



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**BIOSORCIÓN DE As(V) y As(III) EN SOLUCIÓN ACUOSA
UTILIZANDO PERLAS DE ALGINATO PROTONADO
CON DOS POLICACIONES**

Por:

Cristopeer Thomas Busani

Tesis aprobada por la:

Coordinación de Ciencia de los Alimentos

Como requisito parcial para obtener el grado de

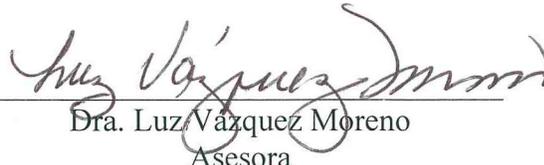
MAESTRÍA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

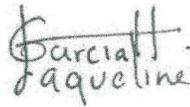
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Cristopeer Thomas Busani, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



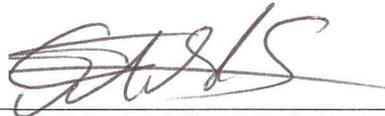
Dra. Gabriela Ramos Clamont Montfort
Directora de Tesis



Dra. Luz Vázquez Moreno
Asesora



Dra. Jaqueline García Hernández
Asesora



Dr. José Andre-i Sarabia Sainz
Asesor



Dr. Tomás Jesús Madera Santana
Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis requiere la autorización escrita, del manuscrito en cuestión, del director o directora de tesis. En estos casos siempre se deberá dar los créditos al CIAD.



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca brindada para poder llevar a cabo este proyecto.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., por darme formación bajo su nombre. A la Coordinación de Programas Académicos y a la Coordinación de Ciencia de los Alimentos, por todo su apoyo durante la realización de mi tesis.

A la Dra. Gabriela Ramos Clamont Montfort, por sus enseñanzas, su tiempo y dedicación a mi formación profesional, siento un gran afecto y agradecimiento hacia usted.

A la Dra. Luz Vázquez Moreno, por abrirme las puertas de su laboratorio, sus asesorías y ayuda durante este tiempo.

Al Dr. Andre-i Sarabia Sainz, por su apoyo con reactivos para el proyecto, así como sus enseñanzas y asesorías sobre las modificaciones químicas realizadas a los alginatos.

Al Dr. Tomás Jesús Madera Santana, por seguir enseñándome, más que un gran asesor se convirtió en un gran amigo.

A la Dra. Jaqueline García Hernández, por permitirme trabajar en su laboratorio y darnos todo el apoyo necesario para llevar a cabo este proyecto.

Al personal de CIAD unidad Guaymas, por su actitud amable y positiva en mis visitas a sus instalaciones.

A la Q.B. Rosa Idalia Armenta Corral, creo que aun estuviera perdido en el laboratorio sin tu ayuda y apoyo en este trabajo. Muchas gracias por apoyarme en las técnicas de encapsulamiento liofilización, FTIR, observaciones espectrofotométricas y toma de micrografías.

A M.C. Ana María Guzmán y M.C Ana María Robles Burgueño, por prestarme un poco de su tiempo cuando lo requería.

A Teresa Saucedo, por su apoyo en trámites, su gran sentido del humor, y claro, esas ocasiones que me dabas café, muchas gracias.

Al Laboratorio de Residuos Tóxicos del CIAD y en especial a la QB. María del Carmen Frasquillo Félix por sus asesorías técnicas sobre métodos de determinación de arsénico, absorción atómica y preparación y manejo de soluciones de metales pesados

Al Dr. Alexel Burgara, por su apoyo con los análisis de AFM.

Al Dr. Jesús Hernández por su apoyo en reactivos y especialmente a la MC Mónica Reséndiz Sandoval por su apoyo técnico en el manejo de reactivos para síntesis.

Al personal del laboratorio nacional de biomateriales (LANBIO) del centro de investigación en estudios avanzados (CINVESTAV) unidad Mérida: Dra. Patricia Quintana Owen, Ana Cristóbal y M.C Dora Huerta por su apoyo con los estudios de SEM-EDX.

A la Plataforma Analítica Institucional del CIAD por el apoyo en equipos utilizados en mi estudio y asesorías para su uso

A mis compañeros de laboratorio: Gera, Caro, Martha, Ale V, Ale Ch, Gio, Diana, por hacer divertido todo el tiempo que pude compartir con ustedes. Igual, a mis compañeros de maestría: Kike, Roció, Andrea, Javier y demás, gracias.

A mis amigos de toda la vida, Raul, Alex, Shava, Lirio, Shipi, Marcos, Erik, Oswald, Cano, a pesar de que pasan los años y cada quien recorre caminos diferentes, siempre nos mantenemos unidos.

Y a todas esas personas que de momento no se me vienen a la mente, gracias.

DEDICATORIA

A mi familia: a mi madre Rita por aguantarme y ayudarme en todo lo que pueda, mi padre William por aconsejarme y enseñarme tantas cosas, mis hermanos William y Jesse que de una forma u otra aportan algo.

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	6
CONTENIDO	7
LISTA DE TABLAS	9
LISTA DE FIGURA	10
RESUMEN	12
ABSTRACT	14
1. INTRODUCCIÓN	16
2. ANTECEDENTES	18
2.1. Arsénico: Propiedades Químicas y Fuentes de As.....	18
2.2. Contaminación de Agua, Regulación y Efecto en la Salud de A.....	19
2.3. Contaminación de Agua con As en México.....	21
2.4. Métodos para la Determinación de As en Agua.....	21
2.5. Métodos Comunes para la Remoción de As en Agua.....	22
2.5.1. Precipitación Química.....	23
2.5.2. Intercambio Iónico.....	24
2.5.3. Coagulación/Floculación.....	25
2.5.4. Filtración por Membrana.....	26
2.5.5. Adsorción y Absorción.....	26
2.6. Biosorción: Definición y Fundamento.....	27
2.6.1. Algas Marinas como Biosorbentes de Metales Pesados.....	30
2.6.2. Alginato como Captador de Metales Pesados.....	31
2.7. Modificaciones al Alginato para Captación de As.....	33
2.7.1. Biocompuestos de Alginato.....	33
2.7.2. Encapsulamientos de Nanopartículas Absorbentes en Matrices de Alginato.....	34
2.7.3. Entrecruzamiento con Policaciones.....	34
2.8. Perspectiva del Uso de Alginato Protonado en la Remoción de As en Aguas Contaminadas.....	36
3. HIPOTESIS	37
4. OBJETIVO	38
4.1. Objetivos Específicos.....	38
5. MATERIALES Y MÉTODOS	39
5.1. Esquema General de Trabajo.....	39
5.2. Materiales.....	39

CONTENIDO (Continuación)

5.3. Influencia de pH en Carga de PEI y PLL.....	40
5.4. Síntesis de Perlas de Alginato.....	41
5.5. Protonación de Perlas de Alginato.....	55
5.6. Morfología, Tamaño, Humedad y Carga Superficial de Perlas de Alginato Modificadas.....	42
5.7. Análisis de Espectroscopia de FTRI-ATR.....	43
5.8. Análisis Termogravimétrico (TGA).....	43
5.9. Microscopia de Fuerza Atómica (AFM).....	43
5.10. Ensayos de Biosorción de As(V) y As(III) en Columna.....	44
5.11. Ensayos de Adsorción de As(V) y As(III) en Condiciones de Competencia con Iones Fosfato y Reutilización de Adsorbente.....	45
5.12. Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopia Dispersiva de Rayos X.....	46
5.13. Diseño Estadístico.....	47
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	48
6.1. Influencia del pH en Carga de PEI y PLL.....	48
6.2. Protonación, Morfología y Tamaño de Perlas de Alginato y sus Modificaciones.....	49
6.3. Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier con Reflexión Total Atenuada (FTIR-ATR).....	55
6.4. Análisis Termogravimétrico (TGA).....	58
6.5. Microscopia de Fuerza Atómica (AFM).....	62
6.6. Biosorción de As(V) y As(III) por las Perlas de Alginato Protonadas.....	65
6.7. Adsorción de As(V) y As(III) en Condiciones de Competencia y Reutilización de Biosorbente.....	68
6.8. Microscopia Electrónica y Análisis Elemental de Perlas de Alginato Protonadas.....	73
7. RESUMEN DE HALLAZGOS.....	77
8. CONCLUSIONES.....	78
9. REFERENCIAS.....	79

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Propiedades fisicoquímicas del arsénico.....	18
2. Valores de tamaño, humedad y potencial Z de alginato y sus modificaciones...	49
3. Número de onda y grupos funcionales de espectro de infrarrojo de alginato....	55
4. Porcentajes y capacidades máximas de remoción de As(V) y As(III) de las distintas formulaciones.....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Especies inorgánicas de As: (A) arsenato y (B) arsenito.....	20
2. Concentraciones de As reportadas en diversos estados de la república mexicana.....	23
3. Principales mecanismos de biosorción de metales pesados.....	29
4. Estructura química del alginato.....	41
5. Interacción Ca^{2+} -alginato en modelo de “la caja de huevo”.....	32
6. Estructura química de (A) polietilenimina (PEI) y (B) poli-L-lisina.....	35
7. Esquema general de trabajo.....	40
8. Morfología de perlas de alginato antes y después de la protonación con los policationes mediante ambos métodos.....	48
9. Mecanismo de formación de enlace amida utilizando EDC/NHS.....	50
10. Potencial Z de PEI y PLL en función del pH.....	51
11. Estructura de perlas de alginato entrecruzadas con policationes utilizando GA. 53	
12. Potencial Z de modificaciones de perlas de alginato en rango de pH de 6.5-7.5: modificaciones con (A) PLL y (B) PEI.....	54
13. FTIR-ATR de modificaciones de perlas de alginato con PEI.....	56
14. FTIR-ATR de modificaciones de perlas de alginato con PLL.....	58
15. Curvas (A) y derivadas (B) de modificaciones de perlas de alginato con PEI... 59	
16. Curvas (A) y derivadas (B) de modificaciones de perlas de alginato con PLL... 61	
17. Imágenes 3D de superficies de perlas de alginato y sus modificaciones con PEI: (A) Ca-Alg, (B) Ca-Alg-EDC/NHS-PEI y (C) Ca-Alg-GA-PEI.....	63

18. Imágenes 3D de superficies de perlas de alginato y sus modificaciones con PLL: (A) Ca-Alg, (B) Ca-Alg-EDC/NHS-PLL y (C) Ca-Alg-GA-PLL.....	64
19. Remoción de As(V) en solución acuosa por modificaciones de perlas de alginato a pH 7.....	65
20. Remoción de As(III) en solución acuosa por modificaciones de perlas de alginato a pH 7.....	67
21. Remoción de As(V) y As(III) utilizando la formulación Ca-Alg-GA-PEI en condiciones de competencia.....	69
22. Remoción de As(V) utilizando la formulación Ca-Alg-GA-PEI en condiciones de competencia con iones fosfato.....	70
23. Remoción de As(III) utilizando la formulación de Ca-Alg-GA-PEI en condiciones de competencia con iones fosfato.....	71
24. Ciclos de remoción de As(V) utilizando la formulación Ca-Alg-GA-PEI.....	72
25. Ciclos de remoción de As(III) utilizando la formulación Ca-Alg-GA-PEI.....	72
26. Microscopias electrónicas de (A) Ca-Alg, (B) Ca-Alg-GA-PEI, (C) Ca-Alg-GA-PEI-As(V) y (D) Ca-Alg-GA-PEI-As(III) a una magnificación de 60X....	74
27. Microscopias electrónicas de (A) Ca-Alg, (B) Ca-Alg-GA-PEI, (C) Ca-Alg-GA-PEI-As(V) y (D) Ca-Alg-GA-PEI-As(III) a una magnificación de 1000X..	75
28. Análisis de EDX de (A) Perlas de alginato antes de la protonación, (B) después de la protonación y captación de (C) As(V) y (D) As(III).....	76

RESUMEN

El arsénico (As) es el metal pesado más tóxico. El agua contaminada con As, es la principal vía de exposición. Una alternativa para removerlo del agua, es la biosorción. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de remoción de As(V) y As(III) usando perlas de alginato protonadas con dos policationes: poli-L-lisina (PLL) y Polietilenimina (PEI). Las perlas se entrecruzaron con los policationes mediante dos métodos: A) utilizando 1-etil-3 (3-dimetilaminopropilcarbodiimida) (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS); B) entrecruzamiento con glutaraldehído (GA), obteniéndose 4 formulaciones, y se caracterizaron mediante carga superficial, tamaño, morfología, espectroscopia de infrarrojo (FTIR), termogravimetría (TGA), microscopia de fuerza atómica (AFM). Las modificaciones produjeron perlas esféricas con tamaños homogéneo (1.23 ± 0.11 mm). La carga superficial, el análisis de FTIR y TGA evidenciaron la protonación. La carga superficial de las perlas cambió de negativa (control -27.5 ± 1.46 mV) a positiva, método uno: PLL= $+23.60 \pm 0.15$; PEI= $+23.26 \pm 0.27$ mV; método dos: PLL = $+0.6273 \pm 0.12$; PEI = $+10.29 \pm 0.16$ mV. Los espectros de FTIR mostraron la aparición y corrimiento de bandas correspondientes a grupos metileno, amino y carbonilos, mientras que los patrones termogravimétricos de descomposición de todas las formulaciones cambiaron. De los cuatro tratamientos, las perlas entrecruzadas con PEI, utilizando glutaraldehído presentaron mayor capacidad máxima de remoción de As(V): 271.74 ± 28.9 y As(III): 705.4 ± 6.06 $\mu\text{g/g}$, cuantificado mediante voltamperometría. Con este tratamiento, se llevaron a cabo experimentos de adsorción en condiciones de competencia entre las especies de arsénico, así como entre fosfatos y arsénico, y ciclos de regeneración para determinar la reutilización de las perlas. Se observó una disminución en la remoción de arsénico cuando coexisten las especies, disminuyendo de 36.4 y 66.7 % en la eficiencia de remoción de As(V) y As(III) a 24.8 y 20.1 % de remoción de As(V) y As(III) respectivamente. Así mismo, disminuyó la eficiencia de remoción hasta 18.4 y 26.9 % de As(V) y As(III) respectivamente en presencia de iones fosfato. Los adsorbentes pueden ser regenerados con NaOH, manteniendo su capacidad de remoción de As(V) y As(III). La microscopia

electrónica mostró cambios en la morfología de las perlas después de la remoción de As, y la espectroscopia dispersiva de rayos X revelaron la presencia de As en las perlas de alginato protonadas. En conclusión, el uso de perlas de alginato protonado con policationes, es una buena alternativa para la remoción de especies inorgánicas de arsénico en agua contaminada.

Palabras clave: Biosorción; protonación; alginato; arsenato; arsenito

ABSTRACT

Arsenic is considered the most toxic heavy metal, and the contamination of water with this element is a great concern, since the consumption of contaminated water is the principal route of exposure to arsenic. A good alternative for the removal of arsenic from water is the use of biosorbents. The objective of the present work was to evaluate the ability to remove As (V) and As (III) from alginate beads protonated with two polycations: poly-L-lysine (PLL) and polyethyleneimine (PEI). The beads were crosslinked covalently with the polycations by two methods: A) using 1-ethyl-3 (3-dimethylaminopropylcarbodiimide) (EDC) in the presence of N-hydroxysuccinimide (NHS) and B) crosslinking with glutaraldehyde (GA). Four formulations were obtained which were characterized by their surface charge, size, morphology, infrared spectroscopy with Fourier transform with total attenuated reflection (FTIR-ATR), thermogravimetry (TGA), and atomic force microscopy (AFM). The modifications produced spherical beads with homogeneous size (1.23 ± 0.11 mm). Both the surface charge and the FTIR and TGA analysis evidenced the protonation. The surface charge of the beads changed from negative (control -27.5 ± 1.46 mV) to positive, method one: PLL = $+23.60 \pm 0.15$; PEI = $+23.26 \pm 0.27$ mV; method two: PLL = $+0.6273 \pm 0.12$; PEI = $+10.29 \pm 0.16$ mV. The FTIR spectra showed appearance and band shift corresponding to methylene, amino and carbonyls groups, while there were differences in the thermogravimetric decomposition patterns of all the formulations. From the four treatments, the pearls crosslinked with PEI, using glutaraldehyde, showed greater removal efficiency of As (V): 271.74 ± 28.9 and As (III): 705.4 ± 6.06 $\mu\text{g} / \text{g}$. With this treatment, adsorption experiments were conducted under conditions of competition between arsenic species, as well as between phosphates and arsenic, and regeneration cycles to determine the reuse of the beads. A decrease in the removal of arsenic was observed when the species are together in the environment, as well as a decrease in the removal of arsenic in the presence of phosphate ions. Adsorbents can be regenerated with NaOH, maintaining their capacity to remove As (V) and As (III). Electron microscopy showed changes in beads morphology after the removal of As, and

dispersive X-ray spectroscopy revealed the presence of As in the protonated alginate beads. In conclusion, the use of protonated alginate beads with polycations is a good alternative for the removal of inorganic arsenic species in contaminated water.

Keywords: Biosorption, protonation, alginate, arsenate; arsenite

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación de agua con arsénico (As), es uno de los problemas que afectarán el acceso al agua en un futuro cercano. Cerca de 140 millones de personas alrededor del mundo están expuestas al As, a través del consumo de agua y alimentos contaminados (Sigdel *et al.*, 2016). En el caso del agua, la exposición crónica por hidroarsenismo causa diversas patologías, ya que el As se acumula en diferentes órganos y a largo plazo, puede derivar en cáncer de piel, pulmón, hígado y riñón. Es por esto, que diversas organizaciones mundiales, han establecido normas para el control de As en agua potable (Zhang *et al.*, 2014).

Las fuentes de agua pueden contener As debido a lixiviación de depósitos naturales o debido a contaminación por actividades humanas. Destacan la minería y metalurgia, la aplicación de fertilizantes arsenicales persistentes, actualmente prohibidos y desechos de la industria de los pigmentos y de los conservadores de madera (Tiwari *et al.*, 2008). Las especies químicas de As más frecuentes en el agua son las inorgánicas, como arsenato As(V) y arsenito As(III). Para removerlas de las aguas industriales, se utilizan diversas técnicas entre las que destacan, el uso de agentes precipitantes o coagulantes, el intercambio iónico y la filtración con membranas. Sin embargo, son poco útiles en la remoción de concentraciones pequeñas ($< 100 \mu\text{g/L}$) de As(V) y As(III) (Hassan *et al.*, 2014). Para estos casos, la biosorción puede resultar una alternativa prometedora; es un método amigable con el ambiente, de bajo costo, fácil manejo y capacidad de remover con gran eficiencia metales pesados en bajas concentraciones en el agua. Existe evidencia de que diversos organismos (activos o inactivos), biomoléculas o subproductos orgánicos derivados de la industria alimentaria, biosorben diferentes metales pesados (Guiza *et al.*, 2017; Hassan *et al.*, 2014).

Las biomoléculas de alginato, obtenidas de las algas marinas pardas, se ha estudiado extensamente por su capacidad de biosorción, biocompatibilidad, abundancia, bajo costo y eficiencia en la remoción de metales pesados. Por ser un polisacárido aniónico, la biosorción con alginato remueve metales catiónicos (Cd^{+2} , Co^{+2} , Cu^{+2} , Fe^{+2} , Ni^{+2} , Pb^{+2}) (Singh *et al.*, 2012). Debido a que el As se encuentra en forma de oxianión en el agua, es

necesario investigar modificaciones químicas del alginato, que le permitan biosorberlo (He y Chen, 2014; Lim y Chen, 2007). Una de estas modificaciones puede ser el entrecruzamiento con policationes como la poli-L-lisina (PLL) y polietilenimina (PEI), que, al estar cargados positivamente, tienen la capacidad de interaccionar con aniones como el As (Zhang *et al.*, 2014). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue estudiar la remoción de As(V) y As(III) en agua, utilizando partículas de alginato protonadas con policationes PLL o PEI.

2. ANTECEDENTES

2.1. Arsénico: Propiedades Químicas y Fuentes de As

La contaminación de cuerpos de agua con metales pesados es un problema ambiental y de salud, debido a su toxicidad y persistencia en los ecosistemas (Guiza, 2017). Entre estos contaminantes se encuentra el As, reconocido como el más tóxico de los metales pesados por su efecto carcinogénico (Hassan *et al.*, 2014). El As es un metaloide que muestra propiedades intermedias entre los metales de transición y los no metales. En la naturaleza, se encuentra principalmente asociado a otros elementos formando sulfuros y raramente en estado puro (Jain y Ali, 2000). En la Tabla 1 se muestran las principales propiedades fisicoquímicas del As.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del arsénico

Propiedad	Valor
Número atómico	33
Estado de oxidación	$\pm 3, +5$
Electronegatividad	2.1
Radio covalente (Å)	1.19
Radio iónico (Å)	0.47
Radio atómico (Å)	1.39
Configuración electrónica	$[\text{Ar}]3d^{10}4s^24$
Masa atómica (g/mol)	74.922
Densidad (g/mL)	5.72
Punto de ebullición (°C)	613
Punto de fusión (°C)	817

Fuente: Bissen y Frimmel (2003); Kumari *et al.* (2016)

El As es un constituyente importante presente en más de 245 minerales. Se estima que la corteza terrestre contiene alrededor de 4.01×10^{16} kg de este metal pesado, en forma de

óxidos, carbonatos, silicatos, sulfatos y sulfuros. Estas sales, se encuentran asociadas principalmente a algún elemento de interés industrial como Fe, Cu, Al o Mn (Bissen y Frimmel, 2003). Por ello, la minería y metalurgia de minerales al extraer estos elementos son las principales fuentes antropogénicas de contaminación con As. Los derrames de las industrias mineras a los cuerpos de agua son de particular importancia, porque pueden contaminar aquellos que se utilizan para consumo humano. Es importante resaltar que este problema crece tanto en México, como a nivel mundial (Monzalvo-Santos *et al.*, 2016).

Además de la industria minera, otra fuente de contaminación con As proviene de la persistencia de plaguicidas y otros biocidas arsenicales que actualmente están prohibidos (He *et al.*, 2005). Los desechos de las industrias de pigmentos para vidrio, diodos LED y algunos semiconductores, también son otra fuente de contaminación con As. La combustión del carbón y fundición de cobre producen emisiones de As al ambiente, que eventualmente precipitan, llegando a los cuerpos de agua (Shankar y Shanker, 2014; Bissen y Frimmel, 2003).

2.2. Contaminación de Agua, Regulación y Efecto en la Salud de As

La contaminación del agua con As es un problema ambiental con implicaciones directas a la salud (Basu *et al.*, 2015). Alrededor de 140 millones de personas distribuidas en todo el mundo, están expuestas a altos niveles de As mediante agua o alimentos contaminados (Smedley y Kinniburgh, 2002; Mandal y Suzuki, 2002). El crecimiento de la población a nivel mundial y la perspectiva de encontrar nuevas áreas afectadas, hacen que la contaminación de agua con As esté considerada entre las principales problemáticas que limitarán el acceso al agua en todo el mundo en un futuro próximo (Carlson-Carson, 2017).

En el agua, las formas inorgánicas de As son más comunes que las orgánicas, encontrándose principalmente como arsenato As(V) y arsenito As(III), cuyas moléculas se esquematizan en la Figura 1. El As(III) es la forma más común, más tóxica y difícil de

remover. Por lo general, se requiere un tratamiento de oxidación que lo convierte As(V) para poder removerlo (Boddu *et al.*, 2008). La concentración y especie química de As(III) o As(V) en el agua, dependerán principalmente de la composición geológica del ambiente y de condiciones redox del medio (Jain y Ali, 2000).

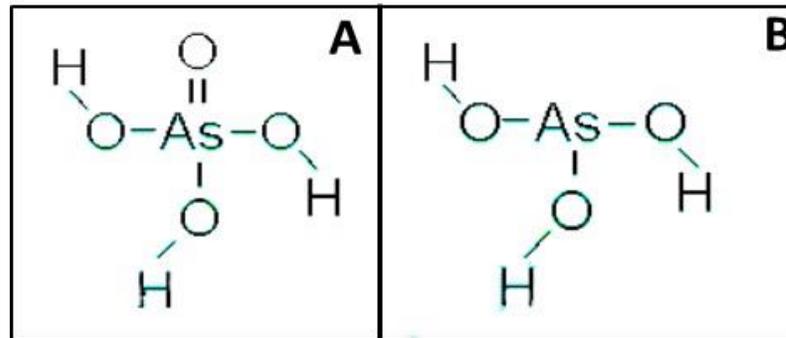


Figura 1. Especies inorgánicas de As: (A) arsenato y (B) arsenito.
Fuente: Jain y Ali, (2000).

