

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**BIORREMOCIÓN DE PLOMO EN SOLUCIONES ACUOSAS MEDIADAS POR  
MICROALGAS A ESCALA DE LABORATORIO**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERO AMBIENTAL**

**PRESENTADO POR:**

**CONDOR BARTOLO MINGER REYNOSO**

**2020**



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
Tingo María - Perú



FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 001-2020-FRNR-UNAS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 31 de Enero de 2020, a horas 7:00 p.m. en la Sala de Sesiones del Departamento Académico de Ciencias Ambientales, de la Facultad de Recursos Naturales Renovables para calificar la Tesis titulada:

### **“BIORREMOCIÓN DE PLOMO EN SOLUCIONES ACUOSAS MEDIADAS POR MICROALGAS A ESCALA DE LABORATORIO”**


Presentado por el Bachiller, **CONDOR BARTOLO, MINGER REYNOSO**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara **APROBADA** con el calificativo de **“MUY BUENO”**

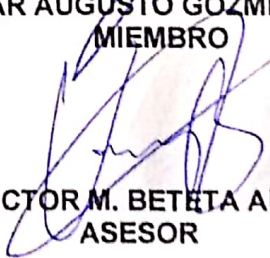
En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título de **INGENIERO AMBIENTAL**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título correspondiente.

Tingo María, 11 de Febrero de 2020

  
Dr. **CÉSAR SAMUEL LÓPEZ LÓPEZ**  
PRESIDENTE

  
Bigo. **CÉSAR AUGUSTO GOZME SULCA**  
MIEMBRO

  
Ing. MSc. **FRANKLIN DIONISIO MONTALVO**  
MIEMBRO

  
Ing. MSc. **VÍCTOR M. BETETA ALVARADO**  
ASESOR



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**BIORREMOCIÓN DE PLOMO EN SOLUCIONES ACUOSAS MEDIADAS POR  
MICROALGAS A ESCALA LABORATORIO**

Autor : Condor Bartolo Minger Reynoso

Asesor : Ing. M.sc. Beteta Alvarado Víctor Manuel

Programas de investigación: Tecnología para reducir la contaminación

Línea de investigación : Ciencia y tecnologías ambientales

Eje temático : Reducción de la contaminación del agua

Lugar de ejecución : Laboratorio de microbiología general de la facultad  
de Recursos Naturales Renovables - UNAS

Duración del trabajo : Seis meses

Financiamiento propio : 2 000 nuevo soles

**FEDU: : NO**

**PROPIO : SI**

**OTROS : NO**

**2020**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de investigación a mis padres y hermanos, por su apoyo constante e incondicional que me permitió lograr esta meta profesional.

## **AGRADECIMIENTO**

- En primer lugar, agradezco a Dios por estar siempre presente en mi vida y darme la fortaleza para seguir adelante y alcanzar mis metas trazadas
- A mis padres y familias cercanas por su amor y sacrificio durante toda mi formación académica.
- Al Dr. Cesar López López y al ing. M.sc. Víctor Manuel Beteta Alvarado, por su apoyo mediante consejos, sugerencias, dedicación y motivación en la elaboración, ejecución y sustentación en mi tesis de investigación.
- A mis miembros de jurado de tesis: Ing. M.Sc. Franklin Dionisio Montalvo, Blgo. César Gosme Sulca, por su apoyo comprensión y sugerencias en la presente investigación.
- A las personas que Dios puso en mi camino para poder formar parte de este logro en mi vida personal y profesional.
- A mis amigos y compañeros de la universidad con quien compartí los 5 años de mi estadía universitaria por brindarme sus ánimos para seguir adelante.

## INDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCION.....	1
1.1. Objetivos .....	2
1.1.1. Objetivo general.....	3
1.1.2. Objetivos específicos.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Antecedentes .....	4
2.1.1. Remoción de Cr(VI) de soluciones acuosas por biomasa de <i>Spirulina máxima</i> en un proceso en lote.....	4
2.1.2. Remoción de metales pesados (mercurio y plomo) de soluciones acuosas a diferentes concentraciones utilizando microalga dulceacuícola <i>Scenedesmus acutus</i> .....	5
2.2. Contaminación .....	5
2.3. Metales pesados .....	5
2.4. Efecto en el ambiente de los metales pesados .....	6
2.5. Plomo.....	7
2.5.1. Fuentes de exposición.....	7
2.5.2. El plomo en la salud humana .....	9
2.5.3. Comportamiento y efectos del plomo en el ambiente.....	10
2.6. Algas .....	10
2.7. Microalgas.....	11
2.7.1. Principales especies de microalgas.....	11
2.7.2. Condiciones para el crecimiento de las microalgas .....	17

2.7.3. Medio de cultivos para microalgas.....	19
2.8. Fotosíntesis en algas .....	21
2.9. Fotobiorreactor .....	21
2.9.1. Fotobiorreactores verticales columnares.....	22
2.9.2. Fotobiorreactores tubulares horizontales .....	22
2.10. Biotecnología para la biorremoción de los metales pesados.....	22
2.10.1. Biorremoción de metales pesados mediante microalgas.....	23
2.10.2. Mecanismo de acumulación de metales.....	25
2.10.3. Adsorción.....	26
2.10.4. Biosorción una alternativa de solución .....	27
2.10.5. Parámetro que afectan la bioadsorción .....	28
2.10.6. Equilibrio del proceso de bioadsorción .....	30
2.10.7. Modelo de Isoterma de freundlich.....	31
2.11. Estudios realizados en eliminación de metales pesados con microalgas.....	32
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1. Descripción del lugar de ejecución.....	33
3.1.1. Ubicación del lugar de ejecución .....	33
3.1.2. Ubicación geográfica del lugar de muestreo.....	33
3.1.3. Características ambientales del lugar de muestreo .....	33
3.2. Materiales y equipos .....	34
3.2.1. Material biológico.....	34
3.2.2. Materiales químicos.....	34
3.2.3. Equipos.....	35
3.3. Metodología.....	35

