

Remoción de azul de metileno por la microalga *Chlorella sp.* Viva

Removal methylene blue by microalgae *Chlorella sp.* Alive

Edgardo R. Angulo Mercado¹, Grey C. Castellar Ortega², Ever Morales Avendaño³,
Merly C. Barrios Solano⁴

¹Mg. Ciencias Química. Docente-Investigador. Universidad del Atlántico.

Grupo de Investigación en Biotecnología de Microalgas E-mail:edgagulo20@gmail.com.

²Mg. Ciencias Química. Docente-Investigador. Universidad Autónoma del Caribe.

Grupo de Investigación en Química Ambiental.

³Dr. Ciencias Química. Docente-Investigador. Universidad de Zulia.

Facultad Experimental de Ciencias

⁴Esp. Química Orgánica. Grupo de Investigación en Biotecnología de Microalgas.

Recibido 19/12/11, Aceptado 30/04/2012

RESUMEN

La microalga *Chlorella sp.* fue investigada como material viable para el tratamiento biológico de soluciones del colorante catiónico azul de metileno (AM). Para esto, se examinó el efecto de diferentes concentraciones iniciales de microalga, $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (0,1, 0,2 y 0,3 unidades de absorbancia respectivamente), sobre soluciones de 10 mg dm^{-3} de AM, tanto en presencia como en ausencia de nutrientes. En todos los casos se presentó remoción del colorante que, según los cambios en los espectros UV-VIS de las soluciones decoloradas corresponden tanto a procesos de biosorción como de biodegradación. En los ensayos realizados en presencia de nutrientes se alcanzaron porcentajes de remoción del 84,3 % para concentraciones de microalgas correspondientes a 0,1 unidades de absorbancia y alrededor del 90 % para concentraciones de microalgas correspondientes a 0,2 y 0,3 unidades de absorbancia; mientras que, con los ensayos realizados en ausencia de nutrientes se removieron entre un 98,4 % y 99,4 % del colorante.

Palabras Claves: Biosorción, Azul de Metileno, Microalga *Chlorella sp.*

ABSTRACT

The microalgae *Chlorella sp.* was investigated as a feasible material for biological treatment of methylene blue (MB) cationic dye solution. For this, it was examined the effect from different initial microalgae concentrations, $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (0,1, 0,2 y 0,3 units of absorption respectively), over solutions of 10 mg dm^{-3} MB, both in absence or presence of nutrients. In all events it was presented a removal of dye, that according to changes in V-VIS spectrum from decolourated solutions, they belong both to biosorption processes and biodegradation as well. In the tests developed with nutrients, we got rates of removal around 84,3 % for microalgae concentrations suitable to 0,1 absorption units around 90 % for microalgae concentrations suitable to 0,2 y 0,3 absorption units; meanwhile, in tests made without nutrients there were 98,4 % y 99,4 % of dye removed.

Keywords: Biosorption, Methylene Blue, Microalgae *Chlorella sp.*

1. INTRODUCCIÓN

Los colorantes sintéticos son una clase importante de compuestos orgánicos y con frecuencia se encuentran en el medio ambiente como resultado de su amplio uso industrial. La industria textil consume un volumen considerable de agua y utiliza colorantes para dar color a sus productos. Estos contaminantes son difíciles de remover debido a su estructura aromática compleja y origen sintético, siendo muchos de ellos conocidos como tóxicos o cancerígenos; por lo tanto, su disposición en los recursos de agua debe evitarse, implementando tecnologías que permitan reducir parcial o totalmente las fuentes contaminantes de agua, empleando métodos físicos, químicos y/o biológicos.

En algunos casos, para remover el color de los efluentes textiles, son usados tratamientos químicos y físicos tales como ozonización, fotooxidación, electrocoagulación, adsorción con carbón activado, intercambio iónico, precipitación química, filtración de membrana y floculación. Sin embargo, algunos de estos métodos son poco eficientes, muy costosos, de aplicabilidad limitada y producen residuos difíciles de disponer [1].

En el caso particular del azul de metileno (AM), su remoción se ha estudiado empleando adsorbentes alternativos como la cáscara de cacahuete [2], cáscara de arroz [3], raíces de jacinto de agua [4], semillas de guayaba [5], macroalgas *Sargassum muticum* [6], *Corinebacterium glutamicum* [7], fibras de *Posidonia oceánica* [8], *Streptomyces rimosus* [9], entre otros; pero el uso de microorganismos vivos ha tenido últimamente un interés creciente, a pesar que la bioadsorción empleando células muertas tiene algunas ventajas sobre el uso de sistemas con células vivas [10,11], además de los bajos costos y de su efectividad, el uso de microorganismos vivos ofrece beneficios para el medio ambiente, ya que a parte de los procesos de biosorción, tienen el potencial de transformar los contaminantes en otras sustancias menos nocivas o degradarlos a dióxido de carbono, agua y sales inorgánicas [12]. Se ha demostrado que las algas vivas pueden remover un número diverso de colorantes, pero la forma y la eficiencia con que lo hacen depende de la estructura molecular de estos y de las propiedades de la especie algal usada. Entre las variedades de microalgas que se han encontrado útiles para la remoción de colorantes están la *Spirogyra species*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Closterium lunula*, *Pithophora sp.* y *Cosmarium sp.* [13,14].

