

Remoción de cobre de aguas contaminadas empleando ramnolípidos

Removal of copper from contaminated waters using rhamnolipids

Dr.C. Odalys Rodríguez Gámez^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-6511-7064>

Esp. Rocio Pérez Macías² <https://orcid.org/0000-0002-4817-0901>

MSc. Isabel Aguilera Rodríguez¹

Dr.C. Rosa María Pérez Silva¹ <https://orcid.org/0000-0002-9878-7192>

Dr. C. Arelis Abalos Rodríguez¹ <https://orcid.org/0000-0002-0007-5825>

¹Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

²Empresa Geominera Oriente Sur, Cuba

*Autor para la correspondencia. correo electrónico: oroga@uo.edu.cu

RESUMEN

El empleo de ramnolípidos constituye una alternativa atractiva y ecocompatible en la remediación de ambientes contaminados con metales pesados. En el presente trabajo se evaluó la capacidad del ramnolípidos producido por *P. aeruginosa* ORA9 de remover cobre en aguas contaminadas de la Laguna Azul del Cobre, para controlar y disminuir el riesgo humano y ambiental que estas aguas representan. Se estudió la influencia del pH de la solución de

ramnolípidos (4-10), el tiempo de contacto (2-10 horas) y la concentración del biosurfactante (40-120 mg L⁻¹) en el proceso, a través de un diseño factorial Box-Bhenken. Se observó un incremento del porcentaje de remoción de cobre, proporcional al tiempo de contacto y la concentración del biosurfactante, alcanzándose un 48 % de remoción a las 10 h y 120 mg L⁻¹. Los resultados obtenidos indican que los ramnolípidos pueden utilizarse en el diseño de una tecnología para remover cobre en aguas contaminadas.

Palabras clave: ramnolípidos; agua contaminada; metales pesados; cobre; diseño factorial.

ABSTRACT

The use of rhamnolipids constitutes an attractive and eco-compatible alternative in the remediation of contaminated environments with heavy metals. In the present work, the ability of rhamnolipid produced by *P. aeruginosa* ORA9 to remove copper in contaminated waters of the Blue Lagoon of El Cobre, was evaluated, to control and reduce the human and environmental risk that these waters represent. The influence of the pH of the rhamnolipid solution (4-10), the contact time (2-10 hours) and the concentration of the biosurfactant (40-120 mg L⁻¹) in the process were studied, through a factorial design Box-Bhenken. An increase in the percentage of copper removal proportional to the contact time and the concentration of the biosurfactant was observed, reaching 48 % removal at 10 h and 120 mg L⁻¹. The results obtained indicate that rhamnolipids can be used in the design of a technology to remove copper in polluted contaminated waters.

Keywords: rhamnolipid; contaminated water; copper; heavy metals; factorial design.

Recibido: 21/7/2020

Aprobado: 11/9/2020

Introducción

La contaminación con metales pesados es uno de los problemas más importantes que afectan al medio ambiente, debido a la toxicidad y a los daños que provocan en la salud humana y en los ecosistemas acuáticos y terrestres. Debido a su naturaleza química, estos compuestos son persistentes en el medio ambiente y no se degradan por métodos biológicos, químicos o físicos a productos más inocuos; sino que permanecen en el ambiente, acumulándose como iones o como metalocompuestos en los organismos por largos períodos de tiempo.⁽¹⁾

El cobre, aunque es esencial para el funcionamiento normal del metabolismo en humanos, su consumo excesivo a través de aguas o bebidas contaminadas, puede producir náuseas, vómitos y/o dolor abdominal, pérdida del cabello, anemia y daños renal y hepático.⁽²⁾

Se han desarrollado diferentes técnicas para remover cobre de las aguas contaminadas (precipitación química, el intercambio iónico, la adsorción, la filtración por membrana, las técnicas de tratamiento electroquímico, etc), pero la aplicación de estos métodos es cara e inefectiva en términos del consumo de energía y de productos químicos, además se pueden generar grandes cantidades de lodos a tratar con dificultad.⁽³⁾