3.3.1.	Montaje del fotobiorreactor de columna.....	35
3.3.2.	Colecta de microalgas .....	36
3.3.3.	Aislamiento y adaptación de las microalgas .....	36
3.3.4.	Concentraciones de plomo en el medio acuoso .....	38
3.3.5.	Resistencia de las microalgas al metal plomo .....	39
3.3.6.	Nivel de biorremoción mediante el porcentaje de eficiencia de remoción de plomo en soluciones acuosas .....	42
3.3.7.	Identificar el género de microalgas removedoras de Plomo ..	45
3.4.	Variables experimentales .....	45
3.4.2.	Variables dependientes .....	45
3.4.3.	Variables independientes .....	46
3.4.4.	Variable de control.....	46
3.5.	Diseño estadístico .....	46
3.5.	Ajuste estadístico .....	47
3.5.1.	Análisis de variable.....	47
3.5.2.	Prueba de Tukey .....	48
3.5.3.	Coefficiente de Variabilidad .....	48
IV.	RESULTADOS .....	49
4.1.	Resistencia de las microalgas frente a diferentes concentraciones de Plomo .....	49
4.1.1.	Resistencia de <i>Scenedesmus sp</i> a diferentes concentraciones de plomo.....	49
4.1.2.	Resistencia de <i>la Chlorella sp</i> a diferentes concentraciones de plomo.....	51

4.1.3. Resistencia de la <i>Spirogyra sp</i> a diferentes concentraciones de plomo.....	54
4.2. Nivel de biorremoción mediante porcentaje de eficiencia de remoción de plomo en soluciones acuosas mediadas .....	56
4.2.1. Determinación de la concentración de plomo después del tratamiento.....	56
4.2.2. Eficiencia de biorremoción plomo .....	62
4.2.3. Capacidad o equilibrio del proceso de bioadsorción.....	64
4.2.3. Modelo de Isotherma de Freundlich para plomo .....	65
4.3. Genero de microalgas que remueven el plomo .....	66
V. DISCUSIÓN.....	69
5.1. Resistencia de las microalgas a diferentes concentraciones de plomo de solución acuosa.....	69
5.2. Nivel de biorremoción mediante porcentaje de eficiencia de romoción de plomo solución acuosa .....	71
5.3. Identificación de géneros de microalgas removedoras de plomo.....	72
VI. CONCLUSIONES .....	73
VII. RECOMENDACIONES.....	74
VIII. ABSTRACT .....	75
IX. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA .....	76
X. ANEXOS .....	82

## INDICE DE CUADROS

Cuadros	Página
1. Clasificación taxonómica de la <i>Spirogyra sp.</i> .....	13
2. Clasificación taxonómica de la <i>Chlorella sp.</i> .....	14
3. Clasificación taxonómica de la <i>Scenedesmus sp.</i> .....	16
4. Principales microalgas con capacidad de acumular metales.....	24
5. Medio de cultivo de ALLEN – NELSON modificada.....	37
6. Descripción de los tratamientos.....	47
7. Análisis de varianza (ANOVA).....	48
8. ANOVA de la resistencia de <i>Scenedesmus sp.</i> .....	50
9. HSD Prueba de tukey para la resistencia de <i>Scenedesmus sp.</i> .....	50
10. ANOVA de la resistencia de <i>Chlorella sp.</i> .....	52
11. HSD Prueba de tukey para la resistencia de <i>Chlorella sp.</i> .....	53
12. ANOVA de la resistencia de <i>Spirogyra sp.</i> .....	55
13. HSD Prueba de tukey para la resistencia de <i>Spirogyra sp.</i> .....	55
14. ANOVA de las concentraciones finales de plomo del día 5.....	57
15. Prueba de tukey para las concentraciones finales de plomo al 5 día.....	58
16. ANOVA de las concentraciones finales de plomo del 10 día.....	59
17. Prueba de tukey para las concentraciones finales de plomo al 10 día.....	59
18. ANOVA de las concentraciones finales del día 15 día.....	60
19. Prueba de tukey para las concentraciones finales de plomo al 15 día.....	61
20. Identificación de 3 morfotipos de microalgas antes del tratamiento.....	67

21. Identificación de 3 morfotipos de microalgas después del tratamiento a diferentes según la clave taxonómica.....	68
22. Determinación de la concentración de plomo .....	83
23. Volumen del trabajo del fotobiorreactor con microalgas .....	84
24. Parámetros del agua de la poza cristalina y desviaciones estacionales de río Huallaga.....	84
25. Registro de la variación de pH durante los 15 días de evaluación .....	85
26. Registro de la T °C durante los 15 días de evaluación .....	85
27. Registro de OD durante los 15 días de evaluación.....	85
28. Resistencia de chlorella sp a diferente concentración de plomo .....	86
29. Resistencia de Scenedesmus sp a diferente concentración de plomo .....	87
30. Resistencia de la Spirogyra sp a diferentes concentraciones de plomo .....	88
31. Concentración final de plomo después del tratamiento .....	88
32. Eficiencia de biorremoción de plomo .....	89
33. Capacidad de bioadsorción de plomo mediadas por biomasa algal .....	89

## INDICE DE FIGURAS

Figuras	Página
1. Sistema metabólico de los metales en el ser humano .....	9
2. Estructura morfológica de la Spirogyra sp .....	13
3. Estructura morfológica de la Chlorella sp.....	15
4. Estructura morfológica de Scenedesmus sp.....	17
5. Mecanismos de la translocación y absorción de metales pesados en microalgas.....	26
6. Interacciones entre microorganismo y metal pesado .....	27
7. Diseño del fotobiorreactor para el crecimiento celular de las microalgas.....	36
8. Montaje del cubre objeto en la cámara de recuento de Newbauer .....	41
9. Contabilización de los crecimientos celulares utilizando los cuadros.....	42
10. Diseño estadístico.....	46
11. Scenedesmus sp en función al tiempo de exposición del plomo .....	49
12. Resistencia de Scenedesmus sp durante los 15 días de evaluación.....	51
13. Chlorella sp en función al tiempo de exposición del plomo .....	52
14. Resistencia de Chlorella sp en los 15 días de evaluación.....	53
15. Spirogyra sp en función al tiempo de exposición del plomo.....	54
16. Resistencia de la Spirogyra sp en los 15 días de evaluación.....	56
17. Concentraciones finales plomo después del tratamiento .....	57
18. Grafica de la concentración final de plomo del día 5.....	58
19. Grafica de la concentración final de plomo del día 10.....	60
20. Grafica de la concentración final de plomo del día 15.....	61