El agua contaminada es la principal vía de exposición crónica de As para el humano (Basu *et al.*, 2015), y tiende a acumularse en cabello, uñas, huesos, piel, hígado y riñón (Jiang *et al.*, 2015). La acumulación de As provoca diversas patologías, de las que destacan daño en la piel, daño renal, neuropatías, enfermedades cardiovasculares, cáncer de próstata, pulmón, piel y vejiga (Ocinski *et al.*, 2016; Cheng *et al.*, 2010). Además, compite con el fósforo, alterando diversas reacciones importantes en el metabolismo y la producción de energía (Rosen *et al.*, 2011). Por lo anterior, diversas organizaciones como la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (U.E. EPA) y la Unión Europea (UE), han establecido límites permisibles de As en agua potable de 10 µg/L (Sigdel *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2014). Es importante destacar que, en México, la Secretaría de Salud ha establecido límites permisibles de As en agua de 25 µg/L, publicados en la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Estos valores son más del doble de los límites establecidos por las organizaciones internacionales, por lo que se requiere una revisión a la norma mexicana.

2.3. Contaminación de Agua con As en México

En México se han reportado altas concentraciones de As en diversos estados de la República. En algunos lugares, sobrepasan los límites establecidos por las normas mexicanas. Por ejemplo en el norte, las concentraciones de As varían desde 71 hasta 305 $\mu\text{g/L}$ y de 15 a 300 $\mu\text{g/L}$ en algunas zonas de los estados de Sonora y Chihuahua, respectivamente (López-Carrillo *et al.*, 2014; Camacho *et al.*, 2011). En la Comarca Lagunera, conformada por 20 municipios de los estados de Durango y Coahuila, se han reportado concentraciones que van desde 120 a 650 $\mu\text{g/L}$, dependiendo del municipio estudiado (Sariñana-Ruiz *et al.*, 2017). De igual forma, en otros estados como San Luis Potosí, Guanajuato, Baja California Sur, Hidalgo, Oaxaca, Jalisco y Zacatecas, se encontraron concentraciones que oscilan entre los 263 $\mu\text{g/L}$ y 2 g/L. En la Figura 2, se indican los principales estados con problemas de As en agua. En la mayoría de los casos, la contaminación es producto a la actividad minera. El caso de la Comarca Lagunera es especial debido a que la contaminación se debe tanto a depósitos geológicos, como a la persistencia de plaguicidas arsenicales y a la actividad metalúrgica de la región (Ruíz-Huerta *et al.*, 2017; Ramos *et al.*, 2017; Wurl *et al.*, 2014; Bundschuh *et al.*, 2012; Romero *et al.*, 2006).

2.4. Métodos para la Determinación de As en Agua

La cuantificación de iones metálicos en diferentes matrices incluida el agua, se lleva a cabo rutinariamente mediante metodologías espectrofotométricas entre las que destacan la espectroscopia de masas con inducción de plasma (EM-IP), espectroscopia de emisión atómica (EEA) y la espectroscopia de absorción atómica (EAA). Estas metodologías son altamente selectivas y sensibles. Sin embargo, requieren equipos costosos, tiempos prolongados para la detección del analito, además de presentar procesos complicados por lo que se requiere personal altamente capacitado para su operación (Lu *et al.*, 2018).

Otra alternativa son los métodos electroquímicos, como la voltamperometría de redisolución anódica. Estos métodos son baratos, sencillos, rápidos, sensibles, además que se han desarrollado equipos portátiles, lo que permite el análisis en campo (Giacomino *et al.*, 2016).

La voltamperometría se fundamenta en las reacciones redox de los metales. Al aplicar un potencial eléctrico, los metales son reducidos hasta valencia 0, depositándose sobre un electrodo de trabajo (etapa de pre-concentración), seguido de una re-oxidación (etapa de redisolución) detectando la corriente eléctrica generada. Tomando en cuenta que cada metal genera corrientes eléctricas distintas, el electrodo detecta el cambio en el potencial eléctrico, lo que es proporcional a la concentración del metal. Este método es comparable con la EAA, pudiendo detectar concentraciones en el rango de $\mu\text{g/L}$, con un límite de detección de 0.7 y 0.2 $\mu\text{g/L}$ para As(V) y As(III), respectivamente (Lu *et al.*, 2018).

2.5. Métodos Comunes para la Remoción de As en Cuerpos de Agua

Con la finalidad de proteger el medio ambiente y a la población, se han implementado diversas metodologías para la remoción de As, las cuales pueden utilizarse individualmente o en conjunto para una mayor eficiencia de remoción (Carolin *et al.*, 2017). Cada una de las metodologías utilizadas presenta ventajas y desventajas. La selección del método a utilizar para la remoción de As del agua depende de la forma en que éste se encuentre, de las características fisicoquímicas del agua y de la concentración de sulfatos, fosfatos y hierro (Bibi *et al.*, 2016) La remoción de As es mucho más eficiente si este se encuentra como As(V) en condiciones oxidantes, que cuando se encuentra en su forma reductora, como As(III). Por esta razón, la mayoría de los métodos de remoción de As, son sometidos a un proceso de oxidación previo a la eliminación (Shang y Tong, 2013).

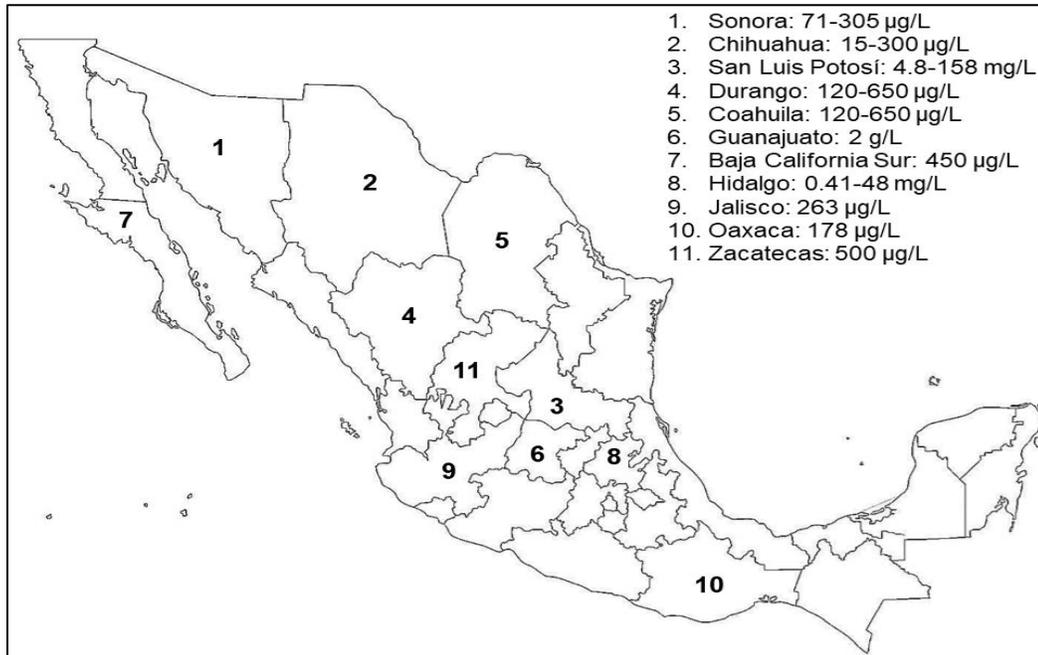


Figura 2. Concentraciones de As reportadas en diversos estados de la República Mexicana. Elaborado con información de Ruíz-Huerta et al., 2017; Sariñana-Ruiz et al., 2017; Yann y col., 2017; Wurl et al., 2014; López-Carrillo et al., 2014; Bundschuh et al., 2012; Camacho et al., 2011; Romero et al., 2006; Wyaat et al., 1998

A continuación, se da una explicación general de los procesos más comunes para la remoción de As presente en el agua.

2.5.1. Precipitación Química

La precipitación química es un proceso efectivo y muy utilizado en la remoción de metales pesados en las aguas de desecho industrial. Es un procedimiento simple y económico, que consiste en la formación de precipitados insolubles, utilizando diferentes reactivos. Posteriormente, estos precipitados pueden separarse por filtración o sedimentación, recuperando los metales y así, poder reutilizar el agua tratada (Fu y Wang, 2011).

Las variantes más utilizadas en la precipitación química son el uso de hidróxidos y sulfatos, por su simplicidad y bajo costo. El incremento de pH con hidróxido de sodio (NaOH) u óxido de calcio (CaO), conduce a la formación de especies insolubles con los metales, similar al uso de sulfato ferroso (FeSO₄). La precipitación facilita la remoción (Rao *et al.*, 2011). Sin embargo, estos procesos tienen limitaciones, como el uso de gran cantidad de químicos y generación de residuos al remover bajas concentraciones de metales como las que se pueden encontrar en el agua para consumo humano, lo que representa contaminación secundaria. Además, algunos hidróxidos metálicos se comportan como anfóteros, por lo que el pH ideal para la remoción de un metal pesado, puede solubilizar otro (Barakat, 2011; Fu y Wang, 2011). Por el contrario, los precipitados que se obtienen con sulfuros no son anfotéricos y son insolubles en un mayor intervalo de pH. Sin embargo, los sulfuros pueden oxidarse fácilmente solubilizando de nuevo los metales. Además, la formación de ácido sulfhídrico (H₂S) es un riesgo potencial si el pH no se controla adecuadamente (Purkayastha *et al.*, 2014).

2.5.2. Intercambio Iónico

El intercambio iónico es un procedimiento muy utilizado en el tratamiento de aguas industriales que contienen metales pesados disueltos. Es un proceso eficiente, económico y de baja producción de residuos (Kang *et al.*, 2004). Las resinas de intercambio iónico, tanto sintéticas como naturales, intercambian sus iones con los iones metálicos disueltos en el agua. Los grupos más comunes que participan en el proceso son el ácido sulfónico (-SO₃H) y los grupos carboxilos (-COOH), haciendo uso de los hidrógenos, para intercambiarlos por los cationes metálicos presentes en el agua (Gode y Pehlivan, 2006). Este proceso puede verse afectado considerablemente por cambios en el pH, ya que puede inducirse la desprotonación de los grupos funcionales, incapacitándolos para llevar a cabo el intercambio con los iones circundantes (Petrovic *et al.*, 2017).

Para la remoción de As(V) y As(III), se utilizan resinas de intercambio aniónico impregnadas con óxido de zirconio (Padungthon *et al.*, 2015). Una de las principales desventajas es la regeneración de las resinas, ya que se utilizan diversos agentes químicos los cuales producen contaminación secundaria (Carolin *et al.*, 2017).

2.5.3. Coagulación/Floculación

La coagulación/floculación seguida de sedimentación y filtración, es otro proceso que se utiliza para remover metales pesados en el agua. La coagulación desestabiliza los coloides, neutralizando las fuerzas que los mantienen en suspensión, emulsión o solución (Purkayastha *et al.*, 2014). Es uno de los procesos más utilizados en el tratamiento de aguas industriales contaminadas. Sin embargo, está enfocado a coloides hidrofóbicos y partículas suspendidas en el agua, lo que limita su uso en la remoción de metales pesados. En el tratamiento de aguas se utilizan varios coagulantes como sulfato de aluminio, sulfato y cloruro férrico, neutralizando la carga de las partículas (Fu y Wang, 2011; Chang y Wang, 2007).

Al formar un floculo de hidróxido de hierro o aluminio, los coloides quedan atrapados dentro de una red, lo que hace posible su eliminación (Purkayastha *et al.*, 2014). El hidróxido de hierro ha sido utilizado en la remoción de arsenato, aglomerando las partículas para facilitar su eliminación. No obstante, requiere de un tratamiento previo de oxidación, ya que el As(III) se encuentra en forma neutra (H_3AsO_3), lo que dificulta su remoción (Ouzounis *et al.*, 2015). Además, el uso de agentes químicos genera gran cantidad de residuos, lo que resulta impráctico cuando las concentraciones de As son bajas (Ahmed y Ahmaruzzaman, 2016).

2.5.4. Filtración por Membranas

La filtración por membrana separa componentes de una solución mediante su tamaño, pH, y presión aplicada. Estas membranas pueden ser de distintos materiales, como cerámicos y polímeros sintéticos o naturales. La microfiltración separa moléculas de tamaño entre 100 y 1000 nm con gran eficiencia (Carolin *et al.*, 2017). Sin embargo, una desventaja de la microfiltración es el tamaño de poro de las membranas, siendo mayores a los iones metálicos por lo que estos no son retenidos en la membrana (Purkayastha *et al.*, 2014). Para solucionar este inconveniente, Mólgora *et al.* (2013) utilizaron microfiltración en combinación con coagulación para la remoción de As en solución acuosa, obteniendo un 97% de eficiencia mediante esta metodología combinada.

Como las especies inorgánicas de As presentes en el agua son de bajo peso molecular, la nano filtración es un método más conveniente para la remoción de As en solución acuosa (Nguyen *et al.*, 2009). Este proceso, además de separar en base al tamaño de partícula, también lo hace por diferencial de cargas. Las membranas de nano filtración por lo general son de polímeros sintéticos cargados positiva o negativamente, dependiendo del contaminante a remover (Zhu *et al.*, 2014). Nguyen *et al.* (2009), estudiaron la remoción de aniones de As mediante nano filtración, reportando un 96 y 44 % de remoción para As(V) y As(III) respectivamente. No obstante, las membranas de nano filtración pueden ser costosas, además, dependiendo de la composición del agua a tratar, pueden generarse incrustaciones en las membranas, lo que disminuye la eficiencia de remoción de los metales pesados (Carolin *et al.*, 2017).

2.5.5. Adsorción y Absorción

El término sorción se refiere a dos procesos independientes: la adsorción y la absorción. La absorción es la incorporación de una sustancia en un estado definido por otra, en otro estado (por ejemplo, absorción de un líquido en un sólido), dentro de una matriz

tridimensional. La adsorción es la adherencia de iones o moléculas en la superficie de otro material, mediante interacciones con diferentes grupos funcionales. Puede ser física, o química (Gadd, 2009). La adsorción es el método más económico y efectivo para la remoción de metales pesados en soluciones acuosas, mostrando ventajas sobre los demás, debido a su bajo costo, disponibilidad y el uso de coproductos industriales. Además, la adsorción puede remover metales en bajas concentraciones (1-100 mg/L) en un amplio rango de pH (Wang y Chen, 2006).

Uno de los adsorbentes más utilizados ha sido el carbón activado, gracias a su alto volumen de micro y mesoporos y su área superficial bien definida (Ahmed, 2017). Diversos óxidos metálicos también han sido utilizados en la remediación de metales pesados en agua. Zhang *et al.* (2014), sintetizaron nanopartículas magnéticas de óxido de hierro recubiertas con arginina y lisina para la remoción de As(V) en solución acuosa, mostrando una remoción mayor al 90% a una concentración inicial de As(V) de 100 µg/L en un amplio rango de pH. Li *et al.* (2012), probaron el uso de nanopartículas de óxido de cerio para remover As(V) y As(III) en un amplio rango de pH, encontrando una eficiencia de remoción de 83 y 87 %, respectivamente. Sin embargo, una limitante del uso de nanopartículas magnéticas es su tendencia a agregarse, lo que restringe su uso a nivel industrial (Knon *et al.*, 2016).

En los últimos años, los biopolímeros como quitosano, alginato, celulosa, etc. han ganado gran interés como biosorbentes, debido a su biocompatibilidad, bajo costo y abundancia. Aunado a estas características, la presencia de grupos funcionales en sus estructuras químicas, los hace susceptibles a modificaciones químicas, las cuales, permiten introducir nuevos grupos funcionales capaces de remover metales pesados con gran eficiencia (Ma *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2015; Poon *et al.*, 2014a).

2.6. Biosorción: Definición y Fundamento

La biosorción es una tecnología innovadora que utiliza organismos y sus derivados para la remediación de metales pesados (Zeraatkar *et al.*, 2016). Se han estudiado las

propiedades biosorbentes de diferentes organismos, destacando bacterias como *Bacillus sphaericus* (Velázquez y Dussan, 2009), hongos como *Rhizopus arrhizus* (Alimohamadi *et al.*, 2005) y levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* (Cabuk *et al.*, 2007). Así mismo, subproductos industriales (de la industria cervecera o panadera), desechos agrícolas y polisacáridos provenientes de algas como el alginato (Wang y Chen, 2006). La biosorción de iones metálicos puede ocurrir en forma activa o inactiva. La primera consiste en la absorción o internalización de iones metálicos a través de los mecanismos de transporte celular. Es un proceso dependiente del metabolismo celular y que ocurre únicamente cuando el biosorbente es un organismo viable, también se conoce como bioacumulación (Zeraatkar *et al.*, 2016; Dabbagh, 2016; Gadd, 2009).

El segundo tipo de biosorción ocurre en la superficie celular, es un proceso independiente del metabolismo (Zeraatkar *et al.*, 2016). Esta biosorción inactiva se da mediante el proceso de adsorción, el cual puede ser de naturaleza física (fisisorción) o química (quimosorción). En la fisisorción se establecen interacciones débiles ($\Delta H \sim 20$ KJ/mol) e inespecíficas de tipo van der Waals. Por su parte, la quimosorción, involucra el compartir o intercambiar electrones entre las moléculas del adsorbato y las moléculas superficiales del adsorbente. Por ejemplo, atracciones entre iones opuestos o coulombicas, coordinación química o formación de complejos, las cuales son más fuertes ($\Delta H \sim 200$ KJ/mol) y requieren de cambios en las condiciones del medio (por ejemplo, a través de competencia), para romperse (Volesky, 2007; Kumar *et al.*, 2016). La quimosorción es de naturaleza más específica y se establece entre el metal y grupos funcionales presentes en el adsorbente, tales como carboxilo, sulfato, hidroxilo y amino, interaccionan con el metal mediante diversos mecanismos (Gao *et al.*, 2017).

El intercambio iónico, es uno de los principales mecanismos de quimosorción relacionados a la biosorción. Durante este proceso, los protones presentes en el biosorbente son intercambiados por los cationes metálicos en solución. Wang *et al.* (2013), utilizaron perlas de alginato para la biosorción de catión neodimio (Nd^{3+}) observando que al disminuir la concentración de Nd^{3+} en solución, aumentaba la concentración de Ca^{2+} atribuyendo este fenómeno al intercambio catiónico. Singh *et al.* (2012), observaron que la captación de Cu^{2+} utilizando perlas de alginato (cápsulas compuestas únicamente por alginato), se debe principalmente a interacciones

electrostáticas entre los grupos carboxilos disociados con carga negativa del alginato, y los cationes Cu^{2+} . Otros autores comprobaron la formación de complejos entre los biosorbentes y los iones metálicos (Deng *et al.*, 2016; Boddu *et al.*, 2008). En el caso de utilizar organismos vivos, pueden llevarse a cabo el mecanismo de internalización de los metales (Kumar *et al.*, 2016). En la Figura 3 se muestra un esquema general de los principales mecanismos de biosorción; los que ocurren en la superficie del biosorbente. Adsorción física y química (intercambio iónico, interacciones electrostáticas, formación de complejos y microprecipitación superficial) y el de internalización o bioacumulación, que ocurre en caso de utilizar organismos metabólicamente activos y en que los metales son almacenados en la vacuola principal o conjugados con metaloproteínas.

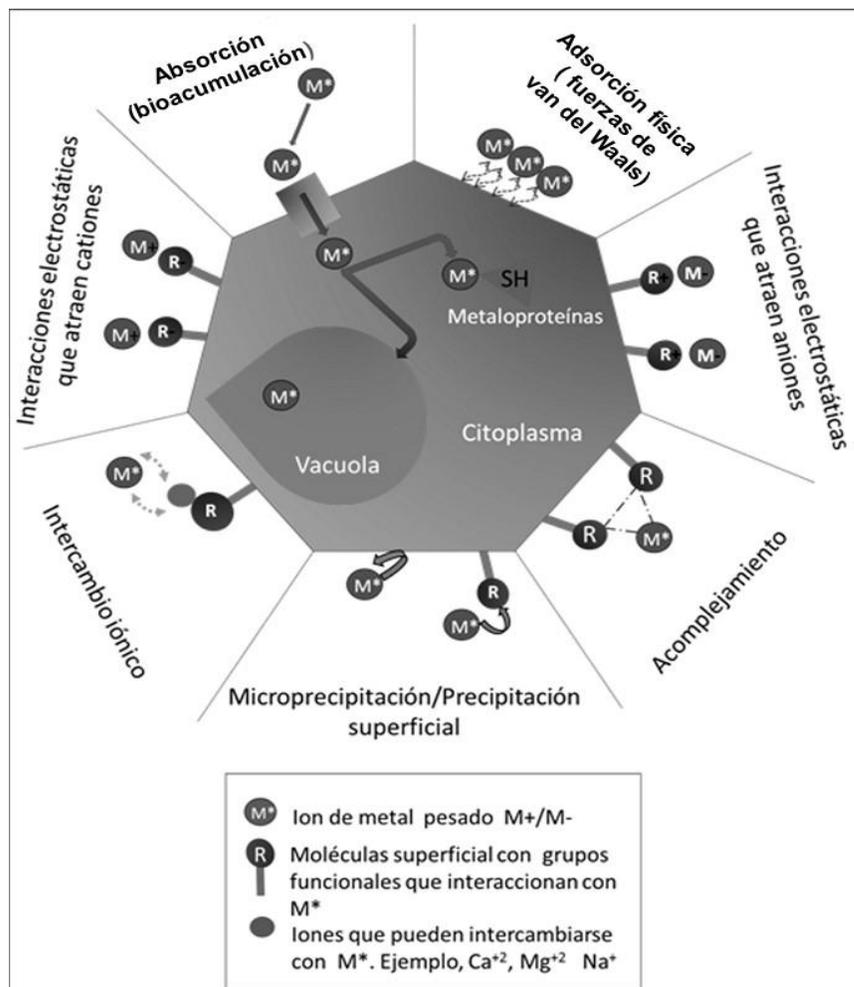


Figura 3. Principales mecanismos de biosorción de metales pesados.

Adaptada de Niazi *et al.* (2016) y Zeraatkar *et al.* 2016

2.6.1. Algas Marinas como Biosorbente de Metales Pesados

La capacidad biosorbente de las algas se probó por primera vez en 1970 al remover metales pesados radiactivos de una estación nuclear (He y Chen, 2014). Desde entonces, estos organismos han ganado gran interés como biosorbentes. En particular destacan las algas marinas macroscópicas, por su abundancia, bajo costo, fácil manejo y eficiencia de sorción (Kumar *et al.*, 2016). Las algas marinas no forman un grupo homogéneo en el reino vegetal. Están divididas en distintas vías de evolución. Una vía roja (*Rhodophyta*), una vía marrón o parda (*Phaeophyta*), y una vía verde (*Chlorophyta*). La principal diferencia entre ellas radica en sus pigmentos y en la composición de su pared celular. Esta superficie es el lugar donde se lleva a cabo la biosorción (Rinaudo, 2008).

Las algas pardas son las más estudiadas como biosorbentes, debido a la presencia de alginato en su pared celular (Kumar *et al.*, 2016). Este polisacárido aniónico, compuesto de monómeros de ácido gulurónico y ácido manurónico, tiene capacidad de interaccionar con cationes metálicos (Romera *et al.*, 2007). Otro polisacárido aniónico menos abundante en las algas pardas es el fucoídano, que interacciona con metales a través de sus grupos sulfato. Las algas rojas y verdes han sido menos estudiadas como biosorbentes, ya que carecen de alginato. Sin embargo, las algas rojas contienen polisacáridos sulfatados como son el agar y las carrageninas que tienen potencial como biosorbentes. Por otro lado, las algas verdes están compuestas principalmente por celulosa y glicoproteínas, por lo que su potencial como biosorbente es menor (Romera *et al.*, 2007; Sheng *et al.*, 2004).

Las algas vivas pueden internalizar metales pesados hacia el citoplasma. Una vez dentro, los iones pueden ser almacenados en la vacuola principal y en las mitocondrias, donde son biotransformados en especies menos tóxicas. También, pueden microprecipitarse en forma de fosfatos y sulfuros (Kumar *et al.*, 2016). Sin embargo, el uso de algas vivas requiere nutrientes, por lo que aumenta los costos. Por otro lado, por ser marinas, no podrían utilizarse en cuerpos de agua dulce. Una característica presente solamente en biomasa muerta, es la capacidad de reutilización de los biosorbentes, lo que aumenta sus ventajas de uso (Zeraatkar *et al.*, 2016).

2.6.2. Alginato como Captador de Metales Pesados

El alginato es un polisacárido constituido por monómeros de ácido α -gulurónico (G) y monómeros de ácido β -manurónicos (M). La proporción de estos monómeros varía dependiendo de la especie (Gao *et al.*, 2017). El polímero se compone de bloques homopoliméricos de $(G)_n$, o $(M)_n$, y heteropoliméricos $(GM)_n$, como se representa en la Figura 4 (Vijaya *et al.*, 2011). El alginato presenta gran afinidad por cationes divalentes, tales como Cu(II), Cd(II) y Pb(II). Con éstos interacciona a través de sus grupos carboxilos (Ibáñez y Umetsu, 2004).

