

# ESTUDIO DE LA DISMINUCIÓN DE PLOMO EN SOLUCIÓN POR LA MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS*

## STUDY OF THE REDUCTION OF LEAD IN SOLUTION BY THE MICROALGAE *CHLORELLA VULGARIS*

Laura Marcela, Barrera, G.<sup>1</sup>  
Manuela, Barrero, E.<sup>2</sup>  
Karen Lorena, Gómez, A.<sup>3</sup>  
Juan Carlos, Sanabria, M.<sup>4</sup>

### RESUMEN

Se determinó la capacidad de retención del plomo (Pb<sup>2+</sup>) en solución debido a la presencia de la microalga *Chlorella vulgaris*, planteando así un posible método de biorremediación para aguas contaminadas con este metal pesado. Inicialmente se determinaron las condiciones óptimas para generar el adecuado cultivo de la microalga en el laboratorio de química. Luego, se contaminaron muestras acuosas de la microalga y se procedió a cuantificar el cambio en la concentración del metal pesado en dichas soluciones a través de la formación de un complejo coloreado del plomo con ditizona, el cual fue medido usando espectrofotometría UV-Vis. Finalmente, analizando los resultados obtenidos se logra optimizar las condiciones que requiere el cultivo, se determina una máxima disminución en la concentración del 49 % y se plantea la proyección de este método como una propuesta para la descontaminación de aguas que contengan otros metales pesados. .

**Palabras claves:** espectrofotometría, plomo, *Chlorella Vulgaris*..

### ABSTRACT

The retention capacity of lead (Pb<sup>2+</sup>) in solution was determined due to the presence of the *Chlorella vulgaris* microalgae, presenting like a possible bioremediation method for contaminated water with this heavy metal. Initially, the optimal conditions were

<sup>1</sup> Estudiante de Ingeniería Agroindustrial, Fundación Universitaria Agraria de Colombia, Bogotá, Colombia. Semillero de investigación DIA y Semillero de educación en contexto y conciencia ambiental. Correo electrónico: barrera.laura1@uniagraria.edu.co

<sup>2</sup> Estudiante de Ingeniería Agroindustrial, Fundación Universitaria Agraria de Colombia, Bogotá, Colombia. Semillero de investigación DIA y Semillero de educación en contexto y conciencia ambiental.

<sup>3</sup> Estudiante de Ingeniería Agroindustrial, Fundación Universitaria Agraria de Colombia, Bogotá, Colombia. Semillero de investigación DIA y Semillero de educación en contexto y conciencia ambiental.

<sup>4</sup> Químico, PhD. Ciencias. Docente tiempo completo de la Facultad de Ciencias Básicas de la Fundación Universitaria Agraria de Colombia, Bogotá, Colombia. Semillero de educación en contexto y conciencia ambiental. Correo electrónico: sanabriam.juan@uniagraria.edu.co

determined to generate an adequate culture in the chemistry laboratory. Then, aqueous samples of the microalgae were contaminated and the change in the concentration of the heavy metal in said solutions was quantified through the formation of a colored complex of lead with dithizone, which was measured using UV-Vis spectrophotometry. Finally, analyzing the results obtained, it is possible to optimize the cultivation conditions, a maximum decrease in the concentration of 49% is determined and the projection of this method is proposed as a proposal for the decontamination of waters that contain other heavy metals.

**Keywords:** Heavy metals, lead, *Chlorella Vulgaris*

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años se ha venido incrementando el nivel de contaminación del medio ambiente, generando al planeta un daño irreversible. Esto es debido en parte a la industria y al mal manejo de los residuos y desechos que se producen, la mayoría de estos contaminantes terminan en las fuentes hídricas, importantes para el hombre. Lamentablemente, no se ha logrado generar un equilibrio entre el desarrollo de la industria y las producciones ambientalmente sustentables (De Corato et al., 2018) puesto que, el tratamiento de biorremediación de aguas representa costos muy elevados, que no generan ganancias a la industria. Se han realizado amplias investigaciones para la búsqueda de opciones alternas de descontaminación de aguas, que sean de un menor costo y se empleen con tecnología eficiente. Una de estas alternativas es el uso de microalgas, en este caso *Chlorella Vulgaris*, ya que han sido consideradas eco-amigables desde años atrás, reciclan y absorben eficientemente muchos contaminantes como sustancias tóxicas, nitritos, fosfatos, metales pesados, dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), entre otros; de tal manera que incorporan en la fotosíntesis su metabolismo para producción de biomasa, desarrollando productos agroindustriales tanto alimenticios como no alimenticios.