21. Eficiencia de biorremoción de plomo evaluada hasta el día 15.....	62
22. Eficiencia Máxima de biorremoción de plomo en el día 10 .....	63
23. Bioadsorción de plomo en equilibrio mediada por la biomasa .....	64
24. Modelo de equilibrio en función al tiempo de exposición .....	65
25. Isotherma de Freundlich linealizada para la adsorción de plomo.....	66
26. Variación de pH a diferentes concentraciones de plomo .....	90
27. Variaciones de T° C a diferentes concentraciones de plomo .....	90
28. Variaciones de OD a diferentes concentraciones de plomo.....	91
29. Eficiencia de biorremoción de plomo .....	91
30. Diagrama de dispersión del crecimiento de Scenedesmus sp .....	92
31. Diagrama de dispersión del crecimiento de Chlorella sp .....	92
32. Diagrama de dispersión del crecimiento de Spirogyra sp .....	93
33. Concentraciones finales plomo de soluciones acuosas a diferentes concentraciones de plomo del día 5.....	94
34. Concentraciones finales plomo de soluciones acuosas a diferentes concentraciones de plomo del día 10.....	95
35. Concentraciones finales plomo de soluciones acuosas a diferentes concentraciones de plomo del día 15.....	96
36. Registro de los parámetros in- del agua .....	97
37. Recolección de muestra de microalgas .....	97
38. Preparación del medio de cultivo .....	98
39. sembrado de las microalgas en la solución acuosa .....	98
40. Resistencia de las microalgas al cabo de 15 días.....	99
41. Identificación de las microalgas .....	99
42. Biomasa de las microalgas .....	100

43. Peso de la biomasa húmeda de las microalgas .....	100
44. Vista al microscopio electrónico de barrido (SEM) a un aumento de 500X .....	101
45. Vista al microscopio electrónico de barrido (SEM) a un aumento de 1000X .....	101
46. Diseño del fotobiorreactor (OLORTEGUI, 2015).....	102

## RESUMEN

La creciente contaminación de medios acuáticos por procesos industriales, domésticos, actividades agrícolas y minería, conlleva a buscar nuevas estrategias que eliminen los metales pesados como el plomo, es por ello que se plantea una alternativa basada en la capacidad de los microorganismos en biotransformar y acumular dicho metal. Para ello se evaluó el nivel de biorremoción de plomo en medios acuosos mediadas por microalgas a escala laboratorio, se evaluó el tiempo de resistencia y la biorremoción de microalgas, experimentándolas a diferentes concentraciones de 10mg/L, 50mg/L, 100mg/L, 200mg/L de plomo, en fotobiorreactores de columnas con volumen de trabajo de 570 mL. El desarrollo de las microalgas sobre las diferentes concentraciones de plomo, se determinó su resistencia al metal, evaluando el crecimiento cada 3 días durante 15 días mediante el recuento en la cámara Neubauer. El nivel de biorremoción en el sistema fotobiorreactor de columna tiene una eficiencia de 94.72 % a los 10 días, constituyéndose en un método eficiente y de bajo costo para la biorremediación de aguas contaminadas con metales. La identificación de los géneros de microalgas se realizó con la ayuda de las claves taxonómicas

**Palabras claves:** Fotobiorreactor, Biorremoción, metal pesado, plomo, microalgas, *Scenedesmus sp*, *Chlorella sp*, *Spirogyra sp*.

## I. INTRODUCCION

En los inicios del siglo XXI la problemática primordial es la “contaminación ambiental” por metales pesados generados mediante diversas actividades mineras, industriales y domésticos. Los metales pesados intervienen en los ciclos ecosistémicos acumulándose en diferentes niveles de la cadena trófica y alcanzando concentraciones tóxicas para animales, plantas, microorganismos e inclusive el hombre.

En Perú se practica la minería legal e ilegal, pero también que traen contaminación de las aguas por metales pesados que es alta en los lugares donde existe minería y además por el incremento de la población que dan como consecuencia el vertimiento de aguas residuales a las cuencas más cercanas. En la selva tropical la ANA (Autoridad Nacional del Agua) encontraron elevados niveles de contaminación por cadmio, plomo, arsénico, mercurio, níquel y cobre, sobrepasando los ECA-agua poniendo en riesgo a la población, así como también la flora y fauna. Las minerías en Huánuco no son ajenas a la contaminación de las empresas que extraen Cobre y Zinc que vierten el Plomo a diferentes lagunas y corrientes de agua sin un ningún tratamiento.

La biorremediación es un proceso biotecnológico que utiliza la biomasa viviente (bacterias, hongos, algas y plantas superiores) para remover y recuperar metales del medio acuático, es así como las microalgas y algas filamentosas constituyen una herramienta efectiva para la eliminación de los

metales tóxicos, se presentan como una alternativa eficiente y económica viable debido a su capacidad removedora de metales en soluciones acuosas conocidas por su excelente potencial bioadsorción y por su capacidad biorremediadora (biosorción) están presentes en diversos ecosistemas naturales o impactados antropogénicamente y se constituyen como organismos ideales para el tratamiento de aguas contaminadas por metales pesados siendo importantes organismos biorremediadores con capacidad de soportar contaminantes de medios acuáticos y mostrar un rápido incremento de biomasa, las algas se utilizan en cultivos para bioacumular, bioabsorber y bioadsorber, participan en la captura de algunas sustancias tóxicas mediante las estructuras “externas” de las células, independientemente del metabolismo celular.

La biorremediación mediada por microalgas puede ser utilizada para la ejecución de sistemas de depuración de ambientes contaminados. Es por esta razón que en el presente trabajo de investigación. Se plantea esta alternativa tecnológica de solución de tratamiento de aguas contaminadas con plomo y de esta manera contribuir a la disminución de la contaminación de este recurso.

