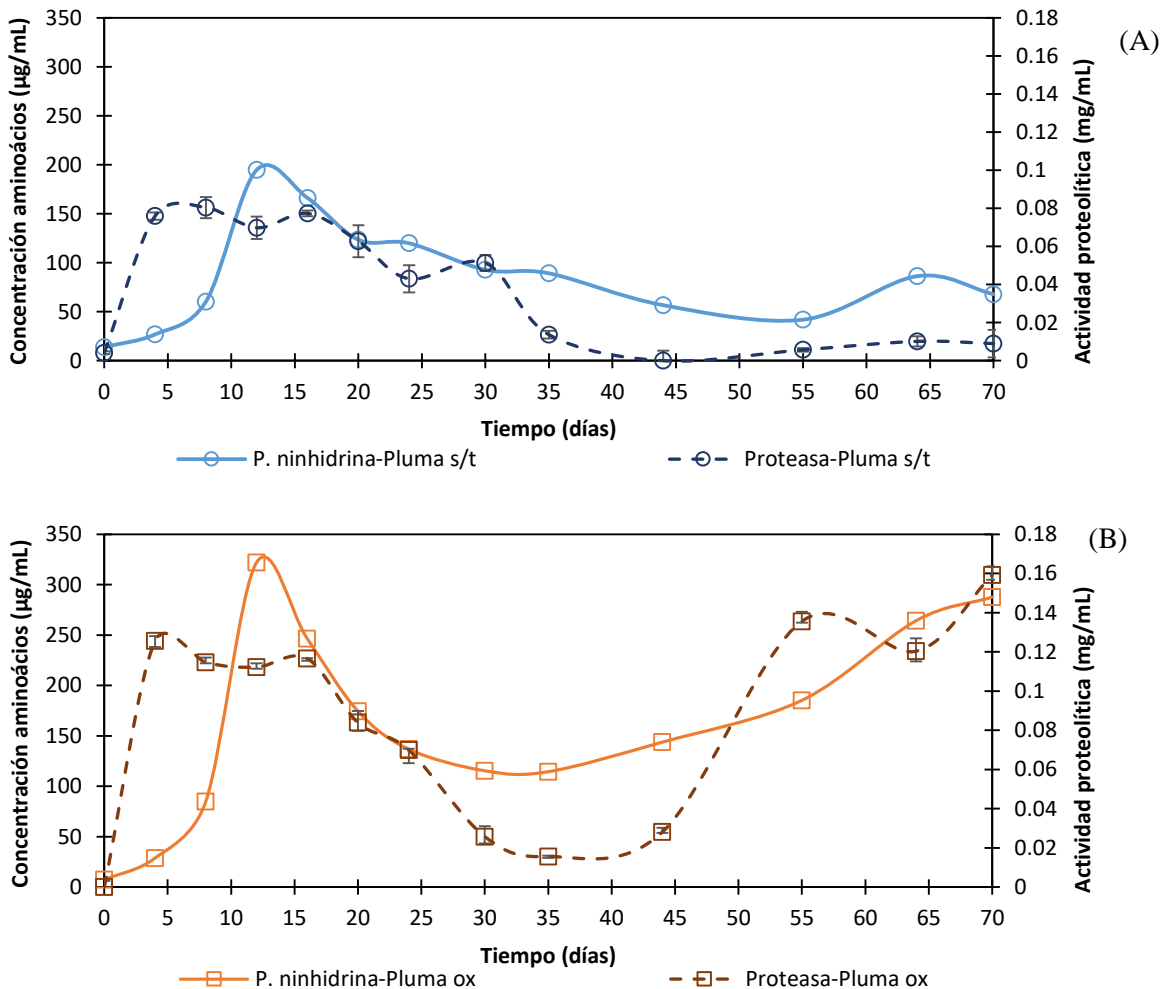
Respecto a la actividad queratinolítica, se detectó la presencia de queratinasas en los tres sistemas a lo largo de la cinética de manera constante, por lo que se sugiere que la actividad queratinolítica se relaciona en momentos con la producción de proteína soluble en los tres sistemas. En el caso del sistema que contenía pluma sin tratamiento la máxima actividad queratinolítica fue de  $10.2 \pm 0.56$  UK/mL en el día 8, la cual decayó ligeramente y se mantuvo entre 2 y 7 UK/mL aproximadamente. Respecto al sistema de la pluma oxidada, se observó un incremento importante en la actividad queratinolítica en el día 12 con 20 UK/mL aproximadamente, la cual decayó y se mantuvo hasta el día 30, a partir de lo cual aumentó hasta alcanzar su máxima actividad el día 65 con  $27.95 \pm 1.34$  UK/mL y se mantuvo relativamente constante en el día 70. En cuanto al sistema del complejo “pluma+Pb” se observó una baja actividad al inicio de la cinética, donde a partir del día 8 aumentó ligeramente su actividad manteniéndose entre 1 y 6 UK/mL hasta el día 35, a partir de donde aumentó la actividad queratinolítica hasta alcanzar su máximo en 60 días con  $15.75 \pm 1.34$  UK/mL.

En el caso del sistema donde se evaluó la degradación de pluma sin tratamiento (Figura 30A), se observó que el sistema alcanzó su máxima producción de proteína soluble a los 35 días con una cantidad de  $61 \pm 1.93$   $\mu$ g/mL y posterior a este tiempo la cantidad de proteína soluble decayó ligeramente hacia el día 44, desde donde se mantuvo relativamente constante y volvió a decaer hacia el final de la cinética, lo cual sugiere que se consumía mayor proteína soluble que la que se producía en el sistema. En tanto, los sistemas donde se evaluó la degradación de la pluma oxidada (Figura 30B) y del complejo “pluma+Pb” (Figura 30C), se observó que ambos sistemas tuvieron una producción de proteína soluble relativamente constante, la cual se acumuló hasta que ambos sistemas alcanzaron su máxima producción de proteína soluble el día 55 con  $77.91 \pm 4.38$   $\mu$ g/mL y  $63.5 \pm 2.83$   $\mu$ g/mL respectivamente. Posterior a este tiempo, ambos sistemas mantuvieron la concentración de proteína soluble relativamente constante hasta el final de la cinética, debido posiblemente a una fase de equilibrio entre la producción-consumo de proteína soluble en el sistema.

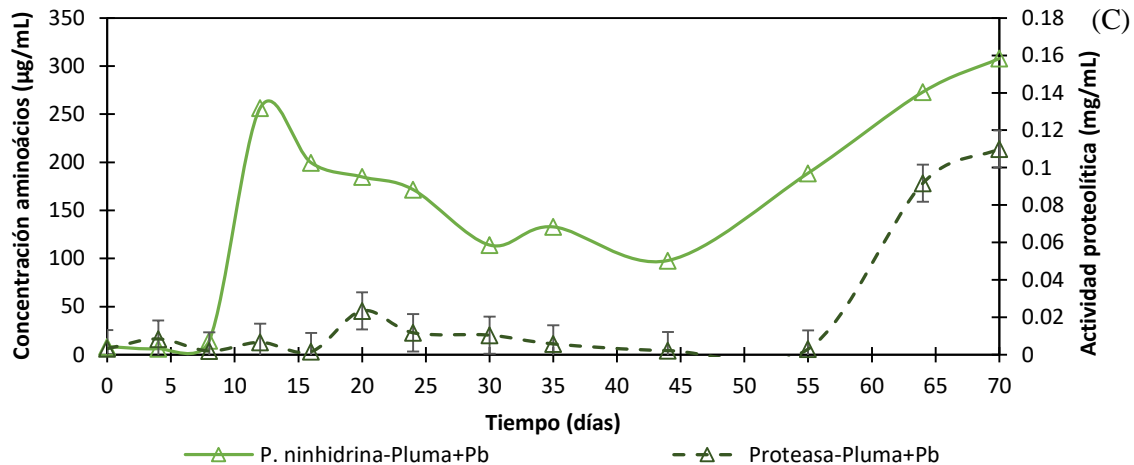
Como puede observarse la actividad queratinolítica de los tres sistemas no siguió en diversos intervalos de tiempo el comportamiento de la producción de proteína soluble, lo cual posiblemente se debe a que la solubilización de queratina fue menor al grado de fragmentación de la proteína por acción de las queratinasas. Además, es importante resaltar que dentro del proceso de degradación de la queratina se presenta la actividad de otras enzimas. De acuerdo a Yamamura *et al* (2002), quienes analizaron la actividad queratinolítica de *Stenotrophomonas sp.* D-1, la degradación efectiva de la queratina es resultado de la acción cooperativa de dos enzimas, la serin proteasa (principal representante de las proteasas queratinolíticas) y la disulfuro reductasa, la cual rompe los puentes disulfuro presentes en la queratina, los cuales son responsables de la rigidez de la proteína.

### 6.3.3 Productos ninhidrina positivos y actividad proteolítica

En cuanto a los productos derivados de la degradación de la queratina, se reporta que en su mayoría se encuentran diversos aminoácidos así como cantidades considerables de péptidos de distintos pesos moleculares (Gousterova *et al.*, 2005), lo cual sugiere que los microorganismos con capacidad queratinolítica poseen enzimas proteolíticas. La cuantificación de la actividad proteolítica y de aminoácidos en los sistemas de degradación se presentan en la figura 31. De manera general, se observó de nueva cuenta que el sistema que contenía pluma oxidada fue el que obtuvo las mayores cuantificaciones de productos ninhidrina positivos así como de actividad proteolítica, seguido del sistema que contenía el complejo “pluma+Pb” y del sistema con pluma sin tratamiento al igual que en la sección anterior. Además, se observó que los tres sistemas tuvieron un aumento importante en la cuantificación de aminoácidos el día 12, lo cual puede ser debido al reinóculo del día 8 que generó una mayor actividad en los sistemas.







**Figura 31. Cuantificación de productos ninhidrina positivos y actividad proteolítica para los sistemas de degradación de A) Pluma sin tratamiento, B) Pluma oxidada y C) Pluma+Pb a 35°C.**

Respecto al sistema de la pluma sin tratamiento (Figura 31A), se observó un aumento en la cuantificación de aminoácidos desde el inicio de la cinética hasta alcanzar su máxima concentración el día 12 con 194.83 µg/mL, lo cual se relaciona con la máxima actividad proteolítica en el sistema al día 8 con 0.0804±0.0055 mg/mL. Posterior a éste tiempo, se observó que tanto la concentración de aminoácidos como de actividad proteolítica tuvieron un decremento hasta los días 35 y 55, a partir de los cuales se produjo un ligero aumento en la concentración de aminoácidos y de actividad proteolítica hacia el final de la cinética debido posiblemente al consumo de la proteína soluble en el sistema. En cuanto al sistema que contenían la pluma oxidada (Figura 31B), se observó un incremento acelerado tanto en la concentración de aminoácidos como de actividad proteolítica desde el inicio de la cinética, obteniendo la máxima concentración de aminoácidos el día 12 con 322.02 µg/mL. Respecto a la actividad enzimática, se observó que desde el día 4 al día 16 mantuvo una actividad de 0.12 mg/mL aproximadamente. Posteriormente tanto en la concentración de aminoácidos como de proteasas mostraron un decremento hasta el día 35, a partir de donde ambos comportamientos aumentaron su actividad hacia el final de la cinética, donde la actividad proteolítica alcanzó su máxima expresión con 0.1592±0.0071 mg/mL.

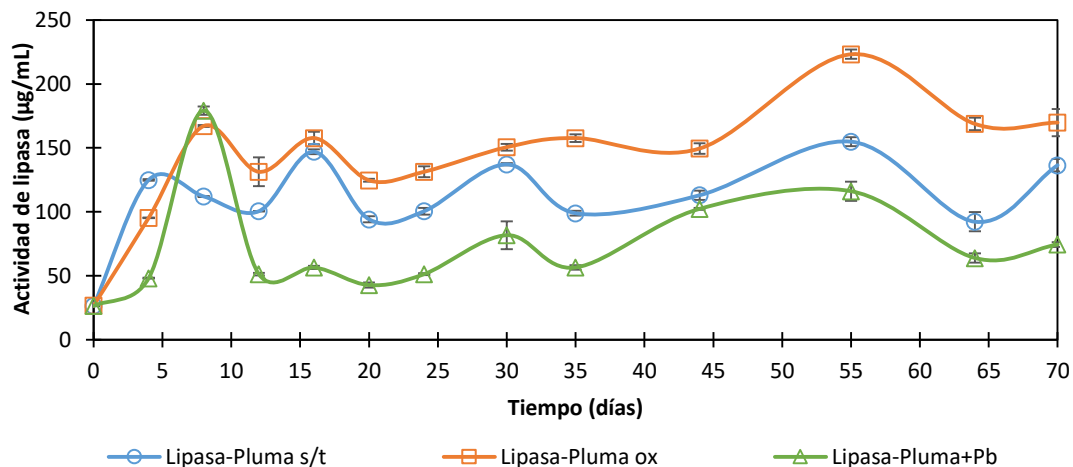
En el sistema que contenía el complejo “pluma+Pb” (Figura 31C) se observó que en los primeros tiempos de la cinética la concentración de aminoácidos en el sistema se mantuvo baja hasta el día 8 y para el día 12, se observó el aumento en la concentración de aminoácidos descrito previamente. Posterior a este tiempo la concentración decayó hasta el día 45 debido posiblemente al consumo de aminoácidos por la biomasa. En tanto, la actividad proteolítica se mantuvo baja desde el inicio de la cinética (0.02 y 0.003 mg/mL aproximadamente) hasta el día 45, lo cual va de acuerdo a lo

observado en cuanto a la acumulación constante de proteína soluble en el sistema. Posterior al día 45, tanto la actividad proteolítica como la concentración de aminoácidos aumentaron de manera considerable hacia el final de la cinética donde ambos comportamientos alcanzaron su máxima expresión, con  $0.1099 \pm 0.0023$  mg/mL y  $307.86$   $\mu$ g/mL respectivamente.

Como puede observarse, en los tres sistemas analizados la concentración de aminoácidos en los sistemas y la actividad proteolítica no siguen en diversos momentos el comportamiento descrito por la proteína soluble, ya que se esperaba que al haber acumulación de ésta en el sistema, la concentración de aminoácidos sería baja hasta observar la hidrólisis de la proteína por acción de las proteasas. Por lo anterior, se sugiere que la producción de aminoácidos es también resultado de la actividad queratinolítica directa en el sistema, ya que de acuerdo a Swetlana & Jain (2010) y Gupta & Singh (2014), quienes analizaron la degradación de pluma de pollo por *Bacillus cereus* KB043 y *Bacillus subtilis* (RSE163 y RSE165) respectivamente, la queratinasa rompe los enlaces peptídicos en la conformación  $\beta$ -plegada, liberando diferentes aminoácidos y péptidos. Lo anterior se denota al comparar el comportamiento de la actividad queratinolítica y la concentración de aminoácidos en el sistema, ya que se observa la coincidencia en los incrementos y disminuciones de ambas determinaciones. Además, se observa que el comportamiento de la proteína soluble difiere respecto a la actividad proteolítica en los sistemas, ya que cuando se observa un aumento en la cantidad de proteína soluble, la actividad proteolítica es baja, indicando que los péptidos derivados de la desestabilización de la queratina en el sistema se acumulan; mientras, en los últimos tiempos de la cinética se observó que la proteína soluble se mantuvo estable, por lo que el aumento de proteasas en el sistema se relaciona con el consumo de la proteína.

#### 6.3.4 Actividad de lipasa y pH

De acuerdo a diversos autores, la pluma de pollo puede contener desde un  $2 \pm 0.15$  hasta  $28.1 \pm 0.23$  % de contenido de grasa (Parrado *et al.*, 2014), por lo que el análisis de actividad de lipasas en los sistemas es relevante al proceso de degradación tanto de la pluma sin tratamiento, como del material queratinoso que tuvo un proceso de modificación química y del complejo “pluma+Pb”. La actividad de lipasa obtenida en los sistemas de degradación se presenta en la figura 32. De manera general se observa que en los tres sistemas se obtuvo actividad enzimática constante, siendo de nueva cuenta el sistema que contenía la pluma oxidada el que obtuvo los mejores resultados en cuanto a la hidrólisis de lípidos presentes en la pluma. Además, se observó que los tres sistemas en el tiempo 0 obtuvieron concentraciones similares de lipasa, lo cual posiblemente sea debido a su arrastre al momento de inocular los sistemas.