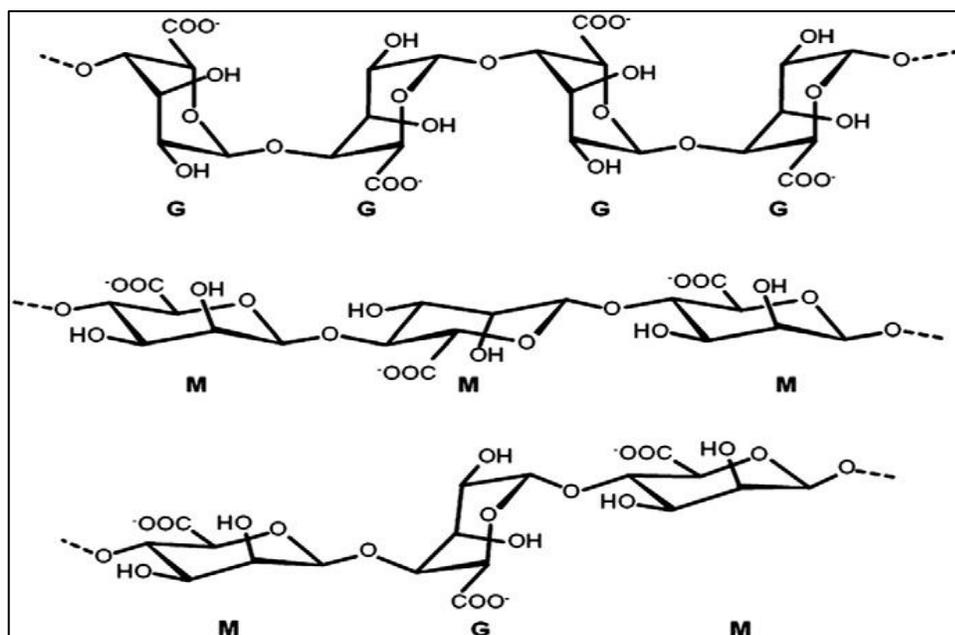


Figura 4. Estructura química del alginato. Fuente: Paques *et al.* (2014).

La interacción alginato-catión, puede llevarse a cabo por intercambio iónico, donde el hidrógeno presente en los grupos carboxilos es intercambiado por los cationes divalentes (Bang *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016). Además, se pueden formar complejos o enlaces de coordinación. En este caso, los iones de mayor radio iónico serán más fácilmente captados, debido a su facilidad de unirse a dos cadenas de homopolímeros $(G)_n$ adyacentes (He y Chen, 2014; Romera *et al.*, 2007).

El alginato tiene la capacidad de formar hidrogeles al entrecruzarse con diferentes cationes. Debido a su inocuidad, el calcio es el catión más utilizado para formar geles que se utilizan en las industrias alimentaria y farmacéutica (Geetha *et al.*, 2016). Estos geles son insolubles, con propiedades mecánicas, tamaño, rigidez y porosidad adecuados para diversos fines, tales como el desarrollo de sistemas de liberación controlada de fármacos y el encapsulamiento celular (Puguan *et al.*, 2014). Además, son una manera de estabilizar al alginato, para utilizarlo como biosorbente de contaminantes en cuerpos de agua. En este caso, la cápsula formada no va cargada con ningún componente y se denomina perla (Platero *et al.*, 2017). El calcio interacciona únicamente con los grupos carboxilo del ácido galurónico, formando una estructura conocida como “caja de huevo” como se esquematiza en la Figura 5 (Puguan *et al.*, 2014), dejando a los carboxilos de los ácidos manurónicos libres, y cargados negativamente (He y Chen, 2014).

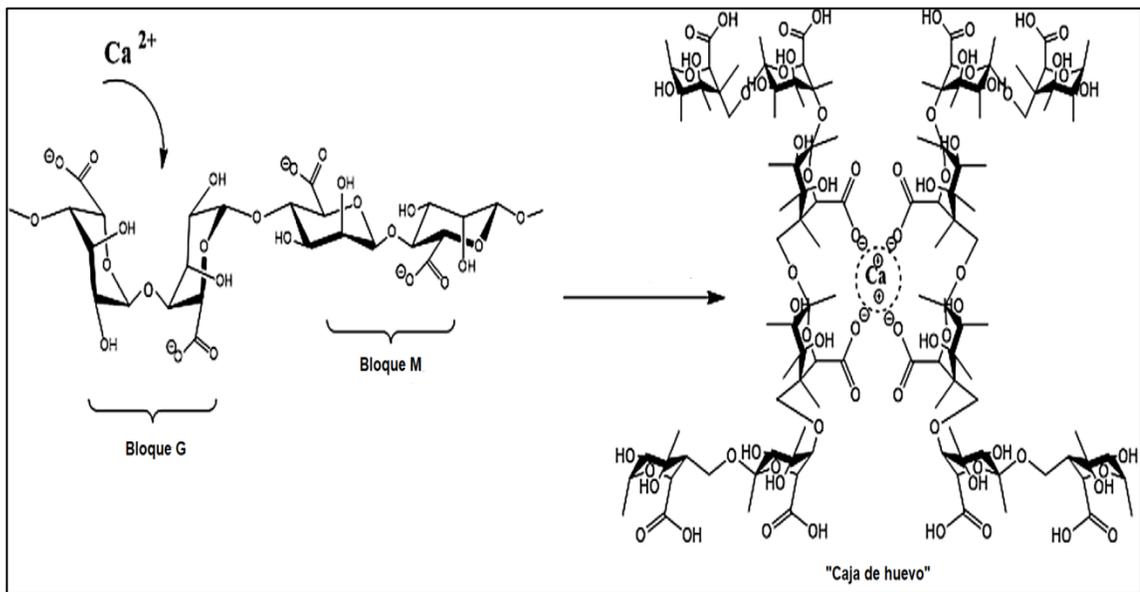


Figura 5. Interacción Ca^{2+} -alginato en modelo de “la caja de huevo”. Fuente: Agüero *et al.* (2017).

La producción de geles de alginato es amigable con el ambiente, económica y relativamente fácil de escalar. Estos geles tienen potencial para ser utilizados en la biorremediación de agua contaminada con metales pesados (Ibáñez y Umetsu, 2004). Singh *et al* (2012), los utilizaron para remover 85.3 % de Cu^{2+} presente en solución acuosa, mientras que Lakouraj *et al* (2014), reportaron una remoción del 64.5, 89.14,

84.5, 87.82, 62.9 y 77.3 % para Co^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , y Cr^{3+} , respectivamente. Ibáñez y Umetsu (2002) encontraron resultados para la remoción de Cr^{+3} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} y Co^{2+} . Sin embargo, la capacidad del alginato para remover As(III) y As(V) , es nula, por estar cargados negativamente (He y Chen, 2014). No obstante, pueden efectuarse diversas modificaciones químicas que permitan crear adsorbentes bifuncionales afines a cationes y aniones (He y Chen, 2014; Lim y Chen, 2007).

2.7. Modificaciones de Alginato para la Captación de As

2.7.1. Biocompuestos de Alginato

Entre los biosorbentes estudiados para la remoción de As, se encuentran el carbón activado, los óxidos metálicos, materiales recubiertos con protones y estructuras tridimensionales (Hassan *et al.*, 2014). La utilización a nivel industrial de algunos de ellos se ve limitada por su reducido tamaño de partícula que dificulta su recuperación una vez concluido el proceso de remediación. Una manera de evitar estos problemas es generar biocompuestos con el alginato (Sigdel *et al.*, 2015). Hassan *et al.* (2014), sintetizaron un biocompuesto a base de carbón activado atrapado en una matriz de alginato, mostrando una remoción de As mayor al 90%, en un amplio rango de pH. Basu *et al.* (2015) obtuvieron resultados similares utilizando goethita y alginato, con una remoción del 95% en un rango de pH de 3 a 7.5. Otra opción es la de encapsular nanopartículas adsorbentes en matrices de alginato.

2.7.2. Encapsulamiento de Nanopartículas Adsorbentes en Matrices de Alginato

Las nanopartículas adsorbentes de metales pesados presentan algunas ventajas sobre los geles de alginato. Esto debido a que su mayor área superficial permite mayor reactividad debido al mayor número de sitios de unión. Por tanto, se necesita menor cantidad de adsorbente para obtener buenos resultados (Lu y Astruc, 2018; Geetha *et al.*, 2015). Sin embargo, su principal limitante es la dificultad para recuperarlas del medio acuoso una vez concluido el proceso de biosorción. Una alternativa para este problema es el encapsulamiento de las nanopartículas en matrices de alginato (Esmat *et al.*, 2017).

Knou *et al.* (2016), encapsularon óxido de zirconio en cápsulas de alginato (ZOAB) para la biorremediación de As(III), As(V) y Cu(II) en soluciones acuosas, obteniendo una remoción de 32.3, 28.5 y 69.9 mg/g. Además, la presencia de cobre adsorbido en la matriz de alginato, aumentó la adsorción de As(V). Esmat *et al.*, (2017), comprobaron una remoción de As(III) del 98% utilizando nanotubos de titanio encapsulados en micropartículas de alginato, cuando la solución acuosa presentaba un pH de 6.5. Sigdel *et al.* (2016), removieron 85 y 55 % del As(III) y As(V) presente en soluciones acuosas a pH de 6.0, utilizando nanopartículas de óxido de hierro. Si bien, el encapsulamiento de nanomateriales es una buena opción para la remoción de As en agua, es necesario establecer las condiciones óptimas para el proceso de biosorción.

2.7.3. Entrecruzamientos con Policaciones

Con la finalidad de mejorar las propiedades mecánicas y estabilidad química de las partículas de alginato, se ha estudiado su recubrimiento con diversos policaciones. Se han obtenidos recubrimientos estableciendo interacciones electrostáticas entre los grupos carboxilos de alginato y los grupos amino de algunos policaciones como el quitosano y la poli-L-lisina (PLL) (Ren *et al.*, 2016). Sin embargo, estas interacciones son inestables

ya que los cambios en la fuerza iónica y pH tienden a disociar la unión de los polielectrolitos (Simó *et al.*, 2017).

Una manera de estabilizar estas interacciones es mediante un entrecruzamiento covalente con los policationes. Para ello, se han estudiado diversos métodos. Tahtat *et al* (2013), entrecruzaron alginato y quitosano con glutaraldehído para la liberación controlada de insulina, mostrando una mayor resistencia mecánica después del entrecruzamiento. Sus resultados fueron similares a los de Gierszewska *et al.* (2018). Ozseker y Akkaya, (2016) probaron el uso de carbodiimida para el entrecruzamiento de alginato y péptidos, con la finalidad de sintetizar nuevos materiales para uso en la ingeniería de tejidos (Bubenikova *et al.*, 2012). Ambos métodos aprovechan los grupos amino de los policationes estudiados, y los grupos carboxilo de los polianiones del alginato, para la formación de enlaces covalentes de tipo imina en el caso del glutaraldehído (Sun *et al.*, 2010), y de tipo amida en el caso de las carbodiimidas (Gao *et al.*, 2017).

La PLL y la polietilenimina (PEI) cuyas estructuras químicas se presentan en la Figura 6, son buenos candidatos para la protonación de alginato. Entre sus ventajas se encuentran su bajo costo y alta disponibilidad. Algunos estudios prueban la efectividad de la PLL entrecruzada con alginato, para la liberación controlada de fármacos (Liu *et al.*, 2015) e inmovilización celular (Tam *et al.*, 2011). Estos policationes presentan puntos de carga cero a pH de 9.8 y 10.4 para PLL y PEI respectivamente, por lo que están cargados positivamente en un amplio rango de pH (Long *et al* 2017; Zhang *et al.*, 2014).

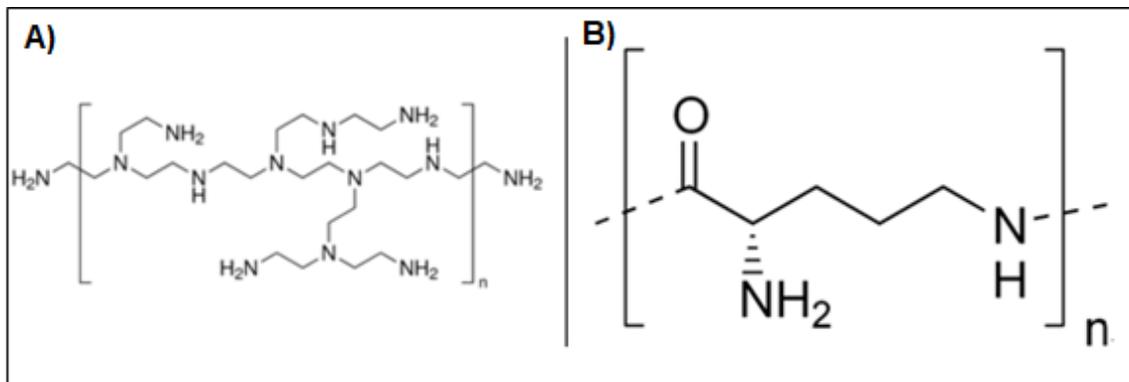


Figura 6. Estructuras químicas de (A) polietilenimina (PEI) y (B) poli-L-lisina (PLL).

Fuente: Liu *et al.* (2015).

2.8. Perspectiva del Uso de Alginato Protonado en la Remoción de As en Aguas Contaminadas

Es importante, por tanto, buscar alternativas económicas y amigables con el medio ambiente para la remoción de As del agua para consumo humano. De acuerdo a la información consultada los hidrogeles de alginato son una buena alternativa para la biorremediación de cationes metálicos más no para la remoción de las especies químicas de arsénico más frecuentes en el agua. Sin embargo, la modificación química del alginato con policationes pudiera ser una buena alternativa para remover estos oxianiones, sobre todo si se utilizan materiales de bajo costo, fácil manejo y que no representen un peligro para el ambiente. Por ello, es necesario investigar la efectividad de estas matrices, a fin de establecer las condiciones óptimas para la remoción de este metal. Además, la unión covalente de los policationes mejora las propiedades químicas y mecánicas de los geles de alginato, lo que posibilita su uso en varios ciclos de remoción de As (Yan *et al.*, 2017).

3. HIPOTESIS

Las perlas de alginato protonado con policationes, son eficientes para remover iones As(V) y As(III) presentes en solución acuosa.

4. OBJETIVO

Evaluar la capacidad de remoción de iones As(V) y As(III) en solución acuosa por perlas de alginato protonadas con dos policationes.

4.1. Objetivos Específicos

- Modificar químicamente perlas de alginato entrecruzadas covalentemente con poli-L-lisina (PLL) y polietilenimina (PEI).
- Caracterizar las diferentes perlas de alginato protonado mediante tamaño, carga superficial, termogravimetría, espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier y microscopia de fuerza atómica.
- Evaluar la capacidad de adsorción de As(V) y As(III) en solución acuosa de las perlas de alginato protonado, utilizando voltamperometría.
- Establecer las condiciones para recuperar el As captado en condiciones de competencia y reutilizar las perlas de alginato utilizando aquellas cuya protonación resulte más efectiva para la remoción de As(V) y As(III).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Esquema General de Trabajo

La Figura 7 muestra el esquema general de trabajo que se siguió durante el estudio. La investigación se dividió en 3 etapas; la primera consistió en la protonación de las perlas de alginato con los polielectrolitos PLL y PEI, utilizando dos métodos de entrecruzamiento. En la segunda etapa, se caracterizaron las perlas de alginato protonadas, mediante su carga superficial, tamaño, morfología, espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), termogravimetría (TGA) y microscopia de fuerza atómica (AFM). Por último, se probó la efectividad de las perlas modificadas, como biosorbentes de As(V) y As(III). Para ello, se llevaron a cabo ensayos en columna para estudiar la eficiencia de adsorción de As(V) y As(III), la competencia con iones fosfatos, y la reutilización de biosorbentes para establecer los ciclos de uso.

5.2. Materiales

Se utilizó alginato de sodio de alta viscosidad adquirido en la Droguería Cosmopolita, (CDMx, Mx). La Polietilenimina (PEI) ramificada ($M_w \sim 25,000$) y la Poli-L-Lisina (PLL), así como el resto de los reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), a menos que se indique lo contrario.

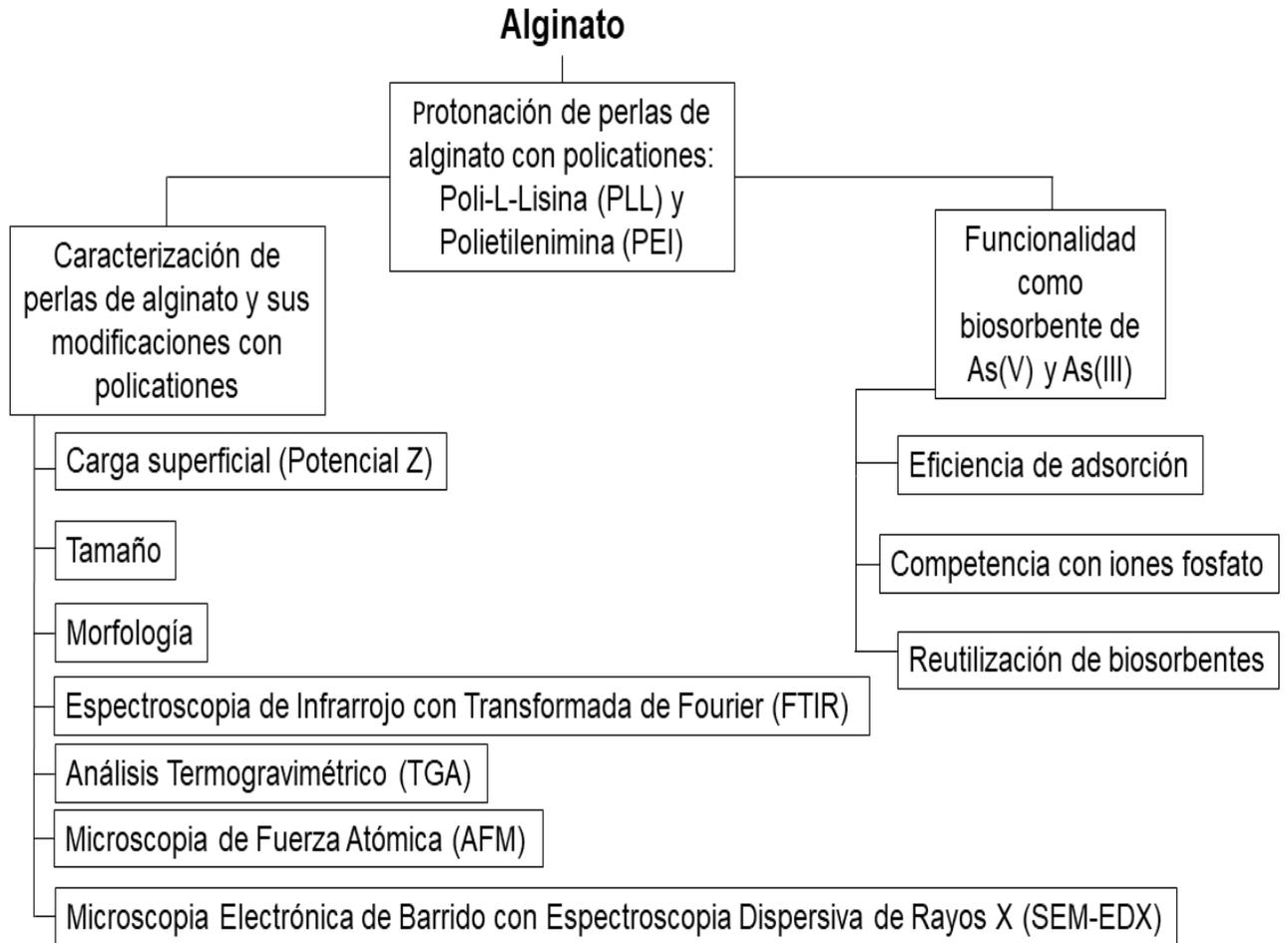


Figura 7. Esquema general de trabajo

5.3. Influencia del pH en la carga de PEI y PLL

La carga de PEI y PLL se determinó mediante su potencial zeta (ζ), con un equipo Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Instrument Ltd., Worcestershire, UK). Se utilizó agua deionizada como diluyente, en un rango de pH de 3.0 a 11.0. Las mediciones se realizaron por triplicado con 100 lecturas por cada réplica. El pH se ajustó utilizando NaOH 1 M y HCl 1 M utilizando un potenciómetro Professional meter PP-20 (Sartorius, Gotinga, Germany).

5.4. Síntesis de Perlas de Alginato

Para la realización de los experimentos de biosorción se sintetizaron perlas de alginato, nombre con el que se denominan a hidrogeles de alginato de calcio, tipo cápsula, principalmente, no cargados con otro compuesto y cuyas dimensiones se encuentran entre 700 a 1000 μm (Leong *et al.*, 2015).

Las perlas se obtuvieron por el método de extrusión en un Encapsulador B-395 Pro (Buchi Labortechnik AG, Flawil, CHE). Se extruyó alginato (1%, p/v, boquilla 750 μm) hacia un baño de CaCl_2 0.4 M. El programa de encapsulamiento incluyó los siguientes parámetros: 350 Hz, 1500 V, 600-800 mBar y agitación a 150 rpm. Se promovió el entrecruzamiento de las perlas durante 30 min. Posteriormente, las perlas obtenidas se lavaron tres veces con agua deionizada, para eliminar el calcio que no reaccionó y se almacenaron a 5 °C hasta su uso.

5.5. Protonación de Perlas de Alginato

Para la protonación del alginato se probaron dos tratamientos: A) entrecruzamiento covalente y B) formación de núcleo coraza. El tratamiento A consistió en el entrecruzamiento covalente de las perlas de alginato con los policationes, utilizando 1-etil 3(3 dimetil aminopropil) carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) según la metodología propuesta por Liu *et al.* (2015). Específicamente, se agregaron 35 mg de EDC por cada 100 mL de solución de alginato gelificado (~35 g de perlas de alginato) y se dejaron en agitación a ~75 rpm durante 1 h a 25 °C. Se agregaron 15 mg de NHS y se dejó en agitación 1 h más. Una vez transcurrido el tiempo, se colectaron las perlas y se sumergieron por separado en 200 mL de solución de PEI al 1.5% (p/v) o PLL al 1.5% (v/v), dejándose en agitación durante 24 h a 25 °C. Las perlas modificadas se colectaron, se lavaron tres veces con agua deionizada para retirar la PEI o PLL sin reaccionar, y se etiquetaron como Ca-Alg-EDC/NHS-PEI y Ca-Alg-EDC/NHS-PLL.

El tratamiento B consistió en la formación de un complejo núcleo-coraza utilizando los policationes entrecruzados con glutaraldehído (GA) según el método reportado por Yan *et al.* (2017). Específicamente, 35 g de perlas de alginato se sumergieron en 200 mL de solución de PEI al 1.5% (p/v) o PLL al 1.5 % (v/v) durante 24 h a 25 °C. Transcurrido el tiempo, se colectaron las perlas y se sumergieron en 100 mL de solución de GA al 2% (v/v) durante 1 h. Las perlas modificadas se colectaron, se lavaron tres veces con agua desionizada para retirar la PEI, PLL y GA sin reaccionar, y se etiquetaron como Ca-Alg-PEI-GA y Ca-Alg-PLL-GA.

5.6. Morfología, Tamaño, Humedad y Carga Superficial de Perlas de Alginato Modificadas

Para estudiar la morfología de las perlas de alginato y sus modificaciones, se utilizó un estereoscopio Stemi DV4 (Carl Zeiss, Göttingen, Germany), del laboratorio de Fisiología Celular y Bioprocesos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD). Las perlas se colocaron en un fondo negro como contraste, y se tomaron fotografías a una magnificación de 10X. El tamaño se midió utilizando un vernier electrónico modelo 62379-531 (Traceable, Friendswood, Texas). Se midieron 100 perlas de cada uno de los tratamientos. La humedad de las cápsulas se determinó por triplicado, con dos observaciones por réplica, utilizando el método de la estufa de la AOAC (927.05 AOAC, 2000).

La carga superficial de las perlas de alginato se determinó mediante su ζ , con un equipo Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Instrument Ltd., Worcestershire, UK). Se utilizó agua deionizada como diluyente, en un rango de pH de 6.5 a 7.5. Las mediciones se realizaron por triplicado con 100 lecturas cada una. El pH se ajustó utilizando NaOH 1 M y HCl 1 M utilizando un potenciómetro Professional meter PP-20 (Sartorius, Gotinga, Germany).

5.7. Análisis de Espectroscopia de FTIR-ATR

Para detectar la modificación de las perlas de alginato con los policationes, se llevó a cabo un análisis estructural en un equipo de espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier con un aditamento de reflexión total atenuada (FTIR-ATR). Previamente se liofilizaron las muestras (Virtis Benchop 6.6 SP Industries, Gardinier, NY, EUA.) a -54°C por 48 h. Posteriormente se tomaron tres lecturas por tratamiento, en un espectroscopio Cary 630 FTIR (Agilent, Santa Clara, CA, USA), utilizando un rango espectral de 4000 a 500 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} . Los espectros se graficaron en su modo de absorbancia, utilizando el software SigmaPlot versión 11.

5.8. Análisis Termogravimétrico (TGA)

Se llevó a cabo un estudio composicional de las perlas de alginato y sus modificaciones mediante termogravimetría. Se utilizó una termobalanza modelo Discovery (TA Instrument, New Castle, Delaware, USA) del Centro de Investigación en Estudios Avanzados (CINVESTAV) unidad Mérida. El análisis se realizó por separado para cada tratamiento, colocando 10 mg de perlas en el porta-muestra, para luego someterla a un calentamiento desde 25 hasta 600°C a una velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ en atmósfera de nitrógeno. Se obtuvieron los termogramas y sus derivadas para cada uno de los tratamientos. El análisis se hizo por duplicado.