El funcionamiento de un sistema de remediación de aguas presenta ventajas muy relevantes en cuanto al mejoramiento de la calidad del efluente, mediante un mecanismo de bajo costo energético, así como el aprovechamiento de nutrientes que están siendo desechados al ser incorporados en la biomasa. Comúnmente las aguas residuales contienen nutrientes

requeridos para el crecimiento de las microalgas, por lo que constituyen un medio apropiado para su desarrollo (Andrade et al., 2006); siendo así un tipo de tecnología eficiente para la remoción de contaminantes en las aguas y permitiendo a la industria un desarrollo en cuanto a equilibrio, entre la producción y el control de las emisiones, llevándola a una sostenibilidad ambiental.

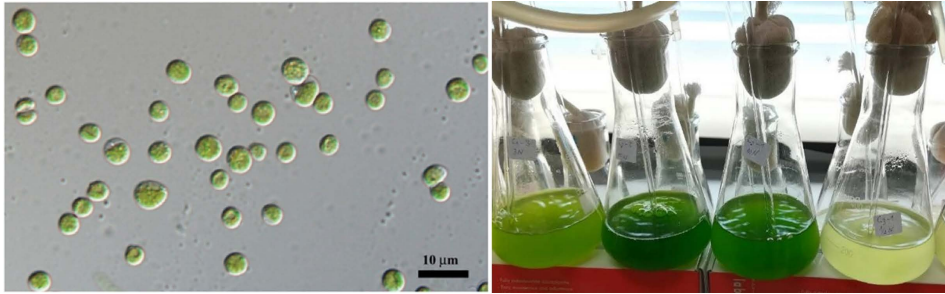
Es por ello, que en el siguiente trabajo se planteó como objetivo general la determinación de la capacidad biorremediadora de la microalga *Chlorella vulgaris* a distintas concentraciones de plomo. Así como también, se plantearon tres objetivos específicos; establecer espectrofotométricamente una curva de calibración de plomo; definir espectrofotométricamente la descontaminación del plomo en solución, usando la microalga *Chlorella vulgaris*; y, evaluar el crecimiento del cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* en condiciones adecuadas de laboratorio.

## ASPECTOS TEÓRICOS

La microalga *Chlorella Vulgaris* (Fig. 1) es un organismo unicelular perteneciente a la familia Oocystaceae, del orden *Chlorococcales* y de la división *Chlorophyta* (Gomez, 1997). Los componentes presentes en su pared celular contribuyen a la capacidad para retener distintos compuestos contaminantes ambientales presentes en los cuerpos de agua. Es por lo que ha sido estudiada a profundización y ha atraído la atención dentro del campo biotecnológico, agroindustrial y ambiental. Así mismo, posee la capacidad de remoción de metales pesados, toxinas, nitratos, fosfatos y absorción de dióxido

de carbono (CO<sub>2</sub>); todo esto con ayuda de la fotosíntesis, ya que puede llegar a convertir estos compuestos en biomasa (González et al., 2017). La *Chlorella Vulgaris*,

tiene una gran capacidad de productividad, la cual depende de la adaptación a las condiciones de cultivo junto con un acelerado crecimiento en el medio.



**Fig. 1**

*Imagen de la microalga Chlorella Vulgaris en solución observada en el microscopio y de su cultivo*

**Fuente:** Fayad et al. (2017) y Caetano et al. (2020).

Al ser organismos fotoautótrofos, dependen de la luz, ya sea natural o artificial, de temperaturas adecuadas y de una fuente de carbono (C). Además, necesitan de macronutrientes como nitrógeno (N), fósforo (P), magnesio (Mg), calcio (Ca), azufre (S), sulfato de magnesio (MgSO<sub>4</sub>) y micronutrientes en cantidades específicas, en proporciones adecuadas y en forma química biodisponible en el medio de cultivo, de manera que su crecimiento no se limite (Hernández et al., 2014), la temperatura puede estar hasta 37°C y su pH entre 5,5 y 10 siendo neutro o alcalino.