Actualmente se evalúan novedosas tecnologías que involucran microorganismos y sus productos metabólicos, para el tratamiento de efluentes de las industrias y la actividad minera. Dentro de ellas, ha cobrado auge el empleo de biosurfactantes para mejorar la remoción de los metales pesados de estos efluentes.⁽⁴⁾

Los ramnolípidos (RL) son biosurfactantes aniónicos de tipo glicolípido producidos mayoritariamente por las cepas del género *Pseudomonas*. En su estructura presentan una parte hidrofílica, constituida por ramnosa; y una parte hidrofóbica constituida por ácidos grasos saturados e insaturados.⁽⁵⁾ Presentan excelentes propiedades superficiales comparables a los surfactantes de origen sintético, pero a su vez tienen la ventaja de ser biodegradables, no tóxicos y pueden obtenerse a partir de materias primas renovables. Varios estudios han demostrado la efectividad de los ramnolípidos en la remoción de metales pesados de suelos ⁽⁶⁾,

sedimentos ⁽⁷⁾ y aguas contaminadas.⁽⁸⁾

Las minas del Cobre, ubicadas en el poblado del mismo nombre, en Santiago de Cuba, comenzaron su explotación desde el siglo XVI hasta finales del XX, en la modalidad de minería a cielo abierto. Por razones económicas y tecnológicas la mina cerró en el año 2001. Los más de 4 siglos de explotación convirtieron el cerro en una enorme laguna (Laguna Azul) que es testimonio del daño ecológico ocurrido en esta zona, impactada fundamentalmente con cobre.⁽⁹⁾

Debido al carácter ácido de las aguas de la Laguna Azul, su alto contenido de cobre y otros metales pesados ⁽¹⁰⁾, y el empleo por parte de la población vecina del lugar como área de baño, se hace necesario la remediación de la misma y con ello, la recuperación de este lugar, lo cual puede tener beneficios para la actividad turística, conservación de la biodiversidad, la acuicultura, la irrigación y como fuente de abasto de agua para otras actividades mineras que se desarrollan, en un marco donde a nivel mundial se realizan ingentes esfuerzos para la recuperación y protección del vital líquido. Hasta donde se tiene conocimiento, no existen reportes del empleo de los ramnolípidos para la remoción de cobre de aguas contaminadas procedentes de un lago de mina.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar las potencialidades de un ramnolípidos para extraer el cobre de estas aguas contaminadas, con vistas a implementar una tecnología de remediación y minimizar el riesgo que representa este ecosistema acuático para la salud humana y ambiental.

Materiales y métodos

Muestras de agua

Se tomaron muestras de aguas contaminadas de la Laguna Azul, la cual se encuentra situada en las latitudes 20°2'56'' Norte y 75°56'49'' Oeste, tiene alrededor de 4 millones de m³ de agua, un kilómetro en su parte más larga, alrededor de 60 m de profundidad y casi 800 m en su parte

más ancha. Teniendo en cuenta que en la caracterización físico-química de estas aguas se comprobó que existe homogeneidad espacial y entre las aguas superficiales y a una profundidad de 1,5 m¹⁰, se tomaron muestras en una zona (20°02'47.8"N; 75°56'27.1"E) que se utiliza con fines recreativos (baño), donde las aguas son cristalinas y el fondo no se observa debido a la gran profundidad. Las mismas se colectaron en la mañana, en contenedores plásticos de 500 mL pre-lavados, y se almacenaron a 4°C hasta su tratamiento en el laboratorio.