Puesto a lo mencionado, se propuso la siguiente interrogante: ¿Cuál será el nivel de biorremoción de plomo en soluciones acuosas a escala laboratorio mediadas por microalgas?

Planteándose como hipótesis: El nivel de biorremoción de plomo a escala laboratorio mediadas por microalgas será alta, superior a 80%.

## **1.1. Objetivos**

**1.1.1. Objetivo general**

- Determinar la biorremoción de plomo en soluciones acuosas mediadas por microalgas a escala de laboratorio.

**1.1.2. Objetivos específicos**

- Evaluar la resistencia de las microalgas frente a diferentes concentraciones de plomo en soluciones acuosas.
- Determinar el nivel de biorremoción mediante el porcentaje de eficiencia, capacidad de adsorción de plomo en soluciones acuosas.
- Identificar el género de microalgas removedoras de plomo en soluciones acuosas.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

#### 2.1.1. Remoción de cromo (VI) de soluciones acuosas por biomasa de *Spirulina máxima* en un proceso en lote

GARCÍA (2014), evaluó la capacidad de cianobacterias *Spirulina máxima* para remover el Cr (VI) en medio artificial. Caracterizando la biomasa para saber sus características, determinándose mediante el punto de carga cero; sitios basificados y acidificados, de la misma manera viendo la estructura de los grupos funcionales por el FTIR, de esta manera se hicieron pruebas de remoción en lote alterando los parámetros como pH, biomasa, tiempo de contacto y concentración del metal Cr (VI).

De esta manera se concluyó que esta prueba de desorción nos predice la “imposibilidad” de regenerar el biosorbente, por su degradación debido a la basicidad y acidez; concluyéndose que el modelo de Langmuir describe mejor los datos de equilibrio de proceso. De esta manera se puede decir que la biomasa de *Spirulina máxima*, es una alternativa reductora de Cr (VI), obteniéndose un producto de mínima toxicidad el Cr (III).

### **2.1.2. Remoción de metales pesados (mercurio y plomo) de soluciones acuosas a diferentes concentraciones utilizando microalga dulceacuícola *Scenedesmus acutus***

En este presente trabajo de investigación estableció los niveles de remoción de mercurio y plomo mediante microalgas de genero *Scenedesmus acutus*, evaluando así los efectos de estos metales sobre el crecimiento celular, utilizando cultivos de medio Bol'ds Basal modificado a concentraciones iniciales de 5, 10, 15, 30 mg/L (CHULLE Y VILLALOBOS, 2016). En la cual llego a una conclusión que el *Scenedesmus acutus*, logro porcentajes máxima de 93 % para mercurio y 97.68% para plomo, llegando ser un buen biorremediador de Hg y Pb.

## **2.2. Contaminación**

EPA (2004), la contaminación ambiental es la emisión o vertimiento de sustancias por algunos procesos, que es capaz de perjudicar al hombre u otro ser viviente definiéndose como el factor que causa la variación de las características física, químicas y biológicas del medio ya sea agua, aire y suelo.

## **2.3. Metales pesados**

SPAIN Y ALM (2003), considera que los metales pesados al igual que otros son sustancias con densidades igual o mayor a 5 g/cm<sup>3</sup> presentándose mayormente de manera elemental, con número atómico superiores a 20 (descartando algunos metales alcalinos) y masa atómica superiores a 60. La existencia en el suelo es menor a 0.1%. existe otro elemento químico junto a estos como: As, Ba y Se, esto se debe por que presenta orígenes asociados.

Dicho de otra manera, de nombrar es elementos tóxicos, esto está conforme a las listas de contaminantes prioritario (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos), incluye las siguientes sustancias: Ar, Cr, Co, Cu, Zn, Ag, Cd, Mg, Ti, Se y Pb.

Se distinguen dos grupos dentro de los metales pesados:

- *Micronutrientes*

Vital para el crecimiento y adaptación en la vida de unos cuantos organismos, son usados en mínimas concentraciones en trazas y pasado cierto límite se vuelven “tóxicos”. Como el As, B, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se, y Zn.

- *Metales pesados sin función biológicas conocidas*

Son metales que no son metabolizados por los microorganismos de manera que son acumulados en los tejidos celulares, proporcionando efectos graves en la salud como: Cadmio, Mercurio, Plomo, Niquel, Antimonio, Bismuto.

#### **2.4. Efecto en el ambiente de los metales pesados**

La mayor toxicidad de los metales pesados se da al no ser químicamente ni biológicamente biodegradables. De manera que, al ser vertidos, permanecen en el medio durante mucho tiempo, por otro lado, aumenta su concentración a medida que son consumidos por otros organismos vivos, animales y plantas contaminados que puede provocar anomalías de “intoxicación”. Por otro lado, son fáciles de absorber por la biota en estado acuoso, esto quiere decir que existe una mayor disponibilidad en este medio dicho de otra manera la capacidad de interacción del contaminante en función al

sistema biológico. Cabe recalcar que los metales bioconcentrados en las paredes de las microalgas son: Al, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Zn. Las acumulaciones dependen de la acidez o basicidad del medio acuoso (SPAIN Y ALM, 2003).

## **2.5. Plomo**

El metal plomo con masa atómica de 207.2 u.m.a., presenta un punto de fusión de 327.5 °C y de ebullición de 1740 °C. Estructuralmente en estado metálico (cristalina cúbica) con una “densidad” 11.34 g/cm<sup>3</sup>. Este metal fue usado en la antigüedad a lo largo de varios siglos prediciendo su toxicidad. Hoy en día la máxima concentración aceptada está por debajo de 0.005 mg/L establecida en todos los países a niveles muy bajos según las legislaciones de las naciones unidas y UE (HERNÁNDEZ, 2008).

### **2.5.1. Fuentes de exposición**

El plomo principal componente (corteza terrestre), encontrándose distribuidos por la misma naturaleza. Sin embargo, la mayor exposición al medio ambiente, incluidos las personas, presenta carácter antropogénico. Se puede distinguir tres fuentes primordiales de exposición a este metal (GHASEMI *et al.*, 2014).