La microalga *Chlorella Vulgaris* puede ser cultivada por dos medios, el abierto y el cerrado; se cultiva principalmente de manera abierta, donde se tendrán ciertas adaptaciones con el medio ambiente, siendo cultivados en estanques (Fig. 2). Las

condiciones de este tipo de cultivo son las siguientes:

- **La luz:** si se genera un exceso con su adaptación de la luz solar en las horas del día esta sufrirá la foto inhibición: “definida como la inhibición de la fotosíntesis causada por el exceso de radiación, la cual afecta la producción en condiciones de campo, en gran medida” (Posada, 2007). Las microalgas que presenten mayor densidad de 3g/L-1 soportan la intensidad de la luz.
- **pH:** representa influencias en los factores como la productividad, alcalinidad (capacidad para neutralizar ácidos) y respiración de la microalga, en el experimento de Heberto (Rodas et. al, 2012), se obtuvieron mejores resultados con la presencia de 6,8 de pH en el cultivo. Además, el pH tiene la capacidad de remover el

nitrógeno por medio de sistemas de aguas residuales.

- **CO<sub>2</sub>**: la adición de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) presenta un mejoramiento de la productividad en los estanques de

agua de alta velocidad, controlando la adición de ácidos o bases para formar nuevas fuentes generadoras de dióxido de carbono (Hernández et.al, 2014).



**Fig. 2.**

*Sistema de estanques de canales para la producción de microalgas. Compañía Seambiotic, Israel*

Fuente: Hernández (2017)

Por otro lado, en los cultivos cerrados se regulan las adaptaciones en ciertas condiciones de temperatura, por ejemplo, el pH y las bajas concentraciones. Estos cultivos son realizados en un ambiente aislado por medio de foto biorreactores planos o tubulares (Fig. 3) para evitar contaminación ya sea por parte de la lluvia o del aire contaminado (Sevilla, 2014), en este ambiente se genera una mayor agitación y productividad. Para que las microalgas sobrevivan tienen que estar en un ambiente entre 28°C y 35°C, tener una inmersión de colector solar de piscinas y un reactor dentro del invernadero

(Hernández et.al, 2014).

En estos cultivos se puede encontrar:

- **Luz**: con ayuda de esta se genera una fotosíntesis más rápida, generando un auto sombreado, en donde las células exteriores les darán sombra a las capas interiores, en comparación con el cultivo abierto, el cual está cubierto con plásticos transparentes, para la sombra de las capas interiores.
- **Aireación**: permite la agitación constante del cultivo, manteniendo una temperatura controlada en las cámaras.



**Fig. 3**

*Fotobiorreactores cerrados tubulares para el cultivo de microalgas.  
GICON – Großmann Ingenieur Consult GmbH, Alemania*

Fuente: Hernández (2017)

La microalga se encarga de remover una serie de fosfatos y nitratos de las aguas residuales. Los fosfatos ingresan por medio de la contaminación, ya sea de manera puntual o dispersada; la primera será causada por los residuos industriales y la segunda, por actividades agronómicas (Andrade et.al, 2006). Del mismo modo, los fosfatos son los que afectan la cantidad de oxígeno que se encuentra en el agua, además, si crecen de una manera acelerada conllevan a un proceso de eutrofización “acumulación de residuos orgánicos en el litoral marino o en un lago, laguna, embalse, etc., qué causa la proliferación de ciertas algas” (Infante et.al, 2012), esto quiere decir que provoca la muerte de la microalga.

Las aguas residuales contienen una gran cantidad de metales pesados, estos metales actúan con toxicidad y, además, son agentes cancerígenos. Las microalgas actúan por medio de sus cargas superficiales negativas y generan una alta afinidad por los iones

de los metales pesados (Hernández et.al, 2014), esto quiere decir, que las microalgas tienen la capacidad de retirar los metales disueltos presentes en las aguas residuales.

Durante muchos años, la industria ha venido contaminando las aguas residuales con la presencia de plomo, de igual forma, los hogares han contribuido a esta contaminación, ya que las tuberías con el tiempo se van deteriorando, incluso un estudio hecho por la EPA (Agencia de protección ambiental en Estados Unidos) menciona como la mayor concentración de enfermedades se da por el consumo de agua potable contaminado por el plomo, acumulándose en el cuerpo y trayendo con el tiempo más enfermedades como la anemia, problemas en los tejidos, malformaciones, entre otras.

La remoción de metales en fase acuosa puede ser por un tipo denominado “bioacumulación”, se realiza con biomasa viva y la cantidad de metal removido

depende del proceso metabólico, del crecimiento de organismo vivo y de la formación de sitios activos selectivos (Infante et.al, 2012), proceso importante para el método que se realizó en este proyecto.