En el laboratorio, las muestras se filtraron bajo presión a través de filtros de membrana PES (polyethersulfone) de 0,45 µm. Las alícuotas de muestras de agua para el análisis de cobre se acidificaron en el momento de la colecta con ácido nítrico 1% (HNO₃, 65% supra pure, Merck) y se conservaron a 4°C hasta su análisis. La concentración de cobre se determinó por Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica mediante Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES) en un espectrómetro AMETEK, ALEMANIA. La solución de calibración se preparó a partir de una solución mono elemental estándar certificada (solución estándar de cobre 1mg mL⁻¹ como Cu en HNO₃ 2%, ACROS-ORGANICS®)

Solución de ramnolípido

Se utilizó el ramnolípido producido por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* ORA9 aislada de suelos contaminados con residuales oleosos y cultivada en medio mineral con aceite de fritura como fuente de carbono.⁽¹¹⁾ La misma se encuentra depositada en la Colección de Cultivos del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, de la Universidad de Oriente. La solución de ramnolípido se preparó disolviendo el biosurfactante crudo en agua destilada para una concentración final de 400 mg L⁻¹.

Remoción de cobre de agua contaminada

El ensayo de remoción de cobre se realizó según la metodología descrita por Elouzi y colaboradores⁽¹²⁾ con modificaciones. Alícuotas de agua contaminada y solución de ramnolípido se transfirieron a tubos de centrifuga. Cada tubo se agitó en zaranda (120 rpm) a temperatura

ambiente y al finalizar, las muestras se centrifugaron (8000 rpm, 20 min.) (Heal Force®, China) y se filtraron a través de filtros de acetato de celulosa 0,2 µm. La concentración de cobre se determinó por Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica mediante Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES) en un espectrómetro AMETEK, ALEMANIA, y el porcentaje de metal removido se calculó por la ecuación (1):

$$\% \text{ Removal} = \frac{MCi - MCf}{MCi} \times 100 \quad (1)$$

donde

MCi es la concentración inicial de cobre y MCf es la concentración final de cobre (después del tratamiento con ramnolípidos).

Diseño experimental

Se evaluó el efecto de tres variables: pH de la disolución de ramnolípidos, tiempo de contacto y concentración de dicha disolución utilizando un diseño experimental Box-Behnken de superficie de respuesta, que consistió de 15 experimentos incluyendo tres réplicas en el punto central para evaluar el error experimental. Cada variable independiente se estudió a tres niveles (-1, 0, +1) (tabla 1). El rango y los niveles de los factores estudiados se seleccionaron basados en resultados de estudios similares realizados.⁽¹¹⁾ El porcentaje de cobre se seleccionó como la variable respuesta.

Tabla 1 - Variables independientes y niveles estudiados en el diseño experimental Box-Behnken -ara la remoción de cobre de agua contaminada

Variables	Factores	Niveles		
		-1	0	1
X1	Tiempo de contacto (h)	2	6	10
X2	pH solución de ramnolípido	4	7	10
X3	Concentración de solución de ramnolípido (mg L ⁻¹)	40	80	120

Análisis estadístico

Los resultados se presentaron como la media de tres réplicas \pm desviación estandard. Para el diseño experimental, el efecto de cada factor o variable independiente estudiado, el P-valor y el coeficiente de determinación (r^2) se calculó mediante el Análisis de Varianza (ANOVA). Por un análisis de regresión se determinó el modelo matemático que describe el comportamiento de los factores estadísticamente significativos sobre la variable respuesta. La bondad del ajuste se comprobó mediante el gráfico de correlación entre los valores observados y los predichos por el modelo matemático determinado. La significación estadística se fijó a $p \leq 0,05$. Los análisis y los gráficos se realizaron con la ayuda del software estadístico STATGRAPHICS Centurión XV 15,2.⁽¹³⁾

Resultados y discusión

La tabla 2 muestra los valores promedios de la remoción de cobre obtenidos en cada corrida experimental, observándose porcentajes de hasta 48 %.