5.9. Microscopia de Fuerza Atómica (AFM)

Con la finalidad de detectar posibles cambios en la superficie de las perlas modificadas con los policationes, se llevó a cabo un análisis topográfico mediante microscopia de

fuerza atómica utilizando un microscopio XE-Bio Atomic Force Microscope (Park System, Ca, USA) en su modo de no contacto con un cantilever PPP-NCHR, y se construyeron imágenes 3D de 20 x 20 μm en el software XEI-AFM (Park System, Ca, USA), en las instalaciones del laboratorio de nanotecnología de la Universidad de Sonora (UNISON). Para ello, se colocaron por separado perlas control y modificadas en portaobjetos, se dejaron secar a temperatura ambiente durante 30 minutos y se montaron en el microscopio. El análisis se realizó por duplicado.

5.10. Ensayos de Biosorción de As(V) y As(III) en Columna

Los ensayos de biosorción de As(V) y As(III) se hicieron empacando 12 g de perlas (controles o modificadas) en una columna de vidrio Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) de 12.2 cm de altura x 2.8 cm de diámetro. La columna se montó en un soporte universal y se conectó a una bomba peristáltica Bio-Rad (Hercules, Ca, USA), el volumen de cama establecido fue de 12.3 mL, calculado en base a la altura del empaque y las dimensiones de la columna, con la fórmula de volumen de un cilindro ($V=\pi r^2 h$).

Para determinar la capacidad de adsorción de las perlas de alginato y sus modificaciones, se hicieron pasar tres volúmenes de 15 mL de As(V) o As(III) a una concentración de 100 $\mu\text{g/L}$ en solución, pH 7.0 (ajustado con NaOH 0.1 M y HCL 0.1 M), a una velocidad de flujo de 1.5 mL/min, estableciendo un tiempo de residencia de 15 min (Moreno-Rivas *et al.*, 2016). Posteriormente, se recolectó el efluente con el As(V) o el As(III) no adsorbido, se acidificó con HNO_3 al 50% (pH < 2.0), y se almacenó en refrigeración hasta su cuantificación. Se aplicaron un total de 4.5 μg de As(V) o As(III) a la columna. El experimento se llevó a cabo por duplicado.

Para la cuantificación, se utilizó un equipo de voltamperometría Metrohm 797 VA Computrace (Herisau, Switzerland), en el laboratorio de Ciencias Ambientales en las instalaciones de la Coordinación de Guaymas del CIAD. La metodología utilizada fue previamente validada por la Dra. Jaqueline García Hernández, responsable de este laboratorio. Se agregaron 1 mL de muestra, 9 mL de agua deionizada, 2 mL de solución

de electrolito y 0.01 ml de KMnO_4 en un porta-muestra, se degasificaron con nitrógeno, y se cuantificó As(V) o As(III) según el caso, utilizando un electrodo compuesto (electrodo de trabajo, de referencia y auxiliar).

La capacidad máxima de adsorción de cálculo usando la siguiente ecuación (Yan et al., 2017):

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m}$$

Donde Q_e es la capacidad máxima de remoción (mg/g), C_0 y C_e , son la concentración de As inicial y la concentración en el equilibrio respectivamente ($\mu\text{g/L}$), V es el volumen de solución utilizada (mL) y m es el peso (g) del adsorbente utilizado.

La eficiencia de remoción se calculó usando la siguiente ecuación (Nigam et al., 2013):

$$ER = (C_i - C_f) \times 100 / C_i$$

Donde ER es la eficiencia de remoción (%), C_i y C_f , son la concentración inicial y concentración final de As en solución ($\mu\text{g/L}$) respectivamente. El análisis se hizo por triplicado.

5.11. Ensayos de adsorción de As(V) y As(III) en condiciones de competencia con iones fosfato y reutilización de adsorbente

Para los experimentos en condiciones de competencia con iones fosfato y reutilización de adsorbente, se utilizaron las perlas de la formulación con mayor eficiencia de remoción de As(V) y As(III). Para los ensayos de competencia con iones fosfato, se empacaron 12 g de perlas en una columna de vidrio Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) de 12.2 x 2.8 cm montada sobre un soporte universal y conectada a una bomba peristáltica Bio-Rad (Hercules, Ca, USA), estableciendo un volumen de cama de 12.3 mL (véase sección 5.9). Posteriormente, se hicieron pasar tres volúmenes de una

solución con 100 µg/L de As(V) o As(III) y 30 mg/L de fosfato, pH 7 a un flujo de 1.5 mL/min. El efluente con el As no adsorbido se recolectó, acidificó con HNO₃ al 50 % (pH<2) y se almacenó a 5 °C hasta su cuantificación.

Para los ensayos de reutilización, se mantuvieron las mismas condiciones que los experimentos de adsorción en columna (véase sección 5.9), dándole varios ciclos de adsorción-desorción al adsorbente. Para ello, se colectaron las perlas modificadas en cada ciclo de adsorción, se sumergieron en una solución de NaOH 1M durante 24 h en agitación constante. Posteriormente, se lavaron con agua deionizada hasta un pH neutro y se empacaron para el siguiente ciclo de adsorción. Este procedimiento se repitió hasta la pérdida de integridad de las perlas.

5.12. Microscopia electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia dispersiva de rayos x (EDX)

Las imágenes de los controles y las perlas que resultaron más efectivas para la biosorción de As(V) y As(III), fueron sometidas a microscopia electrónica de barrido (SEM) y a un análisis elemental. La composición elemental de las muestras se analizó mediante energía dispersiva. Ambos estudios se realizaron con un microscopio electrónico de barrido JEOL (JSM-7600F, Tokio, Japón) equipado con un equipo de espectroscopia dispersiva de rayos X (EDX) Oxford (INCA200 EDS, UK), en las instalaciones de Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) unidad Mérida. Las mediciones de las muestras se realizaron dentro de una lectura de 80 s y las áreas promedio escaneadas fueron de 1500 mm². Previo al análisis, las muestras fueron recubiertas con una capa conductora de oro/paladio. Estos elementos han sido excluidos del análisis elemental.

5.13. Diseño Estadístico

Se llevó a cabo un diseño completamente al azar. Para el análisis de los datos se llevó a cabo un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) ($p < 0.05$). Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey-Kramer en el paquete estadístico NCSS 2007 (Statistical Analysis and Graphics, Kaysville, UT, USA). Los gráficos se obtuvieron utilizando el programa SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc, San José, CA, USA).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Influencia del pH en la carga de PEI y PLL

Se realizó un estudio previo para conocer la influencia del pH en la carga superficial de las aminos utilizadas para protonar al alginato. La Figura 8 muestra que, a los pH en los que comúnmente se encuentra el agua de consumo humano (6.5 a 7.5), las aminos utilizadas en este estudio, presentaron carga positiva. Este comportamiento en el potencial Z ha sido observado por diversos autores. Zhang *et al* (2014) encontraron cargas positivas en partículas magnéticas recubiertas con lisina en rangos de pH cercanos a la neutralidad, similar a lo reportado por Long *et al* (2017), utilizando PEI como recubrimiento.

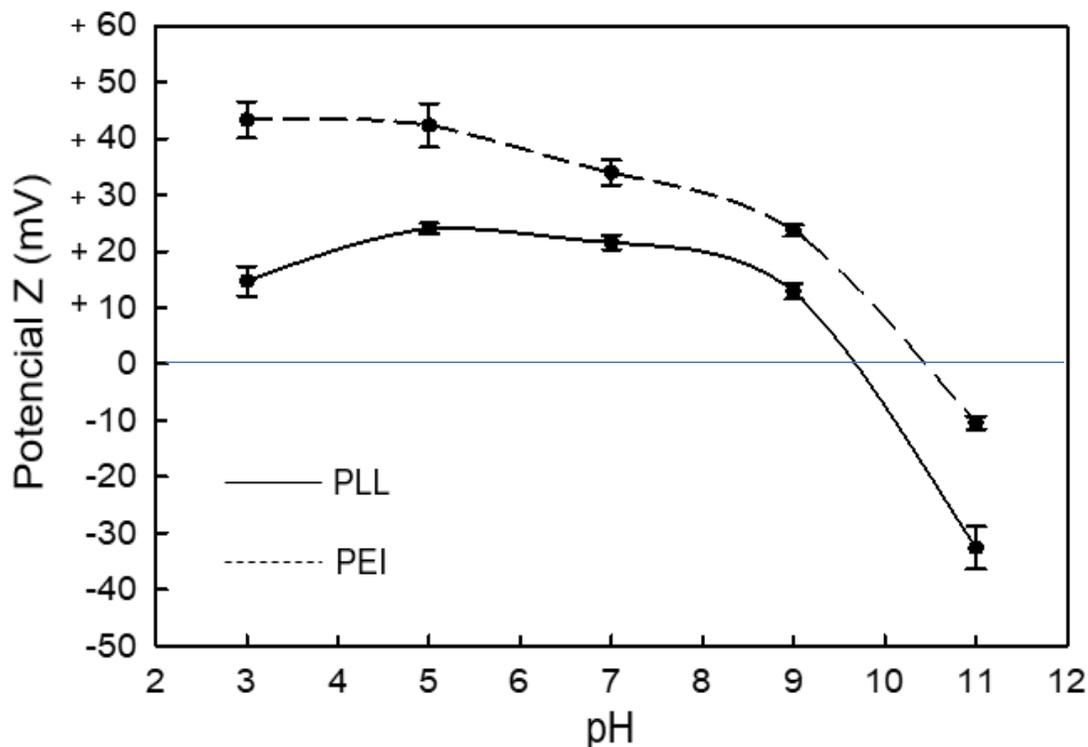


Figura 8. Potencial Z de PLL y PEI en función del pH.

6.2. Morfología, Tamaño, Humedad y Carga Superficial de Perlas de Alginato Modificadas

Se elaboraron hidrogeles con soluciones de alginato al 1% (p/v) y CaCl₂ 0.4 M para estabilizar al alginato y utilizarlo como biosorbente. La Figura 9 presenta la morfología de las perlas, la Tabla 2, el resto de la caracterización fisicoquímica. Las perlas control presentaron forma esférica, tamaño uniforme (1.27 ± 0.09 mm), 96% de humedad y carga superficial negativa. Esta última se atribuye a la presencia de los grupos carboxilos del ácido manurónico, que no intervienen en el entrecruzamiento con calcio (Tripathi *et al.*, 2013).

Tabla 2. Valores de tamaño, humedad y potencial Z de perlas de alginato y sus modificaciones

Tratamiento	Tamaño (mm)	Humedad (%)	Potencial Z (mV)
Ca-Alg (Control)	1.27 ± 0.09^a	96.14 ± 0.4^a	-27.5 ± 1.46^a
Ca-Alg-EDC/NHS	1.28 ± 0.08^a	96.05 ± 0.37^a	-1.70 ± 0.18^b
Ca-Alg-EDC/NHS-PLL	1.27 ± 0.13^a	92.92 ± 0.83^a	$+23.6 \pm 0.15^c$
Ca-Alg-EDC/NHS-PEI	1.22 ± 0.09^{ab}	93.32 ± 0.35^a	$+23.3 \pm 0.27^c$
Ca-Alg-GA-PLL (nc)	1.23 ± 0.11^b	90.26 ± 0.63^b	$+0.64 \pm 0.12^d$
Ca-Alg-GA-PEI (nc)	1.20 ± 0.11^c	82.14 ± 1.04^c	$+10.3 \pm 0.16^e$

nc: núcleo coraza. ^{abc} Literales indican diferencia significativa entre columnas (P<0.05).

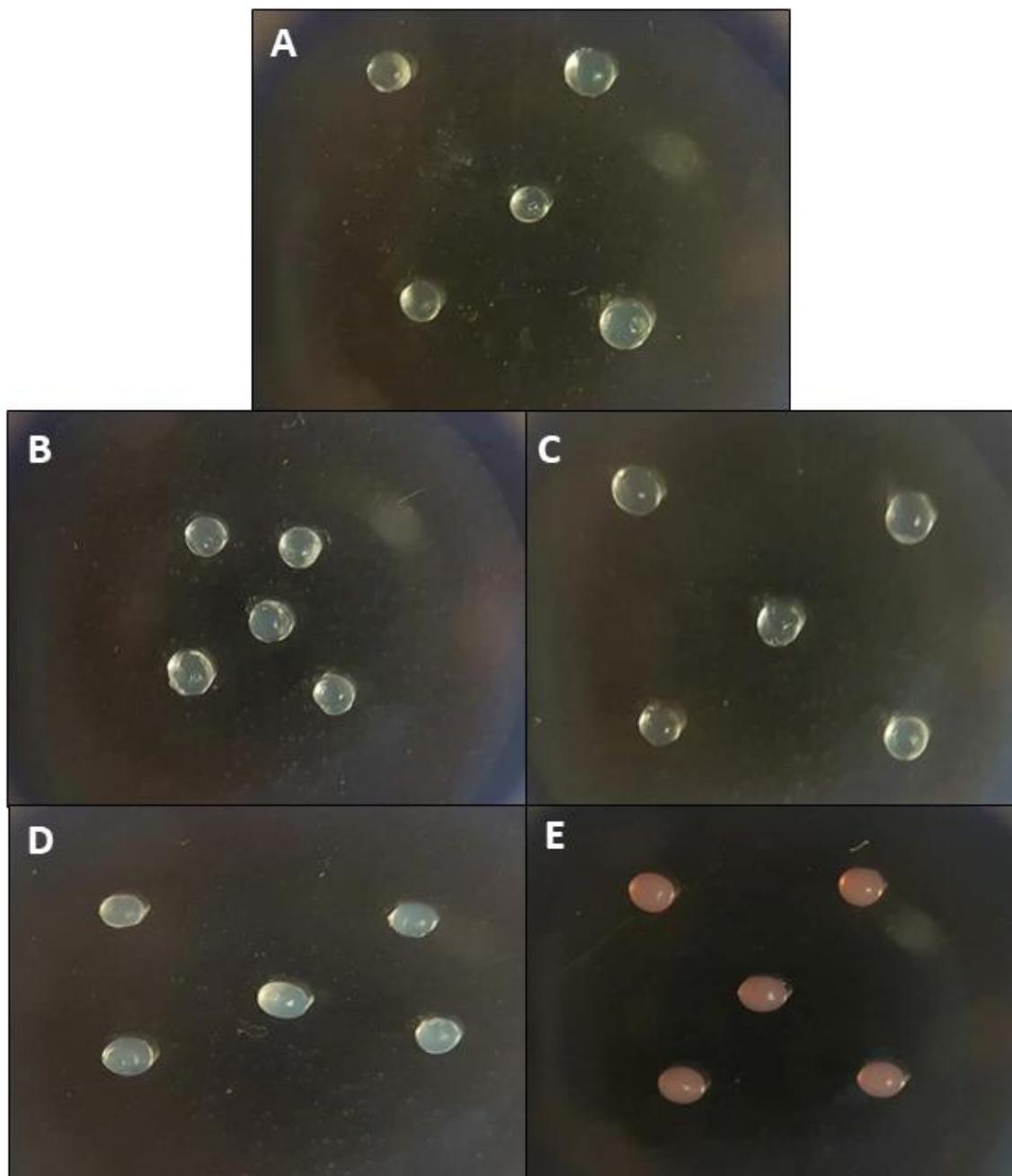


Figura 9. Morfología de perlas de alginato antes y después de la protonación con los policationes mediante ambos métodos: A) Ca-Alg, B) Ca-Alg-EDC/NHS-PLL, C) Ca-Alg-GA-PLL, D) Ca-Alg-EDC/NHS-PEI y E) Ca-Alg-GA-PEI.

Las perlas de alginato entrecruzadas con PLL y PEI, utilizando EDC/NHS (Ca-Alg-EDC/NHS-PLL y Ca-Alg-EDC/NHS-PEI), presentaron forma y tamaño similares a las perlas control, mientras que la humedad de las perlas disminuyó, posiblemente por el aumento de contenido en sólidos. Otro cambio importante fue el de la carga superficial, de negativa (~ -27 mV) a positiva ($\sim +23$ mV), evidenciando la incorporación de los policationes a la superficie de las partículas.

El entrecruzante EDC, reacciona con los grupos carboxilo del alginato formando un intermediario inestable. La adición de NHS estabiliza al sistema formando un éster que evita reacciones laterales no deseadas. Al añadir los policationes, se lleva a cabo una sustitución nucleofílica de tipo SN2, donde el éster se sustituye por los grupos amino presentes en los policationes, permitiendo la formación de un enlace covalente de tipo amida, entre los grupos amino de los policationes y los grupos carboxilo del alginato (Kondaveeti et al., 2018; Gao et al., 2017). La Figura 10 representa un modelo de esta reacción cuando se utiliza PLL o PEI.

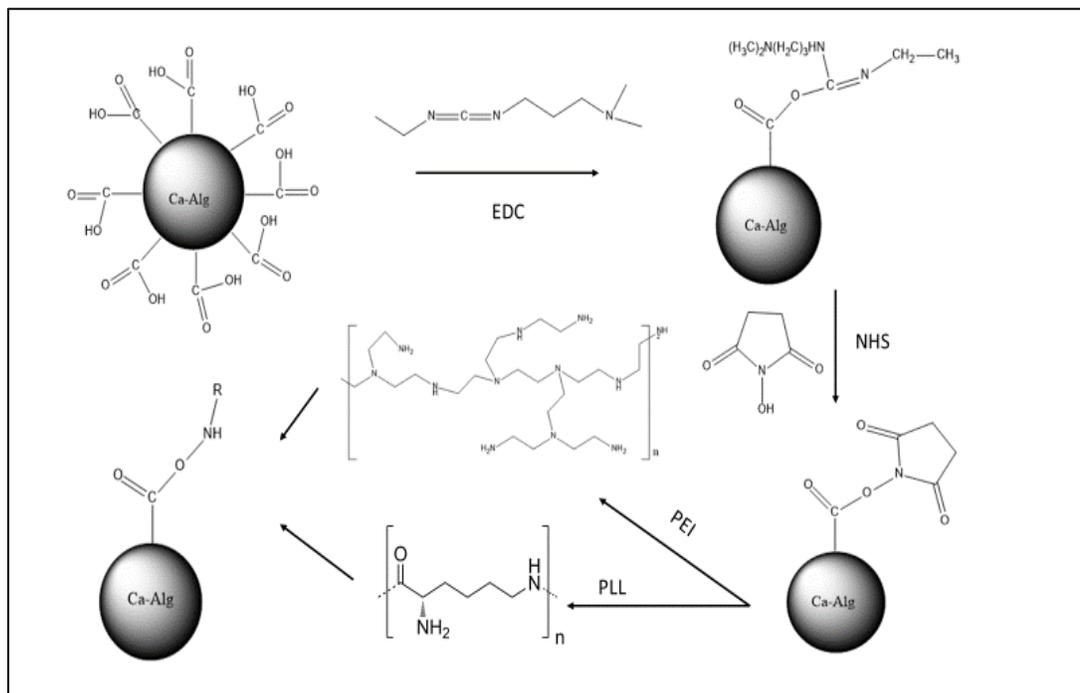


Figura 10. Mecanismo de formación de enlace amida utilizando EDC/NHS. Adaptada de Gao et al, (2017)

Las perlas entrecruzadas con GA (Ca-Alg-PLL-GA y Ca-Alg-PEI-GA) presentaron formas ovaladas y menor tamaño en comparación al control (Figura 9, Tabla 2). Además, la humedad fue menor ($P < 0.05$), disminuyendo hasta 90 y 82% para Ca-Alg-PLL-GA y Ca-Alg-PEI-GA, respectivamente. Esta disminución de la humedad puede deberse a una menor disponibilidad de grupos OH del alginato para captar agua a través de puentes de hidrógeno (Gao *et al.*, 2017). Además, durante la reacción de la amina proveniente del polication (nucleófilo) sobre el carbonilo (electrófilo) del GA, se forma un intermediario hemiaminal ($\text{NH-CR}_2\text{-OH}$), seguido de la pérdida de agua para la formación del enlace imina (C=N), deshidratando las perlas (Nagireddi *et al.*, 2017; Poon *et al.*, 2014b).

También se observaron cambios en la carga superficial de las partículas modificadas con respecto al control, pasando de valores negativos a positivos (Tabla 2) evidenciando la modificación con la poliamina.

En la Figura 11 se muestra un modelo para las estructuras de las perlas de alginato entrecruzadas con los policationes utilizando glutaraldehído (GA). Al sumergir las perlas de alginato en las soluciones de los policationes, éstos recubrirán las perlas de alginato estableciendo interacciones electrostáticas con los grupos carboxilo del alginato, las cuales son inestables. La función del GA es estabilizar dichas interacciones utilizándolo como entrecruzante ya que puede reaccionar tanto con los grupos amino de los policationes, como con los hidroxilos del alginato (Sun *et al.*, 2010). Este entrecruzamiento evita que los policationes se disocien debido a cambios de pH o fuerza iónica, al formar enlaces covalentes de tipo acetales con los hidroxilos e imina con las aminas (Simo *et al.*, 2017). Sin embargo, el aumento hacia cargas positivas fue mayor ($P < 0.05$) al entrecruzar con la carbodiimida que con el glutaraldehído (Tabla 2). Esto pudo deberse a al tipo de entrecruzante utilizado, de los cuales el uso de carbodiimida permite una mayor exposición de las aminas presentes en los policationes.

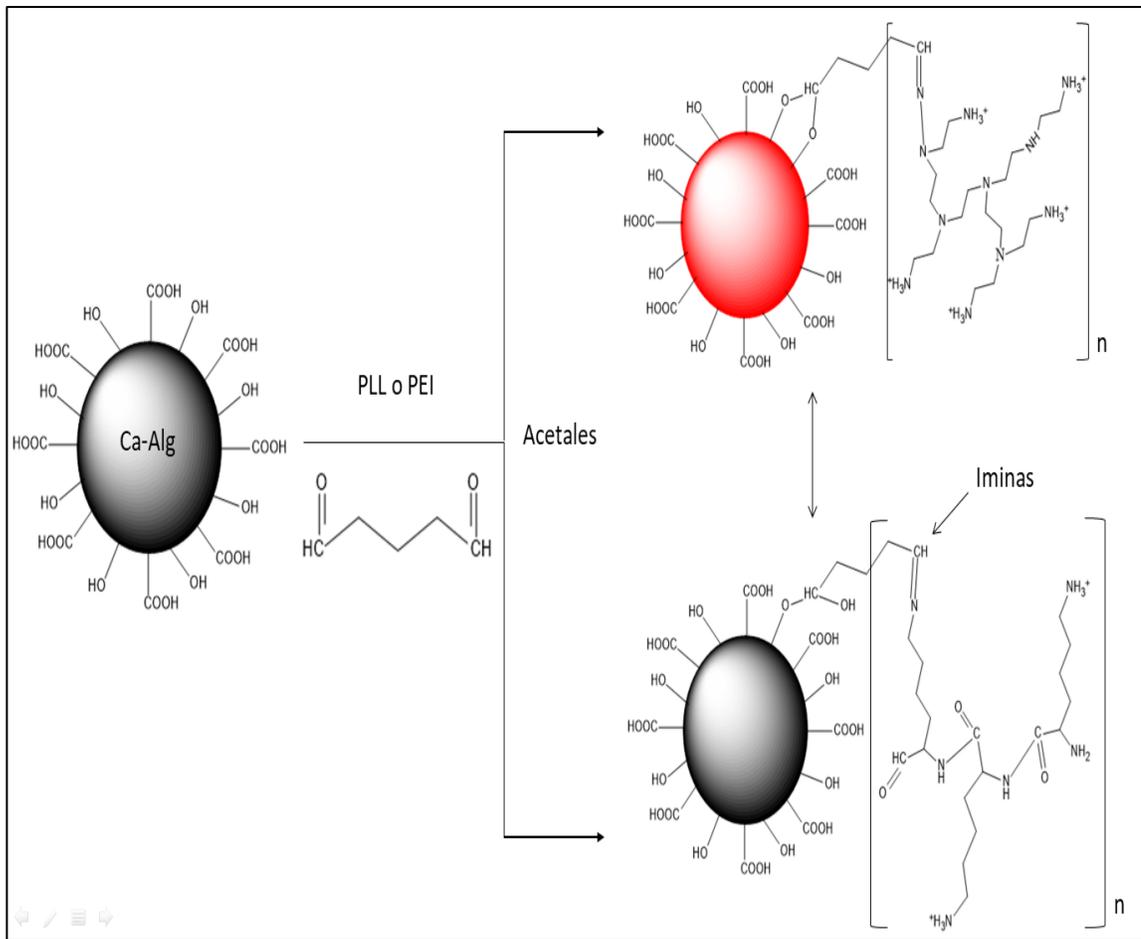


Figura 11. Estructuras de perlas de alginato entrecruzadas con policationes utilizando GA. Adaptada de Sun *et al.*, (2010)

Otro cambio importante durante el entrecruzamiento de alginato con PEI fue el del color de las perlas, las cuales se tornaron rojas (Figura 9). Este cambio en el color, es un indicador del entrecruzamiento entre el GA y la PEI, mediante la formación de enlaces alternados de tipo imina insaturado (Poon *et al.*, 2014a; Danial *et al.*, 2010). Como puede observarse en la Figura 9, en el caso de la PLL, no se presentaron cambios en la coloración de las perlas. Esto puede deberse a que la PLL presenta menos grupos amino, por lo que presenta menor grado de entrecruzamiento que la PEI. Además, la carga superficial del entrecruzamiento con PLL y GA fue mucho menos que la carga del entrecruzamiento con PEI y GA, sugiriendo una menor densidad de cargas positivas (Gao *et al.*, 2017).