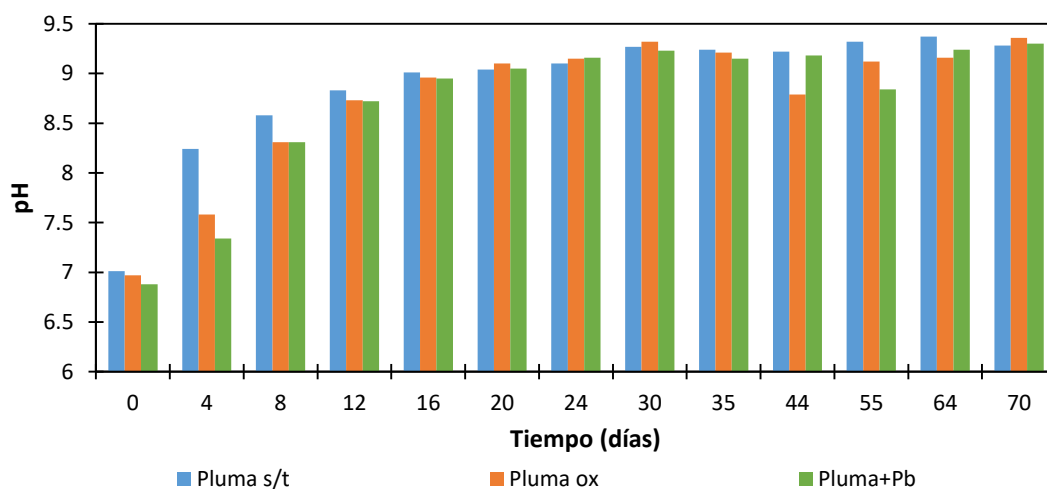
**Figura 32. Cuantificación de actividad de lipasa para los sistemas de degradación de pluma sin tratamiento, pluma oxidada y pluma+Pb a 35°C.**

En cuanto al sistema de la pluma sin tratamiento y la pluma oxidada, se observó que para el cuarto día de incubación se había incrementado la actividad de lipasa respecto al tiempo 0, lo cual indica que se llevó a cabo el consumo de los lípidos en ambos materiales analizados. Además, la actividad enzimática se mantuvo relativamente constante a lo largo de la cinética, donde ambos sistemas en el día 55 alcanzaron su máxima actividad en el día 55 con  $154.87 \pm 3.44 \mu\text{g/mL}$  (pluma sin tratamiento) y  $223.17 \pm 3.61 \mu\text{g/mL}$  (pluma oxidada). Finalmente para el final de la cinética, se observó que la actividad del sistema de la pluma sin tratamiento aumentó, posiblemente debido a que como se observó visualmente y en las determinaciones anteriores, el proceso de degradación de la pluma continua. En tanto, se observó un ligero decremento en la actividad de lipasa del sistema de pluma oxidada debido posiblemente a un equilibrio en el consumo de lípidos del material. En el caso de la pluma sin tratamiento, de igual manera se observó un aumento en la actividad de lipasa hasta que en el día 8 el sistema obtuvo su máxima actividad con  $179.15 \pm 3.18 \mu\text{g/mL}$ . Posterior a este tiempo, se observó un decremento en la actividad enzimática el día 12, manteniendo la actividad de lipasa entre 51 y 56  $\mu\text{g/mL}$  hasta el día 35, a partir del cual de nueva cuenta se incrementó la actividad hacia el final de la cinética.

Con lo anterior, se encontró que tanto el consorcio queratinolítico como *P. putida* tienen la capacidad de utilizar los lípidos de los materiales queratinosos; además, lo observado en los sistemas va de acuerdo a lo reportado por Parrado *et al* (2014), quienes analizaron la producción de lipasa de *B. licheniformis* y describieron que la expresión de actividad lipídica es inducida por la presencia de plumas en el sistema. Además, se observó que en el sistema que contenía el complejo “pluma+Pb” la actividad de lipasa no fue inhibida por la presencia de los iones metálicos en el

sistema; sin embargo, se tendría que analizar si la presencia de  $Pb^{2+}$  en el sistema de degradación tuvo influencia sobre una menor expresión de la enzima, ya que comparado a los sistemas que contenían la pluma sin tratamiento y la pluma oxidada, la actividad de enzimas lipídicas fue menor.

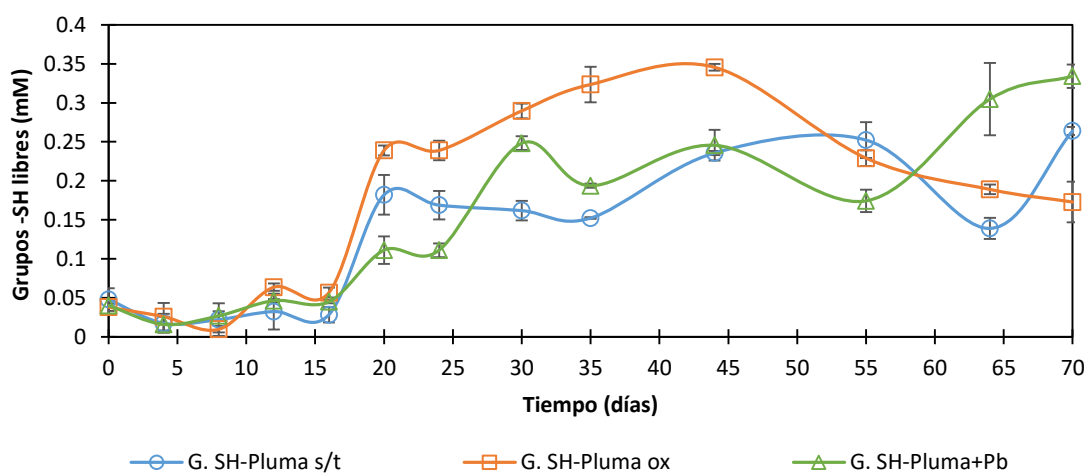
En cuanto al monitoreo del pH de los tres sistemas a lo largo de la cinética (Figura 33), se observó en el tiempo 0 los tres sistemas partieron de valores de pH entre 7 y 6.8, los cuales aumentaron a partir del día 4 de la cinética y se mantuvieron relativamente constantes entre pH 9.37 y 8.6, lo cual es importante de resaltar debido a que las enzimas queratinolíticas son altamente reactivas en valores de pH alcalino (Riffel *et al.*, 2007). De acuerdo a Lo *et al* (2012) y de Oliveira *et al* (2016), quienes analizaron el proceso de degradación de pluma de pollo mediante *Bacillus cereus* Wu2 y *Bacillus sp.* CL33A respectivamente, el incremento en el pH conforme avanza la bioconversión de la queratina es debido a la producción de amonio y otros compuestos alcalinos producto de la desaminación de péptidos y aminoácidos, que indican que los microorganismos pueden utilizar la pluma como fuente de C, N y energía. Además, la alcalinización del medio es generalmente empleado como indicador del potencial queratinolítico de cepas microbianas (Lateef *et al.*, 2010). Por lo anterior, se sugiere que los valores de pH que presentaron los sistemas a lo largo del proceso de degradación fueron adecuados para que los procesos enzimáticos previamente descritos se llevaran a cabo.



**Figura 33. Monitoreo de pH durante la cinética de degradación de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada y complejo "pluma+Pb"**

### 6.3.5 Concentración de grupos –SH libres y liberación de Pb<sup>2+</sup>

De acuerdo a Monod (2008), el mecanismo de degradación de la queratina incluye procesos de sulfitólisis, proteólisis seguido de un proceso de desaminación. Aún cuando el patrón de degradación no es claro hasta ahora, se ha descrito en diversos estudios la importancia de analizar el proceso de sulfitólisis mediante la cuantificación de los grupos tiol en los sistemas de degradación de pluma de pollo. Por lo tanto, en la figura 34 se presentan los resultados de la cuantificación de grupos tiol libres durante la cinética de degradación de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada y del complejo “pluma+Pb”. De manera general se observó que los tres sistemas partieron de una concentración de grupos tiol similar, debido posiblemente al arrastre de péptidos provenientes del inóculo. En tanto, el sistema de la pluma oxidada fue el que obtuvo la mayor concentración de grupos tiol de los tres sistemas analizados, lo cual va de acuerdo a las determinaciones anteriores y visualmente ya que es el sistema que presentó mayor grado de degradación.



**Figura 34. Concentración de grupos –SH para los sistemas de degradación de la pluma sin tratamiento, pluma oxidada y del complejo “pluma+Pb”**

Se observó que los sistemas presentaron una baja concentración de grupos tiol, la cual se mantuvo entre 0.009 y 0.06 mM aproximadamente hasta el día 16, a partir de donde se observó un aumento en la concentración. En el caso de la pluma sin tratamiento, éste aumento en la concentración se mantuvo relativamente constante hasta que a partir del día 35 se observaron periodos de aumento y disminución en la concentración hacia el final de la cinética debidos posiblemente a los periodos de producción-consumo descritos en la determinación de proteína soluble. De acuerdo a las determinaciones anteriores, el sistema de la pluma sin tratamiento es el que presenta el menor grado de degradación, por lo que se prevé que la concentración de grupos –SH seguirá aumentando ya que

alcanzó la máxima concentración de grupos tiol el día 70 con  $0.2639 \pm 0.005$  mM. En cuanto al sistema de la pluma oxidada, se observó que continuó aumentando la concentración de grupos -SH hasta el día 44 donde alcanzó su máxima concentración ( $0.345 \pm 0.004$  mM). Posterior a este tiempo se observó un decaimiento en la concentración de grupos tiol en el sistema hasta el final de la cinética, lo cual posiblemente es debido al consumo de los péptidos resultantes de la ruptura del puente disulfuro por la acción microbiana. En el sistema que contenía el complejo “pluma+Pb”, se observó que el aumento en la concentración de grupos tiol se llevó a cabo en el sistema hasta el día 30, a partir del cual se mantuvo constante hasta el día 55 para posteriormente presentar un incremento hacia el final de la cinética, alcanzando su máxima concentración el día 70 con  $0.334 \pm 0.015$  mM. Éste último periodo de incremento en las concentraciones puede ser debido a la producción de proteína soluble en el sistema.

De acuerdo a Mohamad *et al* (2017), quienes analizaron la degradación de pluma mediante *Pseudomonas sp.* LM19, la formación de grupos tiol en el sistema de degradación es debido a la ruptura de los puentes disulfuro y puentes de H causado en gran medida a la acción microbiana. Por lo tanto esta reacción es importante en el proceso de degradación de la queratina debido a que ésta puede ser degradada más fácilmente por enzimas proteolíticas después de la reducción de los puentes disulfuro, los cuales son los responsables de la alta estabilidad de la queratina y de su resistencia a enzimas proteolíticas. Por lo anterior, se sugiere que tanto el consorcio queratinolítico como *P. putida* poseen actividad sulfuro reductasa, la cual de acuerdo a diversos autores es la enzima responsable de la ruptura de los puentes disulfuro, ya que se ha reportado su actividad al evaluar la degradación de pluma de pollo mediante *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus subtilis* (RSE163 and RSE165 y *Pseudomonas sp.* LM19 (Jeong *et al.*, 2010; Kornilowicz-Kowalska & Bohacz, 2011; Gupta & Singh, 2014; Mohamad *et al.*, 2017).

Respecto al sistema de degradación del complejo “pluma+Pb” donde se cuantificó la concentración de  $Pb^{2+}$  liberados al medio debido a la degradación del complejo, no se detectó liberación de plomo al medio por la degradación del complejo “pluma+Pb”, por lo que se prevé que el contenido de plomo en el sistema se depositó en otra matriz ya que los metales son compuesto no biodegradables y sólo pasan por procesos de transferencia de masa de un depósito a otro. Respecto a las observaciones realizadas visualmente del sistema de degradación del complejo, las cuales se presentan en la siguiente sección (sección 7.3.2), se observó que tanto el medio como la biomasa presente en el sistema se tornaron de un color oscuro y al comparar con lo obtenido sobre la cuantificación de iones metálicos en el medio, se sugiere que los iones de  $Pb^{2+}$  reaccionaron con iones  $S^{2-}$  formando PbS, el cual fue biosorbido por la biomasa celular del consorcio queratinolítico y *P. putida*. Lo anterior se relaciona con lo reportado por Chen *et al* (2015), quienes analizaron el

proceso de biosorción de  $Pb^{2+}$  mediante *Bacillus thuringiensis*, quienes demostraron que los iones metálicos inmovilizados se podrían acumular en la célula en forma de precipitados, reportando que dentro de los nano cristales formados podrían estar la galena (PbS).

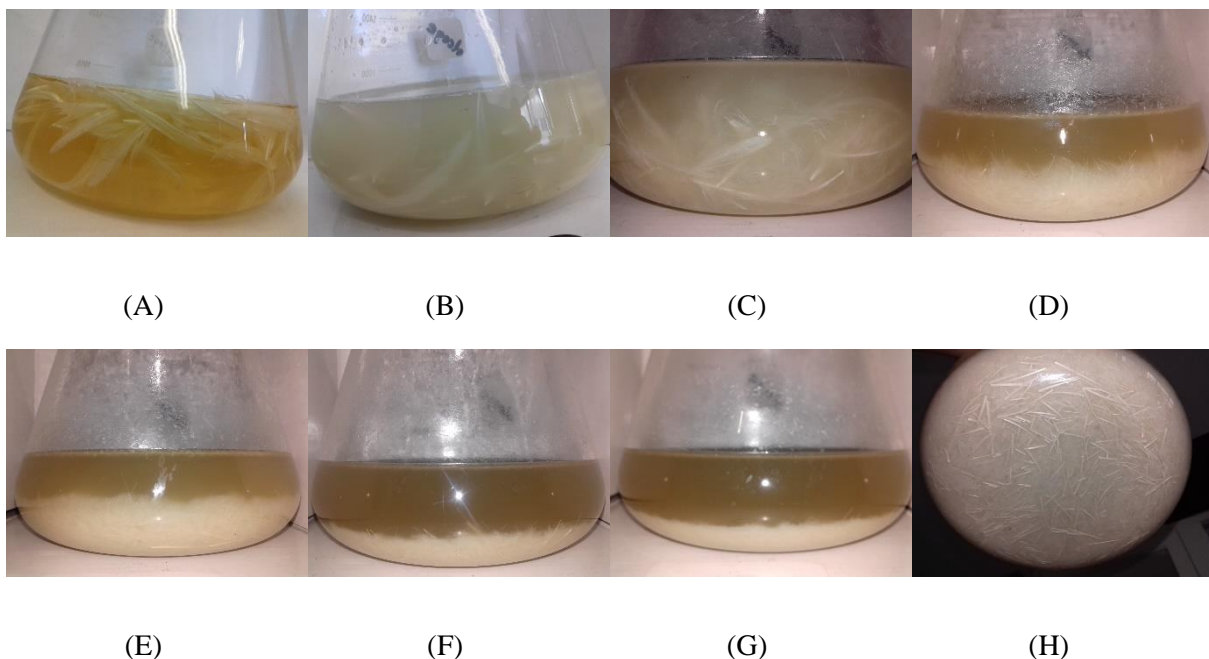
Se han reportado diversos estudios donde se analiza la sorción de  $Pb^{2+}$  mediante diversos microorganismos así como el mecanismo por el cual se lleva a cabo el proceso de remoción por acción de la biomasa. De acuerdo a Muñoz *et al* (2015) quienes analizaron el proceso de biosorción de  $Pb^{2+}$  mediante *Klebsiella sp.*, reportaron mediante Energía de Dispersión de Rayos X y Microscopía de Transmisión Electrónica que en el proceso de biosorción los iones metálicos se fijaron en gran medida a la superficie celular (debido a los grupos funcionales como carboxil, amida y fosfato presentes en la superficie de la célula) y en menor cantidad también apareció en el citoplasma (debido a la inducción de metalotioneínas de bajo peso molecular).

#### **6.3.6 Microscopía Electrónica de Barrido y fotografías de los sistemas de degradación evaluados**

De acuerdo al análisis microscópico planteado, se presentan los resultados obtenidos mediante EDS y MEB sobre el complejo “pluma+Pb” y el sistema de degradación, así como fotografías donde se evidenció la modificación de los sistemas de degradación evaluados.

En cuanto a la modificación de los sustratos queratinosos evaluados, de manera general se observó que la estructura de la pluma sin tratamiento, la pluma oxidada y la utilizada como adsorbente de  $Pb^{2+}$  se modificó a lo largo de la cinética de degradación, tal como se observa en las figuras 35, 36 y 38. Además, se observó que el proceso de degradación de la pluma inició con la desaparición de las barbas y bábulas, seguido de la degradación del raquis de la pluma, tal como describe Chaturvedi *et al* (2014).

En el caso de la pluma sin tratamiento (Figura 35), se observó que hubo crecimiento de biomasa en el sistema debido a que a lo largo de la cinética el medio se tornó cada vez más turbio; además, a partir del día 4 (Figura 35B) el medio presentó una coloración verde claro, evidenciando el crecimiento de *P. putida*. Aun cuando se observó que las plumas estaban cada vez más particuladas conforme avanzó la cinética de degradación, fue el sistema que mostró menor grado de degradación debido a que al final de la cinética (Figura 35H) aún se podían observar raquis y bábulas que conservaban su forma.

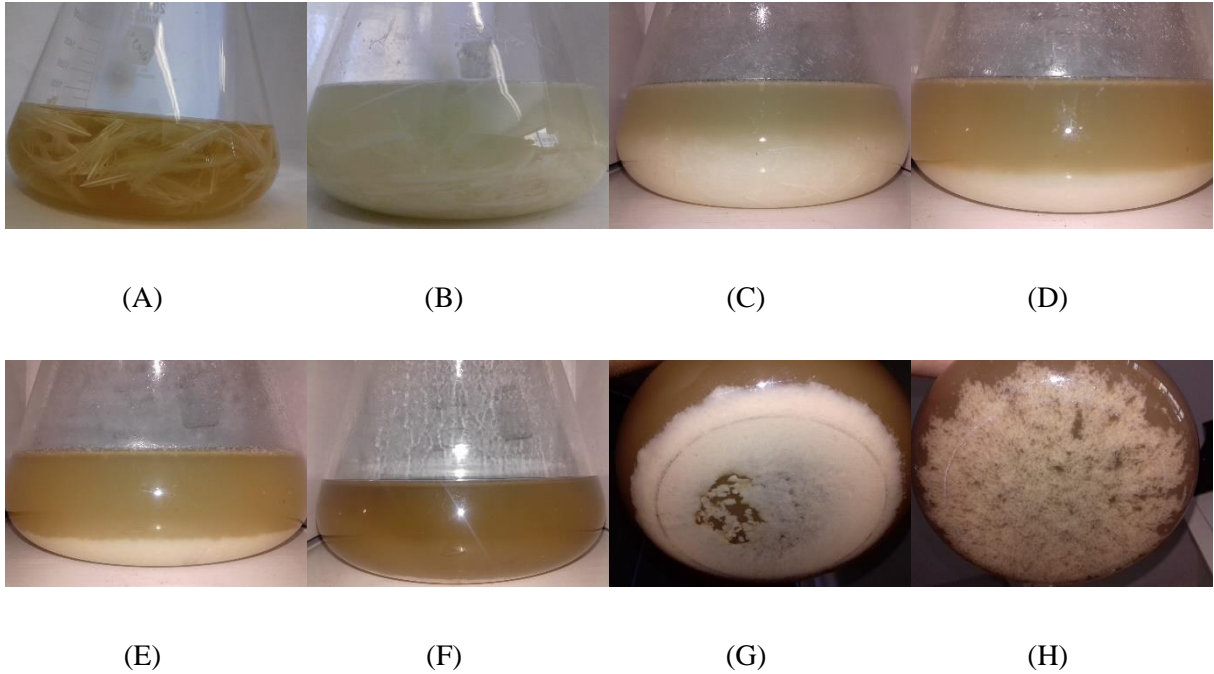


**Figura 35. Sistema utilizado para la degradación de pluma sin tratamiento en A) Tiempo 0, B) 4 días, C) 13 días, D) 24 días, E) 44 días, F) 55 días, G) 64 días y H) 70 días.**

En cuanto al sistema donde se evaluó la degradación de la pluma oxidada (Figura 36), se observó que fue el sistema que obtuvo un mayor grado de degradación debido a que a partir del día 12 (Figura 36C) la estructura de las plumas se modificó considerablemente ya que el material se depositó en el fondo del matraz, por lo que se prevé que el carácter hidrófobo de la pluma disminuyó debido a la actividad microbiana. Además, se observó que a partir del día 4 (Figura 36B) el medio adquirió un color verde, evidenciando al igual que en el sistema de pluma sin tratamiento el crecimiento de *P. putida* en el sistema. Además, se observó que el medio se tornó cada vez más opaco debido al crecimiento de biomasa y de forma paralela, se denotó la fragmentación de la pluma durante la cinética producto del consumo del sustrato. Finalmente a partir del día 55 (Figura 36F) se denotó la pérdida de las estructuras del raquis y bábulas que conforman la pluma y hacia el final de la cinética (Figura 36G y 36H) se observó que los depósitos en el fondo de sistema correspondían visualmente en su mayoría a biomasa formando agregados.