Se hizo uso de un espectrofotómetro (Fig. 4), el cual mediante radiaciones determinó la concentración de un reactivo o producto durante la reacción, para el caso de aguas residuales serían los fosfatos, nitratos y metales pesados

quienes generan una reacción y un cambio drástico en la composición del agua. Este proceso funciona a partir de una luz que atraviesa una sustancia, en este caso el agua, haciendo que sea absorbida debido a que la energía radiante no puede producir ningún efecto sin ser absorbida; así es como con ayuda del espectrofotómetro se observa la disponibilidad del alga en el agua dentro del cultivo, además permite reconocer la absorción de los metales pesados (Arellano, 2007).



**Fig. 4.**  
Espectrofotómetro UV-Vis de doble haz.

Fuente: Avantor (2019).

## ASPECTOS EXPERIMENTALES

En primera instancia, se preparó una solución madre tomando 16,4201 mg de nitrato de plomo del 98 % de pureza, diluidos en 100,00 ml de agua destilada en un balón aforado (Fig. 5), obteniendo

una concentración de 100,5 ppm del catión plomoso ( $Pb^{2+}$ ). Posteriormente, se tomaron las alícuotas de los volúmenes adecuados en donde se prepararon seis diluciones, con el fin de determinar la curva de calibración mostrada en la (Gráfica 1 y Tabla I).



**Fig. 5.**

*Balón aforado con la solución acuosa del catión plomoso*

Fuente: elaboración propia.

Para la determinación espectrofotométrica de este ion se utilizó la ditizona, pesando 7,2704 mg de ditizona con 16723,4712 mg de dodecil sulfato de sodio (SDS), llevándolo a un volumen final de 100,00

ml en un balón aforado. Se procedió a solubilizar el indicador usando un ultrasonido por una hora, generando una solución de coloración rosada, como se puede apreciar en la figura 6.

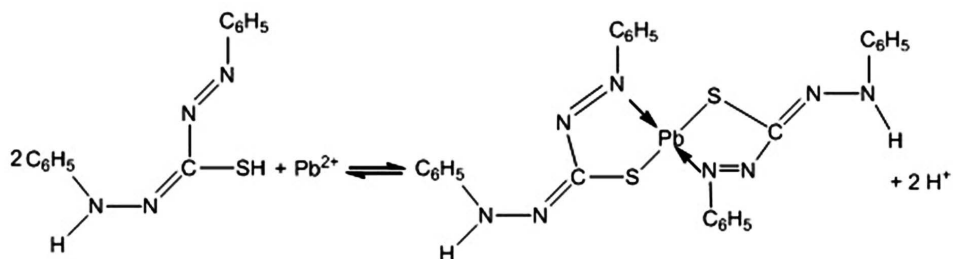




**Fig. 6.**

Solución que contiene el complejo de plomo-ditizona, en un balón aforado ambar y en un tubo de ensayo.

Fuente: elaboración propia.



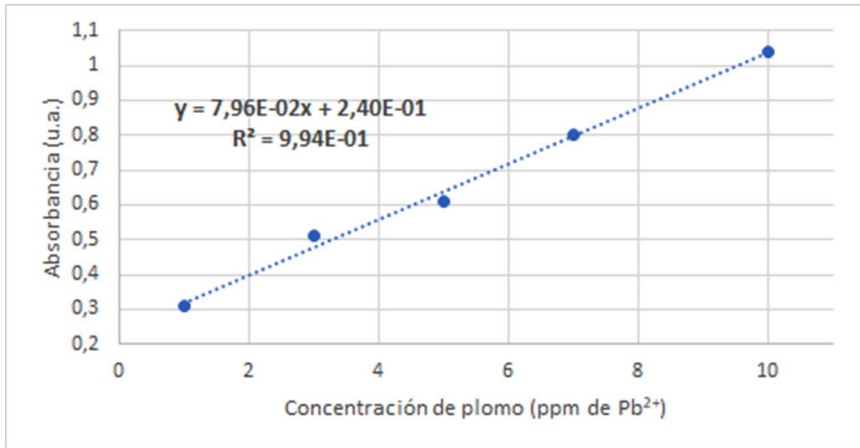
**Fig. 7.**

Reacción de formación del complejo  $\text{Pb}^{2+}$  ditizona

Fuente: Yuspian et. Al. (2017)

Se determinó la absorbancia del complejo de la figura 7, usando el espectrofotómetro

Avantor de doble haz a una longitud de onda de 510,0 nm.