Para comprobar que las perlas modificadas pueden conservar su carga positiva a los pH que regularmente se encuentra el agua de consumo, se midió su potencial zeta a pH entre 6.5 y 7.5. En la Figura 12 se esquematiza el resultado, como puede observarse, la carga que presentaron las perlas control y modificadas (Tabla 2) no varió ($P > 0,05$), al modificar el pH en los rangos mencionados.

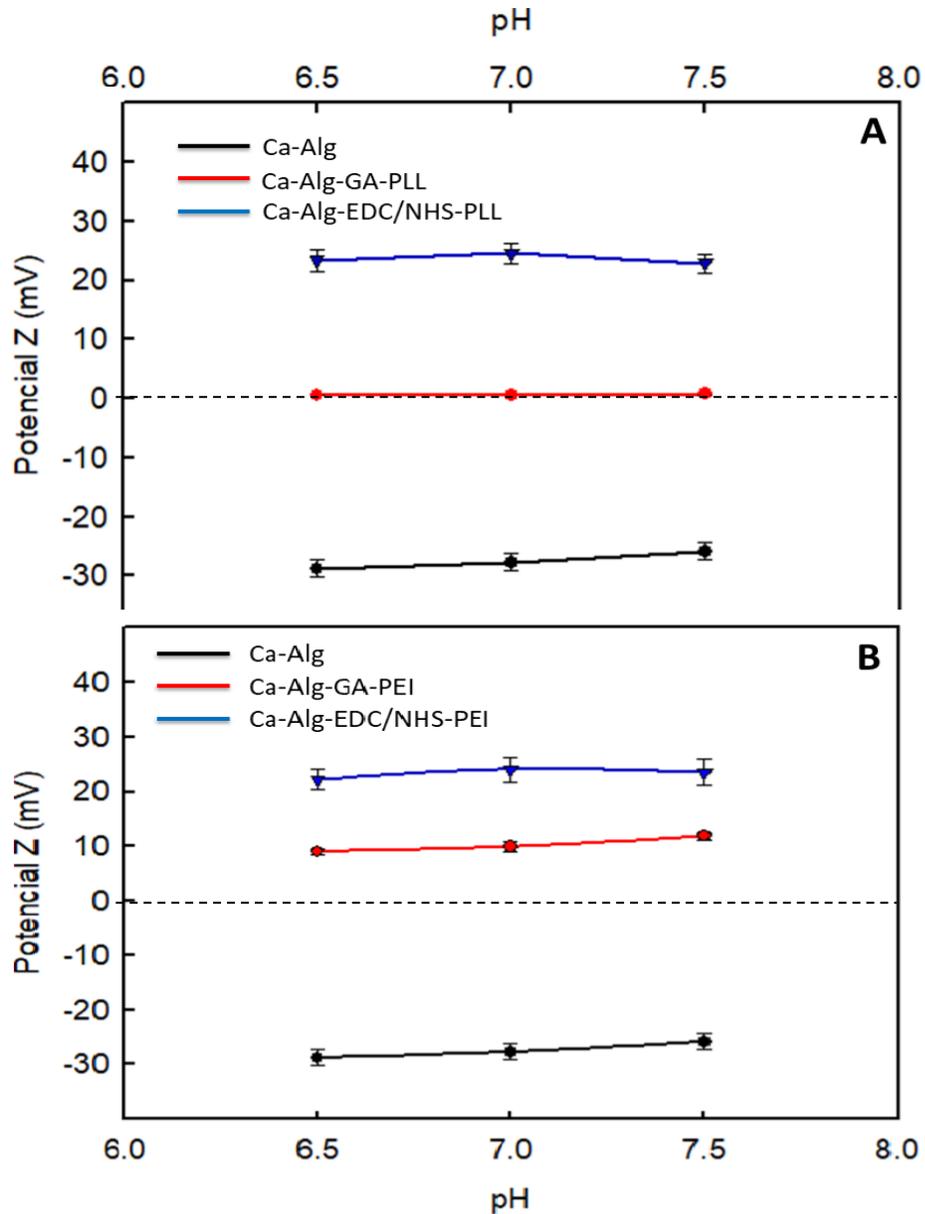


Figura 12. Potencial Z de modificaciones de perlas de alginato en rango de pH de 6.5-7.5: modificaciones con (A) PLL y (B) PEI

6.3. Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier con Reflexión Total Atenuada (FTIR-ATR)

Para conocer las posibles interacciones entre la matriz de alginato y los policonaciones, se llevó a cabo un análisis estructural mediante FTIR-ATR. En la Tabla 3 se resumen los grupos funcionales presentes en la estructura química del alginato previo a las modificaciones realizadas con los policonaciones. Estos grupos concuerdan con lo reportado por otros investigadores (Gierszewska *et al.*, 2018; Platero *et al.*, 2017; Tiwari *et al.*, 2012).

Tabla 3. Número de ondas y grupos funcionales de espectro de infrarrojo de alginato.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional
3207	Vibración de tensión grupos OH
2933	Vibración de tensión grupos CH ₂ y CH ₃
1593	Señal asimétrica de grupos C=O
1415	Señales simétricas grupos C=O
1029	Vibraciones de tensión enlaces C-O

En la Figura 13 se muestran los espectros de las perlas de alginato control y modificadas con PEI mediante ambos métodos de entrecruzamiento. Después de la activación de los grupos carboxilos con EDC/NHS, no hubo aparición ni desaparición de bandas en el espectro, indicando que estos agentes químicos no modificaron a la estructura del alginato. Sin embargo, se detectó una disminución en la intensidad de la banda correspondiente a los grupos OH en 3207 cm⁻¹, la cual se atribuye a la activación de los grupos carboxilos.

Una vez entrecruzadas las perlas de alginato con PEI utilizando EDC/NHS, apareció una banda ancha en 3148 cm⁻¹, atribuida a los grupos OH del alginato y NH de la PEI.

Además, se observó la aparición de dos pequeñas bandas en 3341 y 3267 cm^{-1} , que pueden corresponder a los grupos amino presentes en la PEI unida a la matriz de alginato (Yan *et al.*, 2017; Hethnawi *et al.*, 2017). Las bandas en 2911 y 2807 cm^{-1} correspondientes a los grupos CH_2 y CH_3 , aumentaron notablemente su intensidad. Lo anterior, puede atribuirse a la gran cantidad de grupos metileno presentes en la estructura química de la PEI incorporada a la superficie de las perlas de alginato (Yan *et al.*, 2017). La señal correspondiente a las vibraciones de tensión asimétrica de los grupos carbonilo en 1593 cm^{-1} , presentó un corrimiento a 1585 cm^{-1} , posiblemente debido a las interacciones con los grupos amino de la PEI. La banda en 1022 cm^{-1} , corresponde a los enlaces C-O y C-N, también mostró un ligero desplazamiento. Por último, la banda en 881 cm^{-1} , corresponde a la señal de las aminas primarias incorporadas a las perlas de alginato (Kondaveeti *et al.*, 2018).

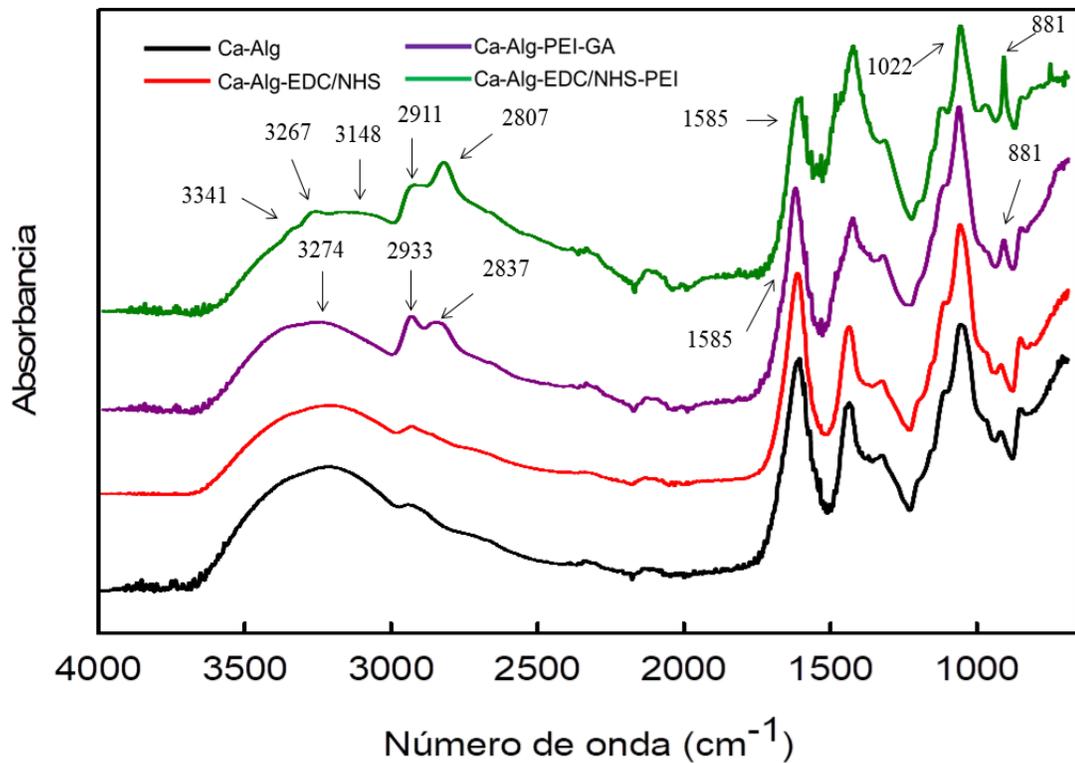


Figura 13. FTIR-ATR de modificaciones de perlas de alginato con PEI

Al entrecruzar con GA también se presentó una banda intensa en 3274 cm^{-1} , atribuida a los grupos OH del alginato y NH de la PEI. A diferencia del entrecruzamiento con EDC/NHS, no aparecieron las bandas en 3341 y 3267 cm^{-1} , debido a que no se lleva a cabo la formación de enlaces covalentes entre el alginato y la PEI. Sin embargo, las intensidades de las bandas en 2933 y 2837 cm^{-1} , atribuidas a los grupos CH_2 y CH_3 presentes en la PEI, presentaron un aumento similar al entrecruzamiento con EDC/NHS. Además, se observó un desplazamiento de la banda en 1593 a 1585 cm^{-1} , que puede atribuirse a la formación de los enlaces imina entre los grupos aldehído del GA y los grupos amino de la PEI, confirmando el recubrimiento de la matriz de alginato con el polímero (Yan *et al.*, 2017).

Las modificaciones realizadas con PLL se presentan en la Figura 14. El entrecruzamiento utilizando EDC/NHS, mostró un aumento en la intensidad de la banda en 3334 cm^{-1} correspondiente a los grupos OH del alginato y NH de la PLL. La aparición de dos bandas en 3348 y 3237 cm^{-1} , puede atribuirse a la formación de enlaces covalentes de tipo amida entre los grupos amino de la PLL y los grupos carboxilo del alginato (Gao *et al.*, 2017). La señal correspondiente a los grupos carbonilo en 1593 cm^{-1} , presentó un aumento en la intensidad de la banda, además, de un desplazamiento a 1608 cm^{-1} , posiblemente debido a las interacciones entre los grupos carbonilo del alginato y los grupos amino de la PLL (Liu *et al.*, 2015).

Por otro lado, el entrecruzamiento con PLL utilizando GA, presentó un aumento en las intensidades de las bandas correspondientes a los grupos metilenos, atribuido a la presencia de estos grupos en las cadenas laterales de la PLL incorporada a la superficie de las perlas de alginato. Además, se observó la aparición de una pequeña banda en 1697 cm^{-1} que puede atribuirse a la flexión de los grupos amino presentes en la PLL unida a la matriz de alginato. Por último, en la formulación Ca-Alg-PLL-GA, la banda en 822 cm^{-1} , presentó un corrimiento hacia 805 cm^{-1} , atribuido a la incorporación de la PLL al alginato. (Sahiner, 2017).

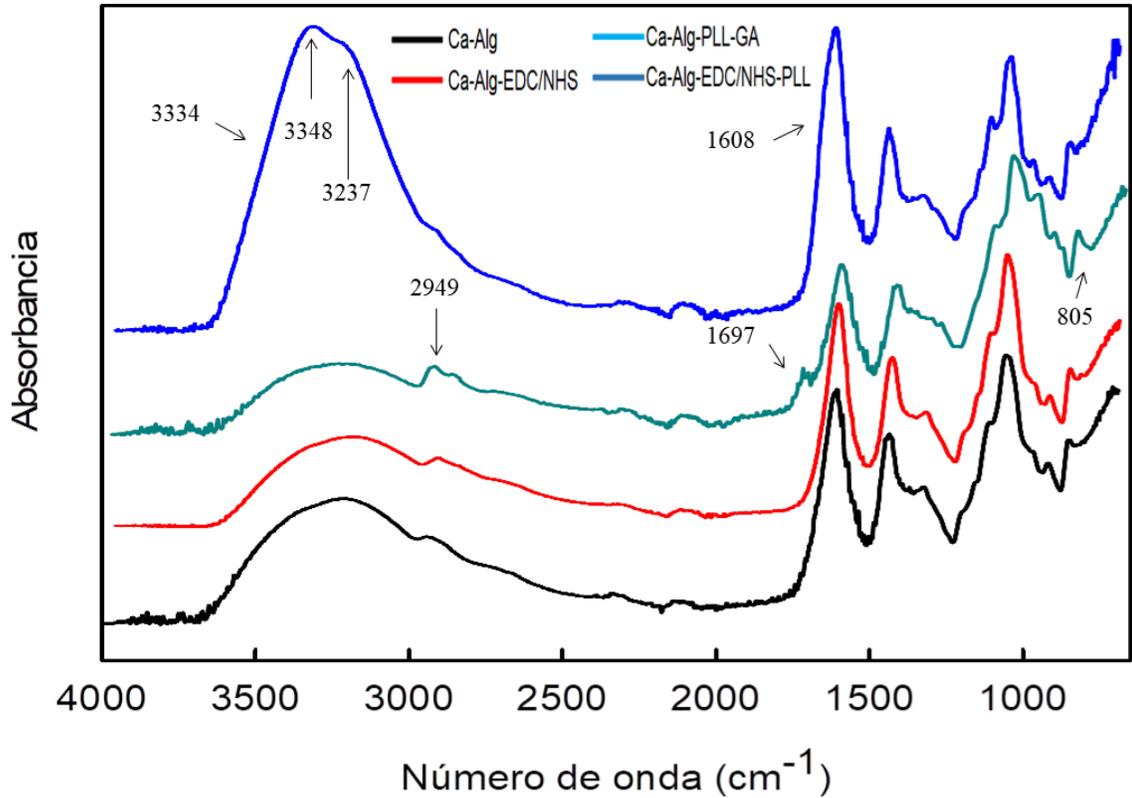


Figura 14. FTIR-ATR de modificaciones de perlas de alginato con PLL

6.4. Análisis Termogravimétrico (TGA)

Para corroborar las modificaciones en la superficie de las cápsulas se llevó a cabo un estudio composicional mediante análisis termogravimétrico. En la Figura 15 se muestran las curvas (A) y derivadas (B) de las perlas de alginato modificadas con PEI, mediante los dos métodos utilizados en este estudio. El termograma de las perlas de alginato control (sin modificar; línea negra), presentó una descomposición en una sola etapa. Ésta ocurrió entre los 33 y los 130 °C, con una degradación máxima a los 111 °C. El efecto se atribuye a la pérdida de humedad y a la degradación de las cadenas del alginato producida por el calentamiento (Platero *et al.*, 2017).

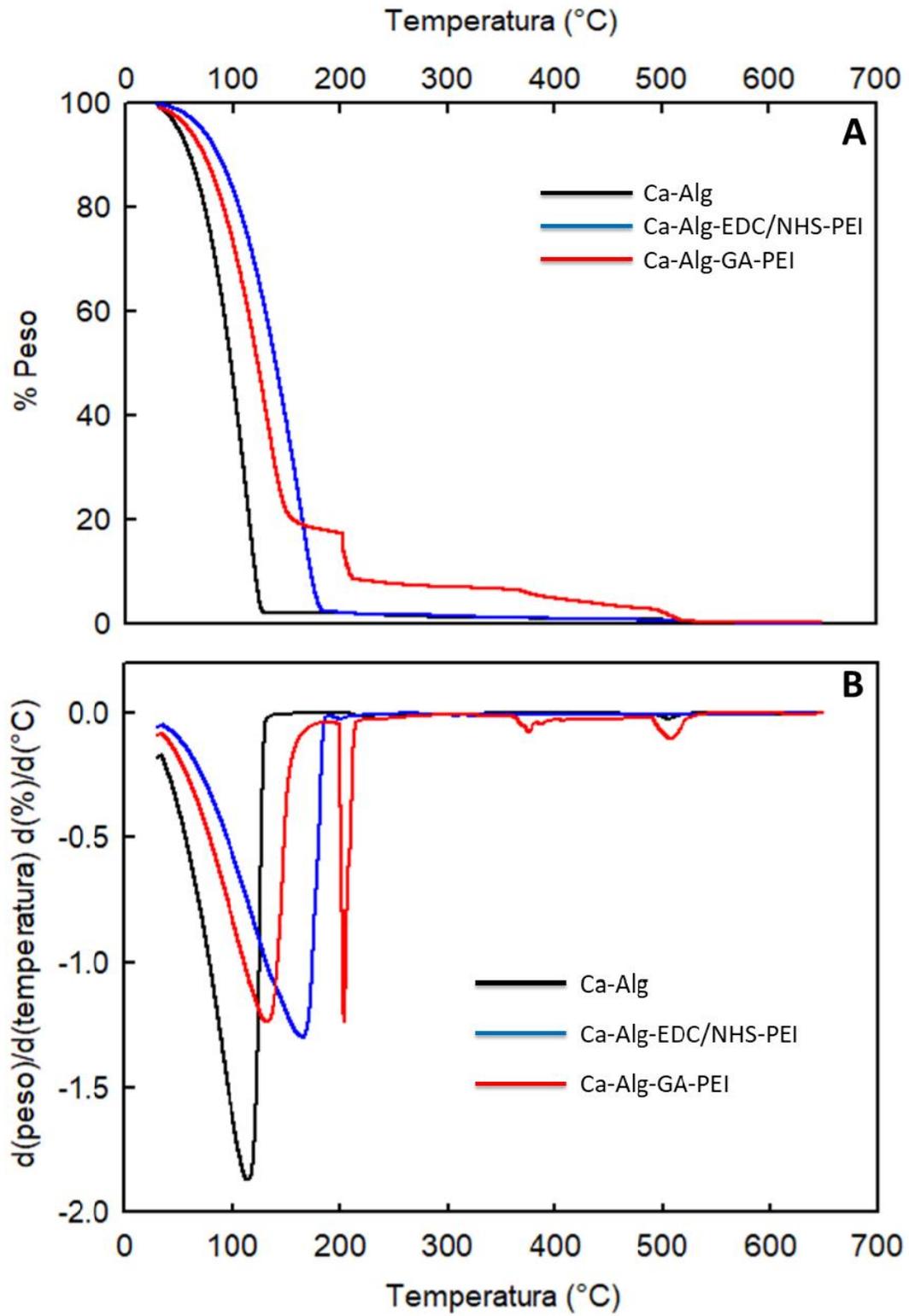


Figura 15. Curvas (A) y derivadas (B) de TGA de modificaciones de perlas de alginato con PEI

Después del entrecruzamiento covalente con PEI utilizando EDC/NHS, se presentó una descomposición en una etapa, similar a las perlas control. Sin embargo, las temperaturas de degradación inicial y degradación máxima, presentaron un corrimiento desde 33 °C hasta 46 °C y desde 111 °C hasta 153 °C, respectivamente. Dichos corrimientos indican una mayor estabilidad térmica de las perlas debida a la interacción entre la matriz de alginato y la PEI (Hethnawi *et al.*, 2017).

El entrecruzamiento con PEI utilizando GA, también presentó cambios en su patrón de descomposición, mostrando una degradación térmica en varias etapas. La primera, entre los 43 °C y los 195 °C, con una degradación máxima a los 128 °C. Este comportamiento puede atribuirse a la pérdida de humedad y degradación térmica del alginato. La segunda degradación se presentó entre los 198 °C y los 368 °C, con una degradación máxima a los 205 °C. Esta degradación puede atribuirse a la descomposición del glutaraldehído, la cual se da de forma muy rápida (Shaimi y Low, 2015). Una última etapa entre los 361 °C y los 496 °C, puede atribuirse a la degradación de la PEI, con una degradación máxima a los 377 °C (Sun *et al.*, 2016). En resumen, los termogramas de los dos tratamientos corroboraron la incorporación del policatión a la superficie de las perlas.

La Figura 16 muestra las curvas (A) y derivadas (B) de las modificaciones con PLL mediante ambos métodos. El termograma del entrecruzamiento con PLL utilizando EDC/NHS, presentó una degradación en varias etapas, siendo la primera entre los 33 °C y los 107 °C, con una degradación máxima a los 84 °C. Ésta se puede atribuir a la pérdida de humedad y degradación del alginato. La segunda degradación se presentó entre los 199 °C y los 496 °C, con una degradación máxima a los 201 °C. Esta degradación puede atribuirse a la descomposición del poliaminoácido. Patrones similares de descomposición de lisina y arginina fueron reportados por Zhang *et al* (2014). El entrecruzamiento de PEI con GA, presentó una degradación en una sola etapa, iniciando en 49 °C y finalizando en 182 °C, con una degradación máxima a los 168 °C. Este aumento en la estabilidad térmica de las perlas de alginato se debe a las interacciones de la matriz y con el policatión. Un comportamiento similar fue reportado por Poon *et al* (2014b) en copolímeros de quitosano.

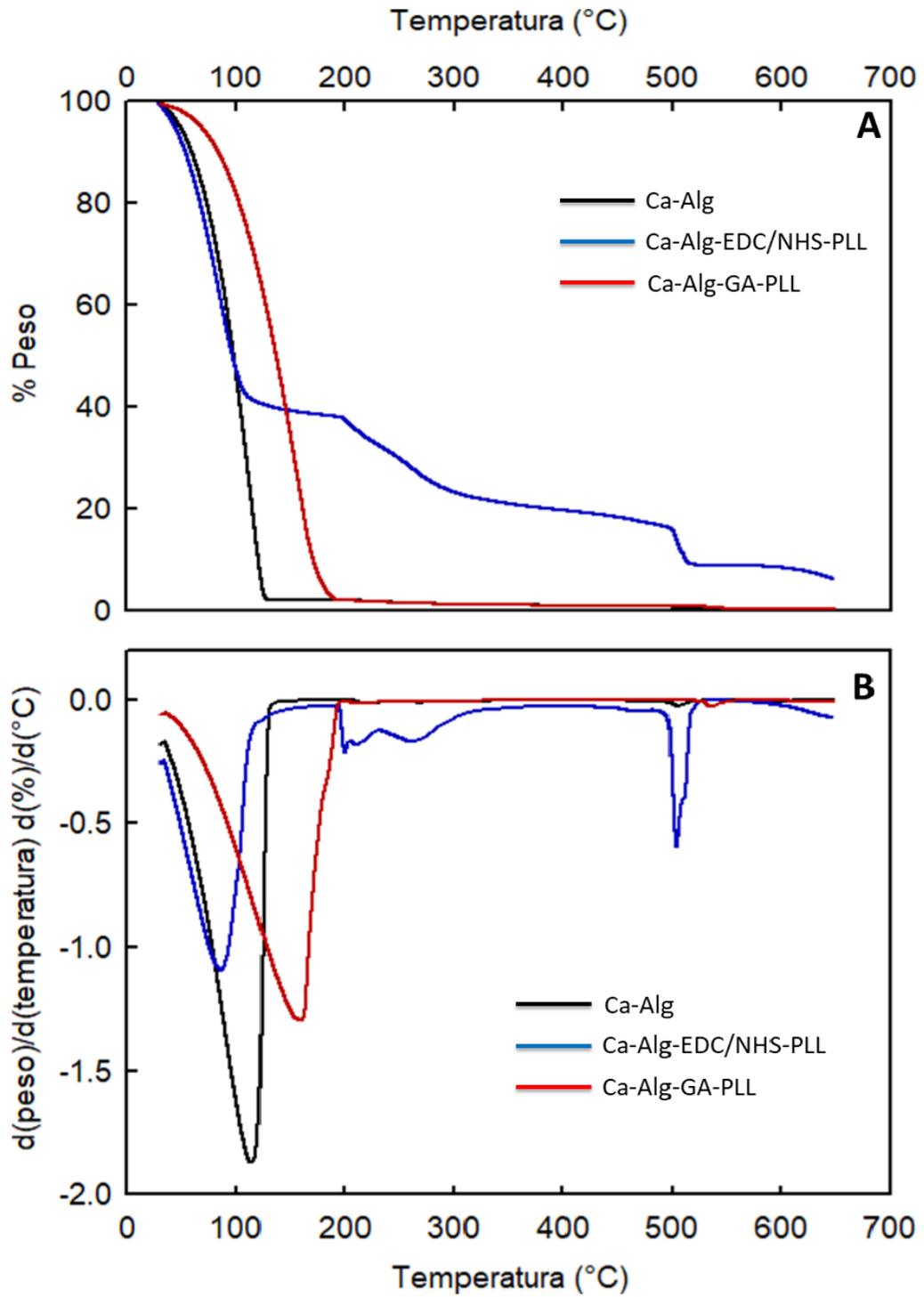


Figura 16. Curvas (A) y derivadas (B) de TGA de modificaciones de perlas de alginato con PLL

6.5. Microscopia de Fuerza Atómica (AFM)

Para detectar posibles cambios en la topografía de las perlas de alginato después de la modificación con las poliaminas, se llevó a cabo un análisis de superficie mediante microscopia de fuerza atómica. A diferencia de los análisis de SEM que requieren un recubrimiento de oro/paladio y aplicación de vacío para tomar las imágenes (véase sección 6.8), el AFM permite el estudio de la muestra sin ningún tipo de tratamiento, por lo que se obtiene información de la muestra en su forma natural.