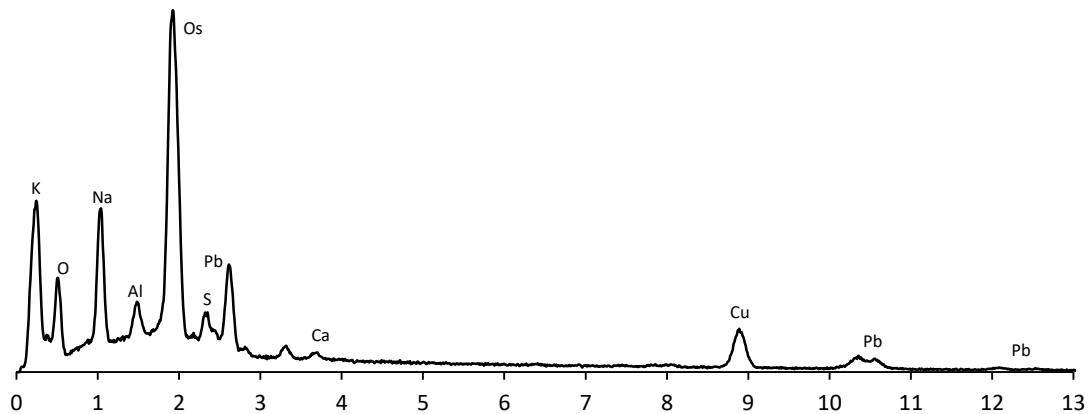
Como puede observarse, la degradación en el sistema que contenía pluma oxidada fue mayor al observado en la pluma sin tratamiento, lo cual sugiere que el tratamiento de oxidación favoreció la degradación del material debido posiblemente a la exposición de los puentes disulfuro de la queratina descrito en la sección 7.1.





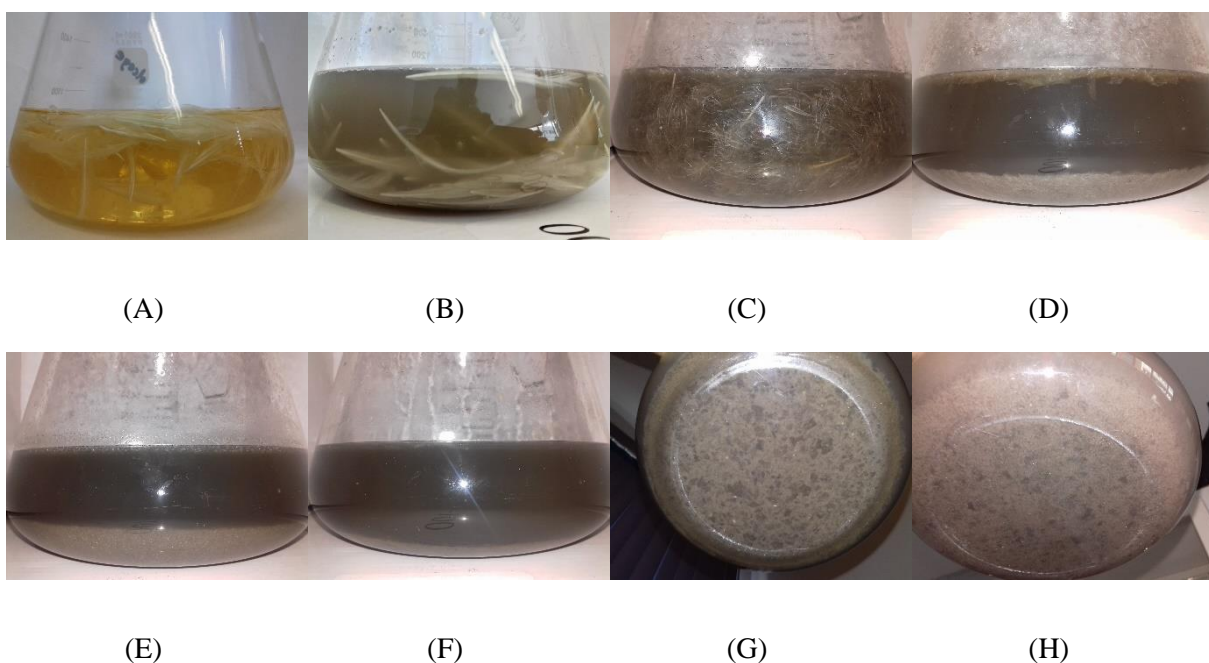
**Figura 36. Sistema utilizado para la degradación de pluma oxidada en A) Tiempo 0, B) 4 días, C) 13 días, D) 24 días, E) 44 días, F) 55 días, G) 64 días y H) 70 días.**

En cuanto al complejo “pluma+Pb”, primeramente se presentan los resultados obtenidos por EDS (Figura 37), donde se evidencia la presencia de los iones  $Pb^{2+}$  sobre la pluma oxidada posterior al proceso de adsorción, lo cual indica a su vez que los iones metálicos estaban presentes en el sistema de degradación del complejo. Además, se observó la presencia de otros iones como Cu, Ca, Na, K y Al, los cuales posiblemente forman parte de la pluma y plantean la posibilidad de que dentro del proceso de adsorción uno de los mecanismos por el cual se lleva a cabo el proceso sea por el intercambio iónico de éstas especies por iones  $Pb^{2+}$ .



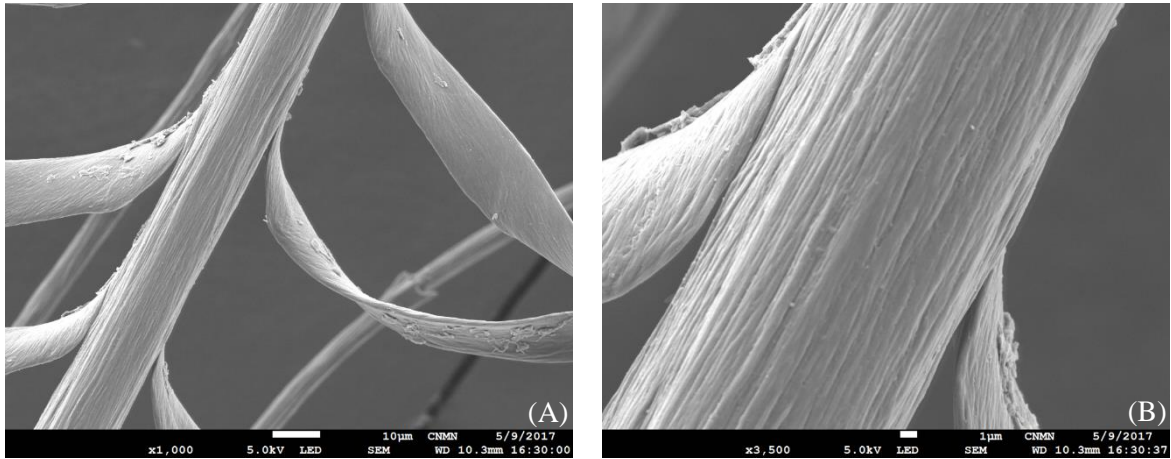
**Figura 37. Espectro EDS del complejo "pluma+Pb"**

Finalmente se presentan las imágenes del sistema donde se evaluó la degradación del complejo “pluma+Pb” (Figura 38) así como las imágenes obtenidas mediante MEB con el fin de observar la modificación estructural del complejo “pluma+Pb” debido a la acción tanto del consorcio como de *P. putida* en los tiempos cero, 15, 45 y 70 días de la cinética del sistema de degradación del complejo (Figuras 39, 40 y 41).



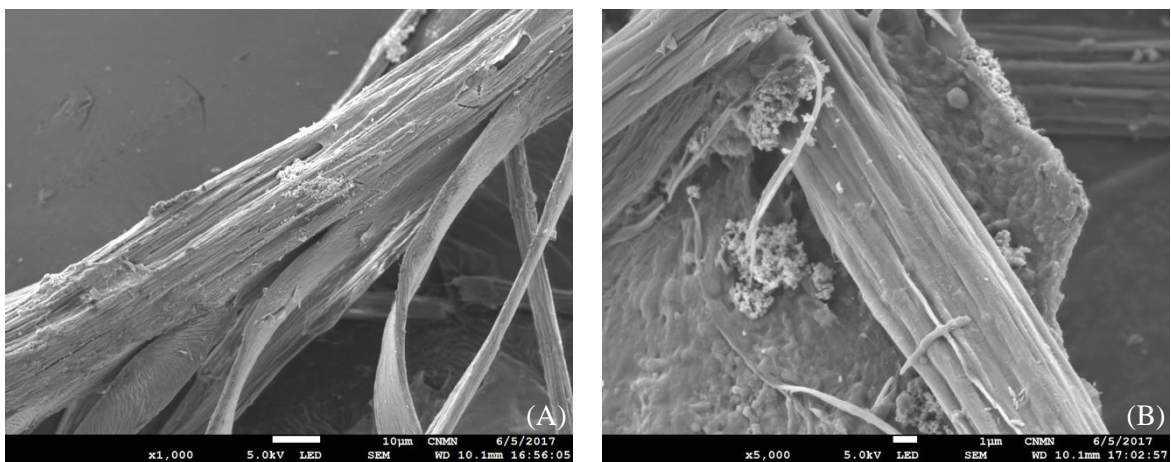
**Figura 38. Sistema utilizado para la degradación del complejo “pluma+Pb” en A) Tiempo 0, B) 4 días, C) 13 días, D) 24 días, E) 44 días, F) 55 días, G) 64 días y H) 70 días.**

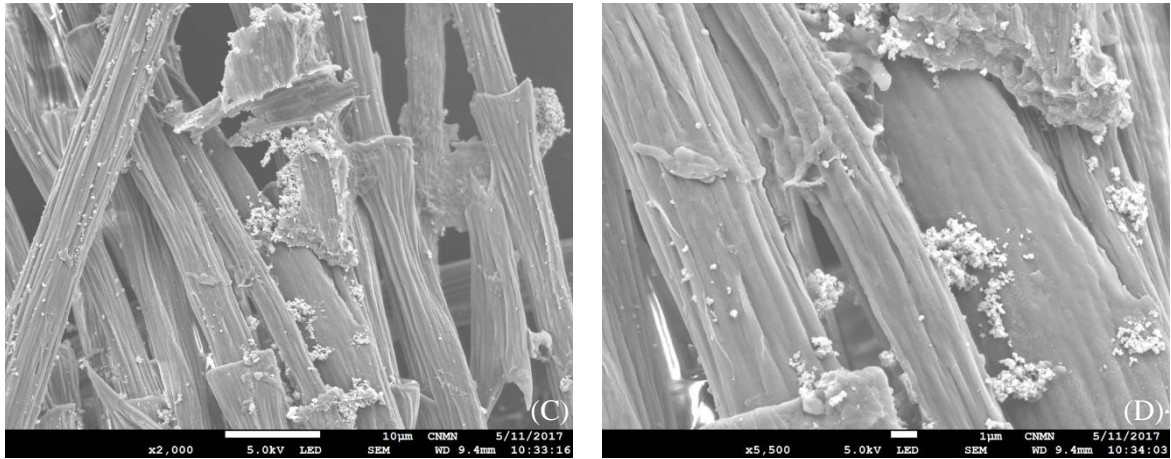
Al inicio de la cinética se observó que entre el día 0 y 4 (Figura 38A y 38B) el sistema comenzó a adquirir un color oscuro diferente al generado en los sistemas utilizados como controles. A lo largo de la cinética se observó que al centrifugar las muestras, la fase sólida contaba con el color previamente descrito, por lo que se prevé que los iones de  $Pb^{2+}$  presentes en el complejo interaccionaron con iones o grupos que contenían azufre y éstos se depositaron en las células de la biomasa. Además, en la figura 39, se observan las micrografías el complejo en el tiempo cero, donde puede apreciarse un segmento de raquis y bárbulas.



**Figura 39. Micrografías electrónicas de barrido del proceso de degradación del complejo en el tiempo cero. A) X1000 y B) X3500**

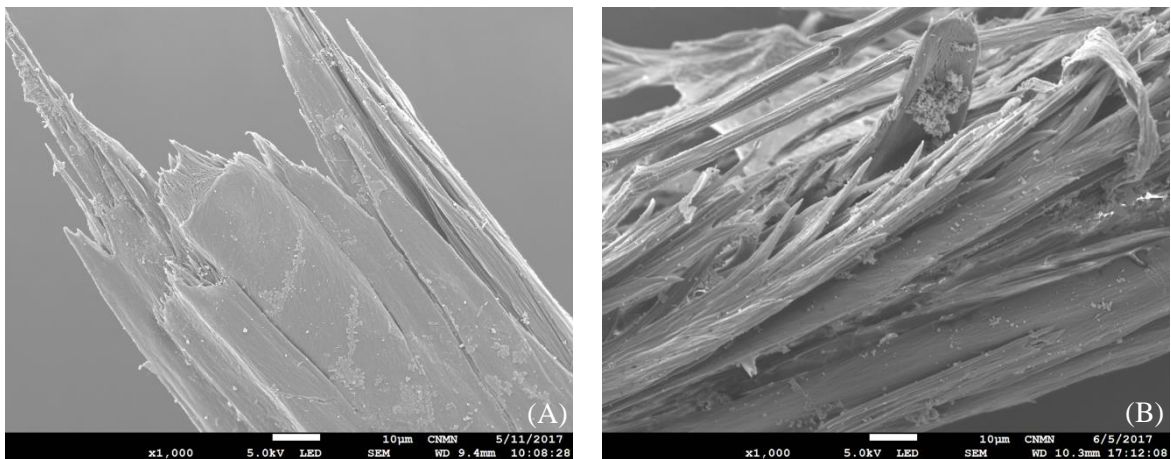
En cuanto a la degradación de la pluma, se observó que para el día 12 (Figura 38C) ya había daño estructural de la pluma ya que en el medio se encontraban barbas y bárbulas separadas del raquis. En cuanto a las micrografías obtenidas del complejo a los 15 días de incubación (Figura 40) se observa que el daño a la estructura provocado por la biomasa en el sistema en los primeros días de la cinética ocurre de manera superficial y denota la exposición de fibras en el raquis. Además, se observa una mayor colonización de la biomasa sobre las barbas y bárbulas, lo cual es consistente con lo reportado por (Kojima *et al.*, 2008) quienes analizaron la degradación de la pluma de pollo mediante *Bacillus pseudofirmus* FA30-01 menciona que las primeras estructuras en ser metabolizadas son las barbas mientras que el raquis es consumido en las últimas etapas del proceso.