Aunque no se encontraron reportes similares que estudien la extracción de cobre de aguas contaminadas empleando ramnolípidos, el valor de remoción obtenido en este estudio es similar a los obtenidos por otros autores que evaluaron la eficiencia de estos compuestos en la extracción de cobre de diferentes ambientes contaminados. Mulligan ⁽¹⁴⁾ reportó una remoción

máxima de cobre (46 %) empleando una solución al 2 % de ramnolípidos en el lavado de un suelo contaminado con metales pesados, mientras que Dahrazma y Mulligan ⁽¹⁵⁾ lograron remover hasta el 37 % del cobre presente en sedimentos contaminados, cuando evaluaron la eficiencia de un biosurfactante ramnolípido, utilizando una configuración de flujo continuo para la remediación de sedimentos contaminados.

Las aguas contaminadas de la Laguna Azul, tienen un pH moderadamente ácido ($\text{pH} = 4,6 \pm 0,2$) y altos contenidos de cobre ($43,6 \pm 1,7 \text{ mg L}^{-1}$) y manganeso ($24,1 \pm 1,1 \text{ mg L}^{-1}$), por encima de los límites aceptables para fuentes de abasto de aguas superficiales estipulados por la Norma Cubana 1021:2014.⁽¹⁶⁾ Además presenta otros metales cuyas concentraciones se observaron en la siguiente secuencia: $\text{Al} > \text{Zn} > \text{Sr} > \text{Fe} > \text{Co} > \text{Cd} > \text{Ba} > \text{Ni}$. Metales traza y metaloides como As, Cr, Mo, Pb, Sb y Se, se encontraron en concentraciones muy bajas.⁽¹⁰⁾

Tabla 2 - Matriz del diseño experimental Box-Behnken utilizado para evaluar la influencia de tres factores en la remoción de cobre de aguas contaminadas, empleando ramnolípidos

Experimento	Tiempo de contacto (h)	pH solución de ramnolípido	Concentración de ramnolípido (mg L^{-1}) ¹⁾	Remoción (%)	
				Experimental	Predicho
1	6	4	120	47,4±4,1	47,9
2	2	4	80	34,0±3,3	33,8
3	6	10	40	36,2±2,5	35,7
4	2	7	40	27,1±1,3	27,1
5	2	10	80	33,0±1,4	33,1
6	6	7	80	40,0±2,5	38,8
7	6	4	40	36,0±2,7	35,7
8	10	7	120	48,0±5,3	47,6
9	10	7	40	37,8±2,2	38,1
10	6	10	120	46,4±4,1	46,6
11	10	4	80	42,3±3,1	42,2
12	6	7	80	41,2±4,4	38,8
13	10	10	80	41,5±3,2	41,7
14	6	7	80	35,2±3,3	38,8
15	2	7	120	41,5±2,2	41,1

Aunque la presencia de múltiples cationes metálicos en estas aguas pudo interferir en la remoción del cobre por el ramnolípido, estudios realizados ⁽¹⁷⁾ han demostrado que estos compuestos forman complejos con muchos elementos con diferentes constantes de estabilidad (desde más fuertes, $\log K = 10,30$ hasta más débiles $\log K = 0,96$): $\text{Al}^{3+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Hg}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{K}^+$, lo que indica que en este caso, la formación del complejo cobre-ramnolípido, tuvo mayor prevalencia que otros complejos ramnolípido-metal que pudieron formarse, en las condiciones experimentales ensayadas.

La capacidad de los biosurfactantes de formar complejos con los metales es la principal razón por la cual se pueden utilizar en la remediación de ambientes contaminados con metales pesados. Los biosurfactantes aniónicos como son los ramnolípidos, forman enlaces iónicos con los metales, generando complejos no iónicos de gran estabilidad. La presencia del grupo carbonilo en el grupo carboxilo ejerce un efecto electroatractor sobre el oxígeno del grupo OH del carboxilo, provocando una baja densidad electrónica sobre ese átomo de oxígeno, situación que no ocurre en los hidroxilos de la ramnosa, siendo más favorable la unión con el catión. Por otra parte, el tamaño y la basicidad de los átomos donadores (OH) en la ramnosa favorecen la formación de complejos estables.⁽¹⁸⁾