Los individuos del género *Chlorella* (*Chlorophyceae*) son algas verdes simples, de tamaño pequeño, ovoidales, no móviles y unicelulares, no producen zoosporas. Las células presentan una pared celular delgada y cloroplastos en forma de copa y se reproducen formando células hijas o autoesporas idénticas a la célula madre. Crecen en condi-

ciones autotróficas, heterotróficas y mixotróficas. Es uno de los géneros de mayor importancia comercial.

Esta investigación estudió el efecto de la cantidad de biomasa y la presencia de nutrientes sobre la capacidad de remoción del colorante azul de metileno en solución acuosa empleando la microalga *Chlorella sp.* viva.

2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1. Microorganismo: *Chlorella sp.*

En este trabajo se utilizó *Chlorella sp.* un alga unicelular con capacidad fotosintética, donada por el Laboratorio de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad de Zulia.

2.2 Preparación de las soluciones de AM

Todos los reactivos químicos empleados en este estudio fueron grado analítico. El colorante comercialmente conocido como azul de metileno, es un compuesto heterocíclico aromático con fórmula molecular $C_{16}H_{18}ClN_3S$, su nombre químico es cloruro de tetrametilitionina o 3,7-bis(dimetilamino)-cloruro de fenazationio.

La solución madre de 1000 mg dm^{-3} de AM, se preparó disolviendo la cantidad requerida de AM en agua esterilizada; a partir de esta se realizó una dilución a 10 mg dm^{-3} para los bioensayos posteriores.

2.3 Crecimiento algal

Como medio de cultivo se utilizó un fertilizante comercial conocido como "Nutrifoliar", diluyendo 25 cm^3 hasta un volumen de 500 cm^3 con agua estéril. Para el crecimiento de la microalga se colocó en un biorreactor, 14 cm^3 del medio de cultivo, para una concentración final de nitrógeno de 4 mM. Se agregó un volumen de la microalga *Chlorella sp.* correspondiente a una concentración de $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (0,1 unidades de absorbancia, medidos con un espectrofotómetro UV-VIS Beckam 60 D, a una longitud de onda de 647 nm). Finalmente se completó con agua estéril hasta un volumen final de 2,5 dm^3 .

Las células fueron cultivadas a una temperatura de 25 ± 2 °C, durante un periodo de 15 días, con agitación constante, fotoperiodos día/noche de 12/12 y con una cantidad de luz equivalente a 3400 lx. Su crecimiento fue evaluado midiendo cada 24 h la absorbancia de la biomasa en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 647 nm.

2.4 Preparación de los bioensayos

En diferentes frascos previamente esterilizados se colocaron 300 cm^3 de solución del colorante y biomasa algal, con di-

ferentes concentraciones iniciales de microalga, $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , correspondientes a 0,1, 0,2 y 0,3 unidades de absorbancia tanto en presencia como en ausencia de nutrientes, a una temperatura aproximada de 25 ± 2 °C, con agitación constante a través de bombas de aire (power live p-500), con un suministro de flujo $2,25 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$, fotoperiodos día/ noche 12/12 y 3400 lx. Además se realizaron los respectivos controles bajo las mismas condiciones de luz y agitación, unos en ausencia del colorante y otros sin la presencia de la microalga *Chlorella sp.*

Tanto el crecimiento de la microalga como la concentración del colorante, fueron medidos por separado cada 24 horas, para lo cual, en los bioensayos con microalga y AM, la biomasa algal fue separada de la solución coloreada, mediante centrifugación; la absorbancia de *Chlorella sp.* se midió en cada ocasión a 647 nm y la de AM a 664 nm, utilizando los respectivos blancos y curvas de calibración características, en un espectrofotómetro UV-VIS Beckam 60 D.

Para todos los experimentos se realizaron tres replicas considerando como factores que inciden sobre el proceso de remoción de AM, la concentración inicial de microalgas y la presencia o ausencia de nutrientes.

2.5 Porcentaje de remoción de AM

La eficiencia de la remoción del colorante expresada como el porcentaje de la concentración de colorante removido con respecto a la concentración inicial, se calculó mediante la siguiente ecuación.

$$\% \text{ Remoción} = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100$$

donde C_0 es la concentración inicial de AM y C la concentración del colorante en un tiempo t .