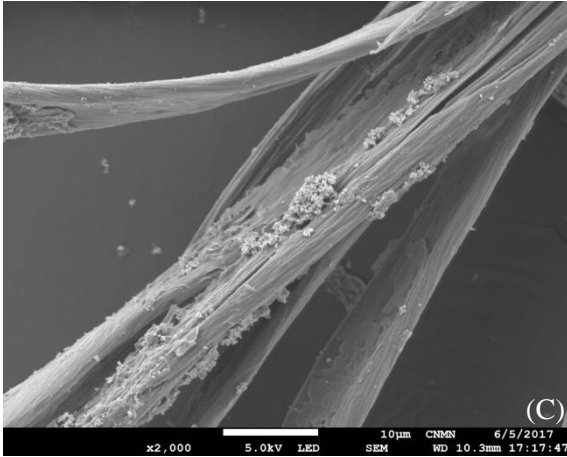




**Figura 40. Micrografías electrónicas de barrido del proceso de degradación del complejo "pluma+Pb" al día 15. A) X1000, B) X5000, C) X2000 y D) X5000**

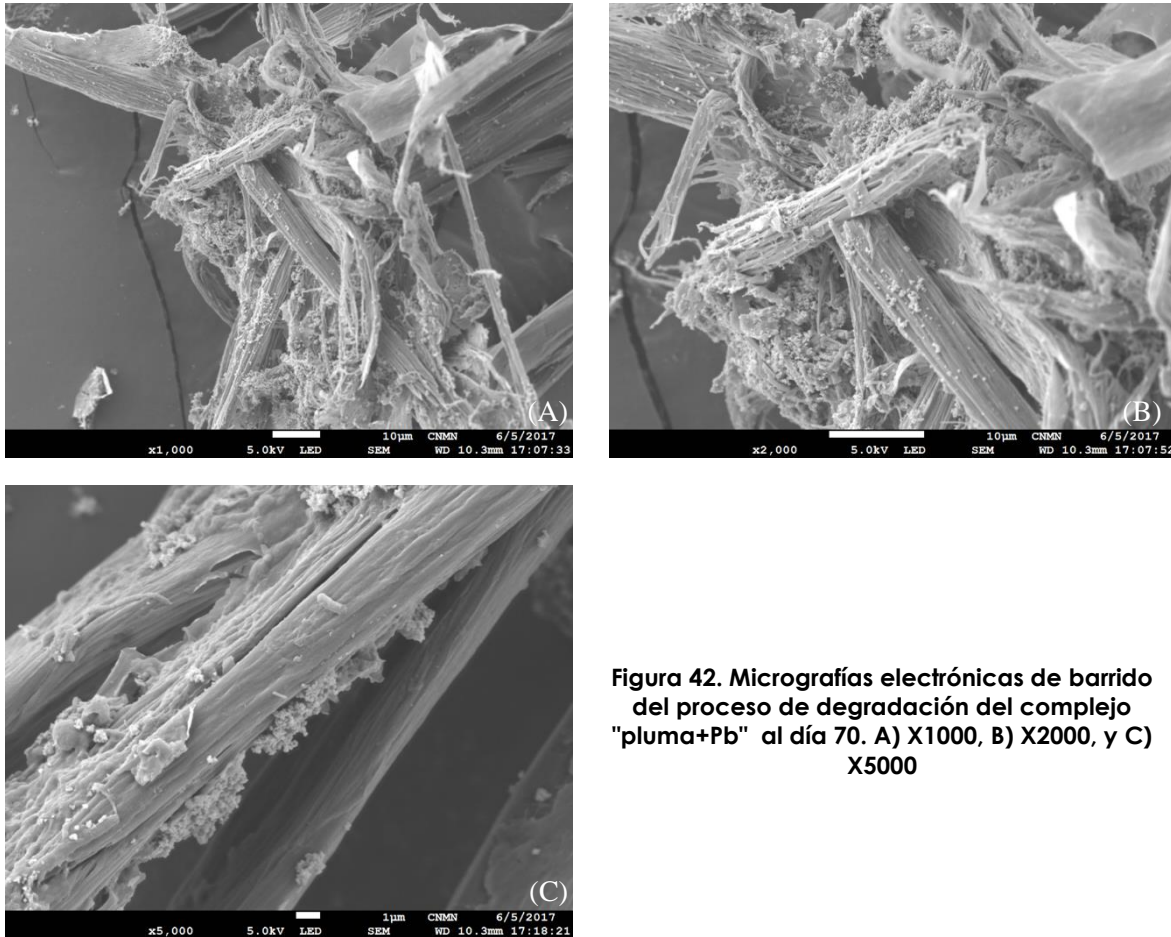
Posteriormente a partir del día 24 (Figura 38D) se observó una alta fragmentación de la pluma ya que los restos de raquis y bárbulas se depositaron en el fondo del sistema; y al cabo 45 días (Figura 42) la fracturación del raquis es evidente debido al aumento en la colonización y a las actividades enzimáticas previamente descritas (Figura 42A y 42B). Además, es evidente la colonización de la pluma en las diferentes estructuras que la componen, denotando una mayor exposición de las fibras internas y la presencia de colonias de mayor tamaño (Figura 42C). Al comparar con las micrografías obtenidas del sistema, se retoma que en este tiempo se observó que en el sistema aún se podían apreciar raquis completos, los cuales comenzaban a separarse de las barbas.





**Figura 41. Micrografías electrónicas de barrido del proceso de degradación del complejo "pluma+Pb" al día 45. A) X1000, B) X5000 y C) X2000**

Hacia el final de la cinética, se observó una disminución importante de los depósitos en el sistema, hasta que en el día 64 (Figura 38G) ya no se apreciaba la presencia de restos de raquis y sólo se encontraban fragmentos de barbas muy pequeños. Además, se observó que al igual que en el sistema de pluma oxidada, la biomasa presente en el sistema comenzó a formar agregados alrededor de los restos de pluma en el sistema. En el último tiempo de la cinética (70 días) se observó que tanto el consorcio queratinolítico como *P. putida* lograron una fragmentación considerable de las estructuras que conforman la pluma (Figura 43A y 43B) y formaron agregados donde se observa que crecen alrededor de los fragmentos y los envuelven. Además, se observó una fracturación aún mayor de las fibras de la pluma (Figura XC), lo cual es favorable para una mayor cobertura del sustrato mediante la biomasa en el sistema. Al comparar con las fotografías obtenidas del sistema de degradación, se observa que en macro escala ya no se distinguen como tal la forma de las plumas en el sistema de degradación, por lo que de acuerdo a las micrografías obtenidas se obtiene que existen fragmentos muy pequeños de fibras y raquis de plumas, los cuales se espera que continúen con el proceso de degradación.



**Figura 42. Micrografías electrónicas de barrido del proceso de degradación del complejo "pluma+Pb" al día 70. A) X1000, B) X2000, y C) X5000**

Como se mencionó anteriormente, se prevé que el proceso de oxidación es el responsable de la rápida degradación de la pluma oxidada respecto a la pluma sin tratamiento. Sin embargo, el sistema de degradación del complejo "pluma+Pb" presentó una menor velocidad de degradación respecto a la pluma oxidada, por lo que se prevé que la presencia de los iones  $Pb^{2+}$  tuvo influencia sobre la diversidad del consorcio.

### 6.3.7 Análisis de la diversidad microbiana del consorcio queratinolítico durante el proceso de degradación

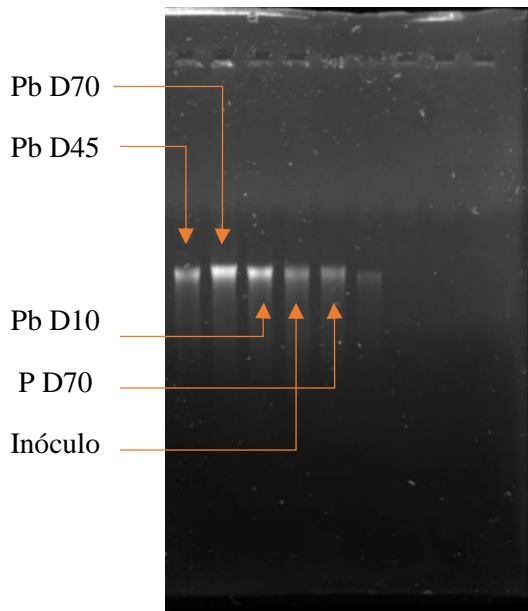
Con el fin de evaluar la dinámica del consorcio queratinolítico durante la cinética de degradación del complejo “pluma+Pb” y de la pluma sin tratamiento, se presentan los resultados obtenidos del análisis de secuenciación masiva mediante la tecnología Ion Torrent.

Primeramente se llevó a cabo la extracción del DNA total de diferentes tiempos evaluados durante las cinéticas de degradación, tomando en el sistema de degradación del complejo “pluma+Pb” muestras a los 10, 45 y 70 días, mientras que para el sistema de degradación de la pluma sin tratamiento sólo se analizó la diversidad a los 70 días. Además, se tomó una muestra del inóculo del consorcio queratinolítico como control, con el fin de ver el cambio en la diversidad debido a la presencia de  $Pb^{2+}$  en el sistema. Se evaluó la pureza de las muestras mediante la relación de absorbancias 260/280 y se obtuvo la concentración obtenida en cada muestra, las cuales se presentan en la tabla 26.

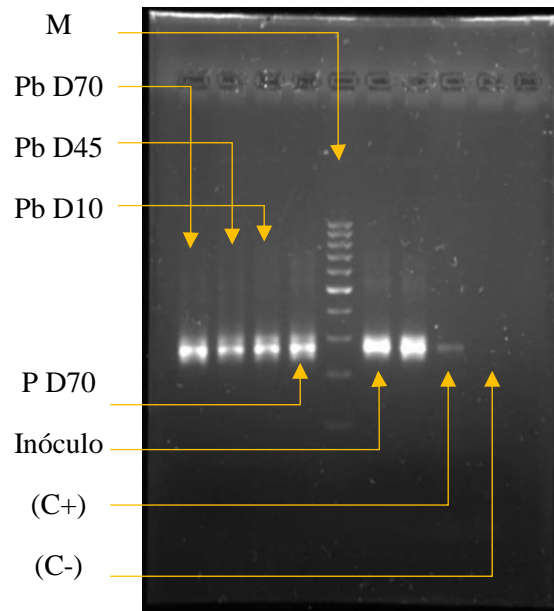
**Tabla 26. Relación de absorbancias y concentraciones de DNA obtenidas en las muestras de los sistemas del complejo “pluma+Pb” y Pluma sin tratamiento**

Muestra	Inóculo	Pb (10 días)	Pb (45 días)	Pb (70 días)	P (70 días)
A 260/280	1.74	1.88	1.91	1.85	1.75
Concentración de DNA (ng/ $\mu$ L)	15.0	21.9	31.7	19.7	18.3

Además, se presenta el gel de agarosa al 0.05% en el cual se observa las muestras de DNA extraídas de las muestras anteriormente mencionadas (Figura 43). Una vez confirmada la presencia de DNA en las muestras, se procedió a realizar la amplificación parcial del gen16S RNA de cada muestra mediante PCR. En la Figura 44 se presenta el gel de agarosa al 2% de los productos de PCR de las muestras de los sistemas de degradación evaluados.



**Figura 43. Gel de agarosa al 0.05% de las muestras de DNA extraídas. Corrimiento de electroforesis a 100V durante 50 min.**

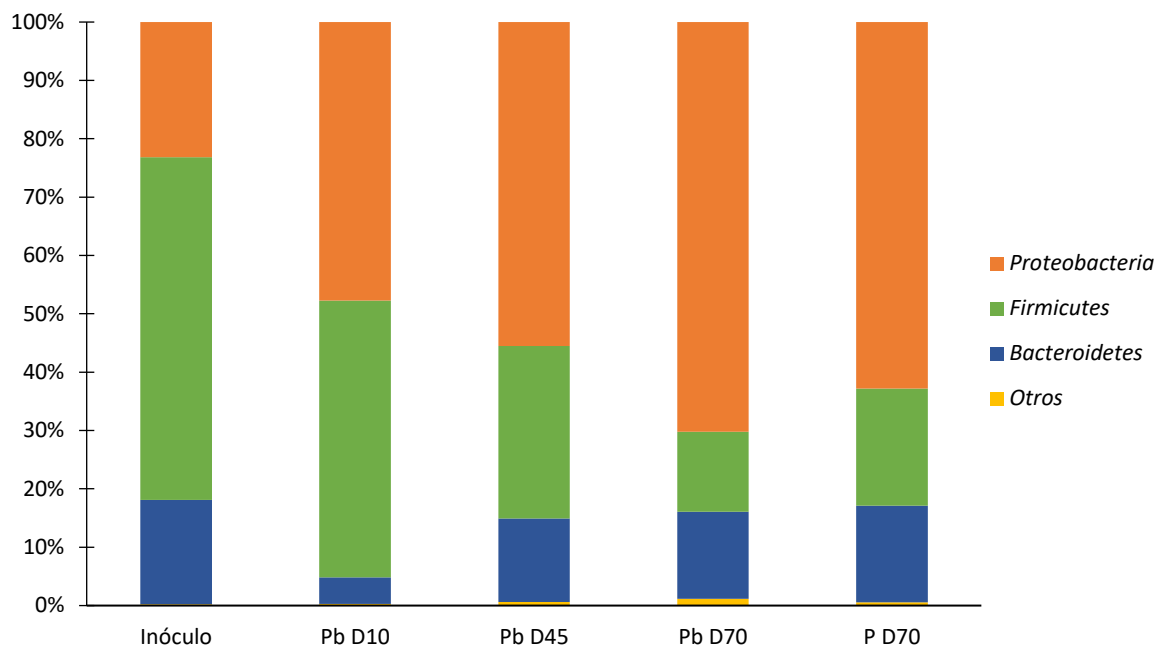


**Figura 44. Gel de agarosa al 2% de los productos de PCR obtenidos de la amplificación de la región V3. Marcador de peso molecular en el 5° carril. Corrimiento a 100V durante 50 min.**

Posteriormente, las muestras amplificadas por PCR se prepararon para el proceso de secuenciación masiva y en los resultados obtenidos, aquellos grupos que obtuvieron una proporción relativa menor al 1%, se agruparon en la categoría de “otros”.

En primera instancia, se obtuvo la clasificación de cada una de las muestras por filo, presentando los resultados obtenidos en la figura 45. De manera general se observa la dominancia de tres filos principalmente en el consorcio queratinolítico, donde se observa que los *Firmicutes* son el grupo con la mayor abundancia en el sistema utilizado para inocular los sistemas de degradación. En el caso del sistema de degradación del complejo “pluma+Pb”, se observó que conforme avanzó la cinética, la abundancia de *Firmicutes* disminuyó en casi un 80%, mientras que las *Proteobacterias* aumentaron de un 23% presente en el inóculo hasta un 70%. Lo anterior descrito se observó en el sistema de la pluma sin tratamiento al final de la cinética, aunque en menor proporción ya que en el día 70 la proporción de *Firmicutes* y *Proteobacterias* fue del 20 y 62%, respectivamente.





**Figura 45. Diversidad microbiana en los sistemas de degradación del complejo “pluma+Pb” y pluma sin tratamiento a nivel de filo.**

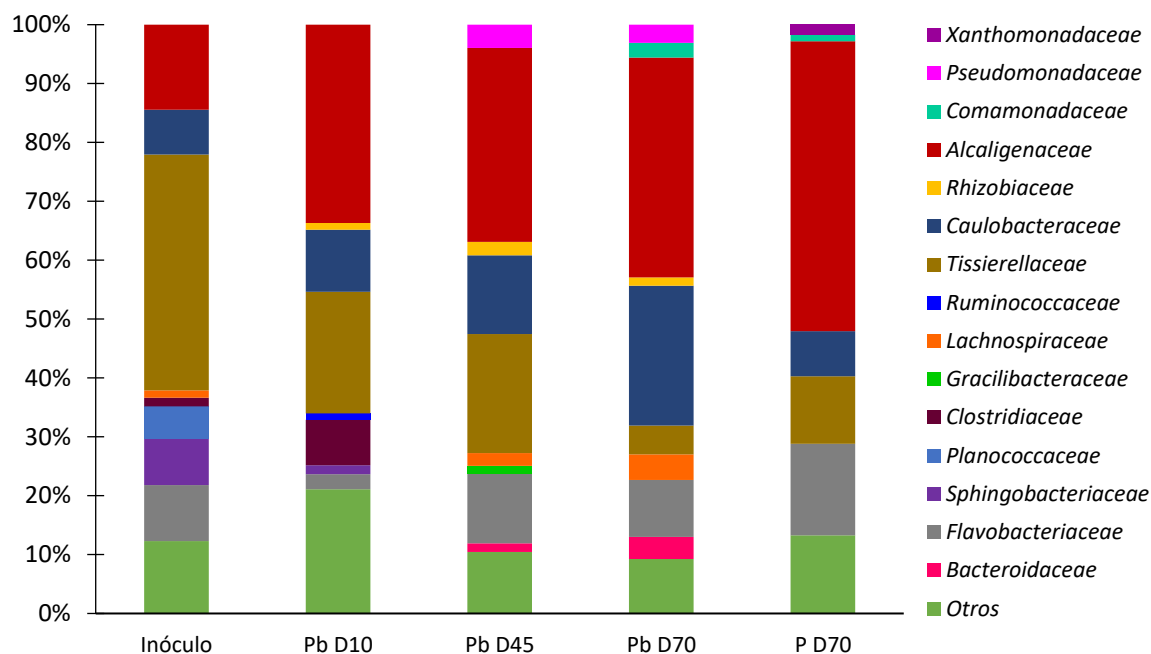
En cuanto a *Bacteroidetes*, se mantuvo presente tanto en el sistema de la pluma sin tratamiento como en el sistema del complejo “pluma+Pb”, observando que en éste sistema presentó una disminución en su abundancia a los 10 días de la cinética de debido posiblemente a que los microorganismos pertenecientes a este grupo pasaron por un periodo de adaptación, ya que a la mitad de la cinética conservó una abundancia del 14% hasta el final de la cinética. En cuanto al sistema de la pluma sin tratamiento, se observó que la abundancia de éste grupo se mantuvo posiblemente durante toda la cinética. Finalmente, aun cuando los filos englobados en la categoría “otros” son menores al 1%, se observó que ésta aumentó al final de la cinética del sistema del complejo, ya que posiblemente las condiciones del sistema comienzan a ser favorables para otros microorganismos.

Al observar la diversidad poblacional de los sistemas en la categoría de familias, la cual se presenta en la Figura 46, de manera general se observó el dominio de tres grupos principales: *Alcaligenaceae*, *Caulobacteraceae* y *Tissierellaceae*, siendo los dos primeros pertenecientes al filo *Proteobacteria* y el tercero a *Firmicutes*.

En cuanto al sistema de degradación del complejo “pluma+Pb”, se observó que desde el tiempo cero (inóculo) hasta el final de la cinética, la proporción de la familia *Alcaligenaceae* duplicó su abundancia en el sistema, mientras que la familia *Tisierellaceae* se observó el efecto contrario, ya

que su abundancia se redujo del 40 al 4.8% en el mismo intervalo de tiempo, debido posiblemente a que su mayor participación en el proceso de degradación de la pluma de pollo es en las primeras etapas de solubilización de la queratina.

En cuanto al sistema de la pluma sin tratamiento, se observó de igual manera que la familia *Alcaligenaceae* aumentó su abundancia, lo cual posiblemente indique que los microorganismos presentes en esta familia tienen una alta participación en el proceso de degradación de la pluma de pollo y además, presenta resistencia a la presencia de los iones de  $Pb^{2+}$  en el sistema. En cuanto a *Tissierellaceae*, se observó de igual manera la disminución en su abundancia al paso de la cinética, sin embargo, no disminuyó en la misma proporción que en el sistema que contenía el complejo “pluma+Pb”, debido posiblemente a que el proceso de degradación es más lento y posiblemente aún tiene participación en el proceso de degradación.