La Figura 17 muestra las imágenes en 3D de las perlas de alginato control y su modificación con PEI mediante ambos métodos. Los controles presentaron una rugosidad de 313.736 nm. Después del entrecruzamiento con PEI utilizando EDC/NHS, la superficie de las perlas presentó una topografía más homogénea, con una disminución en la rugosidad hasta 196.964 nm, similar al entrecruzamiento con GA, el cual disminuyó su rugosidad hasta 193.648 nm.

Los entrecruzamientos con PLL mediante ambos métodos también presentaron superficies más homogéneas, así como disminución en la rugosidad. El entrecruzamiento con EDC/NHS presentó una rugosidad de 193.540 nm, mientras que el entrecruzamiento con GA presentó de 268.035 nm (Figura 18). Xu *et al* (2016), recubrieron matrices de poliacrilonitrilo (PAN) con policationes ramificados y de alto peso molecular, observando una menor rugosidad de superficie al aumentar el peso molecular de los policationes. En resumen, los resultados de este análisis son una evidencia más de que las modificaciones se llevaron a cabo.

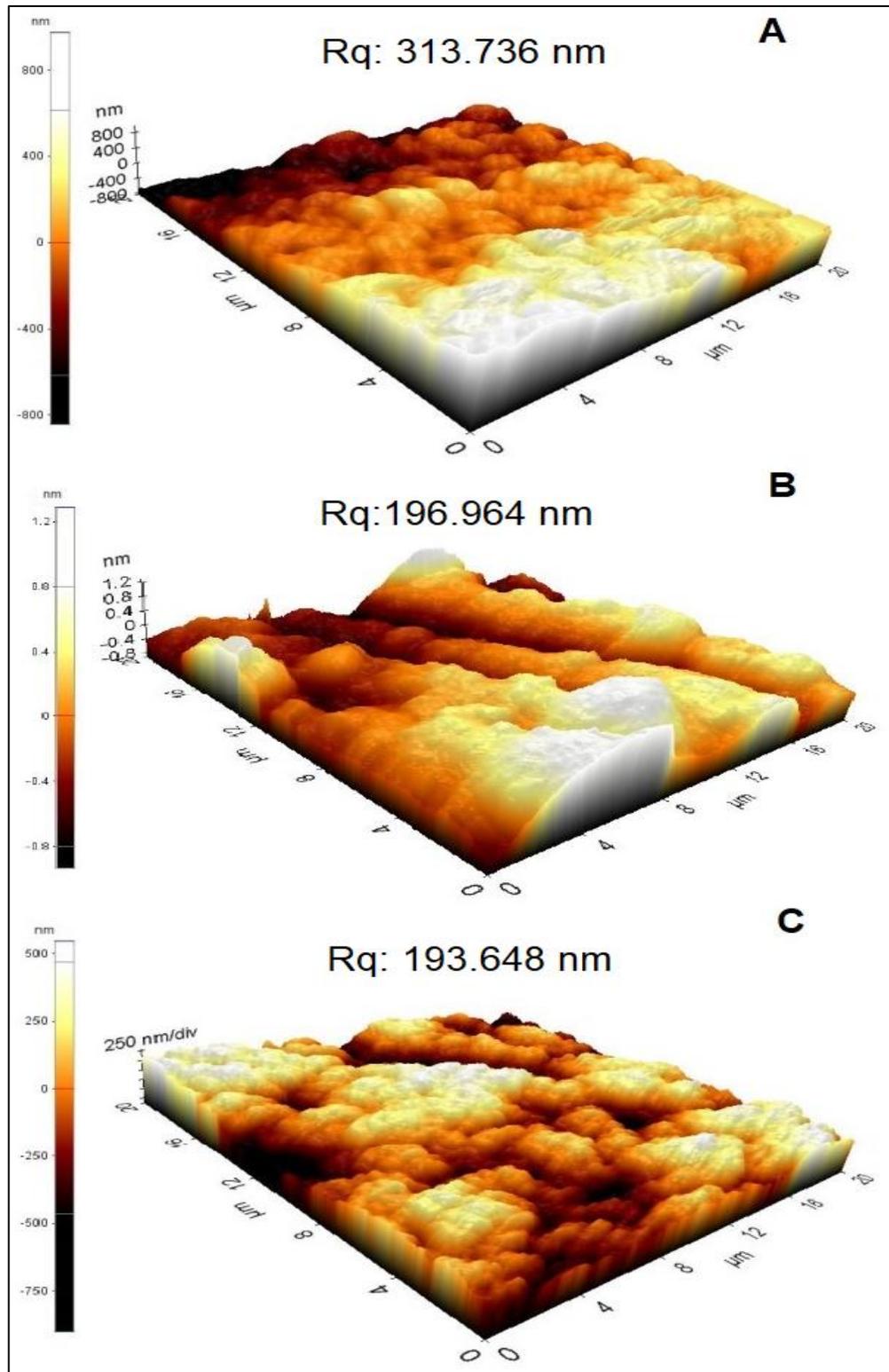


Figura 17. Imágenes 3D de superficie de perlas de alginato y su modificación con PEI:
 A) Ca-Alg, B) Ca-Alg-EDC/NHS-PEI y C) Ca-Alg-GA-PEI.

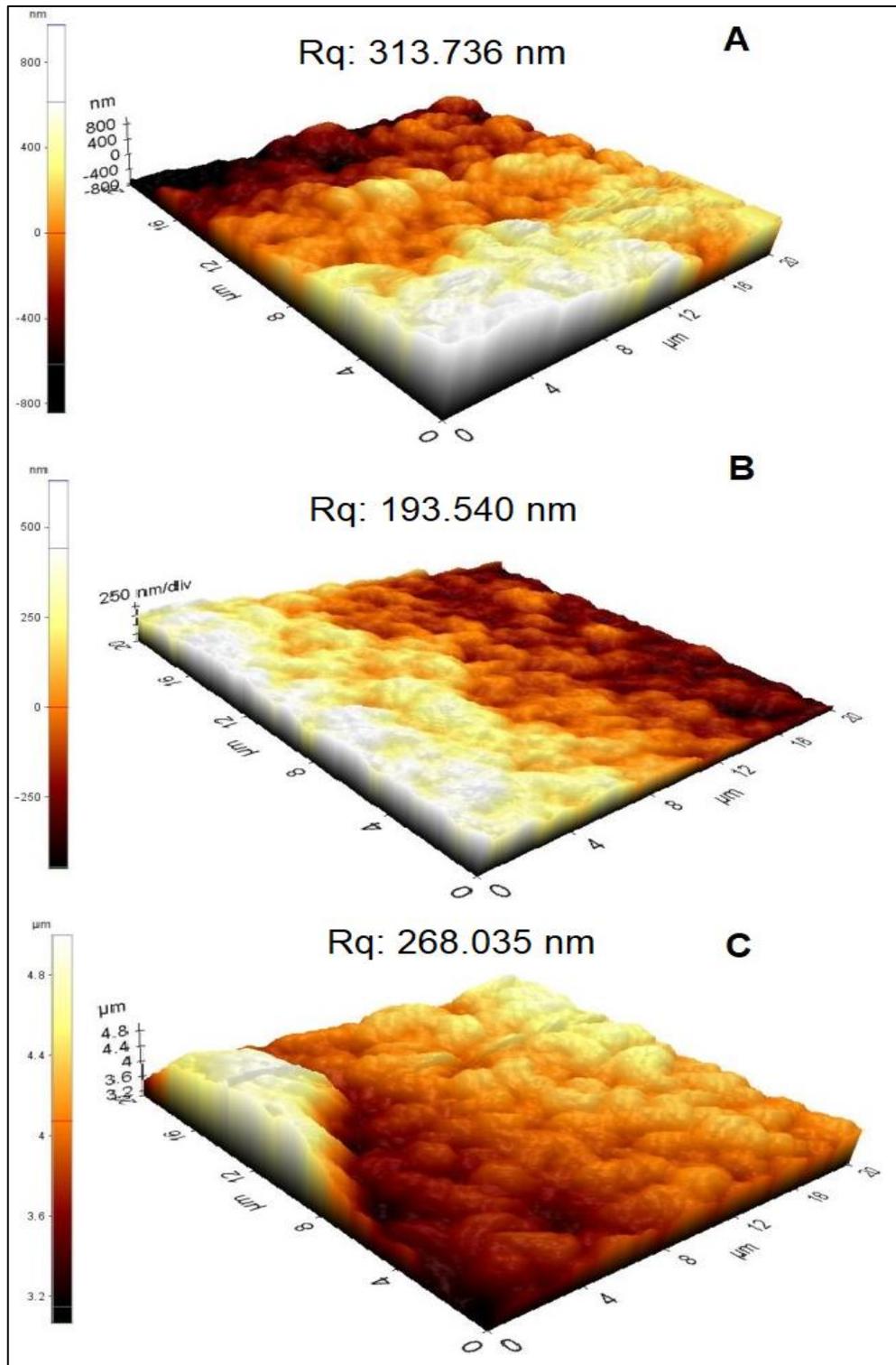


Figura 18. Imágenes 3D de superficie de perlas de alginato y su modificación con PLL:
 A) Ca-Alg, B) Ca-Alg-EDC/NHS-PLL y C) Ca-Alg-GA-PLL.

6.6. Biosorción de As(V) y As(III) por las perlas de alginato protonadas

La capacidad de adsorción de As(V) y As(III) de las perlas de alginato modificadas, se determinó por voltamperimetría. Tanto los controles, como las perlas protonadas por los diferentes métodos, se pusieron en contacto, individualmente, con soluciones acuosas de As(V) y As(III), a una concentración de 100 µg/L a pH 7.

La Figura 19, muestra la eficiencia de biosorción (%) de As(V) de los distintos tratamientos. La formulación entrecruzada con PEI utilizando GA fue la de mayor eficiencia con un 36.4% de adsorción. El proceso de adsorción de As(V) está fuertemente influenciado por los cambios de pH. Estos cambios están ligados a la protonación del adsorbente y la especiación del As(V). En el intervalo de pH entre 2 y 6.9, la especie de As(V) predominante es H_2AsO_4^- , mientras que en un rango de 7 a 9 se encuentra en forma de HAsO_4^{2-} . Además, al aumentar el pH, el adsorbente presenta menos cargas positivas, por lo que los sitios de unión disponibles disminuyen (Know *et al.*, 2016).

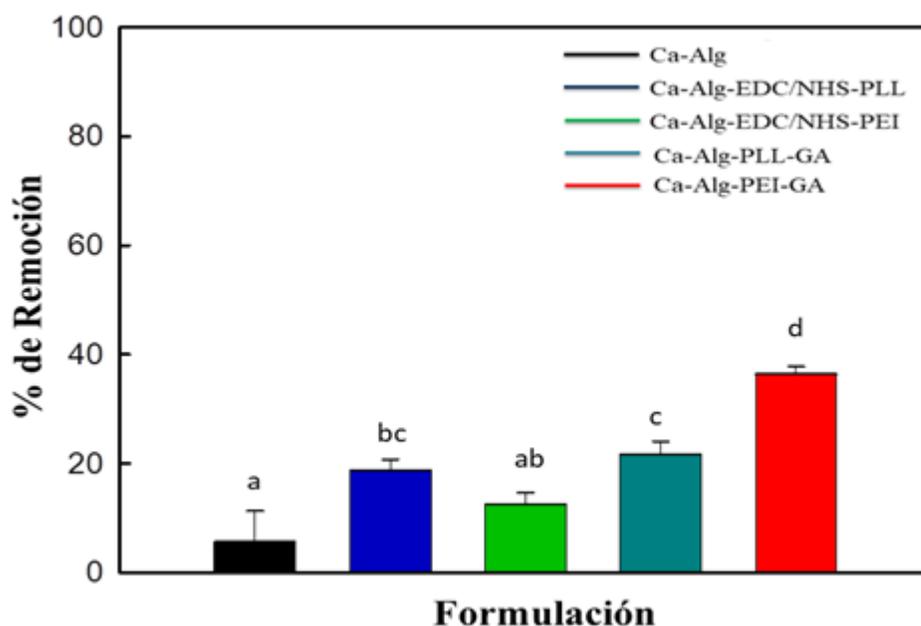


Figura 19. Remoción de As(V) en solución acuosa por modificaciones de perlas de alginato a pH 7.

La captación de iones As(V), se dio principalmente por interacciones electrostáticas entre los grupos amino protonados de la PEI y los oxianiones As(V). Al ser $\text{H}_2\text{AsO}_4^{-2}$ la especie predominante de As(V) a pH 7, la captación de un ion As(V) requiere dos sitios de unión en el adsorbente. Al aumentar el pH, la densidad de cargas positivas de las perlas modificadas disminuye, lo que afecta la remoción de iones As(V) (Padungthon *et al.*, 2015). Boddu *et al* (2008) sugiere que las especies de As(V) son mayormente removidas en rangos de pH ácidos, donde los grupos amino presentan mayor cantidad de cargas positivas y la especie de As(V) predominante es H_2AsO_4^- .

Diversos autores han reportado la remoción de As(V) en rangos de pH cercanos a la neutralidad. Sigdel *et al* (2016) reportaron una remoción del 30% de As(V) en solución acuosa a pH 6 utilizando perlas de alginato impregnadas con óxido de hierro. Estudios similares han reportado la remoción del 54.7% de As(V) a pH 7 utilizando nanopartículas de óxido de cerio (Li *et al.*, 2012). Raj *et al* (2013a), reportaron el aumento en la adsorción de As(V) de un 85 a un 97%, en solución acuosa a pH 7.5, utilizando desechos agroindustriales de maíz entrecruzados con PEI.

La Figura 20 muestra la eficiencia de biosorción (%) de As(III) por los distintos tratamientos. Similar al comportamiento con As(V), la formulación entrecruzada con PEI utilizando GA, fue la que presentó mayor porcentaje de remoción de As(III), con un 66.7 % de biosorción. Para este caso, el pH del agua de consumo no influye en la biosorción del As(III) ya que este se encuentra en forma de ácido arsenioso (H_3AsO_3), el cual es neutro en un rango de pH de 2 a 9.2, y en su forma ionizada H_2AsO_3^- por encima de pH 9.2 (Li *et al.*, 2012). Debido a lo anterior, la biosorción de As(III) no pudo haberse llevado a cabo mediante el establecimiento de interacciones electrostáticas.

Diversos autores indican que el principal mecanismo de adsorción de As(III), se debe a un proceso de quelación de los iones As(III) por los grupos funcionales del adsorbente. El As(III) se comporta como un ácido de Lewis, capaz de captar electrones libres, ya que su octeto se encuentra incompleto. Por otro lado, los grupos amino presentes en las perlas de alginato modificadas con policationes, se comportan como bases de Lewis, capaces de donar electrones libres, formando complejos de coordinación mono o bidentados (Deng *et al.*, 2016).

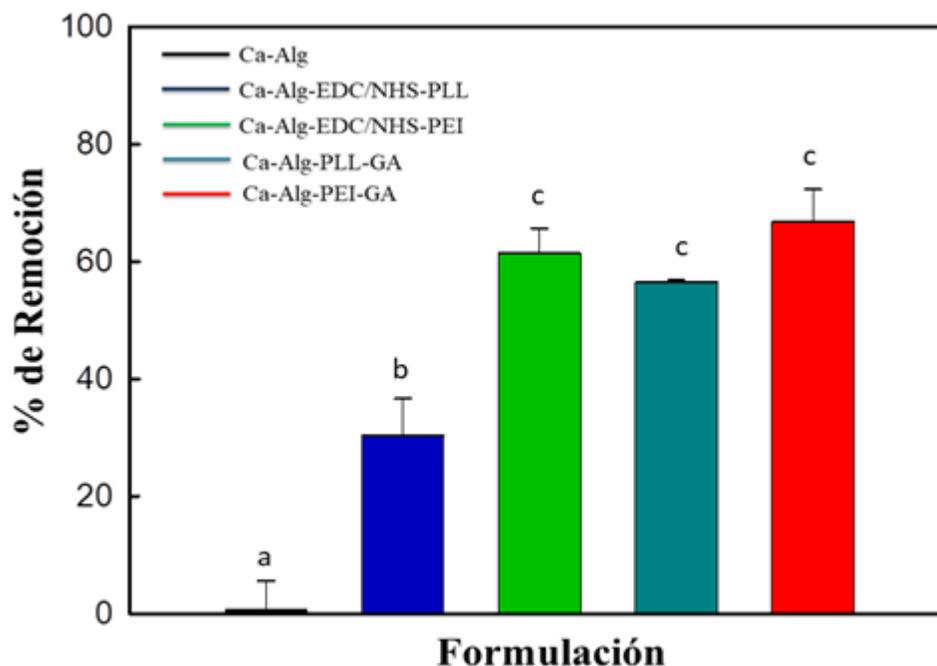


Figura 20. Remoción de As(III) en solución acuosa por modificaciones de perlas de alginato a pH 7

Boddu *et al* (2008) reportaron la remoción de 56.5% de As(III), utilizando un biosorbente recubierto con quitosano, atribuyendo la remoción a la formación de complejos de coordinación entre los iones As(III) y los grupos hidroxilos del quitosano. Abtahi *et al* (2013), utilizó biomasa de algas pardas para la remoción de As(III), encontrando la mayor remoción a pH 6. Li *et al* (2012), observaron una mayor remoción de As(III) en comparación con As(V), removiendo más del 90% de As(III) en solución acuosa a pH 7, y cercana al 50% de As(V). Un estudio realizado por Raj *et al* (2013b), utilizando un biosorbente a base de semillas de *Leucaena leucocephala* entrecruzadas con PEI, mostró una remoción de 81.9% de As(III) en solución acuosa a pH 7.5. Resultados similares fueron reportados por Sigdel *et al* (2016), utilizando perlas de alginato impregnadas con óxido de hierro. En la Tabla 4 se muestran los porcentajes de remoción y la capacidad máxima de remoción de As(V) y As(III) de las distintas formulaciones.

Tabla 4. Porcentaje y capacidades máximas de remoción de As(V) y As(III) de las perlas de alginato protonadas

Formulación	As(V)		As(III)	
	% Remoción	Capacidad máxima de adsorción ($\mu\text{g/g}$)	% Remoción	Capacidad máxima de adsorción ($\mu\text{g/g}$)
Ca-Alg (Control)	5.7 ± 5.5	141.3 ± 15.0	0.6 ± 4.8	147.7 ± 0.2
Ca-Alg-EDC/NHS-PLL	18.7 ± 2.0	292.9 ± 31.3	30.2 ± 6.3	473.1 ± 98.8
Ca-Alg-GA-PLL	21.7 ± 2.3	271.7 ± 28.9	56.4 ± 0.4	705.4 ± 6.1
Ca-Alg-EDC/NHS-PEI	12.6 ± 2.1	224.9 ± 38.5	61.4 ± 4.2	1151.37 ± 80.5
Ca-Alg-GA-PEI	36.4 ± 1.4	252.8 ± 9.7	66.7 ± 5.5	463.6 ± 38.6

La formulación Ca-Alg-GA-PEI, fue la que mostró mayor eficiencia de remoción tanto de As(V) como de As(III), por lo que los siguientes experimentos se llevaron a cabo solamente utilizando dicha formulación.

6.7. Biosorción de As(V) y As(III) en condiciones de competencia y reutilización de biosorbente

Para conocer la eficiencia de biosorción Ca-Alg-GA-PEI en presencia de As(V) y As(III) se llevaron a cabo experimentos en columna con soluciones binarias conteniendo ambas sales. La Figura 21 muestra los porcentajes de biosorción de As(V) y As(III) en condiciones de competencia a una concentración de $100 \mu\text{g/L}$ de cada especie de As a pH 7. En ambos casos se presentó una remoción cercana al 20 %; estos valores fueron inferiores a los obtenidos con soluciones monoiónicas donde se observaron remociones de 36.4% para As(V) y 66.7% para As(III). Esta disminución se atribuye a la competencia entre los iones por los sitios de unión presentes en el adsorbente. A pesar

de que los mecanismos de captación de los iones As(V) y As(III) son diferentes, ambas especies de As tienen interacción con los grupos amino de los policationes, por lo que al estar ocupado un grupo amino por alguna especie de As, la otra no pudo tener interacción con el sitio de unión. Además, no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$), en los porcentajes de biosorción.

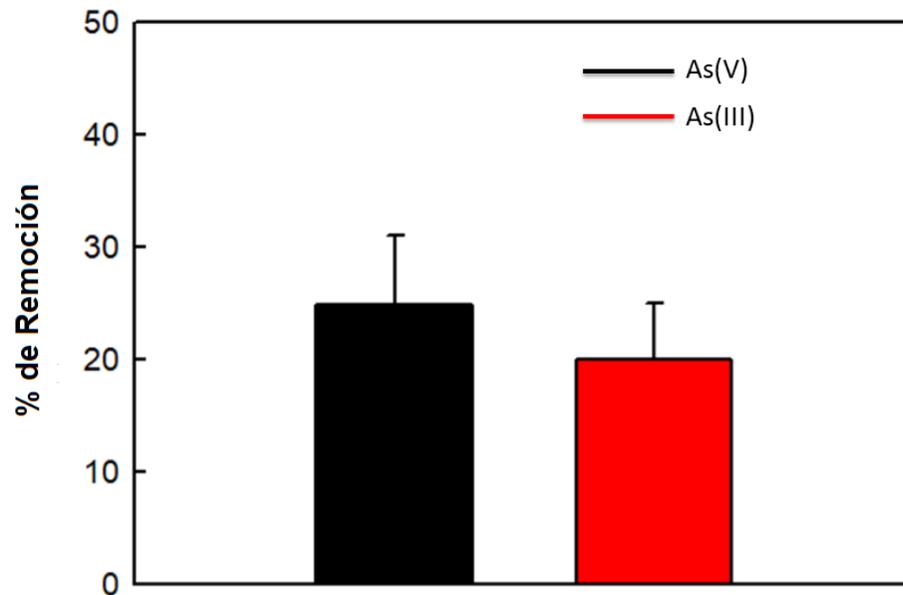


Figura 21. Remoción de As(V) y As(III) utilizando la formulación Ca-Alg-GA-PEI en condiciones de competencia

Para conocer el efecto de la presencia de fosfatos en la remoción As(V) y As(III), se llevaron a cabo experimentos de competencia en columna, con soluciones binarias conteniendo fosfato y arsenato o fosfato y arsenito, respectivamente. La Figura 22 presenta la influencia de iones fosfato en la eficiencia de biosorción de los iones As(V). La presencia de iones fosfato, disminuyó la eficiencia de remoción de As(V) de un 36.4 % hasta un 18.4 %. Esta disminución en la biosorción, puede deberse a la similitud en la estructura química de los iones fosfato con las especies inorgánicas de As (Deng *et al.*, 2016). Dicha similitud promueve la competencia por los sitios de unión en el adsorbente, por lo que al llevarse a cabo el proceso de biosorción, estos influyen negativamente en la captación de As (Rosen *et al.*; 2011). Zhang *et al.* (2014), reportaron una disminución del 58.8 % de adsorción de iones As(V) en presencia de 50 ppm de fosfato utilizando

nanopartículas magnéticas. Tomando en cuenta esta competencia dada por los iones fosfato, el diseño de sistema de filtros con las perlas de alginato protonado, se vería afectado por los iones fosfato, por lo que es necesario buscar alternativas con la finalidad de resolver este problema.