#### **a) Exposición del medio industrial**

Básicamente las industrias utilizan todo tipo de “especies de plomo”, como el metálico, “compuestos orgánicos e inorgánicos”. No obstante, el emponzoñamiento por plomo inorgánico se da más en las industrias. Otro punto de importancia se da en el sector minera, por causa de la explotación de (PbS<sub>2</sub>)

suponiéndose una de las primordiales fuentes para la adquisición del “metal” y comúnmente de azufre; que es muy acogido por la industria en la forma de ácido sulfúrico. Los compuestos orgánicos de este metal se encuentran básicamente en algunos aceites y lubricantes que presentan neftano de plomo y otros similares (ROMERO *et al.*, 2007).

### **b) Exposición del medio doméstico**

Es producto del “uso no profesional”, algunos productos comerciales preservan compuestos de plomo inorgánico en su estructura, esencialmente la pintura con minio ( $Pb_3O$ ) o también los esmaltes de la “alfarería doméstica”, pero sobre todo a la inhalación por vías respiratorias de partículas de plomo metálico proveniente del polvo. Cabe recalcar que el óxido de plomo atmosférico procedentes de varias fuentes (pintura, fundición, industria, etc.) se depositan o almacenan en (suelo, agua, frutas y entra fácilmente a la cadena trófica), debido a la facilidad de absorción por las plantas y otros organismos vivos (ROMERO *et al.*, 2007).

### **c) Exposición por las emisiones de los vehículos del motor**

Una gran cantidad del plomo medioambiental son provenientes por la emisión de los escapes automovilísticos, que es transformado por distintas sustancias en la atmósfera y se convierten en su mayoría en elementos inorgánicos. Una fracción de los organometálicos de la gasolina se da por inhalación de manera directa de estas especies como moléculas en estado de vapor o absorbidas como material particulado. Por ello estas emisiones de diferentes vehículos motorizados son las causantes de la acumulación de plomo

en la sangre debido a la disección constante al ambiente, que se gracias al vientos fuertes (CHUQUILIN Y ROSALES, 2016).

### 2.5.2. El plomo en la salud humana

El mecanismo del plomo al ingresar al organismo humano se da en su mayoría (inhalación e ingestión), el ingreso por la piel se da en una minimo porcentaje debido a la causa en exposición con sus compuestos orgánicos en la sangre presenta una semivida de 25 días de modo que algunas porciones son secretadas mediante los riñones por la orina, del tracto intestinal mediante heces y mediante sudor por la piel, es por ello que existen procesos de (absorción, deposición, excreción) en todo ser vivo (DIGESA, 2016).

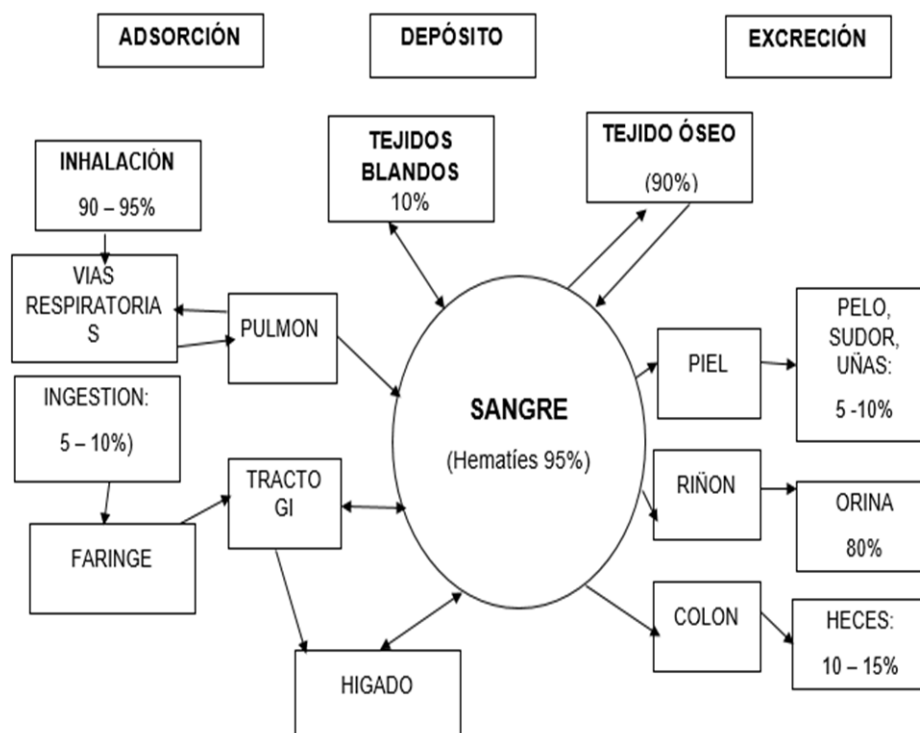


Figura 1. Sistema metabólico de los metales en el ser humano

Fuente: DIGESA (2016).

### **2.5.3. Comportamiento y efectos del plomo en el ambiente**

El plomo metálico se encuentra en mínimas cantidades en el ambiente, no obstante, las altas concentraciones son el resultado de (actividades antropogénicas como la combustión del petróleo, procesos industriales, combustión de residuos sólidos). Dentro de los principales daños al medio ambiente se tiene la pérdida y la perturbación de fitoplancton en el medio acuático. La concentración de plomo casi en todas las aguas se encuentra entre 0.001 - 0.01  $\mu\text{g/L}$ . por otra parte las cantidades muy inferior según los límites establecido por la "Organización Mundial de Salud (OMS)", el cual es de 0.1  $\mu\text{g/L}$ , debido a las zonas de aguas blandas con un pH ligeramente ácido, el plomo de las tuberías puede llegar a disolverse con el paso el tiempo. El plomo es transportado por las lluvias y las aguas negras 100 - 500  $\mu\text{g/L}$  en áreas industriales, asimismo los provenientes de las emisiones vehiculares que alcanzan diferentes niveles de la capa de la atmósfera y luego precipitan a los cuerpos acuáticos. Estos compuestos del metal plomo son (contaminantes tóxicos y dañinos), desde el punto de vista ambiental, principalmente de las aguas residuales que se encuentran los derivados alquílicos de plomo (IV), tetraetilo, dietilo, etc. En los suelos la concentración de plomo varía de 2 - 200  $\mu\text{g/L}$  (CHUQUILIN Y ROSALES, 2016).