**Figura 46. Diversidad microbiana en los sistemas de degradación del complejo “pluma+Pb” y pluma sin tratamiento a nivel de familia**

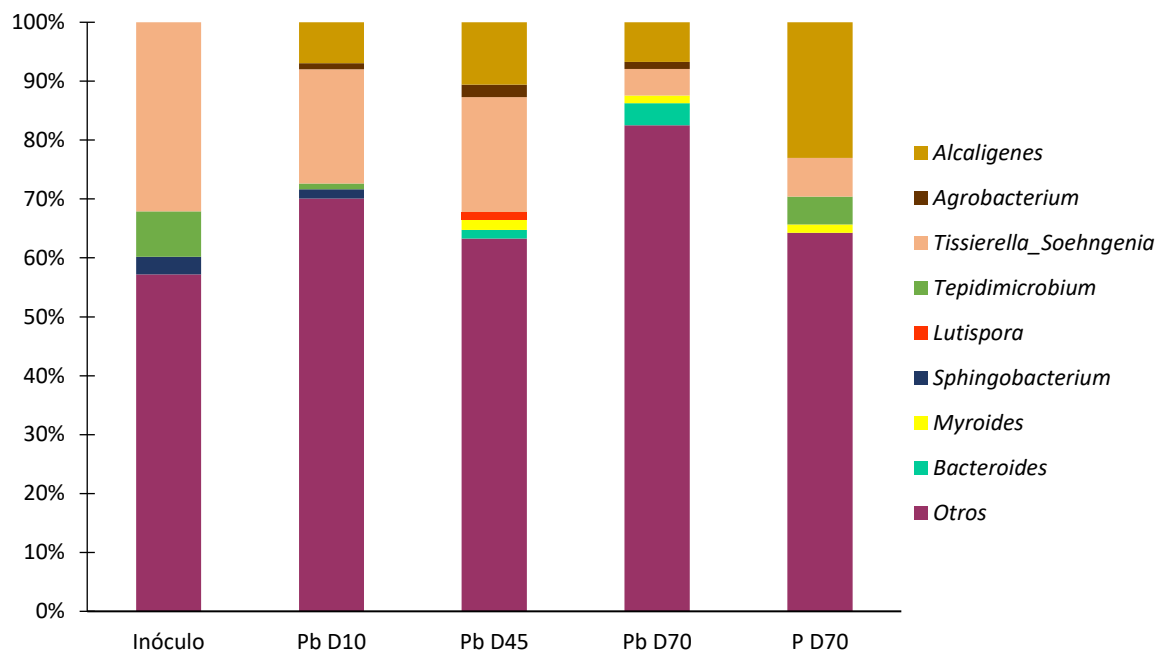
En cuanto a la familia *Caulobacteraceae*, se observó que su abundancia fue aumentando al paso de la cinética del proceso de degradación del complejo “pluma+Pb” ya que aumento de un 7.5% presente en el inóculo al 23% en el día 70. Se prevé que en este caso, las condiciones en el sistema fueron propicias para que especies pertenecientes a ésta familia presentaran un mayor dominio en el sistema de degradación, posiblemente debido a la desestabilización de la pluma generada por el

proceso de oxidación, ya que de igual manera ésta familia está presente en el sistema de la pluma sin tratamiento; sin embargo, se cree que su abundancia se mantuvo durante toda la cinética ya que la diferencia de su abundancia respecto a la del inoculo es mínima.

En cuanto al sistema de degradación del complejo “pluma+Pb” se observó que la familia *Rhizobiaceae*, *Pseudomonaceae*, *Clostridiaceae* y *Rumococcaceae* obtuvieron una mayor abundancia en este sistema de degradación respecto a la obtenida en el sistema de la pluma sin tratamiento, debido posiblemente a que la presencia de los iones  $Pb^{2+}$  limitó la proliferación de otros microorganismos, por lo que se sugiere que los microorganismos pertenecientes a éstas familias tienen la capacidad de tolerar el plomo y/o de biosorber los iones metálicos (condición descrita previamente). En cuanto a las especies limitadas por la presencia de los iones metálicos, se sugiere que los microorganismos pertenecientes a la familia *Xanthomonadaceae* podrían no ser tolerantes al  $Pb^{2+}$  debido a que se observó una abundancia del 1.7% en el sistema de degradación de pluma sin tratamiento en el día 70. Respecto a la agrupación de familias con abundancias menores al 1% en la categoría de “otros”, se observó que representan el 12% de la abundancia relativa del inóculo, la cual en el sistema del complejo aumentó en los primeros 10 días de la cinética hasta un 21% y posteriormente disminuyó hacia el final de la cinética (9.2%). Lo anterior posiblemente sea un efecto de los iones  $Pb^{2+}$  en el sistema, ya que la abundancia de ésta categoría en el sistema de la pluma sin tratamiento representó el 13% en el día 70 de la cinética.

Finalmente, al observar los resultados de diversidad de los sistemas de degradación desde la categoría de género (Figura 47) se observó que la abundancia relativa de la categoría “otros” representa más del 50% de la diversidad en todas las muestras analizadas. Por lo tanto, los géneros específicos con mayor presencia en los sistemas de degradación son los géneros *Tissierella* y *Alcaligenes* en ambos sistemas.

En cuanto al sistema de degradación del complejo “pluma+Pb”, la abundancia de los géneros específicos identificados es *Tissierella* > *Alcaligenes* > *Bacteroides* > *Agrobacterium* > *Myroides* > *Sphingobacterium* > *Lutispora* > *Tepidimicrobium*. Al comparar la diversidad del inóculo con la presentada por el sistema de degradación del complejo, se observó un aumento de la categoría “otros” respecto a la inicial, representando al final de la cinética el 82% de la diversidad en el sistema. Además, se observó que el género *Tissierella* disminuyó de 32 a 4.5% de abundancia, mientras que *Alcaligenes*, que no tenía una abundancia mayor al 1% en el inóculo, en el sistema se mantuvo en entre un 10 y 6 %.



**Figura 47. Diversidad microbiana en los sistemas de degradación del complejo "pluma+Pb" y pluma sin tratamiento a nivel de género**

Respecto al sistema de la pluma sin tratamiento en el tiempo final, la diversidad en cuanto a géneros específicos resulta aún menor que la obtenida en el sistema descrito anteriormente. En este caso, de acuerdo a su abundancia relativa los géneros presentes en el sistema son *Alcaligenes* > *Tissierella* > *Tepidimicrobium* y *Myroides*. Al comparar la diversidad respecto a la obtenida en el inóculo, se observó que el género *Alcaligenes*, que en el inóculo contaba con una abundancia menor al 1%, al día 70 del sistema de degradación del complejo obtuvo el 23% de la diversidad en el sistema. Caso similar se observó con el género *Myroidetes*, aunque en menor proporción. Además, se observó la disminución del género *Sphingobacterium* presente en el inóculo (2.9%), el cual al final de la cinética disminuyó a menos del 1% de abundancia.

En cuanto al género *Agrobacterium*, se observó que mantuvo una abundancia entre el 7 y 21% en el sistema de degradación del complejo, mientras que en el inóculo y en el tiempo final del sistema de la pluma sin tratamiento obtuvo una abundancia menor al 1%, lo cual posiblemente sea debido a la capacidad que presentan los microorganismos pertenecientes a este género de tolerar la presencia de iones metálicos en el sistema. Lo anterior mencionado se observó también para el género *Lutispora* en el sistema de degradación del complejo.

Respecto a los dos géneros más abundantes en los sistemas de degradación, el género *Alcaligenes* pertenece a la familia *Alcaligenaceae* y cuenta solamente con dos especies, las cuales son *A.*

*aquatilis* y *A. fecalis* siendo los miembros de éste género aislados de suelos, sedimentos, residuos de bioprocesos y agua. Dentro de las características importantes de éste género, es que se ha reportado que algunos de sus miembros cuentan con capacidades de interés en proceso de biorremediación (Abbas *et al.*, 2015) como *Alcaligenes sp.* AQ05-001, cepa reportada por Yusuf *et al* (2016) quienes la reportan como una cepa tolerante a metales y con capacidad de degradar plumas. En cuanto al género *Tissierella*, no se encontraron investigaciones sobre su capacidad queratinolítica; sin embargo, Ikkert *et al* (2013) reportaron la capacidad de *Tissierella* P1 para formar H<sub>2</sub>S utilizando peptona como sustrato y de precipitar fosfato de fierro. Por lo que se prevé que las cepas pertenecientes a este género presentes en el cultivo cuenta con la capacidad de hidrolizar pluma de pollo y de tolerar Pb<sup>2+</sup>, ya que estuvo presente en ambos sistemas analizados. En cuanto al género *Agrobacterium*, se observó su mayor abundancia en el sistema del complejo “pluma+Pb”, lo cual va de acuerdo a lo reportado por Chiboub *et al* (2016), quienes reportan la capacidad de *Agrobacterium sp.* para tolerar concentraciones de Pb<sup>2+</sup> de 2.8 a 4 mM así como otros metales pesados.

De acuerdo a lo anterior y a la cinética de degradación, el tratamiento del complejo “pluma+Pb” obtenido en el proceso de adsorción es factible mediante el uso del consorcio queratinolítico adicionado de *P. putida*, ya que demuestra que el material queratinoso es degradable aún con el proceso de modificación química llevado a cabo y que los iones de Pb<sup>2+</sup> puede ser depositados en una matriz de menor tamaño.

actividades enzimáticas específicas (queratinasa y lipasa) e inespecíficas (proteasa), las cuales generaron la presencia de grupos –SH libres y tanto la producción de péptidos solubles como de aminoácidos, derivados de la hidrólisis del material queratinoso en el complejo “pluma+Pb”. En cuanto a los iones metálicos en el complejo, se encontró que éstos fueron bioacumulados por la biomasa generada en el sistema de degradación, dando como resultado la contención del contaminante en una matriz de menor volumen. Al describir la diversidad microbiana del consorcio queratinolítico, se identificaron los géneros *Tissierella*, *Alcaligenes* y *Bacteroides* como los más abundantes, los cuales además han sido reportados tanto por su capacidad queratinolítica como por su capacidad de bioacumular especies metálicas.

El presente trabajo de investigación plantea al proceso de adsorción de  $Pb^{2+}$  utilizando pluma de pollo oxidada tanto en sistemas estacionarios como continuos como una propuesta eficiente para la biorremediación de efluentes contaminados debido al aprovechamiento de un residuo natural altamente disponible que además es factible de ser biodegradado por un consorcio caracterizado con capacidad queratinolítica y de bioacumular plomo, lo cual describe la presente propuesta como un proceso de remediación integral.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA**

**PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS  
AMBIENTALES**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**REMOCIÓN DE  $Pb^{2+}$  EN FASE ACUOSA MEDIANTE SISTEMAS POR LOTE Y  
CONTINUO UTILIZANDO UN BIOADSORBENTE QUERATINOSO  
BIODEGRADABLE**

PRESENTA:

**CLAUDIA ANGÉLICA SOLÍS MORENO**

COMITÉ TUTELAR:

DIRECTOR: DRA. ELSA CERVANTES GONZÁLEZ

ASESOR: DRA. CANDY CARRANZA ÁLVAREZ

ASESOR: DR. LUIS ARMANDO BERNAL JÁCOME

SINODALES:

PRESIDENTE: DRA. ELSA CERVANTES GONZÁLEZ

SECRETARIO: DR. LUIS ARMANDO BERNAL JÁCOME

VOCAL: DR. ISRAEL RAZO SOTO

## 8 REFERENCIAS

- Abbas, S., Ahmed, I., Iida, T., Lee, Y. J., Busse, H. J., Fujiwara, T., & Ohkuma, M. (2015). A heavy-metal tolerant novel bacterium, *Alcaligenes pakistanensis* sp. nov., isolated from industrial effluent in Pakistan. *Antonie van Leeuwenhoek*, *108*(4), 859-870.
- Abdel Salam, O. E., Reiad, N. A., & ElShafei, M. M. (2011). A study of the removal characteristics of heavy metals from wastewater by low-cost adsorbents. *Journal of Advanced Research*, 297-303.
- Agrahari, S., & Wadhwa, N. (2010). Degradation of Chicken Feather a Poultry Waste Product by Keratinolytic Bacteria Isolated from Dumping Site at Ghazipur Poultry Processing Plant. *International Journal of Poultry Science*, 482 - 489.
- Aguayo-Villarreal, I. A., Bonilla-Petriciolet, A., Hernández-Montoya, V., Montes-Morán, M. A., & Reynel-Avila, H. E. (2011). Batch and column studies of Zn<sup>2+</sup> removal from aqueous solution using chicken feathers as sorbents. *Chemical Engineering Journal*, *167*(1), 67-76.
- Aharoni, C., & Ungarish, M. (1977). Kinetics of activated chemisorption. Part 2. Theoretical models. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 456-464.
- Ahmad, A., Khatoon, A., Mohd-Setapar, S. H., Kumar, R., & Rafatullah, M. (2016). Chemically oxidized pineapple fruit peel for the biosorption of heavy metals from aqueous solutions. *Desalination and Water Treatment*, *57*(14), 6432-6442.
- Ahmad, R., & Haseeb, S. (2012). Adsorption of Cu<sup>2+</sup> From Aqueous Solution onto Agricultural Solid Waste-Mentha: Characterization, Isotherms, and Kinetic Studies. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 1188-1196.
- Ahmaruzzaman, M. (2008). Adsorption of phenolic compounds on low-cost adsorbents: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 48-67.
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere*, *91*(7), 869-881.
- Ali, R. M., Hamad, H. A., Hussein, M. M., & Malash, G. F. (2016). Potential of using green adsorbent of heavy metal removal from aqueous solutions: adsorption kinetics, isotherm, thermodynamic, mechanism and economic analysis. *Ecological Engineering*, *91*, 317-332.
- Al-Musallam, A. A., Al-Gharabally, D. H., & Vadakkancheril, N. (2013). Biodegradation of keratin in mineral-based feather medium by thermophilic strains of a new *Coprinopsis* sp. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 42-48.



- Anantha, R. K., & Kota, S. (2016). Removal of lead by adsorption with the renewable biopolymer composite of feather (*Dromaius novaehollandiae*) and chitosan (*Agaricus bisporus*). *Environmental Technology & Innovation* (6), 11-26.
- Anna, B., Kleopas, M., Constantine, S., Anestis, F., & Maria, B. (2015). Adsorption of Cd (II), Cu (II), Ni (II) and Pb (II) onto natural bentonite: study in mono-and multi-metal systems. *Environmental Earth Sciences*, 73(9), 5435-5444.
- Aroua, M. K., Leong, S. P., Teo, L. Y., Yin, C. Y., & Daud, W. M. (2008). Real-time determination of kinetics of adsorption of lead (II) onto palm shell-based activated carbon using ion selective electrode. *Bioresource Technology*, 99(13), 5786-5792.
- Arsalani, N. R., Ghasemi, R. E., & Entezami, A. A. (2009). Removal of Ni(II) from synthetic solutions using new amine-containing resins bases on polyacrylonitrile. *Iran. Polym. J.*, 623-632.
- Arshad, M., Khosa, M. A., Siddique, T., & Ullah, A. (2016). Modified biopolymers as sorbents for the removal of naphthenic acids from oil sands process affected water (OSPW). *Chemosphere*, 163, 334-341.
- Arshadi, M., Abdolmaleki, M. K., Mousavinia, F., Foroughifard, S., & Karimzadeh, A. (2017). Nano modification of NZVI with an aquatic plant *Azolla filiculoides* to remove Pb (II) and Hg (II) from water: Aging time and mechanism study. *Journal of colloid and interface science*, 486, 296-308.
- Atia, A. A., Donia, A. M., & Yousif, A. M. (2008). Removal of some hazardous heavy metals from aqueous solution using magnetic chelating resin with iminodiacetate functionality. *Separation and Purification Technology*, 61(3), 348-357.
- Awokoya, K. N., & Moronkoba, B. A. (2012). Preparation and characterization of succinylated starch as adsorbent for the removal of Pb (II) ions from aqueous media. *International Journal of Engineering and Science*, 18-24.
- Ayuthaya, S., Tanpichai, S., & Wootthikanokkhan, J. (2015). Keratin extracted from chicken feather waste: extraction, preparation, and structural characterization of the keratin and keratin/biopolymer films and electrospuns. *Journal of Polymers and the Environment*, 23(4), 504.
- Babu, P. N., Binnal, P., & Kumar, D. J. (2015). Biosorption of Zn<sup>+2</sup> on non living biomass of *Spirulina platensis* immobilized on polyurethane foam cubes: Column studies. *Journal of Biochemical Technology*, 6(1), 852-859.