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

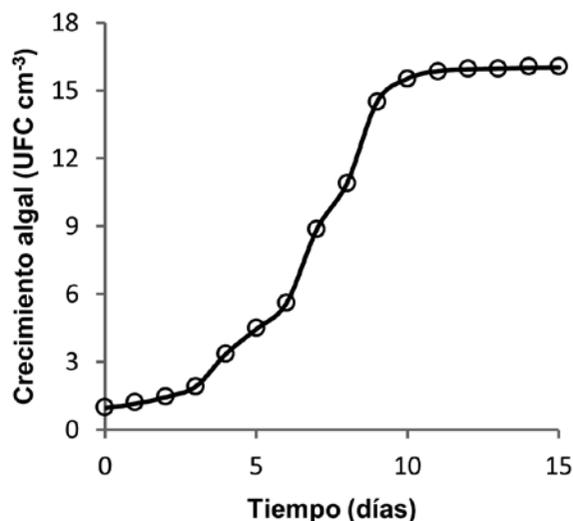
3.1 Crecimiento de *Chlorella sp.*

La determinación de la concentración de pigmentos fotosintéticos permitió estimar la biomasa algal. Los pigmentos algales consisten principalmente en clorofilas a y b. Experimentalmente se ha encontrado que éstas tienen típicamente dos picos de absorción en el espectro visible, uno en el entorno de la luz azul (400-500 nm de longitud de onda), y otro en la zona roja del espectro (600-700 nm). La clorofila b, característica de los plastos de las algas verdes como *Chlorella sp.* en la zona roja tiene un máximo de absorción a 647 nm, longitud de onda que fue usada para medir la absorbancia de este pigmento como dato indicador de la cantidad de biomasa algal expresada como el número de unidades formadoras de colonias por unidad de volumen (UFC cm^{-3}).

La figura 1 muestra el patrón de crecimiento algal para un período de incubación de 15 días, el cual, inicia con una fase de adaptación mostrando un crecimiento relativamente lento, debido al cambio de condiciones diferente al original; esta fase tuvo lugar hasta el día 5 aproximadamente y mostró un aumento de la concentración desde $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} hasta $3,35 \times 10^6$ UFC cm^{-3} . Durante los 5 días siguientes el alga manifestó un crecimiento vertiginoso, aprovechado todos los nutrientes del medio, esta situación le permitió llegar a alcanzar una concentración de $15,53 \times 10^6$ UFC cm^{-3} . Entre los días 10 y 15 el crecimiento prácticamente se detuvo debido a que los nutrientes se agotaron, pero además, empezaron a aparecer residuos no asimilables, llevando a la población algal a su capacidad de carga del ambiente, hasta una concentración de $16,02 \times 10^6$ UFC cm^{-3} .

Figura 1. Curva de crecimiento de *Chlorella sp.* en presencia de nutrientes.

Figure 1. Growth curve of *Chlorella sp.* in presence of nutrients.