### **2.6. Algas**

Las algas son organismos acuáticos, fotoautótrofos oxigénicos y morfológicamente menos complejos, catalogadas como muy antiguas y diversas que no tienen un origen común, sus semejanzas morfológicas y anatómicas se

deben a su adaptación primaria al medio acuático. Organismos que no se diferencian en raíces, tallos y hojas. Estos organismos se extienden desde seres unicelulares hasta organismos multicelulares en mayores colonias. Estas realizan una de las aportaciones de oxigenación al planeta; es estimada la participación fotosintética cerca del 50% de manera global (ABALDE Y HERRERO, 2004).

## **2.7. Microalgas**

Son organismos unicelulares eucarióticos fotosintéticos que tienen la capacidad de transformar la energía lumínica en energía química con una eficiencia cuatro veces mayor a las plantas. Son productores primarios de la cadena trófica, constituyéndose una de las primeras formadoras de materia orgánica son de tamaño reducido y variado (5 – 50  $\mu\text{m}$ ) de esta manera presentan un fácil captura y digestión por la abundancia de organismos que se alimentan en forma directa del fitoplancton. La gran mayoría de especies se encuentran como células individuales, forma de bastón o fusiformes, otros forman colonias multicelular. Algunas colonias son simples agregados de células idénticas que son unidas después de la división; otras se componen de diferentes tipos de células especializadas para determinadas funciones (ABALDE Y HERRERO, 2004).

### **2.7.1. Principales especies de microalgas**

En biotecnología se puede decir que las microalgas son organismo que presentan clorofila a y otros pigmentos fotosintéticos. estas especies de microalgas que serán estudiadas en esta investigación pertenecerán al grupo de

las algas “verdes fotosintéticos”, unicelulares que fueron utilizadas en las investigaciones para ver la eficacia en el tratamiento de aguas residuales y adquirir biomasa de alta calidad. Como organismos pequeños, tienen la suficiencia de crecimiento y generación de biomasa muy por encima a las plantas superiores, no necesitando generar estructuras reproductoras, por ende, tienen la facilidad de duplicarse en minutos, cuando están en una condición óptima de crecimiento de las mismas (RICHMOND, 2004).

**a) *Spirogyra sp***

La *Spirogyra sp* son algas verdes de agua dulce con células semejantes reunidas de forma filamentosa. Asimismo, presenta una pared celular con muchos grupos funcionales, así como: (oxidrilos OH, fosforilo  $\text{PO}_3\text{O}_2$ , amina  $\text{NH}_2$ , carboxilos COOH), que asignan la adsorción de iones de plomo u otros metales presentes en medios acuáticos. Son especies dioicas, lo cual el contenido de las células del “filamento masculino” se deposita en las células del filamento femenino y se mantienen unidos entre sí por un conducto o tubo. Algunas *Spirogyras sp* son monoicas, esto quiere decir que presenta doble células vecinas de un mismo filamento que funcionan entre sí, mediadas por conductos de conjugación, estas microalgas se protegen entre ellas de la toxicidad causada por metales pesados, de este modo se puede decir que las algas verdes filamentosas son potencialmente bioacumuladores eficientes debido a la composición bioquímica de su pared celular, de este modo abre varias puertas de la opción rentable como material biológico para ser empleados en la tecnología de tratamientos de aguas residuales (PEÑA, PALACIOS Y OSPINA, 2005).

Se caracteriza por contener cloroplastos repartidos a lo largo de una cinta en forma de “espiral”, estos cloroplastos están encargados de realizar la fotosíntesis y presenta la siguiente taxonomía como se muestra en el cuadro 1 y figura 2.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la *Spirogyra sp*

<b>Clasificación taxonómica de la <i>spirogyra sp</i></b>	
Subreino	<i>Viridaeplantae</i>
Infrareino	<i>Streptophyta</i>
División	<i>Charophyta</i>
Subdivisión	<i>Conjugophytina</i>
Clase	<i>Conjugophyceae</i>
Orden	<i>Zygnematales</i>
Familia	<i>Zygnemataceae</i>
Genero	<i>Spirogyra sp</i>

Fuente: CHISTI (2007).



Figura 2. Estructura morfológica de la *Spirogyra sp*

Fuente: YAQUB *et al.* (2012).

### b) *Chlorella sp*

CHINNASAMY (2010) la *Chlorella sp* es un género de alga “unicelular” con forma esférica que miden de 2 a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro, carecen de flagelo y pertenecen a la división chlorophyta. Se ha reproducido de forma masiva para fines de alimentación y la obtención de metabolitos. Es una especie de microalga que reproduce con facilidad y muy rápido a través de la fotosíntesis en medios (autótrofos, heterotróficos y mixotróficos) es una de las especies más estudiada e investigadas a nivel mundial como un recurso para sustituir los combustibles fósiles y para alimento; la desintoxicación de metales pesados que son usados como biosorbente que son fáciles de cultivar manteniendo las condiciones óptimas los parámetros y los nutrientes. El nombre proviene de la palabra griega *chloros*, que significa verde, y el sufijo *ella* que hace referencia su tamaño minúsculo a escala microscópica y por ende la clasificación taxonómica como se muestra en el cuadro 2 y figura 3.

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de la *Chlorella sp*

<b>Clasificación taxonómica de la <i>Chlorella sp</i></b>	
División	<i>Chlorophyta</i>
Clase	<i>Chlorophyceae</i>
Orden	<i>Chlorococcales</i>
Familia	<i>Oocystaceae</i>
Genero	<i>Chlorella</i>
Especie	<i>Chlorella sp</i>

Fuente: BENAMOTZ (1987).