- Babusikova, E., Jesenak, M., Evinova, A., Banovcin, P., & Dobrota, D. (2013). Frecuencia del polimorfismo -262 C/T en el gen de la catalasa y lesión oxidativa en niños eslovacos con asma bronquial. *Archivos de bronconeumología*, 507–512.
- Balistreri, L. S., & Murray, J. W. (1981). The surface chemistry of goethite ( $\alpha$ -FeOOH) in major ion seawater. *American Journal of Science*, 281, 788-806.
- Barcelo, J., & Poschenrieder, C. (2003). Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to science* (2), 333-344.
- Beak, M. H., Ijagbemi, C. O., & Kim, D. S. (2009). Treatment of malachite green-containing wastewater using poultry feathers as adsorbent. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering*, 536-542.
- Bellinger, D. C. (2004). Lead. *Pediatrics* (113), 1016–1022.
- Berber-Mendoza, M. S., Leyva-Ramos, R., Alonso-Davila, P., Mendoza-Barron, J., & Diaz-Flores, P. E. (2006). Effect of pH and temperature on the ion-exchange isotherm of Cd(II) and Pb(II) on clinoptilolite. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81, (6), 966–973 .
- Berlia, C. L., Deiber, J. A., & Añón, M. C. (1999). Connection between rheological parameters and colloidal interactions of a soy protein suspension. *Food Hydrocolloids* 13, 507–515.
- Bhushan, B. (2013). *Introduction to Tribology*. West Sussex: John Wiley & Sons.
- Block, R. J., & Weiss, K. W. (1956). *Amino acid Handbook*. Springfield: Charles C. Thomas .
- Boehm, P. H. (1966). Chemical Identification of Surface Groups. En I. Academic Press, *Advances in Catalysis, Vol. 16* (págs. 179-274). New York: Academic Press.
- Bohart, G. S., & Adams, E. Q. (1920). Some aspects of the behavior of charcoal with respect to chlorine. *Journal of the American Chemical Society*, 42(3), 523-544.
- Bradford, M. M. (1979). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 255-260.
- Brent, J. A. (2006). Review of: “Medical Toxicology”. *Clinical Toxicology* (44), 335.
- Caçador, I., & Duarte, B. (2015). Chromium phyto-transformation in salt marshes: the role of halophytes. En A. A., G. S., G. R., L. G., & N. L., *Phytoremediation* (págs. 211-217). Berlin : Springer International Publishing.

- Cai, C., & Zheng, X. (2009). Medium optimization for keratinase production in hair substrate by a new *Bacillus subtilis* KD-N2 using response surface methodology. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 875-883.
- Carocci, A., Catalano, A., Lauria, G., Sinicropi, M. S., & Genchi, G. (2016). Lead toxicity, antioxidant defense and environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (238), 45-67.
- Carranza-Alvarez, C., Alonso-Castro, A., Alfaro-De la Torre, M., & García-De La Cruz, R. (2008). Accumulation and Distribution of Heavy Metals in *Scirpus americanus* and *Typha latifolia* from an Artificial Lagoon in San Luis Potosí, México. *Water, Air, Soil Pollution* (188), 297-309.
- Casas, J. S., & Sordo, J. (2011). *Lead: chemistry, analytical aspects, environmental impact and health effects*. Netherlands: Elsevier.
- Cervantes-González, E., Martínez-Gutiérrez, H., & Reyes-García, C. L. (2017). Optimization, kinetic, equilibrium and thermodynamics parameters for Congo red adsorption from aqueous phase by untreated chicken feathers. *Desalination and Water Treatment* (66), 291-298.
- Cervantes-González, E., Rojas-Avelizapa, N. G., Cruz-Camarillo, R., García-Mena, J., & Rojas-Avelizapa, L. I. (2008). Oil-removal enhancement in media with keratinous or chitinous wastes by hydrocarbon-degrading bacteria isolated from oil-polluted soils. *Environmental technology*, 29(2), 171-182.
- Chaturvedi, V., Bhange, K., Bhatt, R., & Verma, P. (2014). Production of keratinases using chicken feathers as substrate by a novel multifunctional strain of *Pseudomonas stutzeri* and its dehairing application. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(2), 167-174.
- Cheknane, B., Baudu, M., Basly, J. P., Bouras, O., & Zermane, F. (2012). Modeling of basic green 4 dynamic sorption onto granular organo-inorgano pillared clays (GOICs) in column reactor. *hemical engineering journal*, 209, 7-12.
- Chen, H. D., Zhao, J., Zhong, A., Wu, J., & Yan, H. (2010). Removal of copper(II) ions by a biosorbent—*Cinnamomum camphora* leaves powder. *Journal of Hazardous Materials*, 228–236.
- Chen, H., Zhao, J., Dai, G., Wu, J., & Yan, H. (2010). Adsorption characteristics of Pb (II) from aqueous solution onto a natural biosorbent, fallen *Cinnamomum camphora* leaves. *Desalination*, 262(1), 174-182.

- Chen, J. P. (2012). *Decontamination of heavy metals. Processes, mechanisms, and applications*. Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Chen, J., Wang, L., Wang, M., Hung, Y., & Shammass, N. (2016). *Remediation of Heavy Metals in the Environment*. Boca Raton: CRC Press.
- Chen, Z., Pan, X., Chen, H., Lin, Z., & Guan, X. (2015). Investigation of lead (II) uptake by *Bacillus thuringiensis* 016. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *31*(11), 1729-1736.
- Cheraghi, E., Ameri, E., & Moheb, A. (2016). Continuous biosorption of Cd (II) ions from aqueous solutions by sesame waste: thermodynamics and fixed-bed column studies. *Desalination and Water Treatment*, *57*(15), 6936-6949.
- Chiboub, M., Saadani, O., Fatnassi, I. C., Abdelkrim, S., Abid, G., Jebara, M., & Jebara, S. H. (2016). Characterization of efficient plant-growth-promoting bacteria isolated from *Sulla coronaria* resistant to cadmium and to other heavy metals. *Comptes rendus biologiques*, *339*(9), 391-398.
- Cho, D. H., Kim, E. Y., & Hung, Y. (2010). Metal Removal by Microbial Biosorbents. En *Environmental Bioengineering. Vol. 11* (págs. 390-393). Nueva York: Springer.
- Chojnacka, K. (2010). Biosorption and bioaccumulation—the prospects for practical applications. *Environment international*, *36*(3), 299-307.
- Clark, R. M. (1987). Modeling TOC removal by GAC: the general logistic function. *Journal (American Water Works Association)*, 33-37.
- Coelho, G. F., Gonçalves Jr, A. C., Tarley, C. R., Casarin, J., Nacke, H., & Francziskowski, M. A. (2014). Removal of metal ions Cd (II), Pb (II), and Cr (III) from water by the cashew nut shell *Anacardium occidentale*. *L. Ecological engineering*, *73*, 514-525.
- Coll-Hurtado, A., Sánchez-Salazar, M. T., & Morales, J. (2002). *La minería en México*. D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cory-Slechta, D. A. (1996). Legacy of lead exposure: consequences for the central nervous system. *Otolaryngol Head Neck Surg* (*114*), 224-226.
- Cruz-Guzmán, A. M. (2007). *La contaminación de suelos y aguas. Su prevención con nuevas sustancias naturales*. Sevilla: Publidisa.
- Cussler, E. L. (2009). *Diffusion. Mass Transfer in Fluid Systems*. United Kindom: Cambridge University.

- Dada, A. O., Olalekan, A. P., Olatunya, A. M., & Dada, O. (2012). Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin–Radushkevich Isotherms Studies of Equilibrium Sorption of Zn<sup>2+</sup> Unto Phosphoric Acid Modified Rice Husk. *Journal of Applied Chemistry*, 38-45.
- de Franco, M. A., de Carvalho, C. B., Bonetto, M. M., de Pelegrini Soares, R., & Féris, L. A. (2017). Removal of amoxicillin from water by adsorption onto activated carbon in batch process and fixed bed column: Kinetics, isotherms, experimental design and breakthrough curves modelling. *Journal of Cleaner Production* 161(10), 947-956.
- de Guzman, R., Merrill, M., Richter, J., Hamzi, R., Greengauz-Roberts, O., & Van Dyke, M. (2011). Mechanical and biological properties of keratose biomaterials. *Biomaterials*, 32(32), 8205-8217.
- de la Rosa, G., Reynel-Avila, H. E., Bonilla-Petriciolet, A., Cano-Rodriguez, I., Velasco-Santos, C., & Martínez-Hernández, A. L. (2008). Recycling poultry feathers for Pb removal from wastewater: kinetic and equilibrium studies. *International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering*, 1(4), 185-193.
- de Oliveira, C. T., Pellenz, L., Pereira, J. Q., Brandelli, A., & Daroit, D. J. (2016). Screening of bacteria for protease production and feather degradation. *Waste and Biomass Valorization*, 7(3), 447-453.
- Dedek, W., Weil, L., & Feistel, L. (1992). Wotafit-adsorber polymere für die organische Spuren analytik. *Vom. Wasser.*, 155-164.
- Deivasigamani, B., & Alagappan, K. (2008). Industrial application of keratinase and soluble proteins from feather keratins. *Journal of Environmental Biology*, 933-936.
- Denizli, A., Sanli, N., Garipcan, B., Patir, S., & Alsancak, G. (2004). Methacryloylamidoglutamic Acid Incorporated Porous Poly-(methylmethacrylate) Beads for Heavy-Metal Removal. *Industrial Engineering Chemistry Research*, 6095-6101.
- Ding, T., Xuan, X. T., Li, J., Chen, S. G., Liu, D. H., Ye, X. Q., . . . Xue, S. J. (2016). Disinfection efficacy and mechanism of slightly acidic electrolyzed water on Staphylococcus aureus in pure culture. *Food Control*, 60, 505-510.
- Dou, Y., Huang, X., Zhang, B., He, M., Yin, G., & Cui, Y. (2015). Preparation and characterization of a dialdehyde starch crosslinked feather keratin film for food packaging application. *Rsc Advances*, 5(34), 27168-27174.

- Dubey, A., Mishra, A., & Singhal, S. (2014). Application of dried plant biomass as novel low-cost adsorbent for removal of cadmium from aqueous solution. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 11(4), 1043-1050.
- Dubinin, M. M., & Radushkevich, L. V. (1947). Equation of the Characteristic Curve of Activated Charcoal. *Proceedings of the Academy of Sciences of the USSR: Physical Chemistry Section*, Vol. 55, No. 1, 331-337.
- Dutta, B. (2009). *Principles of Mass Transfer and Separation Processes*. New Delhi: HPI Learning Private Limited.
- Ecología, I. N. (2006). *La investigación ambiental para la toma de decisiones*. D.F.: Instituto Nacional de Ecología.
- Eiasazadeth, H. (2008). Removal of Arsenic in Water Using Polypyrrole and its Composites. *World Applied Sciences Journal*, 10-13.
- Eisazadeth, H. (2007). Removal of Mercury From Water Using Polypyrrole and its Composites. *Chinese Journal of Polymer Science*, 393-397.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 70-77.
- Elovich, S. J. (1959). Proceedings of the Second International Congress on Surface Activity. En J. H. Schulman, *Proceedings of The Second International Congress on Surface Activity* (pág. 253). New York: Academic Press Inc.,.
- Facility, G. E. (2002). *Regionally based assesment at persistent toxic substances: North America regional report*. Suiza: United Nations Environmental Programme.
- Fadzil, F., Ibrahim, S., & Hanafiah, M. A. (2016). Adsorption of lead (II) onto organic acid modified rubber leaf powder: Batch and column studies. *Process Safety and Environmental Protection*, 100, 1-8.
- Fang, Z., Zhang, J., Liu, B., Du, G., & Chen, J. (2013). Biodegradation of wool waste and keratinase production in scale-up fermenter with different strategies by *Stenotrophomonas maltophilia* BBE11-1. *Bioresource technology*, 140, 286-291.
- Febrianto, J., Kosasih, A. N., Sunarso, J., Ju, Y. H., Indraswati, N., & Ismadji, S. (2008). Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: a summary of recent studies. *Journal of hazardous materials*, 162(2), 616-645.
- Freitas, O. M., Moura, L. M., Figueredo, S. A., & Pessoa de Amorim, M. T. (2016). Adsorption equilibrium studies of a simulated textile effluent containing a wool reactive dye on gallinaceous feathers. *Coloration Technology* 132(5), 421-430.

- Freundlich, U. (1906). Die adsorption in losungen. *Journal of Physical chemistry*, V. 57 , 385-470.
- Fu, F., & Wang, Q. (2001). Removal of heavy metal ions from wastewater: A review. *Journal of Environmental Management* 92, 407-418.
- Gao, P., Liu, Z., Wu, X., Cao, Z., Zhuang, Y., Sun, W., . . . Zhou, M. (2014). Biosorption of Chromium (VI) Ions by Deposits Produced from Chicken Feathers after Soluble Keratin Extraction. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 42(11), 1558-1566.
- García-Sabido, D., López-Mesas, M., & Carrillo-Navarrete, F. (2016). Chicken feather fibres waste as a low-cost biosorbent of acid Blue 80 dye. *Desalination and Water Treatment* (57), 8, 3732–3740.
- Ghosh, A., & Collie, S. R. (2014). Keratinous materials as novel absorbent systems for toxic pollutants. *Defence Science Journal*, 64(3), 209.
- Ghosh, M., & Singh, S. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. *Asian J Energy Environ*, 6(4), 18.
- Gibbs, J. W. (1948). *The collected works of J. Willard Gibbs*. New York : Yale Univ. Press.
- Gil, C. F. (2008). ANATOMÍA ESPECÍFICA DE AVES: ASPECTOS FUNCIONALES Y CLÍNICOS. *Universidad de Murcia*, 2.
- Göhre, V., & Paszkowski, U. (2006). Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223, 1115-1122.
- Gómez, R. M., Rojas, A. L., Rojas, A. N., & Cruz, C. R. (2004). Colloidal chitin stained with Remazol Brilliant Blue R, a useful substrate to select chitinolytic microorganisms and to evaluate chitinases. *Journal of Microbiological Methods*, 213-219.
- Gonzáles, A. (2007). EL HIDROLIZADO DE LAS PLUMAS, UN PROCESO PARA VALORIZAR UN RESIDUO CONTAMINANTE. *IX Encuentro de nutrición y producción en animales Monogástricos*.
- Gonzalez-Chavez, C. D., Haen, J., Vangronsveld, J. J., & Dodd, D. C. (2002). Copper sorption and accumulation by the extra radical mycelium of different *Glomus* sp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Plant and Soil* , 287–297.
- Gousterova, A., Braikova, D., Goshev, I., Christov, P., Tishinov, K., Vasileva-Tonkova, E., . . . Nedkov, P. (2005). Degradation of keratin and collagen containing wastes by newly isolated thermoactinomycetes or by alkaline hydrolysis. *Letters in applied microbiology*, 40(5), 335-340.

- Greeg, S. J., & Sing, K. S. (1982). *Adsorption surface area and porosity*. London: Academic Press.
- Greipsson, S. (2011). Phytoremediation. *Nature Education Knowledge* 3(10):7.
- Groover, M. P. (1997). *Fundamentos de Manufactura Moderna*. Prentice-Hall.
- Guha, S., & Jaffe, P. R. (1996). Two stage mineralization of phenantrene partitioned into the micellar phase on nonionic surfactants. *Environmenta Science Technology*, 605-611.
- Gupta, R., & Rammani, P. (2006). Microbial keratinases and their prpspective applications: an overview. *Applied Microbiology and Biotechnology* , 21-33.
- Gupta, S. S., & Bhattacharyya, K. G. (2006). Adsorption of Ni (II) on clays. *Journal of colloid and interface science*, 295(1), 21-32.
- Gupta, S., & Singh, R. (2014). Hydrolyzing proficiency of keratinases in feather degradation. *Indian journal of microbiology*, 54(4), 466-470.
- Gupta, V. K., & Ali, I. (2013). *Environmental Water. Advances in Treatment, Remediation and Recycling*. Oxford: Elsevier.
- Gupta, V. K., Carrott, P. J., Singh, R., Chaudhary, M., & Kushwaha, S. (2016). Cellulose: a review as natural, modified and activated carbon adsorbent. *Bioresource technology*, 216, 1066-1076.
- Gurdeep, R. (2002). *Surface Chemistry (Adsorption)*. Meerut : Krishna Prakashan .
- Gutiérrez, R. M., & Moreno, T. M. (29 de 05 de 1991). *Los Residuos en la Minería Mexicana*. Recuperado el 17 de Julio de 2013, de Instituto Nacional de Ecología: [http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/35/los\\_residuos.html](http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/35/los_residuos.html)
- Gutiérrez-Ruiz, M., Romero, F., & González-Hernández, G. (2007). 2007. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* (24:2), 170-184.
- Han, M., Luo, W., Gu, Q., & Yu, X. (2012). Isolation and characterization of a keratinolytic protease from a feather-degrading bacterium *Pseudomonas aeruginosa* C11. *African Journal of Microbiology Research*, 2211-2222.
- Han, R., Ding, D., Xu, Y., Zou, W., Wang, Y., Li, Y., & Zou, L. (2008). Use of rice husk for the adsorption of congo red from aqueous solution in column mode. *Bioresource technology*, 99(8), 2938-2946.
- Hansda, A., & Kumar, V. A. (2016). A comparative review towards potential of microbial cells for heavy metal removal with emphasis on biosorption and bioaccumulation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(170), 170.



- Harrap, B. W. (1964). Soluble derivatives of feather keratin. *Biochemical Journal*, 19-26.
- Harwood-Sears, V., & Gordon, A. (1990). Copper-induced production of copper-binding supernatant proteins by the marine bacterium *Vibrio alginolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1327-1332.
- Hastrup, S. C., Green, I. I., Clausen, C. A., & Jensen, B. (2005). Tolerance of *Serpulalacrymans* to copper-based wood preservatives. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 173-177.
- He, X., Zhang, Y., Shen, M., Tian, Y., Zheng, K., & Zeng, G. (2017). Vermicompost as a natural adsorbent: evaluation of simultaneous metals (Pb, Cd) and tetracycline adsorption by sewage sludge-derived vermicompost. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(9), 8375-8384.
- Ho, Y. S., & McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for sorption processes. *Process Biochemistry*, (34), 451-465.
- Holkar, C. R., Jadhav, A. J., Bhavsar, P. S., Kannan, S., Pinjari, D. V., & Pandit, A. B. (2016). Acoustic cavitation assisted alkaline hydrolysis of wool based keratins to produce organic amendment fertilizers. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(5), 2789-2796.
- Hossain, M. A., Hgo, H. H., Guo, W. S., & Nguyen, T. V. (2011). Removal of Copper from Water by Adsorption onto Banana Peel as Bioadsorbent. *International Journal of GEOMATE*, 227-234.
- Ikkert, O. P., Gerasimchuk, A. L., Bukhtiyarova, P. A., Tuovinen, O. H., & Karnachuk, O. V. (2013). Characterization of precipitates formed by H<sub>2</sub>S-producing, Cu-resistant Firmicute isolates of *Tissierella* from human gut and *Desulfosporosinus* from mine waste. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 103(6), 1221-1234.
- Inglezakis, V. J., & Pouloupoulos, S. G. (2006). *Adsorption, Ion Exchange and Catalysis. Design of Operations and Environmental Applications*. Oxford: Elsevier.
- Intoxicaciones. (2007). En C. Borodia, J. Mercader, & A. de la Puebla, *Valoración médica y jurídica de la incapacidad laboral* (pág. 585). Madrid: La Ley.
- Jafari, S., Yahyaei, B., Kusiak-Nejman, E., & Sillanpää, M. (2016). The influence of carbonization temperature on the modification of TiO<sub>2</sub> in the removal of methyl orange from aqueous solution by adsorption. *Desalination and Water Treatment*, 57(40), 18825-18835.
- Jain, R., Jain, P., & Agrawal, S. (2012). Feather degradation by *Streptomyces exfoliatus* CFS 1068. *Annals of Microbiology*, 973-978.