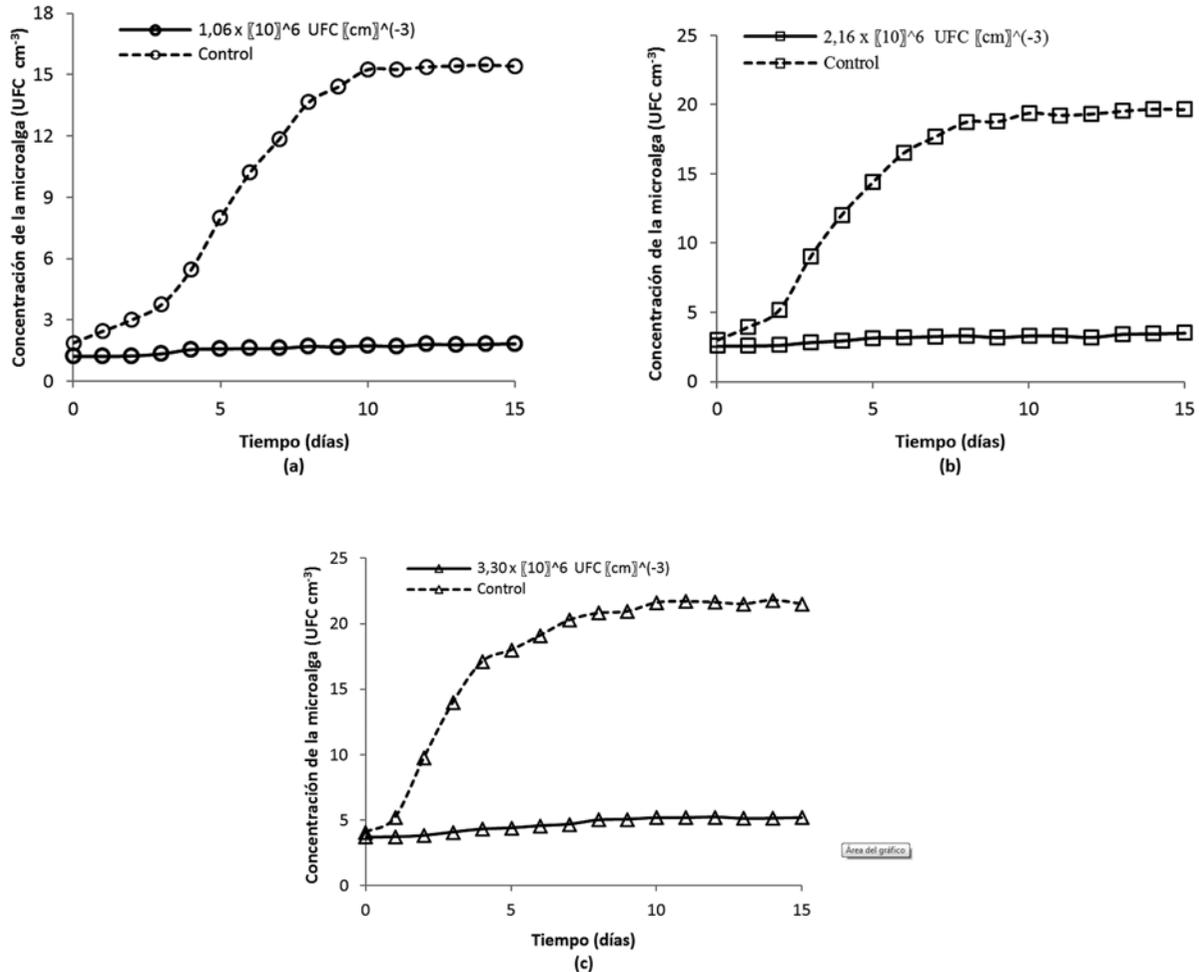


3.2 Crecimiento de *Chlorella sp.* en presencia de AM y ausencia de nutrientes

El crecimiento de *Chlorella sp.* en presencia del colorante y en ausencia de nutrientes sufrió una inhibición drástica. Después de 15 días, las concentraciones iniciales de microalga correspondientes a $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (0,1, 0,2 y 0,3 unidades de absorbancia respectivamente), solo se incrementaron hasta $1,82 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , $3,50 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y $5,17 \times 10^6$ UFC cm^{-3} respectivamente. Este crecimiento es muy bajo comparándolo con los resultados obtenidos de los bioensayos sin colorante (controles) realizados bajo las mismas condiciones que los anteriores, los cuales en el mismo período de tiempo, alcanzaron las concentraciones de $15,40 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , $19,63 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y $21,52 \times 10^6$ UFC cm^{-3} respectivamente (Figura 2).

Figura 2. Crecimiento de *Chlorella sp.* a diferentes concentraciones iniciales, en presencia de colorante y en ausencia de nutrientes (a) $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , (b) $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y (c) $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} .

Figure 2. Growth of *Chlorella sp.* at different initial concentrations of dye in presence and absence of nutrients (a) $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , (b) $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y (c) $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} .



Para el adecuado crecimiento de cualquier especie algal, deben suministrarse los nutrientes necesarios y las condiciones químicas ambientales adecuadas; dentro de los distintos componentes del medio de cultivo se encuentra el nitrógeno, cuya fuente y concentración son determinantes [15]. Cuando una microalga es sometida a niveles escasos de nitrógeno, no solo hay un descenso significativo en el contenido de proteínas celulares, sino que además se reduce el contenido de pigmentos fotosintéticos y por lo tanto, se traduce en un bajo crecimiento de la biomasa algal.

3.3 Crecimiento de *Chlorella sp.* en presencia de AM y de nutrientes

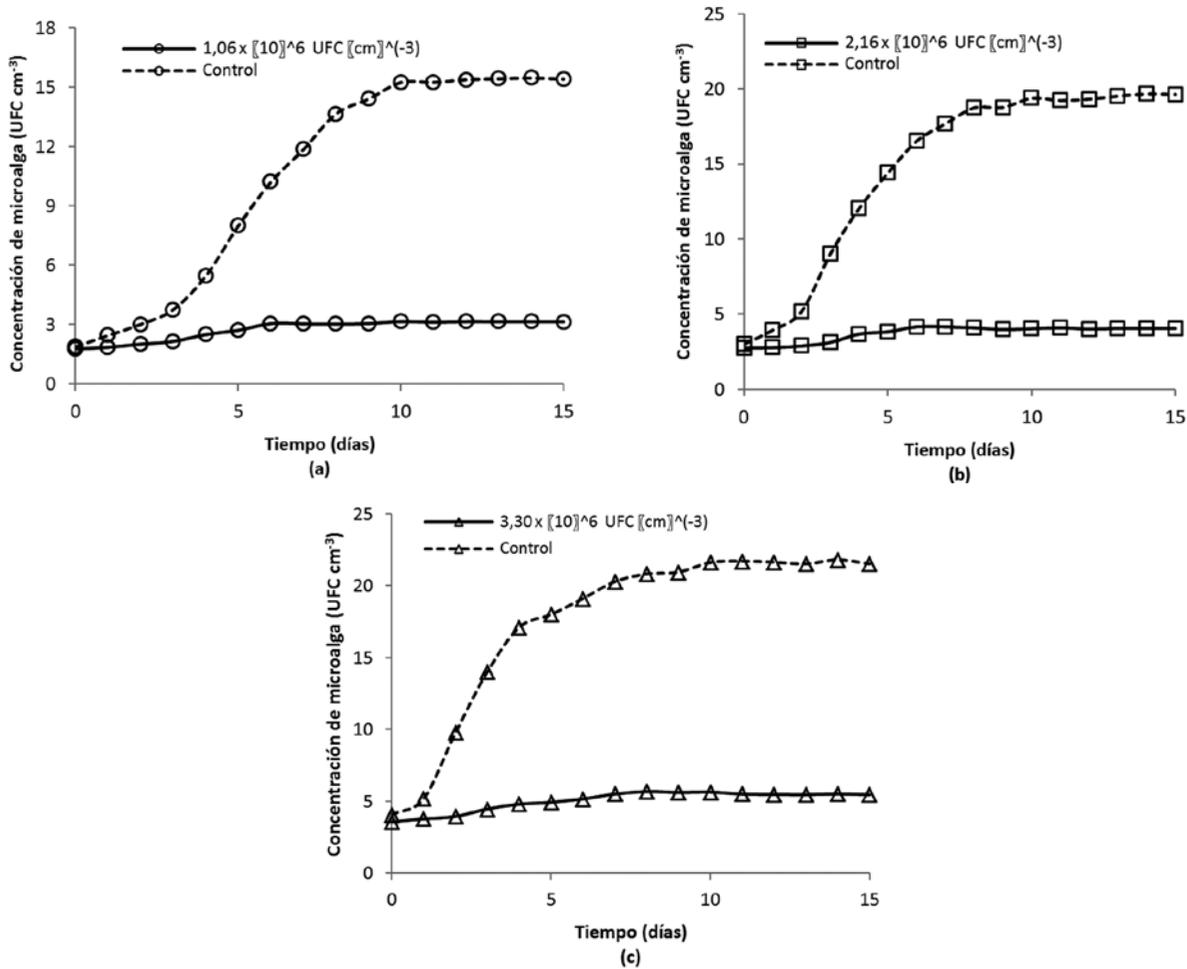
Los bioensayos realizados con concentraciones iniciales de $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (0,1, 0,2 y 0,3 unidades de absorbancia respectivamente), muestran un bajo crecimiento de la microalga