**Gráfica I.**

*Curva de calibración.*

Fuente: elaboración propia.

**Tabla I.**

*Resultados de la determinación espectrofotométrica del plomo para la curva de calibración.*

Concentración de Pb <sup>2+</sup> (ppm)	Absorbancia (u.a.)
10,0	1,043
7,0	0,802
5,0	0,616
3,0	0,512
1,0	0,311

Fuente: elaboración propia.

Posteriormente, se procedió a la contaminación del agua que contenía la microalga (Fig. 7), usando soluciones de concentraciones de: 1,0 ppm, 10,0 ppm y 100,0 ppm de Pb<sup>2+</sup> cada una

de ellas con 200,0 ml del microalga *Chlorella Vulgaris* (cultivada en el laboratorio, con luz 12/12, NPK (soluplant, crecimiento, 25-10-10+ME) y en agitación constante.



**Fig. 8**

Soluciones de la microalga cultivada en el laboratorio.

Fuente: elaboración propia.

El recipiente 1 contenía una solución de 100,0 ppm de  $Pb(NO_3)_2$  se encontraba con agitación constante y tenía 1 mg de nutrientes NPK. Por otra parte, el recipiente 2 tenía 10,0 ppm de  $Pb(NO_3)_2$  sólo se encontraba con agitación constante y el último recipiente (3), contenía 1,0 ppm de

$Pb(NO_3)_2$  no se encontraba con agitación constante ni se le añadió nutrientes NPK (soluplant, crecimiento, 25-10-10+ME).

Los tres recipientes se dejaron durante 4 días, en donde posteriormente se determinó de nuevo el contenido de plomo de cada uno de ellos (tabla II).

**Tabla 2.**

Resultados de absorbanza en el espectrofotómetro obtenidos después de cuatro días

Recipiente	Absorbancia inicial (u.a)	Absorbancia final (u.a)	%Disminución de concentración
1	0,526	0,516	3,6
2	0,640	0,596	11,0
3	0,925	0,586	48,6

<sup>a</sup> La desviación estándar típica de la absorbancia y el porcentaje de disminución a partir de medidas espectroscópicas es de 0,012 u.a. y 1,5 % respectivamente.

Fuente: elaboración propia.

## ANÁLISIS

Se evidenciaron cambios leves por parte de las muestras 1 y 2, de concentración 10,0 y 100,0 ppm, lo que quiere decir bajo estas condiciones no se logra una disminución apreciable de la muestra.

Mientras que para el recipiente 3, contaminado con la mayor concentración de plomo, se observa un gran cambio (48,6 %). Se entiende entonces que, al proporcionarles su medio vital de crecimiento, es decir la agitación y los nutrientes necesarios, la microalga ejecuta un adecuado proceso de retención haciendo evidente el cambio en la concentración de la solución acuosa.

La microalga *Chlorella Vulgaris* es capaz de incorporar grandes cantidades de metales como ( $\text{Cr}^{+2}$ ,  $\text{Cr}^{+3}$ ,  $\text{Cr}^{+6}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Cu}^{+1}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+4}$  y  $\text{Hg}^{+1}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ) por medio de absorción y acumulación (Graham et. al, 2009), esto se debe a los mecanismos de detoxificación que contiene, estos ayudan a acumular y transformar los metales pesados mencionados anteriormente. Esta información es relevante a la hora de incorporar la microalga en las aguas con contenido de plomo, a elevadas concentraciones.

Dado que se logró un porcentaje de descontaminación, se podría considerar el uso de la microalga a un nivel más industrial para la biorremediación de aguas, por medio de cultivos amigables con el medio ambiente.

Las posibles fuentes de error en nuestro procedimiento pueden venir de compuestos que interfieran en la determinación, así que se plantea el uso a complejantes. Aunque las mediciones se realizaron haciendo

triplicados y promediando los resultados, se puede plantear un análisis estadístico con parámetros que permitan determinar la robustez del método, además de un planteamiento de un diseño factorial de experimentos para evaluar diferentes condiciones experimentales.

Se plantean para futuros estudios algunas recomendaciones como: determinar la cantidad de plomo usando la espectroscopía de absorción atómica, probar diferentes concentraciones de la microalga y diferentes tiempos de cultivo, utilizar diferentes metales pesados y generar una estandarización de un método viable para escalar fuera del laboratorio a un proceso de mayor capacidad.