- Jeong, J. H., Lee, O. M., Jeon, Y. D., Kim, J. D., Lee, N. R., Lee, C. Y., & Son, H. J. (2010). Production of keratinolytic enzyme by a newly isolated feather-degrading *Stenotrophomonas maltophilia* that produces plant growth-promoting activity. *Process biochemistry*, *45*(10), 1738-1745.
- Jeong, J. H., Lee, O. M., Jeon, Y. D., Kim, J. D., Lee, N. R., Lee, C. Y., & Son, H. J. (2010). Production of keratinolytic enzyme by a newly isolated feather-degrading *Stenotrophomonas maltophilia* that produces plant growth-promoting activity. *Process biochemistry*, *45*(10), 1738-1745.
- Jeong, J., Jeon, Y., Lee, O., Kim, J., Lee, N., Park, G., & Son, H. (2010). Characterization of a multifunctional feather-degrading *Bacillus subtilis* isolated from forest soil. *Biodegradation*, 1029–1040.
- Jeong, J., Lee, O., Jeon, Y., Kim, J., Lee, N., Lee, C., & Son, H. (2010). Production of keratinolytic enzyme by a newly isolated feather-degrading *Stenotrophomonas maltophilia* that produces plant growth-promoting activity. *Process Biochemistry* *45* (10), 1738-1745.
- Jiang, J., Cooper, C., & Ouki, S. (2002). Comparison of modified montmorillonite adsorbents. Part I: preparation, characterization and phenol adsorption. *Chemosphere*, 711-716.
- Jiang, Y., Zhi-Cai, X., Suk-Woo, P., Jia, G., & Inn-Kyu, K. (2009). Fabrication of PHBV/Keratin Composite Nanofibrous Mats for Biomedical Applications. *Macromolecular Research* *17*, No. 11, 850-855.
- Jorgetto, A. O., Silva, R. I., Saeki, M. J., Barbosa, R. C., Martines, M. A., Jorge, S. M., . . . Castro, G. R. (2014). Cassava root husks powder as green adsorbent for the removal of Cu (II) from natural river water. *Applied Surface Science*, *288*, 356-362.
- Juárez, P. M., Reyes-Agüero, J., & Andrade, A. J. (1996). Flora útil de tres tipos de matorral en el altiplano potosino-zacatecano. *Geografía Agrícola*, 23-37.
- Jung, C., Heo, J., Han, J., Her, N., Lee, S., Oh, J., . . . Yoon, Y. (2013). Hexavalent chromium removal by various adsorbents: Powdered activated carbon, chitosan, and single/multi-walled carbon nanotubes. *Separation and Purification Technology*, *106*, 63-71.
- Kadukova, J., Manousaki, E., & Kalogerakis, N. (2008). Pb and Cd accumulation and phytoexcretion by salt cedar (*Tamarix smyrnensis* Bunge). *International journal of phytoremediation*, *10*(1), 31-46.
- Kainoor, P., & Naik, G. (2010). Production and characterization of feather degrading keratinase from *Bacillus* sp. JB 99. *Indian Journal of Biotechnology*, 384-290.

- Kalavathy, H., Karthikeyan, T., Rajgopal, S., & Lima, M. (2005). Kinetic and isotherm studies of Cu(II) adsorption onto H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-activated rubber wood sawdust. *Journal of Colloid and Interface Science*, 354–362.
- Kaliyappan, T., & Kannan, P. (2000). Coordination polymers. *Prog. Polym. Sci.*, 343-370.
- Kanchana, R., & Mesta, D. (2013). Native Feather Degradation by a Keratinophilic Fungus. *International Journal of ChemTech Research*, 2947-2954.
- Kantipuly, C., Katragadda, S., Chow, A., & Gesser, H. (1990). Chelating polymers and related supports for separation and preconcentration of trace metals. *Talanta*, 491-517.
- Kanwar, P., Mishra, T., & Mukherjee, G. (2017). Microbial Bioremediation of Hazardous Heavy Metals . En M. Prashanthi, R. Sundaram, A. Jeyaseelan, & T. Kaliannan, *Bioremediation and Sustainable Technologies for Cleaner Environment* (págs. 281-293). Springer.
- Kar, P., & Misra, M. (2004). Use of keratin fiber for separation of heavy metals from water. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 1313–1319.
- Karthikeyan, O. P., Rajasekar, A., & Balasubramanian, R. (2015). Bio-oxidation and biocyanidation of refractory mineral ores for gold extraction: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45(15), 1611-1643.
- Karthikeyan, S., Balasubramanian, R., & CSP, I. (2007). Evaluation of the marine algae *Ulva fasciata* and *Sargassum ps.* For the biosorption of Cu (II) from aqueous solutions. *Bioresources Technology*, 452-455.
- Khazali, O., Abu-El-Halawa, R., & Al-Sou'od, K. (2007). Removal of copper (II) from aqueous solution by Jordanian pottery materials. *Journal of hazardous materials*, 139(1), 67-71.
- Khosa, M. A., & Ullah, A. (2013). A sustainable role of keratin biopolymer in green chemistry: a review. *J Food Processing & Beverages*, 1(1), 8.
- Khosa, M., & Ullah, A. (2014). In-situ modification, regeneration, and application of keratin. *Journal of Hazardous Materials* 278, 360–371.
- Khosa, M., Wu, J., & Ullah, A. (2013). Chemical modification, characterization, and application of chicken feathers as novel biosorbents. *RSC Advances*, 20800-20810.
- Kojima, M., Kanai, M., Tominaga, M., Kitazume, S., Inoue, A., & Horikoshi, K. (2008). Isolation and characterization of a feather-degrading enzyme from *Bacillus pseudofirmus* FA30-01. *Extremophiles*, 10(3), 229-235.

- Kong, J., Yue, Q., Sun, S., Gao, B., Kan, Y., Li, Q., & Wang, Y. (2014). Adsorption of Pb (II) from aqueous solution using keratin waste–hide waste: equilibrium, kinetic and thermodynamic modeling studies. *Chemical Engineering Journal*, *241*, 393-400.
- Korniłowicz-Kowalska, T., & Bohacz, J. (2011). Biodegradation of keratin waste: theory and practical aspects. *Waste Management*, *31*(8), 1689-1701.
- Krishnamurthy, C. R., & Vishwanathan, P. (1991). *Toxic metals in the Indian environment*. Nueva Delhi: Mc Graw Hill.
- Kumar, A. G., Swarnalatha, S., Gayathri, S., Nagesh, N., & Sekaran, G. (2008). Characterization of an alkaline active–thiol forming extracellular serine keratinase by the newly isolated *Bacillus pumilus*. *Journal of applied microbiology*, *104*(2), 411-419.
- Kumar, K. V., & Sivanesan, S. (2005). Comparison of linear and non-linear method in estimating the sorption isotherm parameters for safranin onto activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, 288–292.
- Kunert, J. (1989). Biochemical mechanism of keratin degradation by the actinomycetes *Streptomyces fradiae* and the fungus *Microsporium gypseum*: a comparison. *Journal of Basic Microbiology*, 597–604.
- Kunert, J. (2000). Physiology of keratinophilic fungi. *Revista Iberoamericana de Micología*, 77-85.
- Kunitz, M. (1947). Crystalline soybean trypsin inhibitor. *The Journal of general physiology*, *30*(4), 291-310.
- Łaba, W., & Rodziewicz, A. (2010). Keratinolytic Potential of Feather-Degrading *Bacillus polymyxa* and *Bacillus cereus*. *Polish Journal of Environmental Studies*, 371-378.
- Lagergren, S. (1898). Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. Handlingar, Band 24. No. 4*, 1-39.
- Lakshmipathy, R., & Sarada, N. C. (2015). A fixed bed column study for the removal of Pb 2+ ions by watermelon rind. *Environmental Science: Water Research & Technology*, *1*(2), 244-250.
- Langmuir, I. (1918). The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica, and platinum. *Journal of the American Chemical Society*, 1361– 1368.
- Larous, S., Meniai, A. H., & Bencheikh, L. M. (2005). Experimental study of the removal of copper from aqueous solutions by adsorption using sawdust. *Desalination*, 483-490.
- Lateef, A., Oloke, J. K., Kana, E. G., Sobowale, B. O., Ajao, S. O., & Bello, B. Y. (2010). Keratinolytic activities of a new feather-degrading isolate of *Bacillus cereus* LAU 08

- isolated from Nigerian soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(2), 162-165.
- Le Cloirec, P., & Andrès, Y. (2005). Bioremediation of Heavy Metals Using Microorganism . En M. Fingerman, & R. Nagabhushanam, *Bioremediation of aquatic and terrestrial ecosystems* (págs. 97-103). New Orleans : Taylor & Francis .
- Liang, S., Guo, X., Feng, N., & Tian, Q. (2009). Application of orange peel xanthate for the adsorption of Pb 2+ from aqueous solutions. *Journal of hazardous materials*, 170(1), 425-429.
- Life, C. C. (2005). *El Cobre y nuestra Salud*. Recuperado el 20 de Noviembre de 2013, de Cobre. Salud, medio ambiente y nuevas tecnologías: [http://www.ecosea.cl/pdfs/Cobre\\_Salud\\_Medio\\_Ambiente\\_Nuevas\\_Tecnologias.pdf](http://www.ecosea.cl/pdfs/Cobre_Salud_Medio_Ambiente_Nuevas_Tecnologias.pdf)
- Lippmann, M. (2009). *Environmental Toxicants. Human Exposures and Their Health Effects*. New Jersey: Wiley.
- Liu, Y., & Liu, Y.-J. (2008). Biosorption isotherms, kinetics and thermodynamics. *Separation and Purification Technology* , 229-242.
- Lo, W.-H., Too, J.-R., & Wu, J.-Y. (2012). Production of keratinolytic enzyme by an indigenous featherdegrading strain *Bacillus cereus* Wu2. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *Journal of Bioscience and Bioengineering*.
- Luktenhaus, J. (1977). Role of a major outer membrane protein in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 631-637.
- Mackova, M., Dowling, D., & Macek, T. (2006). *Phytoremediation and rhizoremediation, Focus on Biotechnology*. Dordrecht: Springer.
- Mallampati, R., Xuanjun, L., Adin, A., & Valiyaveetil, S. (2015). Fruit peels as efficient renewable adsorbents for removal of dissolved heavy metals and dyes from water. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3(6), 1117-1124.
- Mallampati, R., Xuanjun, L., Adin, A., & Valiyaveetil, S. (2015). Fruit peels as efficient renewable adsorbents for removal of dissolved heavy metals and dyes from water. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3(6), 1117-1124.
- Marivela, C. G. (2002). *Metales pesados y medio ambiente*. Barcelona.
- Martinez-Hernandez, A. L., & Velasco-Santos, C. (2012). Keratin fibers from chicken feathers: Structure and advances in polymer composites. En R. Dullaart, & J. Mousquès, *Keratin:*

- Structure, Properties, and Applications* (págs. 149-211). Nueva York: Nova Science Publishers.
- Martins, A. E., Pereira, M. S., Jorgetto, A. O., Martines, M. A., Silva, R. I., Saeki, M. J., & Castro, G. R. (2013). The reactive surface of Castor leaf [*Ricinus communis* L.] powder as a green adsorbent for the removal of heavy metals from natural river water. *Applied Surface Science*, 276, 24-30.
- Matouq, M., Jildeh, N., Qtaishat, M., Hindiyeh, M., & Al Syouf, M. Q. (2015). The adsorption kinetics and modeling for heavy metals removal from wastewater by Moringa pods. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(2), 775-784.
- Matsui, T., Yamada, Y., Mitsuya, H., Shigeri, Y., Yoshida, Y., Saito, Y., . . . Watanabe, K. (2009). Sustainable and practical degradation of intact chicken feathers by cultivating a newly isolated thermophilic *Meiothermus ruber* H328. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 941–950.
- Mazotto, A. M., Couri, S., Damaso, M., & Vermelho, A. (2013). Degradation of feather waste by *Aspergillus niger* keratinases: Comparison of submerged and solid-state fermentation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 189-195.
- México, C. M. (2015). *Informe Anual 2015*. México, D. F. : Cámara Minera de México.
- Meza-Figueroa, d., De la O-Villanueva, M., & De la Parra, M. (2007). Heavy metal distribution in dust from elementary schools in Hermosillo, Sonora, Mexico. *Atmospheric Environment* (41), 276-288.
- Mittal, A., Thakur, V., & Gajbe, V. (2013). Adsorptive removal of toxic azo dye Amido Black 10B by hen feather. *Environmental Science & Pollution Research*, 260-269.
- Mlayah, A., & Jellali, S. (2015). Study of continuous lead removal from aqueous solutions by marble wastes: efficiencies and mechanisms. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(9), 2965-2978.
- Mohamad, N., Phang, L. Y., & Abd-Aziz, S. (2017). Optimization of metallo-keratinase production by *Pseudomonas* sp. LM19 as a potential enzyme for feather waste conversion. *Biocatalysis and Biotransformation*, 35(1), 41-50.
- Monod, M. (2008). Secreted proteases from dermatophytes. *Mycopathologia*, 166(5-6), 285-294.
- Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., González-Hernández, G., & Romero, F. (2009). Assessment of heavy metal pollution in urban topsoils from the metropolitan area of Mexico City. *Journal of Geochemical Exploration* (101), 218-224.

- Mosa, K. A., Saadoun, I., Kumar, K., Helmy, M., & Dhankher, O. P. (2016 ). Potential biotechnological strategies for the cleanup of heavy metals and metalloids. *Frontiers in plant science*, 7:303.
- Moudgil, B. M., & Soto, H. (1988). Adsorption of Surfactants on Minerals . En P. Somasundaran, & B. M. Moudgil, *Reagents in mineral technology* (págs. 80-101). New York: Marcel Dekker.
- Mukhopadhyay, R., & Chandra, A. (1993). Protease of a keratinolytic streptomycete to unhair goat skin. *Indian Journal of Experimental Biology*, 557-558.
- Muñoz, A. J., Espínola, F., Moya, M., & Ruiz, E. (2015). Biosorption of Pb (II) ions by *Klebsiella* sp. 3S1 isolated from a wastewater treatment plant: Kinetics and mechanisms studies. *BioMed research international*, 1-12.
- Nam, G. W., Lee, D. W., Lee, H. S., Lee, N. J., Kim, B. C., Choe, E. A., . . . Pyun, Y. R. (2002). Native-feather degradation by *Fervidobacterium islandicum* AW-1, a newly isolated keratinase-producing thermophilic anaerobe. *Archives of Microbiology*, 538-547.
- Ofinade, A. A., Al-Sane, N. A., Al-Musallam, A. A., & Al-Zarban, S. (1998). Potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources. *Bioresource Technology*, 1–11.
- Oguzie, E. E., Li, Y., & Wang, F. H. (2007). Corrosion inhibition and adsorption behavior of methionine on mild steel in sulfuric acid and synergistic effect of iodide ion. *Journal of Colloid and Interface Science*, 90–98.
- Ortega-Larrocea, M., Xoconostle-Cazares, B., Maldonado-Mendoza, I., Carrillo-Gonzalez, R., Hernandez-Hernandez, J., Diaz-Garduño, M., . . . M., G.-C. (2010). Plant and fungal biodiversity from metal mine wastes under remediation at Zimapan, Hidalgo, Mexico. *Environmental Pollution (158)*, 1922-1931.
- Pan, B. C., Zhang, W. M., Pan, B. J., Qiu, H., & Zhang, Q. R. (2008). Efficient Removal of Aromatic Sulfonates from Wastewater by a Recyclable Polymer: 2-Naphthalene Sulfonate as a Representative Pollutant. *Environmental Science & Technology*, 7411-7416.
- Panda, S., Akcil, A., Pradhan, N., & Deveci, H. (2015). Current scenario of chalcopyrite bioleaching: A review on the recent. *Bioresource Techonology*, (196), 694-706.
- Park, S. J., & Seo, M. K. (2011). Solid-Liquid Interaction. En S. J. Park, & M. K. Seo, *Interface science and composites (Vol. 18)* (págs. 147-245). Oxford: Academic Press.