Hogan ⁽¹⁹⁾ estudió la naturaleza de las interacciones del mono-ramnolípido con los metales mediante la Espectroscopia protónica por Resonancia Magnética (RMN- H^1) y la Espectroscopía Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR). Comprobó que el grupo carboxilo solamente está débilmente involucrado en el acomplejamiento del metal, por lo que la gran estabilidad de los complejos que se forman se debe a la unión del catión metálico a otras partes de la molécula del ramnolípido, como son los grupos hidroxilo de la molécula de ramnosa, formándose una estructura conocida como bolsillo de enlace (binding pocket) que involucra el grupo carboxilo y el azúcar ramnosa.

Específicamente la descripción de la interacción de los ramnolípidos con los iones Cu^{2+} fue estudiada por Ciésła y otros ⁽²⁰⁾, quienes evaluaron mezclas de ramnolípidos en estado premicelar y agregado, en agua y en solución de KCl 20 mM, a pH 5,5 y 6,0. El biosurfactante reveló la mejor actividad quelante en soluciones premicelares. El grado de unión del metal disminuyó con la concentración creciente del sistema y la presencia de K^+ redujo la unión del

Cu²⁺ por ramnolípidos, pero no modificó significativamente la estabilidad del complejo. Se demostró que la efectividad de estos compuestos depende de la composición del sistema y las condiciones de pH.

El análisis estadístico de estos resultados (tabla 2) determinó que el tiempo de contacto y la concentración de la solución de ramnolípidos fueron los factores con mayor influencia en el proceso de remoción del metal de las aguas contaminadas, lo cual se observó al graficar los efectos estimados en orden decreciente de importancia en un gráfico de Pareto (figura 1a). En el gráfico de efectos principales se observa como el porcentaje de remoción de cobre aumenta desde 32 % hasta 48 %, conforme los dos factores principales con efectos significativos se mueven desde su nivel inferior a su nivel superior (figura 1b).

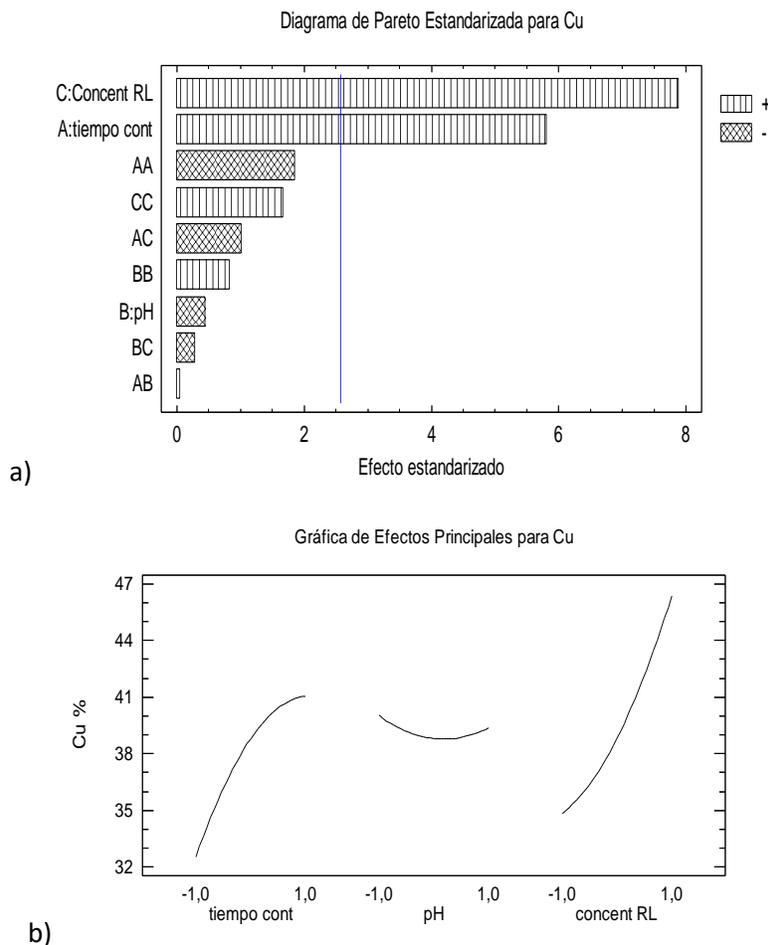


Fig. 1 - Gráficos de Pareto (a) y de efectos principales (b) obtenidos en el estudio de la remoción de cobre de aguas contaminadas empleando ramnolípidos