Chlorella sp. en presencia tanto, del colorante como de nutrientes, alcanzando valores de $3,13 \times 10^6$ UFC cm^{-3} , $4,04 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y $5,45 \times 10^6$ UFC cm^{-3} respectivamente, después de los 15 días. Estos resultados un poco mejores que los obtenidos en ausencia de nutrientes, muestran la importancia del efecto de la luz en la productividad del cultivo. Los colorantes disueltos en agua reducen notablemente la penetración de la luz disminuyendo la actividad fotosintética y por consiguiente, reduciéndose así los niveles de crecimiento de la microalga (figura 3).

3.4 Remoción del AM empleando *Chlorella sp.* en ausencia de nutrientes

Cuando las diferentes cantidades de microalga son expuestas a las soluciones del colorante en ausencia de nutrientes, la concentración de AM disminuye rápidamente, en especial durante los primeros días (Figura 4).

Figura 3. Crecimiento de *Chlorella sp.* a diferentes concentraciones iniciales, en presencia de colorante y nutrientes (a) $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbancia 0,1), (b) $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbancia 0,2) y (c) $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbancia 0,3).
Figure 3. Growth of *Chlorella sp.* at different initial concentrations in presence of dye and nutrients (a) $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbance 0,1), (b) $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbance 0,2) and (c) $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbance 0,3).



En los bioensayos realizados con una concentración inicial de microalga y colorante de $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbancia 0,1) y 10 mg dm^{-3} respectivamente, se observa que transcurridas 48 horas se removió el 40 % del AM, después de 12 días ascendió al 94,1 % y finalizado el proceso de exposición (15 días) el 98,4 %. Por otro lado, los bioensayos empleando concentraciones iniciales de *Chlorella sp.* de $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbancia 0,2) y $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbancia 0,3), después de 48 horas se logró remover alrededor del 50% del colorante, después de 8 días ascendió al 96 % y finalmente, al cabo de 15 días la concentración de colorante alcanzó valores cercanos a $0,1 \text{ mg dm}^{-3}$, los cuales demuestran una eficiencia de la remoción, alrededor del 99,9 % (Figura 5). Los altos porcentajes de remoción son el resultado de procesos de biosorción o de biodegradación.

Figura 4. Remoción biológica de AM a diferentes concentraciones iniciales de *Chlorella sp.* en ausencia de nutrientes.
Figure 4. Biological removal of MB to different initial concentrations of *Chlorella sp.* in absence of nutrients.