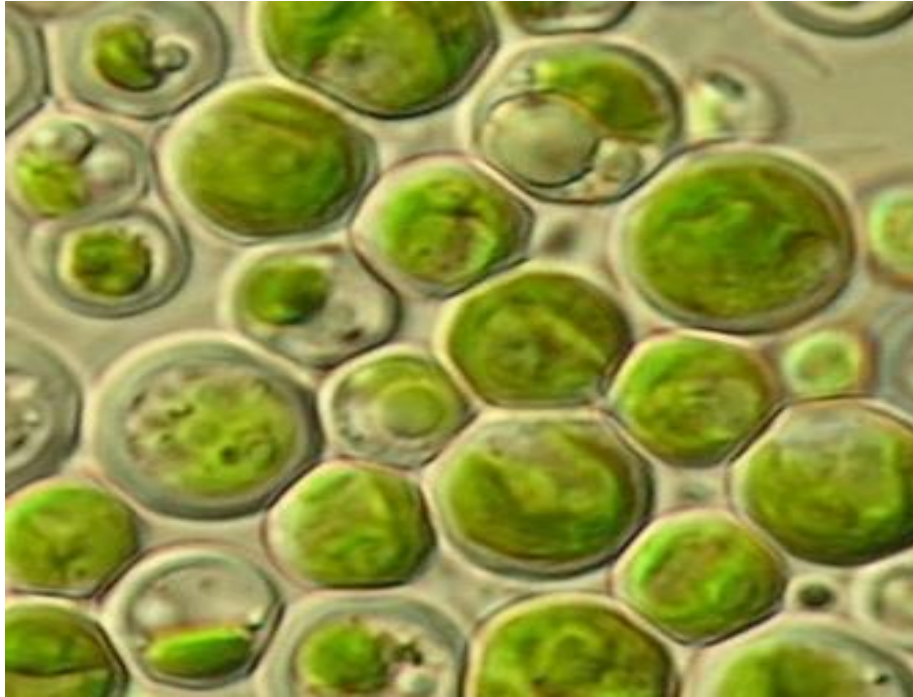


Figura 3. Estructura morfológica de la *Chlorella sp*

Fuente: ABALDE Y HERRERO (2004).

estas microalgas tienen la distinción de desarrollarse en agua dulce como en agua salada, dado el creciente interés en estas algas ahora se producen ampliamente.

### c) *Scenedesmus sp*

XIN, HONG y YIN (2010) nos dice que este género fue descrito por primera vez en el año 1905 por Teodorico, y su nombre por Dunal, que fue el primero en reconocer este género. Son unicelulares en su totalidad y se diferencian abismalmente en su forma y tamaño que varían entre 8 y 25  $\mu\text{m}$  de largo y 5 y 15  $\mu\text{m}$  de ancho, con pared celular que se unen formando cortas costillas con la forma de una C mayúscula lisa con cloroplasto parietal con un pirenoide de almidón con orgánulos celulares típicos con núcleo rodeado de membrana.

La microalga del género *Scenedesmus sp* se puede clasificar taxonómicamente como se muestra en el (cuadro 3 y figura 4).

Cuadro 3. Clasificación taxonómica de la *Scenedesmus sp*

<b>Clasificación taxonómica de la <i>Scenedesmus sp</i></b>	
División	<i>Chlorophyta</i>
Clase	<i>Chlorophyceae</i>
Orden	<i>Chlorococcales</i>
Familia	<i>Scenedesmaceae</i>
Genero	<i>Scenedesmus</i>
Especie	<i>Scenedesmus sp</i>

Fuente: ANDRADE, *et al.* (2009).

Generalmente, la familia *Scenedesmaceae* es clasificada dentro de las algas verdes fotosintéticas, e incluyen especies de forma unicelular, otras son capaces de formar cenobios o menos alineados en uno o varios planos, siendo lo más común los cenobios de cuatro células. La disposición de sus células se une unas con otras que se realiza directamente a través de la pared celular o mediante la proyección de la propia pared. Los *Scenedesmus sp* se reproducen de manera sexual donde las células hijas mantienen la morfología típica la estructura de los progenitores y asexual por división longitudinal independientemente de su tamaño, por lo que es correcto hablar de individuos grandes y pequeños que mantienen la actividad celular durante la división. Sin embargo, existen múltiples ventajas de esta especie, no obstante, su aplicación como remediador de aguas ha sido poco extendido (XIN, HONG y YIN, 2010).



Figura 4. Estructura morfológica de *Scenedesmus sp*

Fuente: ANDRADE *et al.* (2009).

### 2.7.2. Condiciones para el crecimiento de las microalgas

(XU, MIAO Y WU, 2006), el crecimiento exponencial de las microalgas se debe a las condiciones óptimas (temperatura, pH, oxígeno, intensidad luminosa, salinidad y nutrientes), que varían ampliamente de una especie a otra, estos parámetros han sido determinados en los laboratorios que nos facilita la comprensión de las condiciones necesarias que requieren para el desarrollo de varias especies. Hoy en día algunas microalgas pueden desarrollarse en condiciones heterótrofas, usando fuente de carbono en ausencia de luz. Esto nos muestra que esta adaptabilidad metabólica les permite el desarrollo a diversos ecosistemas en función a procesos biotecnológicos generando biomasa.

### **2.7.2.1. Luz**

Las microalgas por naturaleza son fotosintetizadores que dependen primordialmente de la luz para su crecimiento y desarrollo. Se caracteriza por la respuesta lineal baja al aumento de la irradiación de la luz, hasta llegar a una capacidad máxima de fotosíntesis, esto quiere decir que las células son dependientes de la luz para su desarrollo celular, las intensidades varían desde 10 a 200  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (ABALDE, *et al.*, 1995).

### **2.7.2.2. pH**

la influencia del pH se da en la proporción de las especies del equilibrio químico del  $\text{CO}_2$ , de esta manera se puede alcalinizar o basificar el medio, con la ayuda de algunas sustancias y compuestos que se encuentran en algunos macronutrientes y micronutrientes. De esta manera se puede decir que cada especie de microalga tiene un rango de pH óptimo, variando entre 7 – 9, con un óptimo de 8.2 – 8.7 (RICHMOND, 2004).