Un mayor tiempo de contacto entre la solución del biosurfactante y el agua contaminada favorecería una mayor interacción de los cationes metálicos Cu^{2+} con los grupos quelantes del ramnolípido, permitiendo su posterior extracción en forma de complejo ramnolípido-metal. De igual forma, una mayor concentración de ramnolípidos permite que haya un mayor número de moléculas del biosurfactante interactuando con los cationes disueltos, favoreciendo la remoción del metal del agua.

La significación estadística de las variables estudiadas (tiempo de contacto, concentración y pH) se comprobó mediante un Análisis de Varianza (tabla 3), donde se obtuvo que los factores tiempo de contacto y concentración de la solución de ramnolípido tuvieron un P-valor menor que 0,05, con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 3 - Análisis del diseño experimental Box-Behnken utilizado para evaluar la influencia de tres factores en la remoción de cobre de aguas contaminadas, empleando RL

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:t contacto.	de 144,5	1	144,5	33,71	0,0021
B:pH	0,845	1	0,845	0,20	0,6756
C: concent. RL	de 266,805	1	266,805	62,25	0,0005
AA	14,7692	1	14,7692	3,45	0,1225
AB	0,01	1	0,01	0,00	0,9633
AC	4,41	1	4,41	1,03	0,3570
BB	2,99077	1	2,99077	0,70	0,4416
BC	0,36	1	0,36	0,08	0,7836
CC	11,9631	1	11,9631	2,79	0,1556
Error total	21,43	5	4,286		
Total (corr.)	470,429	14			

R-cuadrada = 95,44 %, R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 87,24 %

Error estándar del est. = 2,07, Error absoluto medio = 0,71

Estadístico Durbin-Watson = 2,252 57 (P=0,585 3),

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,127 712

El modelo matemático que describe la relación entre el porcentaje de extracción de cobre y las dos variables con influencia significativa está dado por la ecuación (2):

$$\text{Cu (\%)} = 38,8 + 4,25 \cdot \text{tiempo de contacto} + 5,775 \cdot \text{concentración de ramnolípidos} \quad (2)$$

El valor del coeficiente de determinación (r^2) indica que este modelo explica el 95,4 % de la variabilidad obtenida en el porcentaje de remoción del metal. La bondad del ajuste obtenida por este modelo se comprobó con el gráfico de los resultados predichos *versus* los observados (figura 2), donde se evidenció una distribución homogénea en las tres variables. El coeficiente de correlación ($r = 0,9880$) obtenido indica una relación relativamente fuerte entre los valores experimentales y los determinados por el modelo ajustado.

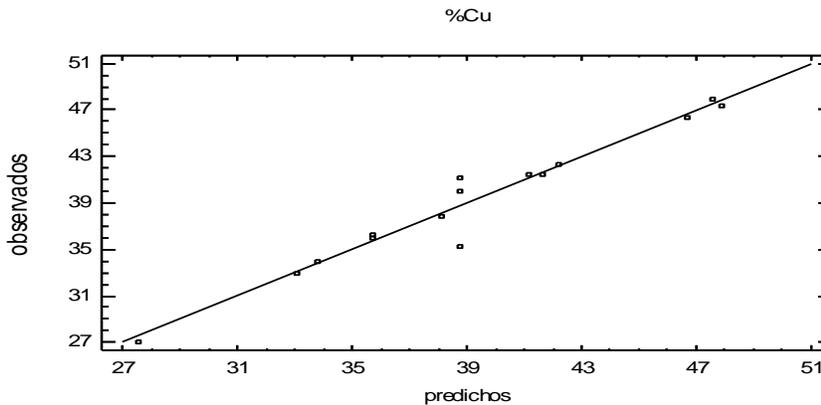


Fig. 2 - Gráfico de valores predichos por el modelo matemático y los observados experimentalmente en la remoción de cobre de aguas contaminadas empleando el ramnolípidos