- Parrado, J., Rodriguez-Morgado, B., Tejada, M., Hernandez, T., & Garcia, C. (2014). Proteomic analysis of enzyme production by *Bacillus licheniformis* using different feather wastes as the sole fermentation media. *Enzyme and Microbial Technology*, *Volumen 57*, *10*, 1-7.
- Patrick, L. (2006). Lead toxicity, a review of the literature. Part 1: Exposure, evaluation, and treatment. *Alternative medicine review*, *11(1)*, 2-23.
- Paul, T., Das, A., Mandal, A., Halder, S., DasMohapatra, P., Pati, B., & Monda, K. (2014). Valorization of Chicken Feather Waste for Concomitant Production of Keratinase, Oligopeptides and Essential Amino Acids Under Submerged Fermentation by *Paenibacillus woosongensis* TKB2. *Waste Biomass Valor*, *5*, 575–584.
- Pereira, F. E., Soares, S., Órfão, J., & Figueiredo, J. (2003). Adsorption of dyes on activated carbons: influence of surface chemical groups. *Carbon* (*41*), *4*, 811-821.
- Petrović, M., Šoštarić, T., Stojanović, M., Milojković, J., Mihajlović, M., Stanojević, M., & Stanković, S. (2016). Removal of Pb<sup>2+</sup> ions by raw corn silk (*Zea mays* L.) as a novel biosorbent. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, *58*, 407-416.
- Ping, S., Zhao-Tie, L., & Zhong-Wen, L. (2009). Chemically Modified Chicken Feather as Sorbent for Removing Toxic Chromium(VI) Ions. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 6882–6889.
- Rahayu, S., & Bata, M. (2015). Quality of chicken feather processed in different conditions. *Animal Production*, *16(3)*, 170-175.
- Ramírez, M. G., Avelizapa, L. R., Avelizapa, N. R., & Camarillo, R. C. (2004). Colloidal chitin stained with Remazol Brilliant Blue R®, a useful substrate to select chitinolytic microorganisms and to evaluate chitinases. *Journal of microbiological methods*, *56(2)*, 213-219.
- Rathoure, A. K., & Dhatwalia, V. K. (2016). *Toxicity and Waste Management Using Bioremediation*. Hershey: IGI Global.
- Razo, I., Carrizales, L., J., C., Díaz-Barriga, F., & Monroy, M. (2004). Arsenic and Heavy Metal Pollution of Soil, Water and Sediments in a Semi-Arid Climate Mining Area in Mexico. *Water, Air, and Soil Pollution*, 129-152.
- Reynel-Avila, H. E., Bonilla-Petriciolet, A., & de la Rosa, G. (2015). Analysis and modeling of multicomponent sorption of heavy metals on chicken feathers using Taguchi's experimental designs and artificial neural networks. *Desalination and Water Treatment*, *55(7)*, 1885-1899.



- Reynel-Avila, H. E., de la Rosa, G., Rojas-Mayorga, C. K., Cano-Aguilera, I., & Bonilla-Petriciolet, A. (2011). Kinetic and thermodynamic modeling of Cd<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> biosorption by raw chicken feathers. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 9(1).
- Reynel-Avila, H. E., Mendoza-Castillo, D. I., Hernández-Montoya, V., & Bonilla-Petriciolet, A. (2011). Multicomponent removal of heavy metals from aqueous solution using low-cost sorbents. En B. Antizar-Ladislao, & R. Sheikholeslami, *Water production and wastewaters treatment* (págs. 69-99). Nova Science Publishers, Inc.
- Rieman, W., & Walton, H. F. (1970). *Ion exchange in analytical chemistry*. International series of monographs in analytical chemistry, v. 38.
- Riffel, A., Brandelli, A., Bellato, C. D., Souza, G. H., Eberlin, M. N., & Tavares, F. C. (2007). Purification and characterization of a keratinolytic metalloprotease from *Chryseobacterium* sp. kr6. *Journal of biotechnology*, 128(3), 693-703.
- Rodrigues, N., Taira, C., Vandresen, D., Svidzinski, T., Kadowaki, M., & Peralta, R. (2008). New Feather-Degrading Filamentous Fungi. *Microbial Ecology*, 13-17.
- Rodriguez, F. C. (2005). *Bioteconología ambiental*. Madrid: Tébar.
- Rojas, A. L., Cruz, C. R., Guerrero, M. I., Rodríguez, V. R., & Ibarra, J. E. (1999). Selection and characterization of a proteo-chitinolytic strain of *Bacillus thuringiensis*, able to grow in shrimp waste media. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 261-268 .
- Rosales-Hoz, L., Cundy, A., & Bahena-Manjarrez, J. (2003). Heavy metals in sediment cores from a tropical estuary affected by anthropogenic discharges: Coatzacoalcos estuary, Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* (58), 117-126.
- Ruelas-Inzunza, J., Green-Ruiz, C., Zavala-Nevárez, M., & Soto-Jiménez, M. (2011). Biomonitoring of Cd, Cr, Hg and Pb in the Baluarte River basin associated to a mining area (NW Mexico). *Science of the Total Environment* (409), 3527-3536.
- Ruiz-Fernandez, A., Hillaire-Marcelb, C., Paez-Osuna, F., Ghaleb, B., & Soto-Jimenez, M. (2003). Historical trends of metal pollution recorded in the sediments of the Culiacan River Estuary, Northwestern Mexico. *Applied Geochemistry* (18), 577-588.
- Rural, F. (12 de Junio de 2013). *Monografía del Pollo*. Obtenido de [http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADaPollo\(feb12\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADaPollo(feb12).pdf)
- Saha, P., & Chowdhury, S. (2011). Insight into adsorption thermodynamics. En M. Tadash, *Thermodynamics* (págs. 349-364). Rijeka: InTech.

- Sangeeta, M., & Maiti, S. K. (2010). Phytoremediation of metal enriched mine waste: a review. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 9(5), 560-575.
- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M. R., Ishaq, W., Kamran, A., Matloob, A., . . . Hussain, S. (2016). Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere* 171, 710-721.
- Sdiri, A., Khairy, M., Bouaziz, S., & El-Safty, S. (2016). A natural clayey adsorbent for selective removal of lead from aqueous solutions. *Applied Clay Science*, 126, 89-97.
- SEMARNAT. (2008). *Programa Nacional para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos 2009-2012*. D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- Senoz, E., & Wool, R. (2010). Microporous Carbon–Nitrogen Fibers from Keratin. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 118, 1752–1765.
- Sevim, A. M., Hojiyev, R., Gül, A., & Çelik, M. S. (2011). An investigation of the kinetics and thermodynamics of the adsorption of a cationic cobalt porphyrine onto sepiolite. *Dyes and Pigments*, 88(1), 25-38.
- Sharma, S. K. (2014). *Heavy Metals in Water: Presence, Removal and Safety*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Sharma, S., Singh, B., & Manchanda, V. K. (2015). Phytoremediation: role of terrestrial plants and aquatic macrophytes in the remediation of radionuclides and heavy metal contaminated soil and water. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(2), 946-962.
- Shemshadi, R., Arvand, M., Efendiev, A., & Zeynalov, A. (2012). Application of synthetic polymers as adsorbents for the removal of cadmium from aqueous solutions: Batch experimental studies. *Caspian Journal of Environmental Science*, 1-8.
- Sheoran, V., Sheoran, A. S., & Poonia, P. (2010). Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 41(2), 168-214.
- Sherameti, I., & Varma, A. (2010). *Soil heavy metals (Vol. 19)*. Berlin: Springer.
- Shi, J., Zhao, Z., Liang, Z., & Sun, T. (2016). Adsorption characteristics of Pb (II) from aqueous solutions onto a natural biosorbent, fallen arborvitae leaves. *Water Science and Technology*, 73(10), 2422-2429.
- Shih, J. (1993). Recent development in poultry waste digestion and feather utilization—a review. *Poultry Science*, 1617–1620.

- Shirai, K., & Jackson, R. L. (1982). Lipoprotein lipase-catalyzed hydrolysis of p-nitrophenyl butyrate. Interfacial activation by phospholipid vesicles. *Journal of Biological Chemistry*, 257(3), 1253-1258.
- Shrivastava, A. K. (2009). A review on copper pollution and its removal from water bodies by pollution control technologies. *Indian J. Environmental Protection*, 552 - 560.
- Sigh, D., Vyas, P., Sahni, S., & Sangwan, P. (2015). Phytoremediation: A Biotechnological Intervention . En G. Kaushik, *Applied Environmental Biotechnology: Present Scenario and Future Trends* (págs. 59-76). India: Springer.
- Singha, B., Naiya, T. K., Bhattacharya, A. K., & Das, S. K. (2011). Cr(VI) Ions Removal from Aqueous Solutions Using Natural Adsorbents—FTIR Studies . *Journal of Environmental Protection*, 729-735 .
- Sinkiewicz, I., Śliwińska, A., Staroszczyk, H., & Kołodziejka, I. (2016). Alternative Methods of Preparation of Soluble Keratin from Chicken Feathers. *Waste and Biomass Valorization*, 4(8), 1043-1048.
- Song, J., Zou, W., Bian, Y., Su, F., & Han, R. (2011). Adsorption characteristics of methylene blue by peanut husk in batch and column modes. *Desalination*, 265(1), 119-125.
- Soto-Jimenez, M., & Paez-Osunab, F. (2001). Distribution and Normalization of Heavy Metal Concentrations in Magrove and Lagoonal Sedimentos from Mazatlán Harbor (SE Gulf of California) . *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, (53), 259-274.
- Srinivasan, R., Hristovski, K., Dwivedi, S., & Wu, Y. (2013). *Green Materials for Sustainable Water Remediation and Treatment* (Vol. 23). (M. A., J. H. Clark, G. A. Kraus, P. R. Seidl, & A. Stankiewicz, Edits.) Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Stingone, J. A., & Wing, S. (2011). Poultry litter incineration as a source of energy: reviewing the potential for impacts on environmental health and justice. *NEW SOLUTIONS: A Journal of Environmental and Occupational Health Policy*, 21(1), 27-42.
- Stroo, H. F., & Ward, C. H. (2010). *In situ remediation of chlorinated solvent plumes* . New York: Springer .
- Stuart, B. (2005). Moléculas orgánicas. En B. Stuart, *Infrared Spectroscopy* (págs. 71-93). John Wiley & Sons.
- Su, Y., Zhao, B., Xiao, W., & Han, R. (2013). Adsorption behavior of light green anionic dye using cationic surfactant-modified wheat straw in batch and column mode. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(8), 5558-5568.

- Sucharita, S., & Kuma, N. (2016). Bioremediation: A Novel Green Technology to Clean Up the Highly Contaminated Chromites Mining Sites of Odisha. En M. B. Approach, *Shukla, P.* (págs. 21-34). Boca Raton: CRC Press.
- Suneetha, V., & Lakshmi, V. (2005). Optimisation of parameters for fermentative production of keratinase by feather degrading microorganisms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 106-115.
- Swetlana, N., & Jain, P. C. (2010). Feather degradation by strains of Bacillus isolated from decomposing feathers. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(1), 196-200.
- Tabak, H. H., Lens, P., van Hullebusch, E. D., & Dejonghe, W. (2005). Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides—1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 4(3), 115-156.
- Tahir, S. S., & Rauf, N. (2006). Removal of a cationic dye from aqueous solutions by adsorption onto bentonite clay. *Chemosphere*, 63(11), 1842-1848.
- Takács-Santa, A. (2004). The major transities in the History of Human Transformation of the Biosphere. *Human Ecology Review*, Vol. 11, No. 1, 51-66.
- Temkin, M. I., & Pyzhev, V. (1949). Kinetics of ammonia synthesis on promoted iron catalysts. *Acta physiochim. URSS*, 12(3), 217-222.
- Teng, H., & Hsieh, C. T. (1999). Activation energy for oxygen chemisorption on carbon at low temperatures. *Industrial & engineering chemistry research*, 38(1), 292-297.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D., & Chunilall, V. (2017). Valorisation of chicken feathers: Characterisation of physical properties and morphological structure. *Journal of Cleaner Production*, 149, 349-365.
- Thakur, S., Singh, L., Ab Wahid, Z., Siddiqui, M. F., At Naw, S. M., & Din, M. F. (2016). Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. *Environmental monitoring and assessment*, 188(4), 206.
- Thomas, H. C. (1944). Heterogeneous ion exchange in a flowing system. *Journal of the American Chemical Society*, 66(10), 1664-1666.

- Tiwary, E., & Gupta, R. (2010). Medium optimization for a novel 58kDa dimeric keratinase from *Bacillus licheniformis* ER-15: Biochemical characterization and application in feather degradation and dehairing of hides. *Bioresource technology*, *101*(15), 6103-6110.
- Tronina, P., & Bubel, F. (2008). Production of organic fertilizer from poultry feather wastes excluding the composting process. *Polish Journal of Chemical Technology*, *10*(2), 33.
- Ullah, A., Heng, S., Munis, M. F., Fahad, S., & Yang, X. (2015). Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: a review. *Environmental and Experimental Botany*, *117*, 28-40.
- Uslu, G., & Hanay, O. (2017). Metal-Microbe Interactions and Microbial Bioremediation of Toxic Metals . En S. Das, & H. R. Dash, *Handbook of Metal-microbe Interactions and Bioremediation* (págs. 99-107). Boca Raton: CRC Press.
- Uslu, G., & Tanyol, M. (2006). Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead (II) and copper (II) ions onto *Pseudomonas putida*: Effect of temperature. *Journal of Hazardous Materials*, 87–93.
- Van Oosten, M. J., & Maggio, A. (2015). Functional biology of halophytes in the phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Environmental and experimental botany*, *111*, 135-146.
- Van't Hoff, J. H. (1884). *Etudes de dynamique chimique (Vol. 1)*. Amsterdam: Muller.
- Veerabadrán, V., Balasundari, S. N., Devi, D. M., & Kumar, D. M. (2012). Optimization and production of proteinacious chicken feather fertilizer by proteolytic activity of *Bacillus* sp. MPTK 6. *Indian Journal of Innovations and Developments*, *1*(3), 193-198.
- Veli, S., & Alyüz, B. (2007). Adsorption of copper and zinc from aqueous solutions by using natural clay. *Journal of Hazardous Materials* , 226–233.
- Vijayaraghavan, K., Jegan, J., Palanivelu, K., & Velan, M. (2005). Batch and column removal of copper from aqueous solution using a brown marine alga *Turbinaria ornata*. *Chemical Engineering Journal*, *106*(2), 177-184.
- Volke, S. T., Velasco, T. J., & de la Rosa, P. D. (2005). *Suelos contaminados por metales y metaloides: muestre y altermativas para su remediación*. México: INE.
- Wakida, F., Lara-Ruiz, D., Temores-Peña, J., Rodríguez-Ventura, J., Diaz, C., & Garcia-Flores, E. (2008). Heavy metals in sediments of the Tecate River, Mexico. *Environmental Geology* (*54*), 637-642.

- Wan, S., Ma, Z., Xue, Y., Ma, M., Xu, S., Qian, L., & Zhang, Q. (2014). Sorption of lead (II), cadmium (II), and copper (II) ions from aqueous solutions using tea waste. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(9), 3629-3635.
- Wang, L., Zhang, J., Zhao, R., Li, C., Li, Y., & Zhang, C. (2010). Adsorption of basic dyes on activated carbon prepared from *Polygonum orientale* Linn: equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Desalination*, 254(1), 68-74.
- Wang, Z., Bai, R., & Ting, Y. P. (2008). Conversion of Waste Polystyrene into Porous and Functionalized Adsorbent and Its Application in Humic Acid Removal. *Industrial & Engineering Chemical Research*, 1861–1867.
- Weber, T. W., & Chakraborty, R. K. (1974). Pore and Solid diffusion models for fixed bed adsorbers. *American Institute of Chemical Engineers*, 228–238.
- Weber, W. J., & Morris, J. C. (1963). Kinetics of adsorption on carbon from solution. *Journal of the Sanitary Engineering Division*, 89(2), 31-60.
- Williams, C., Richter, C., Mackenzie, J., & Shih, J. (1990). Isolation, identification and characterization of a feather degrading bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*, 1509-1515.
- Worch, E. (2012). *Adsorption technology in water treatment: fundamentals, processes, and modeling*. Berlin/Boston: Walter de Gruyter.
- Wyatt, J., Fimbres, C., Romo, L., Mendez, R., & Grijalva, M. (1998). Incidence of Heavy Metal Contamination in Water Supplies in Northern Mexico . *Environmental Research, Section A* (76), 114-119.
- Xu, Y., Zhang, C., Zhao, M., Rong, H., Zhang, K., & Chen, Q. (2017). Comparison of bioleaching and electrokinetic remediation processes for removal of heavy metals from wastewater treatment sludge. *Chemosphere* (168) , 1152-1157.
- Yamamura, S., Morita, Y., Hasan, Q., Yokoyama, K., & Tamiya, E. (2002). Keratin degradation: a cooperative action of two enzymes from *Stenotrophomonas* sp. *Biochemical and biophysical research communications*, 294(5), 1138-1143.
- Yan, G., Viraraghavan, T., & Chen, M. (2001). A new model for heavy metal removal in a biosorption column. *Adsorption Science & Technology*, 19(1), 25-43.
- Yuan, S. Y., Wei, S. H., & Chang, B. V. (2000). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a mixed culture. *Chemosphere*, 1463-1468.

- Yusuf, I., Ahmad, S. A., Phang, L. Y., Syed, M. A., Shamaan, N. A., Khalil, K. A., . . . Shukor, M. Y. (2016). Keratinase production and biodegradation of polluted secondary chicken feather wastes by a newly isolated multi heavy metal tolerant bacterium-Alcaligenes sp. AQ05-001. *Journal of environmental management*, 183, 182-195.
- Zorrig, W., Rabhi, M., Ferchichi, S., Smaoui, A., & Abdelly, C. (2012). Phytodesalination: a solution for salt-affected soils in arid and semi-arid regions. *Journal of Arid Land Studies*, 22, 299-30.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA**

**PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS  
AMBIENTALES**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**REMOCIÓN DE Pb<sup>2+</sup> EN FASE ACUOSA MEDIANTE SISTEMAS POR LOTE Y  
CONTINUO UTILIZANDO UN BIOADSORBENTE QUERATINOSO  
BIODEGRADABLE**

PRESENTA:

**CLAUDIA ANGÉLICA SOLÍS MORENO**

COMITÉ TUTELAR:

DIRECTOR: DRA. ELSA CERVANTES GONZÁLEZ

ASESOR: DRA. CANDY CARRANZA ÁLVAREZ

ASESOR: DR. LUIS ARMANDO BERNAL JÁCOME

SINODALES:

PRESIDENTE: DRA. ELSA CERVANTES GONZÁLEZ

SECRETARIO: DR. LUIS ARMANDO BERNAL JÁCOME

VOCAL: DR. ISRAEL RAZO SOTO