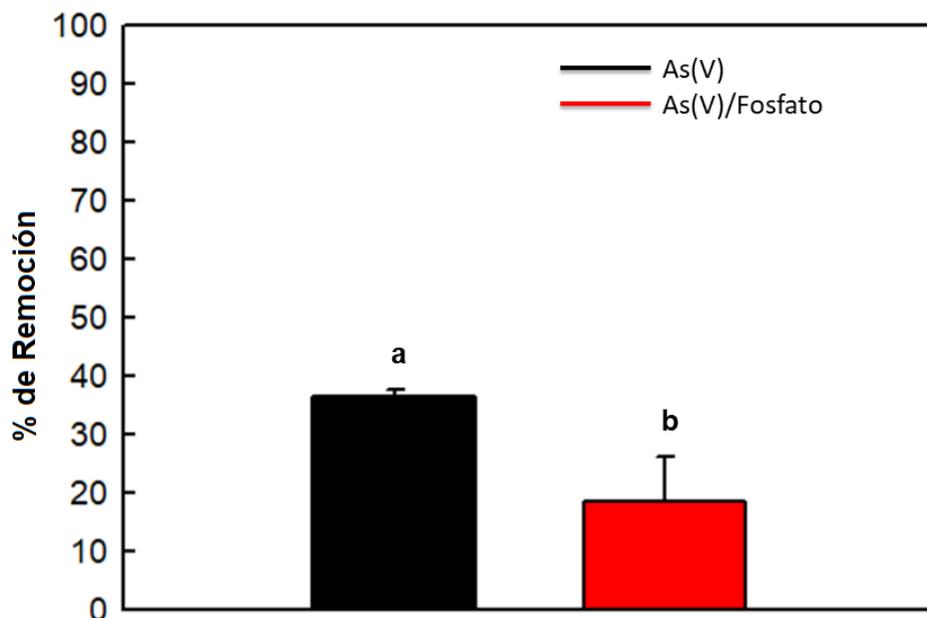


Figura 22. Remoción de As(V) utilizando la formulación Ca-Alg-GA-PEI en condiciones de competencia con iones fosfato

Similar a la remoción de As(V) en presencia de iones fosfato, la remoción de As(III) también se vio considerablemente afectada por la presencia de los iones fosfato (Figura 23). Se observó una disminución de remoción de As(III) de un 66.7 % hasta un 26.9 %. Sigdel *et al* (2016) reportaron una disminución en la remoción de As(V) y As(III) cuando co-existen iones fosfatos en el medio. La presencia de fosfatos en el agua de consumo, afectaría la remoción de As para potabilizar el agua. El diseño de sistemas de adsorción en varias etapas o sistemas de adsorción acoplado a otra metodología, como la ultrafiltración seguida de un proceso de biosorción (Hao *et al.*, 2018) representa buenas alternativas para estos casos, y de esta manera mantener la eficiencia de remoción de As de las perlas de alginato protonadas.

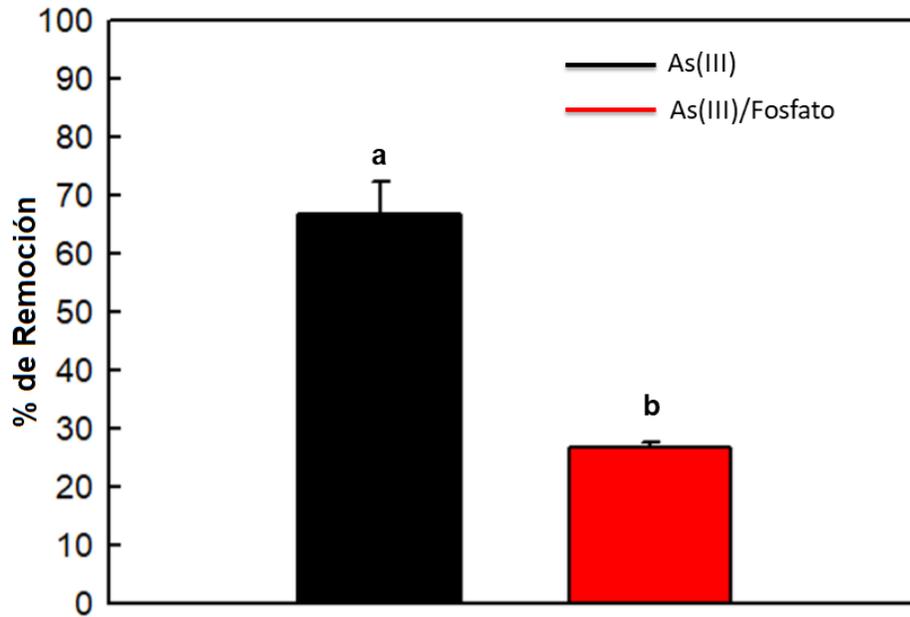


Figura 23. Remoción de As(III) utilizando la formulación Ca-Alg-GA-PEI en condiciones de competencia con iones fosfato

La Figura 24 muestra los ciclos de reutilización en la remoción de As(V) del biosorbente. De igual manera que los experimentos de competencia entre As(V)/As(III) y As con iones fosfato, para los ciclos de reutilización también se utilizó la formulación Ca-Alg-GA-PEI. Como se observa en el gráfico, la solución alcalina fue ideal para remover el As captado en cada uno de los ciclos de adsorción. Al tercer ciclo de adsorción se observó una disminución del 9% en la capacidad de remoción de As(V). Al aumentar los ciclos de uso se observa una disminución en la capacidad de remoción de As(V), esto puede deberse a pérdida de masa causada por el tratamiento alcalino (Yan *et al.*, 2017), además, el aumento en los ciclos va acompañado del tratamiento alcalino en cada uno de ellos, por lo que, al dar más tratamientos de desorción, este puede afectar los grupos funcionales de superficie, lo que lleva a la pérdida de capacidad de remoción (Yan *et al.*, 2017). En el caso de As(III), la disminución en la remoción de As fue menor, manteniéndose igual en los tres ciclos de remoción (Figura 25).

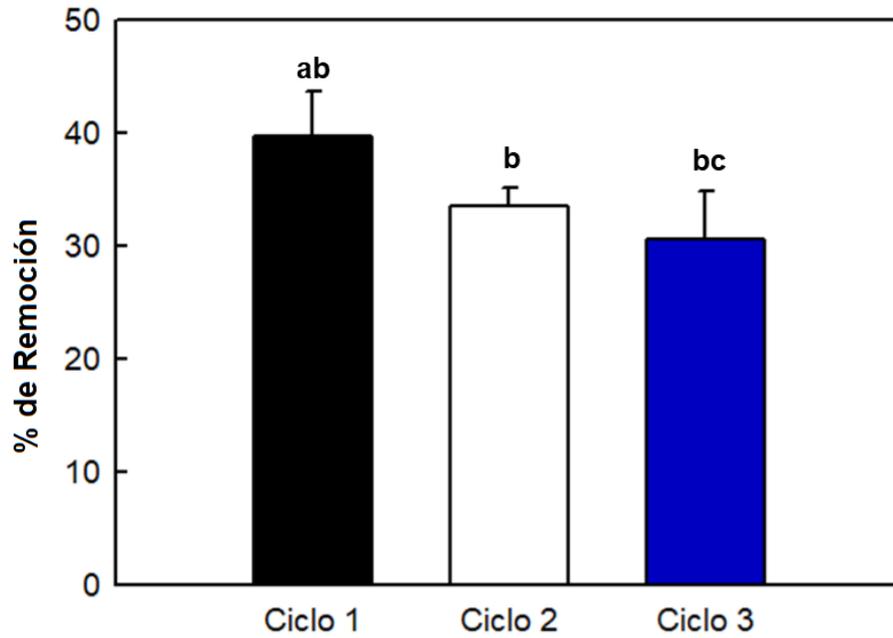


Figura 24. Ciclos de remoción de As(V) utilizando la formulación Ca-Alg-GA-PEI

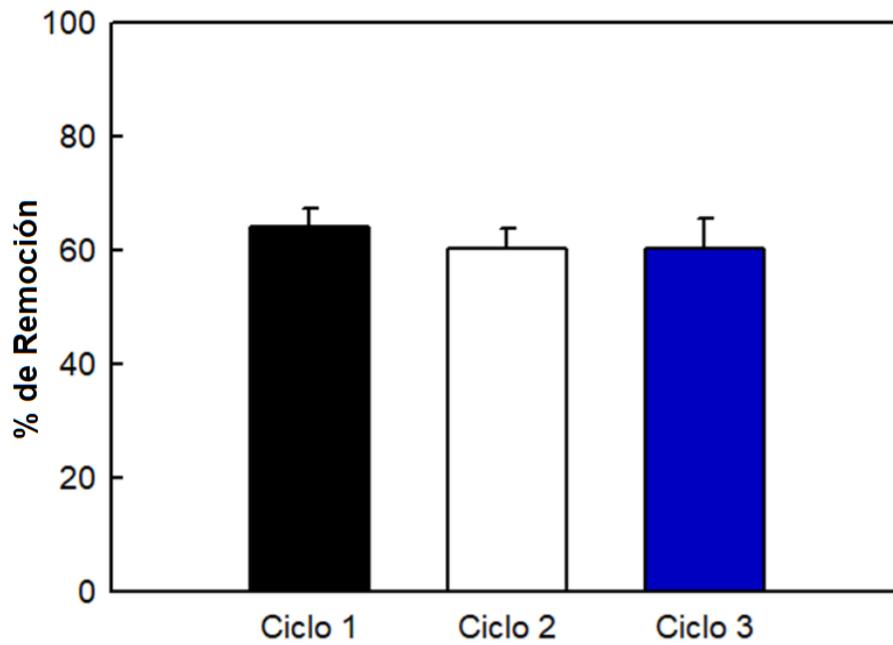


Figura 25. Ciclos de remoción de As(III) utilizando la formulación Ca-Alg-GA-PEI

6.8. Microscopia electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia dispersiva de rayos X (EDX) de perlas de alginato protonadas

Se llevó a cabo un análisis de microscopia electrónica junto con análisis elemental para estudiar la morfología y composición de las perlas de alginato protonadas. En las Figuras 26 y 27, se presentan las imágenes de las perlas de alginato antes de la protonación, después de la protonación y después de la captación de iones As(V) y As(III). Las perlas control presentan una morfología porosa, en forma de hojuela. (Figuras 26A y 27 A).

Después de la incorporación del polication a la superficie de las perlas presentaron una morfología más esférica, con una superficie heterogénea, rugosa y porosa, esto debido a la incorporación de la PEI (Figuras 26B y 27B) (Liu *et al.*, 2016). Después de la captación de As(V) y As(III), la superficie presentó una morfología con grietas y surcos, esto debido a la presencia de iones As en la superficie de las perlas (Figuras 26 C, D y 27 C, D). Es importante mencionar, que ese cambio en la morfología de las perlas tras la captación de As no tuvo gran influencia en la remoción de este, ya que mantuvieron gran parte de su capacidad para removerlo (véase sección 6.7.) (Tiwari *et al.*, 2013).

El análisis de EDX (Figura 28), muestra un análisis elemental de las perlas de alginato antes y después de la protonación, así como después de la captación de As(V) y As(III). El espectro correspondiente a las perlas de alginato (Figura 28A) mostró la presencia de Ca, C, O, Cl, Na y Al. La presencia de Al, puede deberse a una impureza, asociado al proceso de extracción del alginato (Geetha *et al.*, 2016; Bertagnolli *et al.*, 2016). Después de la protonación con la PEI (Figura 28B), se detectaron Ca, C, O y Al. Sin embargo, el nitrógeno no fue detectado. Bertagnolli *et al.* (2016), argumentan que el nitrógeno es difícil de detectar por esta técnica, ya que este puede ser enmascarado por las señales correspondientes al C y O. Después de la remoción de As(V) y As(III), el análisis elemental evidenció, tanto este elemento, como la presencia de N, atribuido a la presencia de los grupos amino de la PEI (Figura 28 C y D). Estos resultados, confirman la captación de As(V) y As(III) por las perlas de alginato protonadas.

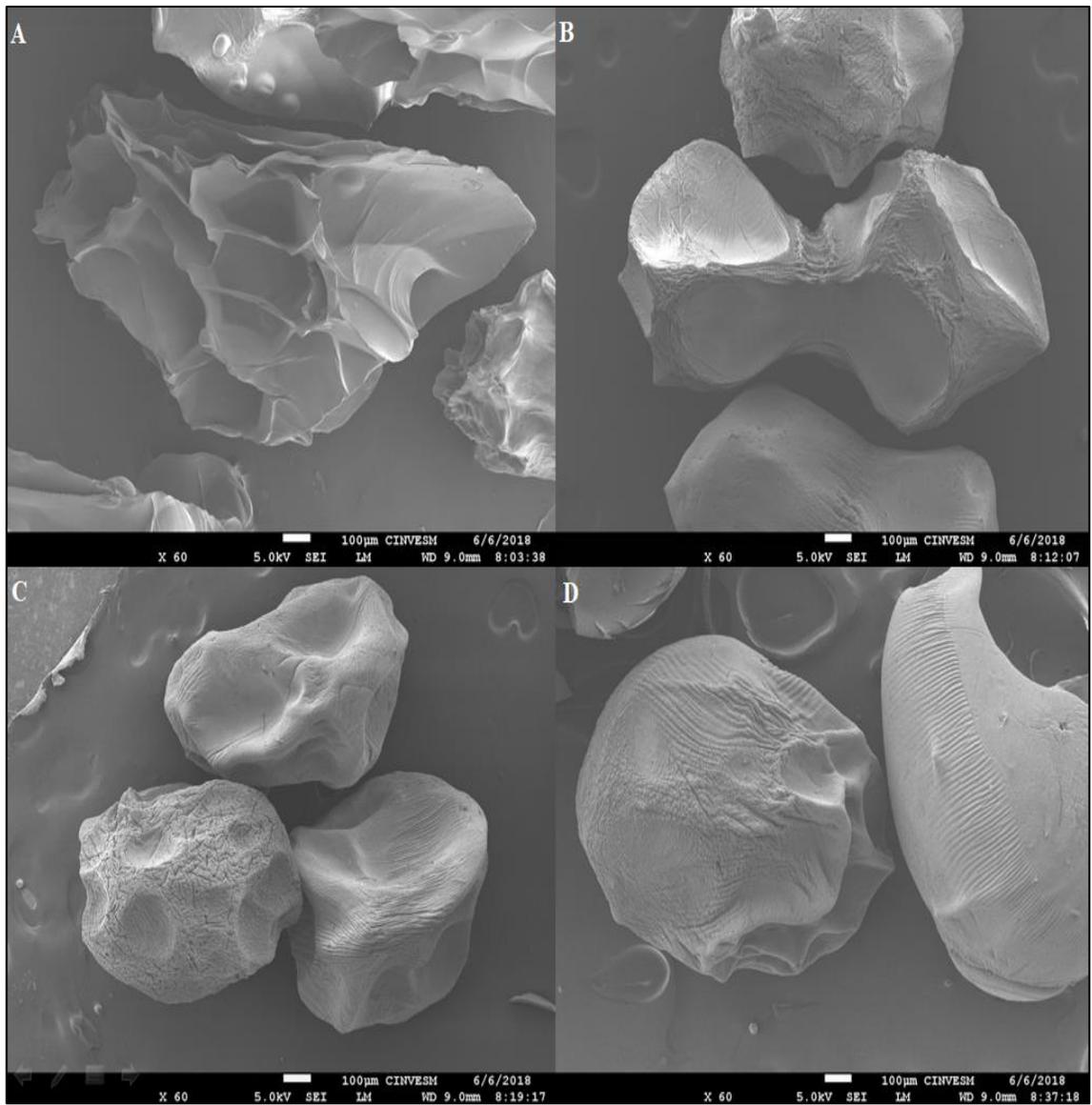


Figura 26. Micrografías de A) Ca Alg, B) Ca-Alg-GA-PEI, C) Ca-Alg-GA-PEI-As(V) y D) Ca-Alg-GA-PEI-As(III) a una magnificación de 60X.

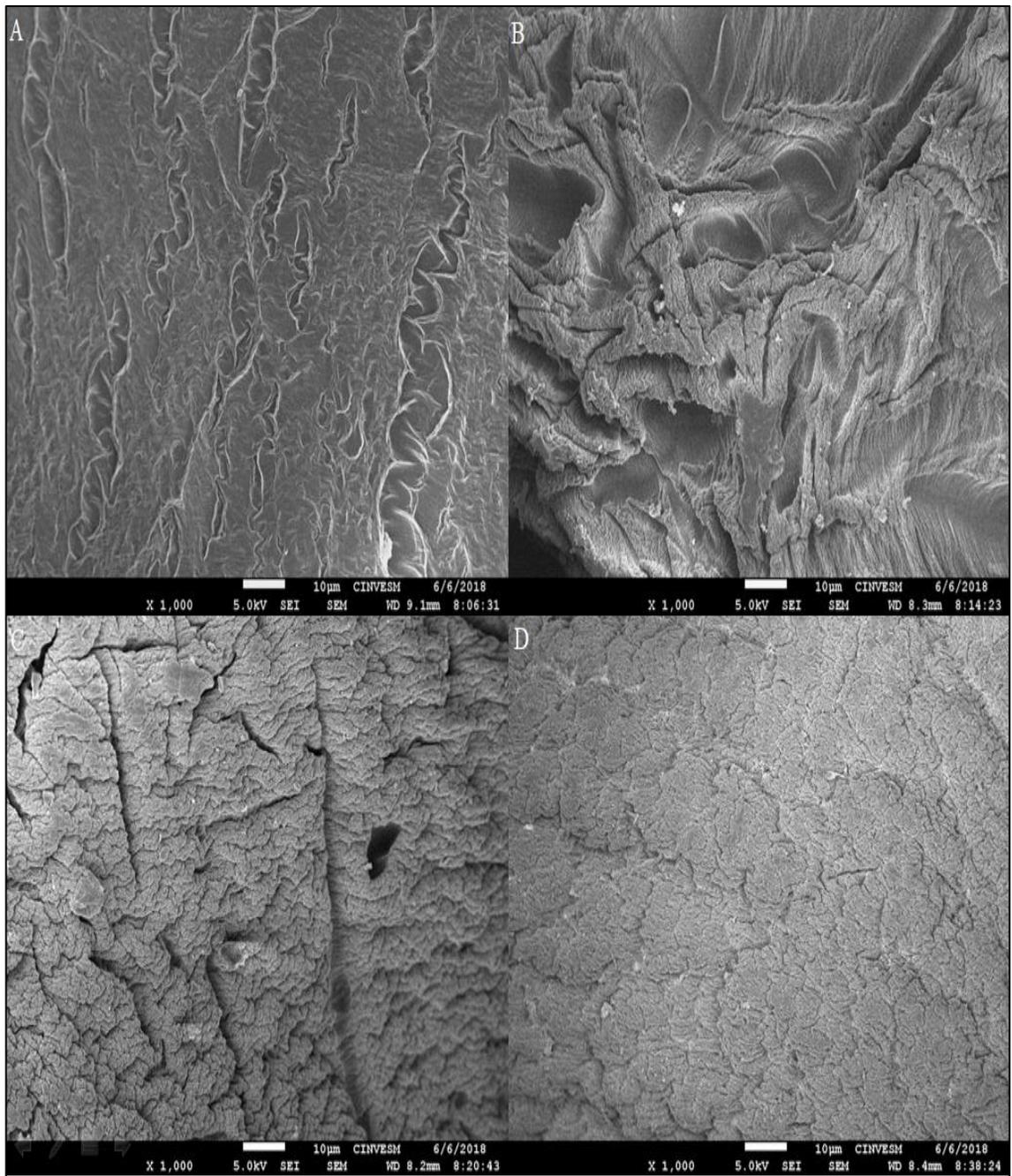


Figura 27. Micrografías de A) Ca Alg, B) Ca-Alg-GA-PEI, C) Ca-Alg-GA-PEI-As(V) y D) Ca-Alg-GA-PEI-As(III) a una magnificación de 1000X.

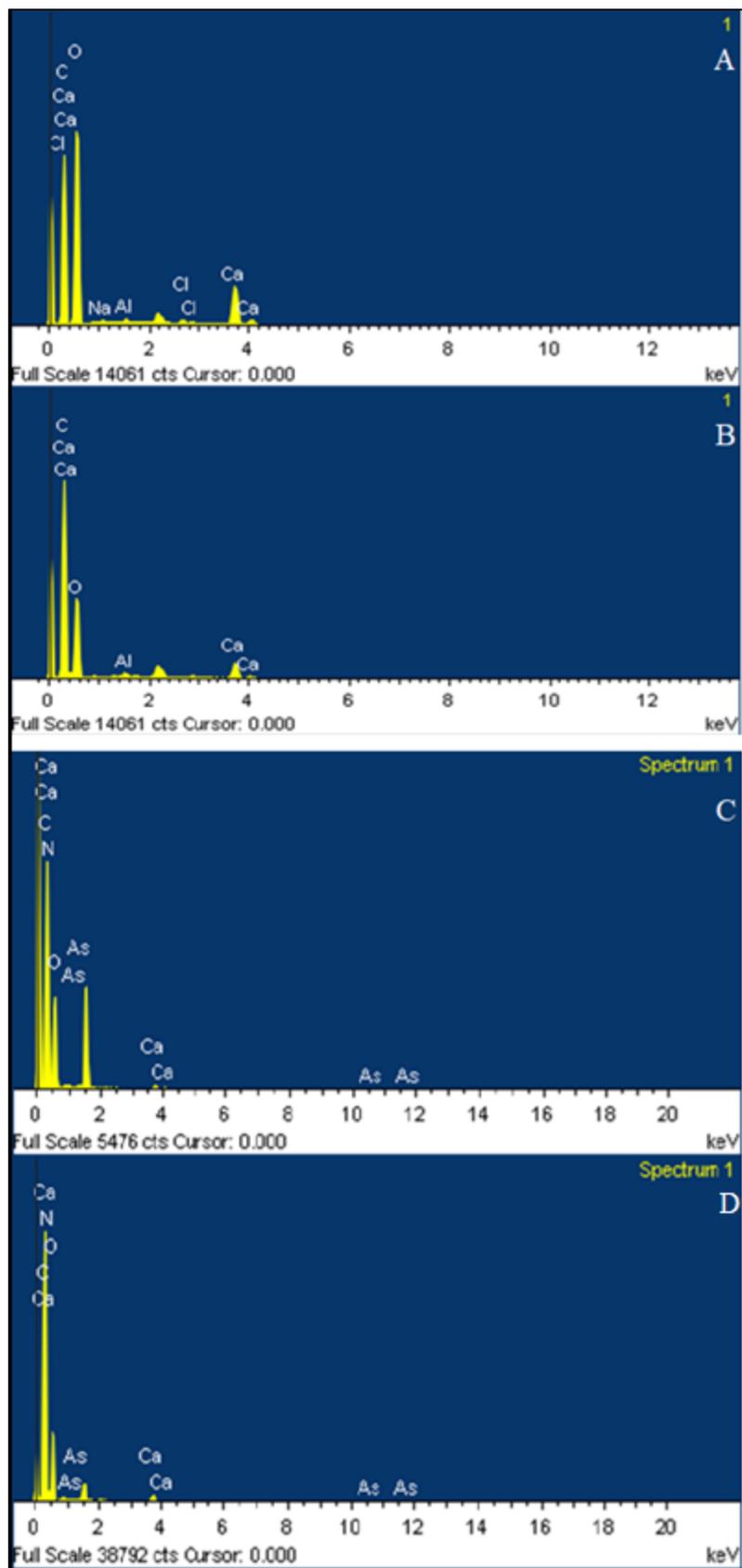


Figura 28. Análisis de EDX de A) perlas de alginato antes de protonación, B) después de protonación y captación de C) As(V) y D) As(III).

7. RESUMEN DE HALLAZGOS

Se obtuvieron perlas de alginato de calcio con forma esférica y un diámetro promedio de 1.27 ± 0.094 mm y un 96% de humedad. Después de las modificaciones superficiales con los polimeros mediante ambos métodos de entrecruzamiento, no hubo cambios en el tamaño y se presentaron pequeños cambios en la morfología, al entrecruzar con GA. Sin embargo, las formulaciones entrecruzadas con GA con ambos polimeros, presentaron una disminución de la humedad de las perlas.

Las perlas de alginato presentaron una carga superficial negativa, y al ser entrecruzadas con los polimeros mediante ambos métodos, esta carga paso a tener valores positivos, evidenciando la protonación del alginato.

El análisis de FTIR y el de TGA, presentaron cambios en los espectros y termogramas respectivamente, entre los controles y las perlas modificadas, siendo una evidencia más de la modificación exitosa de las perlas de alginato con los polimeros.

La formulación Ca-Alg-PEI-GA fue la que presentó mayor eficiencia de remoción de As, con 36.4 y 66.7 % de remoción para As(V) y As(III), respectivamente, así de capacidad de remoción de 252.8 ± 9.7 y 463.6 ± 38.63 μg de As/g de alginato, para As(V) y As(III), respectivamente.