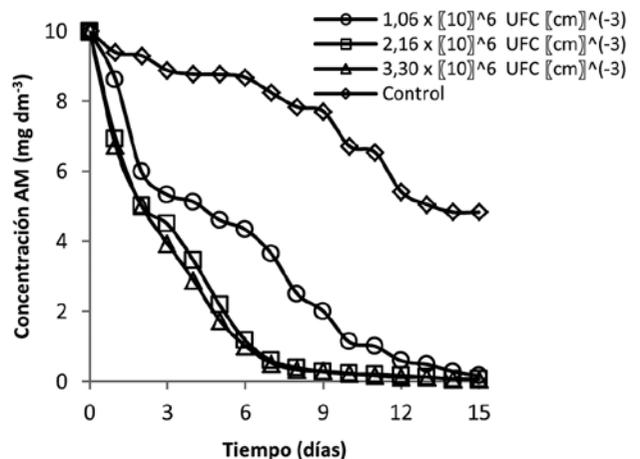
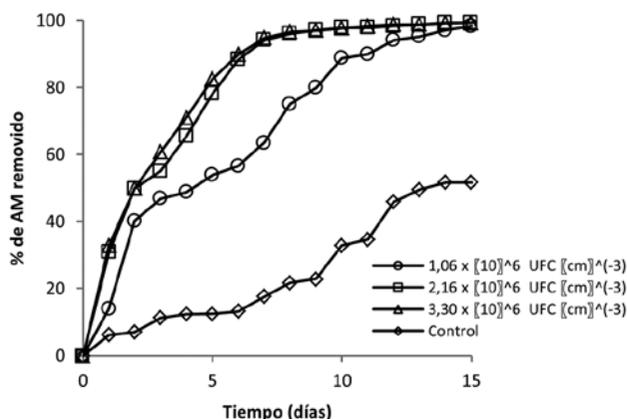


Figura 5. Porcentaje de remoción de AM a diferentes concentraciones iniciales en ausencia de nutrientes.

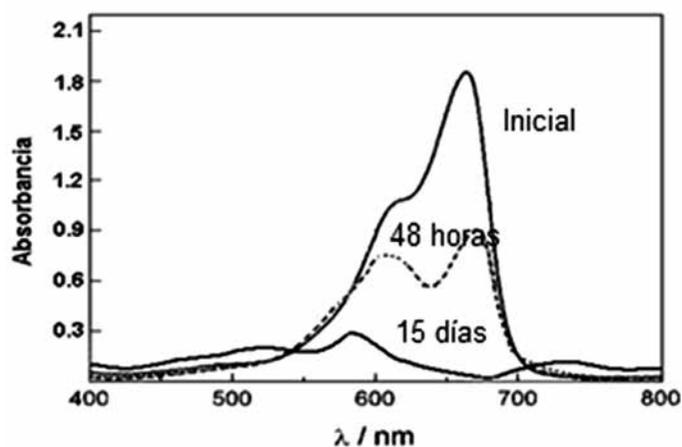
Figure 5. MB removal percentage at different concentrations in absence of initial nutrients.



Después de 48 horas, tras realizar el análisis de una solución decolorada por efecto de la microalga en ausencia de nutrientes, aparece en el espectrofotómetro UV-VIS un espectro de baja intensidad, proporcional al antes obtenido de una solución de AM con una concentración inicial de 10 mg dm⁻³. Al realizar el mismo análisis, pero ahora después de 15 días, el pico ha desaparecido totalmente, pero además se observa la aparición de nuevos picos de baja intensidad (Figura 6), lo cual demuestra la remoción del colorante.

Figura 6. Espectro UV-Vis de soluciones de AM decolorizadas por *Chlorella sp.*, en ausencia de nutrientes.

Figure 6. UV-Vis spectrum of solutions of MB decolorized by *Chlorella sp.*, in absence of nutrients.



De acuerdo con la literatura científica, la remoción de colorantes puede ocurrir por la adsorción sobre la biomasa [16]. Todos estos efectos de biosorción por parte de la microalga *Chlorella sp.* se deben a grupos funcionales tales como ácidos carboxílicos (COO⁻) y fosfatos (PO₄²⁻) pre-

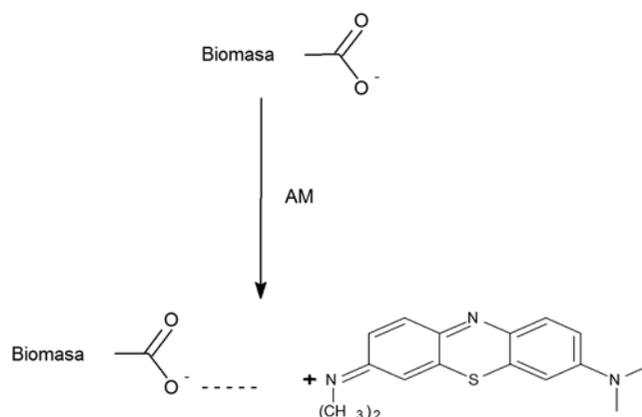
sentes en las membranas de las células algales. De igual manera, puede removerse AM por la biodegradación realizada por las células vivas de los microorganismos.

Cuando se trata solo de procesos de adsorción, el espectro muestra que todos los picos decrecen proporcionalmente unos a otros, mientras que, si la remoción se atribuye a biodegradación los picos de máxima absorbancia desaparecerán o podrán aparecer nuevos picos [16]. Por lo tanto, los resultados indican que la remoción de AM por *Chlorella sp.* corresponden en mayor proporción a procesos de adsorción durante los primeros periodos de exposición, pero que después de cierto tiempo también se inicien ciertos procesos de biodegradación, y que los pequeños picos adicionales sean resultado de la absorbancia de metabolitos o fragmentos degradados de las moléculas de colorante original.