## CONCLUSIONES

- Se determinaron las condiciones adecuadas del cultivo de la microalga *Chlorella Vulgaris*.
- La microalga *Chlorella vulgaris* tiene capacidad de retención de plomo, siempre y cuando se encuentre en un medio que satisfaga sus condiciones de crecimiento.
- Se evidenció un potencial de retención de plomo por parte de la microalga del 49 % en muestras contaminadas.

## REFERENCIAS

Andrade, C., Chacón, C., Cárdenas, C., & Morales Avedaño, E. (2006). Remoción de nitrógeno y fósforo de aguas residuales urbanas por la microalga *Chlorella* sp. en condiciones de laboratorio. *Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences. Ciencia*. 14(1), 56-63.

- Arellano, G. (2007). Utilización de microalgas para la remoción de cadmio y zinc de efluentes de aguas residuales urbanas. (Tesis de maestría). Recuperado de: <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/747/1/177811.pdf>
- Avantor (2019). Espectrofotómetro UV-Vis de haz doble VWR. Recuperado de: <https://mx.vwr.com/store/product/12243110/espectrofotometro-uv-vis-de-haz-doble-vwr>
- Caetano N., Melo A.R., Gorgich M., Branco-Vieira M., Martins A.A. & Mata T.M. (2020). Influence of cultivation conditions on the bioenergy potential and bio-compounds of *Chlorella vulgaris*, *Energy Reports*, 6(1), 378-384.
- De Corato, U., De Bari, I., Viola, E. & Pugliese, M. (2018). Assessing the main opportunities of integrated biorefining from agrobioenergy co/by-products and agroindustrial residues into high-value added products associated to some emerging markets: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 88. 326-346.
- Fayad, N., Yehya T., Audonnet, F. & Vial C. (2017). Harvesting of microalgae *Chlorella vulgaris* using electro-coagulation-flocculation in the batch mode. *Algal Research*, 25, 1-11.
- Gomez, L. (1997). Cultivo y aplicación de las microalgas *Dunaliella salina* y *Chlorella vulgaris* en Cuba. (Tesis de doctorado). Recuperado de: <https://core.ac.uk/download/pdf/61897834.pdf>
- González Delgado, Á. D., Barajas Solano, A. F., & Ardila Álvarez, A. M. (2017). Producción de biomasa y proteínas de *Chlorella vulgaris* Beyerink (Chlorellales: Chlorellaceae) a través del diseño de medios de cultivo selectivos. *Corpoica Ciencia Tecnología Agropecuaria*. 18(3), 451-461.
- Graham, J. E., & Wilcox, L. W. (2009). *Algae*. Second Edition (Benjamin Cummings 1-616).
- Hernández Pérez, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*. 49(2), 157-173.
- Hernandez, M. (2017). Cultivo de *Chlorococcum* sp. con un digestato de excretas porcinas en condiciones controladas y no controladas. (Tesis de Maestría). Recuperada de: [https://www.researchgate.net/publication/319722249\\_Cultivos\\_de\\_Chlorococcum\\_sp\\_con\\_un\\_digestato\\_de\\_excretas\\_porcinas\\_en\\_condiciones\\_controladas\\_y\\_no\\_controladas](https://www.researchgate.net/publication/319722249_Cultivos_de_Chlorococcum_sp_con_un_digestato_de_excretas_porcinas_en_condiciones_controladas_y_no_controladas)
- Infante, C., Angulo, E., Zárate, A., Flez, J., Barrios, F., & Zapata, C. (2012). Propagación de la microalga *Chlorella* sp. en cultivo por lote: cinética del crecimiento celular. *Avances en Ciencia e Ingeniería*. 3(2), 159-164.
- Posada, F. C. (2007). Fotoinhibición: Respuesta fisiológica de los vegetales al estrés por exceso de luz. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 1(1), 114-123.
- Rodas G., Rodríguez H., Flores H., Vidales G., Aranda J. & Luna M. (2012). Efecto de la densidad celular de inoculación en el crecimiento de *Chlorella vulgaris* CLV2

cultivada bajo condiciones mixotróficas.  
Revista fitotecnia mexicana.35,83-86.

Sevilla, J. (2014). Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas. 1.7 - Fotobiorreactores para el cultivo masivo de microalgas. Recuperada de: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/>

<tema-1---generalidades/1-7-fotobiorreactores.html>

Yuspian N., Eti R., Latifah K. (2017). Optical sensor for the determination of lead (II) based on immobilization of dithizone onto chitosan-silica membrane. *Indonesian Journal of Chemistry*.17(1), 7 -14.