En presencia de soluciones binarias de As(V) y As(III), se observó una disminución de la eficiencia de biosorción en las perlas Ca-Alg-PEI-GA para ambos iones. Se obtuvieron eficiencias cercanas al 20%, para ambos casos. Un comportamiento similar se observó en presencia de fosfatos, disminuyendo la eficiencia de remoción hasta 18.4 y 26.9 % para As(V) y As(III) respectivamente.

La eficiencia de biosorción de las perlas Ca-Alg-PEI-GA se conservó intacta durante dos ciclos de uso. Al tercer ciclo de adsorción-desorción, se observó una disminución del 9 % en la capacidad de biosorción de As(V). La remoción de As(III) en el tercer ciclo se mantuvo constante.

Las imágenes de SEM y los espectros de EDX, mostraron los cambios en la morfología de las perlas, presentando una morfología agrietada después de la captación de As, además la presencia de este elemento en los espectros de EDX, confirma la captación de As por las perlas de alginato protonadas.

8. CONCLUSIÓN

La protonación de perlas de alginato con PLL y PEI permitió la remoción de As(V) y As(III) en soluciones monoiónicas, siendo la modificación con PEI, entrecruzada con glutaraldehído la más efectiva. Al presentar mayor remoción de As(III) que de As(V), presenta una ventaja más, ya que se puede omitir el tratamiento oxidativo aplicado en las distintas metodologías para la remoción de As. Sin embargo, se observó una disminución considerable en la eficiencia de remoción en presencia de ambos iones o de alguno de ellos, en presencia de fosfato, por lo cual es necesario combinar la biosorción de estas perlas, con otra tecnología o aumentar el número de sitios de unión de los iones, para hacer más eficiente el proceso.

9. REFERENCIAS

- Abtahi M, Mesdaghinia A, Saeedi R, Nazmara S. 2013. Biosorption of As(III) and As(V) from aqueous solutions by brown macroalga *Colpomenia sinuosa* biomass: kinetics and equilibrium studies. *Desalination and Water Treatment*. 51: 3224-3232.
- Agüero L, Silva D.Z, Peña L, Dias M.L. 2017. Alginate microparticles as oral colon drug delivery device: A review. *Carbohydrate Polymers*. 168:32-43.
- Ahmed M.J. 2017. Adsorption of non-steroidal anti-inflammatory drugs from aqueous solution using activated carbon: Review. *Journal of Environmental Management*. 190: 274-282.
- Ahmed M.J.K, Ahmaruzzaman M. 2016. A review on potential usage of industrial waste materials for binding heavy metal ions from aqueous solutions. *Journal of Water Process Engineering*. 10: 39-47.
- Alimohamadi M, Abolhamd G, Keshtkar A. 2005. Pb(II) and Cu(II) biosorption on *Rhizopus arrhizus* modeling mono- and multi- component systems. *Minerals Engineering*. 18: 1325-1330.
- Bang S, Choi J, Cho K, Chung C, Kang H, Hong S. 2016. Simultaneous reduction of copper and toxicity in semiconductor wastewater using protonated alginate beads. *Chemical Engineering Journal*. 288: 525-531.
- Bertagnolli C, Grishin A, Vincent T, Guibal E. 2016. Recovering heavy metal ions from complex solutions using polyethyleneimine derivatives encapsulated in alginate matrix. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 55(8): 2461-2470.
- Barakat M.A. 2011. New trends in removing heavy metals from industrial wastewaters. *Arabian Journal of Chemistry*. 4(4): 361-377.
- Basu H, Singhal R.K, Pimple M.V, Reddy A.V.R. 2015. Arsenic removal from groundwater by goethite impregnated calcium alginate beads. *Water, Air and Soil Pollution*.
- Bibi S, Kamran M.A, Sultana J, Farooqi A. 2016. Occurrence and methods to remove arsenic and fluoride contamination in water. *Environmental Chemistry Letters* 15(1): 125-149.
- Bissen M, Frimmel F.H. 2003. Arsenic-a review. Part I: Occurrence, toxicity, speciation, mobility. *Acta Hydrochimica et hydrobiologica*. 31(1): 9-18.
- Boddu V.M, Abburi K, Talbott J.L, Smith E.D, Haasch R. 2008. Removal of arsenic (III) and arsenic (V) from aqueous medium using chitosan-coated biosorbente. *Water Research*. 42: 633-642.
- Bundschuh J, Litter M.I, Parvez F, Román-Ross G, Nicolli H.B, Jean J, Liu C, López D, Armienta M.A, Guilherme L.R.G, Gomez-Cuevas A, Cornejo L, Cumbal L, Toujaguez R. 2012. One century of arsenic exposure in Latin America: A review of history and occurrence from 14 countries. *Science of Total Environment*. 429: 2-35.
- Cabuk A, Akar T, Tunali S, Gedikli S. 2007. Biosorption of Pb(II) by industrial strain of *Sacharomyces cerevisiae* immobilized on the biomatrix of cone biomass of *Pinus nigra*: Equilibrium and mechanism analysis. *Chemical Engineering Journal*. 131: 293-300.

- Camacho L.M, Gutiérrez M, Alarcón-Herrera M.T, Villalba M.L, Deng S. 2011. Occurrence and treatment of arsenic in groundwater and soil in northern Mexico and southwestern USA. *Chemosphere*. 83: 211-225.
- Carlson M.C. 2017. The emptying well. *Nature*. 542: 412-413.
- Carolin C.F, Kumar P.S, Saravanan A, Joshiba G.J, Naushad M. 2017. Efficient techniques for the removal of toxic heavy metals from aquatic environment: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 5: 2782-2799.
- Chang Q, Wang G. 2007. Study of macromolecular coagulant PEX which traps heavy metals. *Chemical Engineering Science*. 62: 4636- 4643.
- Cheng T, Ke D, Guo H. 2010. The association between arsenic exposure from drinking water and cerebrovascular disease mortality in Taiwan. *Water Research*. 44: 5770-5776.
- Dabbagh R, Sharifipoor S, Keshtkar A, Vafajoo L. 2016. Removal of zinc (II) from synthetic effluent using seaweeds: a review of modeling of fixed-bed columns. *Desalination and Water Treatment*. 56(51): 24509-24518.
- Danial E.N, Elnashar M.M.M, Awad G.E.A. 2010. Immobilized inulinase on grafted alginate beads prepared by the one-step and two-steps methods. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 49(7): 3120-3125.
- Deng S, Zhang G, Chen S, Xue Y, Du Z, Wang P. 2016. Rapid and effective preparation of a HPEI modified biosorbent based on cellulose fiber with a microwave irradiation method for enhanced arsenic removal in water. *Journal of Material Chemistry A*. 4:15851-15860.
- Esmat M, Farghali A.A, Khedr M.H, El-Sherbiny E.N. 2017. Alginate-based nanocomposites for efficient removal of heavy metal ions. *International Journal of Biological Macromolecules*. 102: 272-283.
- Fu F, Wang Q. 2011. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. *Journal of Environmental Management*. 92: 407-418.
- Gadd G.F. 2009. Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 84(1): 13-28.
- Gao X, Zhang Y, Zhao Y. 2017. Biosorption and reduction of Au(III) to gold nanoparticles by thiourea modified alginate. *Carbohydrate Polymers*. 159: 108-115.
- Geetha P, Latha M.S, Koshy M. 2015. Biosorption of malachite green dye from aqueous solution by calcium alginate nanoparticles: Equilibrium study. *Journal of Molecular Liquids*. 2012: 723-730.
- Geetha P, Latha M.S, Pillai S.S, Deepa B, Kumar K.S, Koshy M. 2016. Green synthesis and characterization of alginate nanoparticles and its role as a biosorbent for Cr(VI) ions. *Journal of Molecular Structure*. 1105: 54-60.
- Giacomino A, Redda A.R, Squadrone S, Rizzi M, Abete C, La Gioia C, Toniolo R, Abollino A, Malandrino M. 2016. Anodic stripping voltammetry with gold electrodes as an

- alternative method for the routine determination of mercury in fish. Comparison with spectroscopic approaches. *Food Chemistry*. 221: 737-745.
- Gierszewska M, Ostrowska-Czubenko J, Chrzanowska E. 2018. pH-responsive chitosan/alginate polyelectrolyte complex membranes reinforced by tripolyphosphate. *European Polymer Journal*. 101: 282-290.
- Gode F, Pehlivan E. 2006. Removal of chromium (III) from aqueous solutions using Lewatit S 100: The effect of pH, time, metal concentration and temperature. *Journal of Hazardous Materials*. 136: 330-337.
- Guiza S. 2017. Biosorption of heavy metal from aqueous solution using cellulosic waste orange peel. *Ecological Engineering*. 99: 134-140.
- Hao L, Wang N, Wang C, Li G. 2018. Arsenic removal from water and river water by the combined adsorption-UF membrane process. *Chemosphere*. 202: 768-776.
- Hassan A.F, Abdel-Mohsen A.M, Elhadidy H. 2014. Adsorption of arsenic by activated carbon, calcium alginate and their composite beads. *International Journal of Biological Macromolecules*. 68: 125-130.
- He J, Chen J.P. 2014. A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass: Materials, performance, chemistry and modeling simulation tools. *Bioresource Technology*. 160: 67-78.
- He Z.L, Yang X.E, Stoffella P.J. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 19: 125-140.
- Hethnawi A, Nassar N.N, Vitale G. 2017. Preparation and characterization of polyethylenimine-functionalized pyroxene nanoparticles and its application in wastewater treatment. *Colloids and Surfaces A*. 525: 20-30.
- Ibáñez J.P, Umetsu Y. 2004. Uptake of trivalent chromium from aqueous solutions using protonated dry alginate beads. *Hydrometallurgy*. 72: 327-334.
- Jain C.K, Ali I. 2000. Arsenic: Occurrence, toxicity and speciation techniques. *Water Research*. 34(17): 4304-4312.
- Jiang Y, Zeng X, Fan X, Chao S, Zhu M, Cao H. 2015. Levels of arsenic pollution in daily foodstuffs and soils and its associated human health risk in a town in Jiangsu province, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 122: 198-204.
- Kang S, Lee J, Moon S, Kim K. 2004. Competitive adsorption characteristics of Co^{2+} , Ni^{2+} , and Cr^{3+} by IRN-77 cation exchange resin in synthesized wastewater. *Chemosphere*. 54: 141-147.
- Know O, Kim J, Cho D, Kumar R, Baek S. H, Kurade M.B, Jeon B. 2016. Adsorption of As(III), As(V) and Cu(II) on zirconium oxide immobilized alginate beads in aqueous phase. *Chemosphere*. 160: 126-133.
- Kondaveeti S, Assis Bueno P.V, Carmona A.M, Esposito F, Lincopan N, Sierakowski M.R, Siqueira D. F. 2018. Microbicidal gentamicin-alginate hydrogels. *Carbohydrate Polymers*. 186: 159-167.

- Kumar D, Pandey L.K, Gaur J.P. 2016. Metal sorption by algal biomass: From batch to continuous systems. *Algal Research*. 18: 95-109.
- Kumari B, Kumar V, Sinha A.K, Ahsan J, Ghosh A.K, Wang H, DeBoeck G. 2016. Toxicology of arsenic in fish and aquatic system. *Environmental Chemistry Letters*. 15(1): 43-64.
- Li R, Li Q, Gao S, Shang J.K. 2012. Exceptional arsenic adsorption performance of hydrous cerium oxide nanoparticles: Part A. Adsorption capacity and mechanism. *Chemical Engineering Journal*. 185-186: 127-135.
- Lim S.F, Chen J.P. 2007. Synthesis of an innovative calcium-alginate magnetic sorbent for removal of multiple contaminant. *Applied Surface Science*. 253: 5772-5775.
- Liu Y, Chen Z, Wang S, Long R, Fan J, Chen A, Wu W. 2015. Preparation of Alg-g-Lys and its application as a novel drug carrier. *Journal of Materials Chemistry B*. 3: 3420-3424.
- Leong J, Lam W, Ho K, Voo W, Lee M, Lim H, Lim S, Tey B, Poncelet D, Chan E. 2015. Advanced in fabricating spherical alginate hydrogel with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems. *Particuology*.
- Long Y, Xiao L, Cao Q. 2017. Co-polymerization of catechol and polyethylenimine on magnetic nanoparticles for efficient selective removal of anionic dyes from water. *Powder Technology*. 310: 24-34.
- López-Carrillo L, Hernández-Ramírez R.U, Gandolfi A.J, Ornelas-Aguirre J.M, Torres-Sánchez L, Cebrian M.E. 2014. Arsenic methylation capacity is associated with breast cancer in northern Mexico. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 280: 53-59.
- Lu F, Astruc D. 2018. Nanomaterials for removal of toxic elements from water. *Coordination Chemistry Reviews*. 356: 147-164.
- Lu Y, Liang X, Niyungeko C, Zhou J, Xu J, Tian G. 2018. A review of the identification and detection of heavy metal ions in the environment by voltammetry. *Talanta*. 178: 324-338.
- Ma X, Liu C, Anderson D.P, Chang P.R. 2016. Porous cellulose spheres: Preparation, modification and adsorption properties. *Chemosphere*. 165: 399-408.
- Mandal B.K, Suzuki K.T. 2002. Arsenic round the world: a review. *Talanta*. 58: 201-235.
- Mólgora C.C, Domínguez A.M, Avila E. M, Drogui P, Buelna G. 2013. Removal of arsenic from drinking water: A comparative study between electrocoagulation-microfiltration and chemical coagulation-microfiltration processes. *Separation and Purification Technology*. 118: 645-651.
- Moreno Rivas S.C, Ramos Clamont Montfort G, Vázquez Moreno L, Sánchez Sasvedra M, Robles Burgueño M, Lagarda Días I. (2016). Remoción de cadmio por *Saccharomyces cerevisiae* libre y encapsulado en alginato de calcio (tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD). Hermosillo, Sonora, México.
- Monzalvo-Santos K, Alfaro-De La Torre M.C, Chapa-Vargas L, Castro-Larragoitia J, Rodríguez-Estrella R. 2016. Arsenic and lead contamination in soil and in feathers of

- three resident passerine species in a semi-arid mining region of the Mexican plateau. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 1-8.
- Nagireddi S, Katiyar V, Uppaluri R. 2017. Pd(II) adsorption characteristics of glutaraldehyde cross-linked chitosan copolymer resin. *International Journal of Biological Macromolecules*. 94: 72-84.
- Nguyen C.M, Bang S, Cho J, Kim K.W. 2009. Performance and mechanism of arsenic removal from water by a nanofiltration membrane. *Desalination*. 245: 82-94.
- Niazi NK, Murtaza B, Shahid M, White J, Nawaz M, Bashir S, Shakoor M, Choppala G, Murtaza G, Wang H. 2016. Removal and recovery of metals by biosorbents and biochars derived from biowastes. *In: Prasad MNV y Shih K, editores. Environmental materials and waste: resource recovery and pollution prevention: Linn, MO, USA: Elsevier Inc. p.149-177.*
- Nigam S, Gopal K, Vankar P. S. 2013. Biosorption of arsenic in drinking water by submerged plant: *Hydrilla verticiliata*. *Environmental Science Pollution Research*. 20(6): 4000-4008.
- Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consume humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
- Ocinski D, Jacukowicz-Sobala I, Kociolek-Balawejder E. 2016. Alginate beads containing water treatment residual for arsenic removal from water-formation and adsorption study. *Environmental Science and Pollution Research*. 23(24) 24527-24539.
- Ouzounis K, Katsoyiannis I, Zouboulis A, Mitrakas M. 2015. Is the coagulation-filtration process with Fe(III) efficient for As(III) removal from groundwaters?. *Separation Science and Technology*. 50: 1587-1592.
- Padungthon S, German M, Wiriyathamcharoen S, SenGupta A. Polymeric anion exchanger supported hydrated Zr(IV) oxide nanoparticles: A reusable hybrid sorbent for selective trace arsenic removal. *Reactive and Functional Polymers*. 93: 84-94.
- Paques J.P, Linden E, Rijn C.J.M, Sagis L.M. C. 2014. Preparation methods of alginate nanoparticles. *Advances in Colloid and Surface Science*. 209: 163-171.
- Petrovic M, Sostaric T, Stojanovic M, Petrovic J, Mihajlovic M, Cosovic A, Stankovic S. 2017. Mechanism of adsorption of Cu²⁺ and Zn²⁺ on the corn silk (*Zea mays* L.). *Ecological Engineering*. 99: 83-90.
- Platero E, Fernandez M.E, Bonelli P.R, Cukierman A.L. 2017. Graphen oxide/alginate beads as adsorbents: Influence of the load and the drying method on their physicochemical-mechanical properties and adsorptive performance. *Journal of Colloids and Interface Science*. 491: 1-12.
- Poon L, Wilson L.D, Headley J.V. 2014a. Chitosan-glutaraldehyde copolymers and their sorption properties. *Carbohydrate Polymers*. 109: 92-101.

- Poon L, Younus S, Wilson L.D. 2014b. Adsorption study of an organo-arsenical with chitosan-based sorbents. *Journal of Colloid and Interface Science*. 420: 136-144.
- Puguan J.M.C, Yu X, Kim H. 2014. Characterization of structure, physico-chemical properties and diffusion behavior of Ca-alginate gel beads prepared by different gelation methods. *Journal of Colloid and Interface Science*. 432: 109-116.
- Purkayastha D, Mishra U, Biswas S. 2014. A comprehensive review on Cd(II) removal from aqueous solution. *Journal of Water Process Engineering*. 2: 105-128.
- Raj K, Kardam A, Srivastava S. 2013a. PEI modified *Leucaena leucocephala* seed powder, a potential biosorbent for the decontamination of arsenic species from water bodies: bioremediation. *Applied Water Science*. 3: 327-333.
- Raj K.R, Kardam A, Srivastava S. 2013b. Development of polyethylenimine modified *Zea mays* as a high capacity biosorbent for the removal of As (III) and As (V) from aqueous system. *International Journal of Mineral Processing*. 122: 66-70.
- Ramos Y, Guerrero A, Cano I, Gutiérrez M, Miranda R. 2017. Arsenic liberation from mine wastes derived of skarn deposits at Sierra Madre Oriental, Mexico. *Procedia Earth and Planetary Science*. 17: 833-836.
- Rao K.S, Mohapatra M, Anand S, Venkateswarlu P. 2011. Review on cadmium removal from aqueous solutions. *International Journal of Engineering, Science and Technology*. 2(7): 81-103.
- Ren Y, Xie H, Liu X, Bao J, Yu W, Ma X. 2016. Comparative investigation of the binding characteristics of poly-L-lisine and chitosan on alginate hydrogel. *International Journal of Biological Macromolecules*. 84: 135-141.
- Rinaudo M. 2008. Main properties and current application of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*. 57: 397-430.
- Romera E, González F, Ballester A, Blázquez M.L., Muñoz J.A. 2007. Comparative study of biosorption of heavy metal using different type of algae. *Bioresource Technology*. 98: 3344-3353.
- Romero F.M, Armienta M.A, Villaseñor G, González J.L. 2006. Mineralogical constraints on the mobility of arsenic in tailing from Zimapán, Hidalgo, Mexico. *International Journal of Environment and Pollution*. 26.
- Rosen B.P, Ajees A.A, McDermott T. 2011. Life and death with arsenic. *Bioessays*. 33: 350-357.
- Ruíz-Huerta E.A, Varela A, Gómez-Bernal J.M, Castillo F, Avalos-Borja M, SenGupta B, Martínez-Villegas N. Arsenic contamination in irrigation water, agricultural soil and maize crop from an abandoned smelter site in Matehuala, Mexico. *Journal of Hazardous Materials*. 339: 330-339.
- Sahiner N. 2017. Single step poly (L-lysine) microgel synthesis, characterization and biocompatibility tests. *Polymer*. 121: 46-54.

- Sariñana-Ruiz Y.A, Vazquez-Arenas J, Sosa-Rodríguez F.S, Labastida I, Armienta M.A, Aragón-Piña A, Escobedo-Bretado M.A, González-Valdez L.S, Ponce-Piña P, Ramírez-Aldaba H, Lara R.H. 2017. Assessment of arsenic and fluorine in surface soil to determine environmental and health risk factor in the Comarca Lagunera, Mexico. *Chemosphere*. 178: 391-401.
- Shaimi R, Low S.C. 2015. Prolonged protein immobilization of biosensor by chemically cross-linked glutaraldehyde on mixed cellulose membrane. *Journal of Polymer Engineering*. 36(7): 655-661.
- Shan C, Tong M. 2013. Efficient removal of trace arsenite through oxidation and adsorption by magnetic nanoparticles modified with Fe-Mn binary oxide. *Water Research*. 47: 3411-3421.
- Shankar S, Shanker U, Shikha. 2014. Arsenic contamination of groundwaters: A review of sources, prevalence, health risk and strategies for mitigation. *The Scientific World Journal*.
- Sheng P.X, Ting Y, Chen J.P, Hong L. 2004. Sorption of Lead, copper, cadmium, zinc, and nickel by marine algal biomass: characterization biosorptive capacity and investigation of mechanism. *Journal of Colloids and Surface Science*. 275: 131-141.
- Sigdel A, Park J, Kwak H, Park P. 2016. Arsenic removal from aqueous solution by adsorption onto hydrous iron oxide-impregnated alginate beads. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 35: 277-286.
- Simó G, Fernández-Fernández E, Vila-Crespo J, Ruipérez V, Rodríguez-Nogales J.M. 2017. Research progress in coating techniques of alginate gel polymer for cell encapsulation. *Carbohydrate Polymers*. 170: 1-14.
- Singh L, Pavankumar A.R, Lakshmanan R, Rajarao G.K. 2012. Effective removal of Cu²⁺ ions from aqueous medium using alginate as biosorbente. *Ecological Engineering*. 38: 119-124.
- Smedley P.L, Kinniburgh D.C. 2002. A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*. 17: 517-568.
- Sun X, Chen J.H, Su Z, Huang Y, Dong X. 2016. Highly effective removal of Cu(II) by a novel 3-aminopropyltriethoxysilane functionalized polyethyleneimine/sodium alginate porous membrane adsorbent. *Chemical Engineering Journal*. 290: 1-11.
- Tam S.K, Bolodeaus S, Dusseault J, Langlois G, Hallé J.P, Yahia L.H (2011). Biocompatibility and physicochemical characteristics of alginate-poly(ε-caprolactone) microcapsules. *Acta Biomaterialia*. 7(4): 1683-1692.
- Tiwari A, Soni A, Bajpai A.K. 2012. Nanoparticles loaded alginate beads as potential adsorbent for removal of phenol from aqueous solution. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*. 42: 1158-1166.
- Tripathi A, Melo J.S, D'Souza S.F. 2013. Uranium (VI) recovery from aqueous medium using novel floating macroporous alginate-agarose-magnetite cryobeads. *Journal of Hazardous Materials*. 246-247: 87-95.

- Velazquez L, Dussan J. 2009. Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*. *Journal of Hazardous Materials*. 167: 713-716.
- Vijaya Y, Popuri S.R, Reddy A.S, Krishnaia A. 2011. Synthesis and characterization of glutaraldehyde-crosslinked calcium alginate for fluoride removal from aqueous solutions. *Journal of Applied Polymer Science*. 120: 3443-3452.
- Volesky B. 2007. Biosorption and me. *Water Research*. 41: 4017-4029.
- Wang J, Chen C. 2006. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. *Biotechnology Advances*. 24: 427-451.
- Wang S, Vincent T, Faur C, Guibal E. 2016. Alginate and algal-based beads for the sorption of metal cations: Cu(II) and Pb(II). *International Journal of Molecular Science*. 17(9)
- Wurl J, Mendez-Rodriguez L, Acosta-Vargas B. 2014. Arsenic content in groundwater from the southern part of the San Antonio-El Triunfo mining district, Baja California Sur, Mexico. *Journal of Hydrology*. 518: 447-459.
- Xu Y.C, Wang Z.X, Chen X.Q, Xiao, Y.C, Shao L. 2016. Positively charged nanofiltration membranes via economically mussel-substance-simulated co-deposition for textile wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*. 303: 555-564.
- Yan Y, An Q, Xiao Z, Zheng W, Zhai S. 2017. Flexible core-shell/beads-like alginate@PEI with exceptional adsorption capacity, recycling performance toward batch and column sorption of Cr(VI). *Chemical Engineering Journal*. 313: 475-486.
- Zeraatkar A.K, Ahmadzadeh H, Talebi A.F, Moheimani N.R, McHenry M.P. 2016. Potential use of algae for heavy metal bioremediation, a critical review. *Journal of Environmental Management*. 181: 817-831.
- Zhang C, Shan C, Jin Y, Tong M. 2014. Enhanced removal of trace arsenate by magnetic nanoparticles modified with arginine and lysine. *Chemical Engineering Journal*. 254: 340-348.
- Zhu H, Kong Q, Cao X, He H, Wang J, He Y. 2015. Adsorption of Cr(VI) from aqueous solution by chemically modified natural cellulose. *Desalination and Water Treatment*. 57(43): 1-9.
- Zhu W, Sun S, Gao J, Fu F, Chung T. 2014. Dual-layer polybenzimidazole/polyethersulfone (PBI/PES) nanofiltration (NF) hollow fiber membranes for heavy metals removal from wastewater. *Journal of Membrane Science*. 456: 117-127.