Para explicar el proceso de adsorción es necesario tener en cuenta que, los colorantes catiónicos liberan iones cargados positivamente cuando están en solución, con lo cual se genera una atracción electrostática hacia la superficie celular cargada negativamente. En particular, los grupos carboxilos presentes en *Chlorella sp.* [17] son los principalmente responsables de la adsorción del AM; bajo las condiciones experimentales adoptadas, éstos tienen una carga negativa, por consiguiente, unirán electrostáticamente las moléculas de AM a la biomasa algal (Figura 7).

Figura 7. Esquema de la atracción electrostática entre las moléculas del colorante catiónico AM y la superficie de la biomasa algal de *Chlorella sp.*

Figure 7. Scheme of the electrostatic attraction between the cationic dye molecules and the surface of MB algal biomass of *Chlorella sp.*



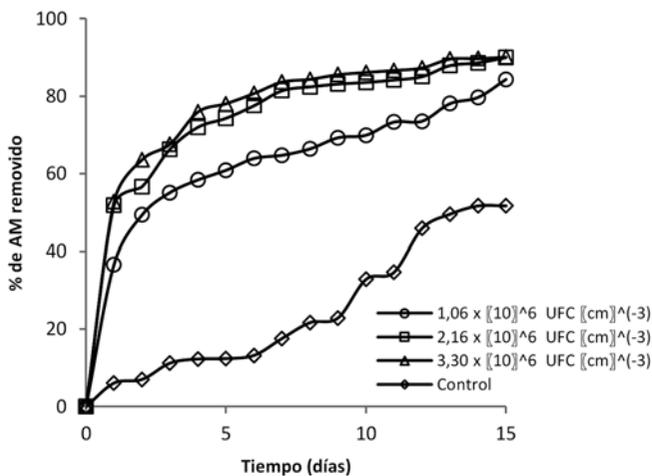
3.5 Remoción del AM empleando *Chlorella sp.* en presencia de nutrientes

Los bioensayos realizados en presencia de nutrientes con una concentración inicial de microalga de 1,06 x 10⁶ UFC cm⁻³ (absorbancia 0,1), mostraron después de 48 horas una remoción

del 49,3 % del AM y al finalizar el proceso (15 días) el 84,3 %. Con las concentraciones iniciales de $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} y $3,30 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbancia 0,2 y 0,3 respectivamente), el comportamiento fue similar empleando solo 24 horas para remover alrededor del 52 % del colorante y 7 días para remover el 81,4 % y 83,52 % respectivamente. Después esta rapidez de remoción decae y al finalizar el periodo de incubación (15 días) para ambas concentraciones de microalga se logra una remoción aproximada del 90 % del AM (Figura 8).

Figura 8. Porcentaje de remoción de AM a diferentes concentraciones iniciales en presencia de nutrientes.

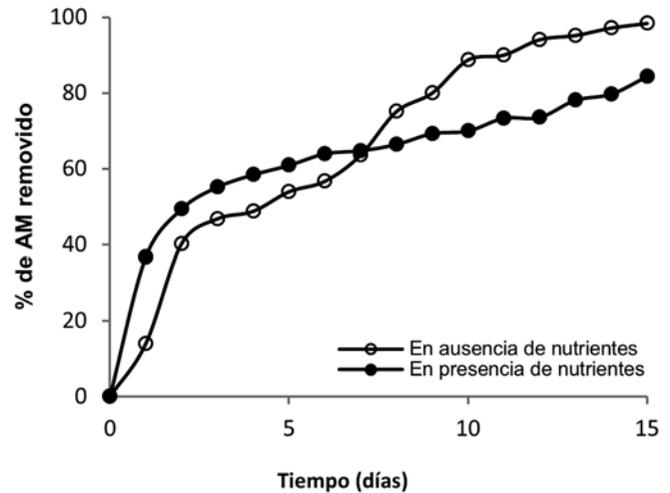
Figure 8. MB removal percentage at different concentrations in presence of initial nutrients.



En la figura 9 se comparan los porcentajes de remoción de AM, tanto para los bioensayos realizados en ausencia y presencia de nutrientes a una concentración inicial de microalgas de $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} . Se observa de la gráfica que en los primeros días del proceso, los porcentajes de remoción son mayores en presencia de nutrientes, pero después de los 6 días la situación se invierte, alcanzado los porcentajes más altos de remoción los bioensayos desprovistos de nutrientes. Un comportamiento similar se aprecia con las otras concentraciones del estudio. Esto puede explicarse considerando que la presencia de nutrientes garantiza que la estructura de las envolturas celulares se conserve, por lo cual, durante los primeros días de exposición al colorante, predominan los procesos de adsorción sobre la biomasa algal. Al finalizar el período de incubación, en medios de cultivo deficientes de nitrógeno, es probable que el alga *Chlorella sp.*, luego de un periodo relativo de adaptación, es capaz de utilizar amino sustituyentes como fuente de nitrógeno [18].

Figura 9. Comparación del porcentaje de remoción biológica de AM en ausencia y presencia de nutrientes a la concentración inicial de microalga $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbancia 0,1).

Figure 9. Comparison of biological removal percentage of MB in absence and presence of nutrients to the initial concentration of microalgae $1,06 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (absorbance 0,1).