En la actualidad, los esfuerzos para lograr tecnologías eficaces para la remediación de aguas contaminadas con metales pesados se han enfocado hacia el empleo de los ramnolípidos combinado con otras técnicas físico-químicas o biológicas utilizadas para estos fines, con el objetivo de aumentar la efectividad de las mismas, tal es el caso de la ultrafiltración micelar por

membrana²¹, la precipitación por flotación ⁽⁸⁾ y la fitorremediación.⁽²²⁾

Conclusiones

Los ramnolípidos constituyen una opción ecocompatible para la remoción de metales pesados de aguas contaminadas. En esta investigación se demostró las potencialidades del ramnolípido producido por *Pseudomonas aeruginosa* ORA9 para la remoción de cobre de las aguas contaminadas de la Laguna Azul del Cobre y la influencia que tiene el tiempo de contacto y la concentración del biosurfactante en este proceso de remoción. Se determinó además el modelo matemático que explica el proceso de remoción del metal. Esta investigación constituye un antecedente necesario para establecer una tecnología adecuada.

Agradecimientos

Los autores del trabajo agradecen a la Universidad de Oriente, la Agencia Universitaria de la Francofonía (AUF) Buró Caribe y la Embajada de Francia en Cuba, por el financiamiento a los proyectos que sustentaron la investigación desarrollada. También agradecen a la Empresa Geominera Oriente Sur por la colaboración en la consecución de los resultados.

Referencias bibliográficas

1. HASHIM, M., *et al.* Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. *Journal of Environmental Management*. 2011, **92**, 2355-2388. doi:10.1016/j.jenvman.2011.06.009
2. CAROLIN, C., *et al.* Efficient techniques for the removal of toxic heavy metals from aquatic environment: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2017, **5**, 2782–2799. doi:10.1016/j.jece.2017.05.029
3. FU, F., WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *Journal of Environmental Management*. 2011, **92**, 3, 407-418. doi:10.1016/j.jenvman.2010.11.011

4. WU, M., *et al.* Decontamination of multiple heavy metals-containing effluents through microbial biotechnology. *Journal of Hazardous Materials*. 2017, **337**, 189–197. doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.05.00
5. DESAI, J., BANAT, I. Microbial production of surfactants and their commercial potencial. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1997, **61**, 1, 47-64. doi:[10.1128/.61.1.47-64.1997](https://doi.org/10.1128/.61.1.47-64.1997)
6. MULLIGAN, C., YONG, R., GIBBS, B. Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. *Engineering Geology*. 2001, **60**, 371-380. doi:10.1016/S0013-7952(00)00117-4
7. CHEN, W., *et al.* Heavy metal (Cu, Cd, Pb, Cr) washing from river sediment using biosurfactant rhamnolipid. *Environ SciPollut Res*. 2017, **24**, 16344–16350. doi:10.1007/s11356-017-9272-2
8. ABYANEH, A., FAZAEIPOOR, M. Evaluation of rhamnolipid (RL) as a biosurfactant for the removal of chromium from aqueous solutions by precipitate flotation. *Journal of Environmental Management*. 2016, **165**, 184-187. doi:10.1016/j.jenvman.2015.09.034
9. VILASÓ, J. E. Laguna azul del Cobre: bella pero...[en línea]. (Consultado: 5/09/2020). Disponible en: <https://www.elchago.com/2020/07/28/laguna-azul-del-cobre-santiago-de-cuba/>
10. RODRÍGUEZ, O., *et al.* Assessment of water quality from the Blue Lagoon of El Cobre mine in Santiago de Cuba: a preliminary study for water reuse. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, **26**, (16), 16366-16377. doi:10.1007/s11356-019-05030-3
11. RODRÍGUEZ, O., *et al.* Screening and Characterization of Biosurfactant-Producing Bacteria Isolated from Contaminated Soils with Oily Wastes. *J. Environ. Treat. Tech.*, 2017, **5** (1), 5-11. ISSN: 2309-1185.
12. ELOUZI, A, *et al.* Removal of heavy metals contamination by bio-Surfactants (Rhamnolipids). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2012, **4**, 90: 4337-4341. ISSN: 0975-7384.
13. Statgraphics Centurion, X. V. I. Statpoint Technologies. INC. version, 16, 17. 2009.
14. MULLIGAN, C. Recent advances in the environmental applications of biosurfactants. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2009, **14**, 372-378. doi:10.1016/j.cocis.2009.06.005.
15. DAHRAZMA, B., MULLIGAN, C. Investigation of the removal of heavy metals from sediments using rhamnolipid in a continuous flow configuration. *Chemosphere*, 2007, **69**, 705-711. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.05.037