4. CONCLUSIONES

En la metodología experimental desarrollada en este trabajo se estudió el efecto de la concentración inicial de microalga *Chlorella sp.*, tanto en presencia como en ausencia de nutrientes, en la remoción del colorante azul de metileno en disolución acuosa. Esta investigación permite formular las siguientes conclusiones:

- La microalga *Chlorella sp.* posee la capacidad de acelerar los procesos de decolorización de soluciones de AM, a través de la adsorción y biodegradación de las moléculas del colorante.
- La remoción del colorante depende de la concentración de biomasa algal y de la presencia de nutrientes.
- A partir de concentraciones de microalga correspondientes a $2,16 \times 10^6$ UFC cm^{-3} (0,2 unidades de absorbancia) la eficiencia de la remoción se optimiza, mientras que la ausencia de nutrientes para la microalga garantiza mayores porcentajes de remoción al finalizar el proceso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este artículo agradecen la colaboración del Laboratorio de Biotecnología de Microalgas de la Universidad del Atlántico por el apoyo brindado para la realización de esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] Daneshvar, N., Ayazloo, M., Khataee, A.R., Pourhasan, M. Biological decolorization of dye solution containing Malachite Green by microalgae *Cosmarium* sp., *Bioresource Technology*, 98, 1176-1182, 2007.
- [2] Gong, R., Yang, Li. M., Sun, C., Chen, Y. J., Removal of cationic dyes from aqueous solution by adsorption on peanut hull, *J. Hazard. Mater.*, 121, 247-250, 2005.
- [3] Vadivelan, V., Kumar, K.V., Equilibrium, kinetics, mechanism, and process design for the sorption of methylene blue onto rice husk, *J. Colloid Interface Sci.*, 286, 90-100, 2005.
- [4] Low, K.S., Lee, C.K., Tan, K.K., Biosorption of basic dyes by water Hyacinth roots, *Bioresource Technology*, 52, 79-83, 1995.
- [5] Rahman, I.A., Saad, B., Utilization of guava seeds as a source of activated carbon for removal of methylene blue from aqueous solution. *Malaysian J. Chem.*, 5, 008-014, 2003.
- [6] Rubin, E., Rodriguez, P., Herrero, R., Cremades, J., Barbara, I., Vicente, M. E. S. D, Removal of methylene blue from aqueous solutions using as biosorbent *Sargassum muticum*: an invasive macroalga in Europe, *J. Chem. Tech., Biotechnol.*, 80, 291-298, 2005.
- [7] Vijayaraghavav, K., Biosorption of methylene blue from aqueous solution using free and polysulfone-immobilized *Corynebacterium glutamicum*: Batch a column studies, *Bioresource Technology*, 99, 2864-2871, 2008.
- [8] Ncibi, M.C., Mahjoub, B., Seffen, M., Kinetic and equilibrium of methylene blue biosorption by *Posidonia oceanica* fibers, *J. Hazard. Mater.*, 139, 280-285, 2007.
- [9] Nacéra, Y., Aicha B., Equilibrium and kinetic modeling of methylene blue biosorption by pretreated dead *Streptomyces rimosus*, *Chemical Engineering Journal*, 119, 121-125, 2006.
- [10] Addour, L., Bakhti, Z., Belhocine, D., Grib, H., Lounici, H., Pauss, A., Piron, D., Mameri, N., Filtration of zinc ions utilizing pretreated *Streptomyces rimosus* biomass, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 78, 1274-1280, 2003.
- [11] Selatnia, M.Z., Bakhti, Madani, A., Kertous, L., Mansouri, Biosorption of Cd²⁺ from aqueous solution by NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass, *Hydrometallurgy*, 75, 11-24, 2004.
- [12] Mohan, S.V., Roa, C.N., Prasad, K.K., Karthikeyan, J., Treatment of simulated reactive yellow 22 (Azo) dye effluents using *Spirogyra* species, *Waste Management*, 22, 575-582, 2002.
- [13] Acuner, E., Dilek, F.B., Treatment of tectilon yellow 2G by *Chlorella vulgaris*, *Process Biochemistry*, 39, 623-631, 2004.
- [14] Kumar, K.V., Ramamurthi, V., Sivanesan., Dyes and pigments. Biosorption of malachite a green cationic dye onto *Pithophora* sp. fresh water algae, *Dyes and Pigments*, 69, 74-79, 2006.
- [15] Utting, S. D., Influence of nitrogen availability on the biochemical composition of three unicellular marine algae of commercial importance, *Aquacultural Engineering*, 4, 175-190, 1986.
- [16] Chen, K.C., Wu, J.Y., Liou, D.J., Hwang, S.C.J., Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains, *Journal Biotechnol.*, 101, 57-68, 2003.
- [17] Won, S.W., Choi, S.B., Yun, Y.S., Interaction between protonated waste biomass of *Corynebacterium glutamicum* and anionic dye Reactive red 4, *Colloid Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 262, 175-180, 2005.
- [18] Luther, M., Degradation of different subtitled aromatic compounds as nutrient sources by the green alga. Conference, 4, 613-615, 1990.