16. NORMA CUBANA 1021 (2014) Higiene comunal. Fuentes de abastecimiento de agua. Calidad y protección sanitaria.
17. OCHOA-LOZA, F. J., ARTIOLA, J. F., MAIER, R. M. Stability constants for the complexation of various metals with a rhamnolipid biosurfactant. *J. Environ. Qual.* 2001, 30, 479-485. doi:10.2134/jeq2001.302479x
18. FRANZETTI, A., GANDOLFI, I., FRACCHIA, L. Biosurfactant Use in Heavy Metal Removal from Industrial Effluents and Contaminated Sites. En: KOSARIC, N., SUKAN, F.V (Eds) *Biosurfactants: Production and Utilization - Processes, Technologies and Economics*. Taylor & Francis, 2014, pp 361-369, ISBN 9781466596696
19. HOGAN, D. E. *Biosurfactant (monorhamnolipid) complexation of metals and Applications for aqueous metalliferous waste remediation*. Dissertation Submitted For the Degree of Doctor Of Philosophy, University Of Arizona, 2016. Disponible en: <https://repository.arizona.edu/handle/10150/623071>.
20. CIÉSLA, J., KOCZANSKA, M, BIEGANOWSKI, A. An Interaction of Rhamnolipids with Cu²⁺ Ions. *Molecules* 2018, **23**, 488, 2-12. doi:10.3390/molecules23020488
21. KOWALSKA, I., KLIMONDA, A. Removal of copper ions from aqueous solutions by means of micellar-enhanced ultrafiltration. *E3S Web of Conferences* 22, 00087. 2017. doi: 10.1051/e3sconf/20172200087
22. LIDUINO, V. S., SERVULO, E. F., OLIVEIRA, F. J. Biosurfactant-assisted phytoremediation of multi-contaminated industrial soil using sunflower (*Helianthus annuus L.*). *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2018, **53**, 7, 609-616. ISSN: 1093-4529.

Conflicto de interés

Los autores expresan que no hay conflictos de intereses en el manuscrito presentado

Contribución de los autores

Odalys Rodríguez Gámez: Participó en la adquisición, interpretación y análisis de datos experimentales. Participó en la evaluación de los resultados y escritura del manuscrito.

Rocio Pérez Macías: Participó en la adquisición, interpretación y análisis de datos experimentales. Participó en la evaluación de los resultados y escritura del manuscrito.

Isabel Aguilera Rodríguez: Participó en la realización de los análisis químicos e interpretación de los datos experimentales.

Rosa María Pérez Silva: Participó en el diseño y supervisión de la investigación, así como en la discusión de los resultados, revisión y aprobación final del manuscrito.

Arelis Abalos Rodríguez: Participó en el diseño y supervisión de la investigación, así como en la discusión de los resultados, revisión y aprobación final del manuscrito.