### **2.7.2.3. Oxígeno**

Otro parámetro importante es el oxígeno disuelto en el crecimiento de las microalgas, debido que a altas concentraciones de oxígeno tienden a inhibir la fijación de carbono por parte del “Rubisco”. Esto se ve favorecida por un déficit de  $\text{CO}_2$  y por la mayor radiación y temperatura. La gran mayoría de las especies de microalgas no pueden sobrevivir en condiciones saturadas de oxígeno más de 2 a 4 horas. El nivel de saturación “varía” de acuerdo al tipo de especies, de manera que para algunas es el 120% de saturación en el aire, otras

bordean el 200%. Es por ello que, en los cultivos de alta densidad celular, la producción de fotosíntesis de oxígeno tiende a alcanzar a un 40 mg/L, de acuerdo a la luminosidad puede llegar a desarrollarse diversas radicales libres de oxígeno (CAÑIZARES Y JÁCOME, 2007).

#### **2.7.2.4. Temperatura**

La temperatura es un factor para el crecimiento y desarrollo de las microalgas, porque influye en los coeficientes de velocidad de las “reacciones biosintéticas”. La relación entre velocidad y temperatura hace que el crecimiento aumente de manera exponencial, hasta alcanzar la temperatura óptima. Por otro lado, distintas variedades de microalgas son capaces de desarrollarse en un rango amplio de temperatura, como el caso de la especie *Chlorella sp*, que puede desarrollarse en un rango de 5 – 42 °C, de esta manera la gran mayoría presentan un rango admitido de lo contrario de ven inhibidas. La existencia de la fluctuación amplia entre la temperatura máxima y mínima, presenta la misma importancia durante las horas del día con una mínima intensidad de luz y oxígeno al medio (RICHMOND, 2004).

#### **2.7.3. Medio de cultivos para microalgas**

La clasificación de las microalgas tanto autótroficas, heterótroficas y mixotróficas. cabe recalcar que unos escasos de nutrientes ocasionan en las microalgas una “acumulación” de lípidos en presencia de luz y CO<sub>2</sub> disponible. En la década de los 1950 empezó el cultivo moderno de microalgas, utilizando luz y agua de mar, para obtener mayores cantidades de biomasa y así cultivar distintas especies (CAÑIZARES Y JÁCOME, 2007).

Los cultivos fotótrofos (fotoautótrofos y mixotróficos) comprenden las modalidades de nutrición fotoautótrofas y mixotróficas, de manera que ambos suministran luz como fuente de energía, estos cultivos fotótrofos se realizan en sistemas abiertos o cerrados como en el caso de los fotobiorreactores. Cultivos heterotróficos (quimioheterotróficos y mixotróficos) son capaces de crecer heterotróficamente en los sistemas de cultivos cerrados como los fotobiorreactores teniendo grandes avances en la biotecnología. También dentro de los cultivos heterotróficos están los cultivos mixotróficos donde la fuente de carbono son el  $\text{CO}_2$  y luz (ABALDE Y HERRERA, 2004).

#### **2.7.3.1. Carbono**

Las microalgas en su mayoría utilizan el  $\text{CO}_2$  como fuente de carbono el que están en la atmósfera, como también los iones bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) mediante la “enzima anhidrasa” aunque hay microalgas como la *Chlorella sp.*, que aguantan hasta 400.000 ppmv y se hace generalmente en forma de carbonato de sodio  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (RODOLFI, 2009).

#### **2.7.3.2. Nitrógeno**

El nitrógeno es otro nutriente esencial para el desarrollo de las microalgas. Ya que pueden fijar el nitrógeno del medio, en especial en la forma de  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NH}_4^+$ . En una investigación realizada por (XIN, 2010) se demostró que el *Scenedesmus* se desarrolla de manera exponencial con  $\text{NH}_4^+$ , seguida por la urea y por último con nitrato, estos equilibrios de disociación dependen mucho del potencial de hidrogeniones y temperatura del medio, que anulan el crecimiento de las microalgas (ABALDE *et al.*, 1995).

### **2.7.3.3. Fosforo**

La cantidad necesario de fosforo es inferior que el nitrógeno, en función a la biomasa obtenida. Distintos autores concluyeron que la captación de macro y micronutrientes mediadas por microalgas se ve en la relación de N: P dentro del medio de cultivo, por tal motivo existe mayor producción y crecimiento y toma de nutrientes. En caso de las *Chlorella* la relación es de 8:1, por ende, usa más nitrógeno (ABALDE Y HERRERO, 2004).

## **2.8. Fotosíntesis en algas**

Se pueden distinguir dos tipos básicos al momento de caracterizar a las algas las procariotas y las eucariotas los cuales se caracterizan por el material genético de mismo. La diferencia se basa en que las primeras carecen de organelos limitados por una membrana, excepto las cianobacterias, el resto de las microalgas son eucariotas. Las microalgas eucariotas realizan la fotosíntesis en los cloroplastos, estos son un tipo especializado de plastidios que están reducidos por la envoltura conformada por dos membranas concéntricas que engloban una serie de vesículas de tilacoides, de modo que se encuentran las clorofilas (MASOJIDEK, KOBLIZEK Y TORZILLO, 2004).

## **2.9. Fotobiorreactor**

Es un sistema cerrado herméticamente que busca la obtención del mayor crecimiento de las microalgas en cultivo, se caracteriza por permitir la manipulación y control del parámetro de crecimiento y al mismo tiempo que reduce el nivel de riesgo de contaminación por las bacteria, hongos y perdidas

de CO<sub>2</sub> por difusión. Pueden distribuirse como: impulsado agitado por aire o por bomba, reactores de una sola “fase” (CHEN, *et al.*, 2011).

### **2.9.1. Fotobiorreactores verticales columnares**

Están principalmente formado por tubos verticales, en su mayoría por tubos de vidrio o polietileno, lo que sirve para aprovechar la penetración de luz natural con un diámetro de 5 y 50 cm donde se burbujea el aire desde la base con un sistema de agitación. El airlift y la columna de burbujeo son ejemplo de ellos (GONZÁLEZ, MOLINUEVO Y GARCÍA, 2010).

### **2.9.2. Fotobiorreactores tubulares horizontales**

Estos fotobiorreactores ofrecen mucha ventaja en relación a sistemas abiertos, esto se debe la orientación hacia el sol, resultado una alta conversión de luz. La adaptación de estos métodos para el enfriamiento de estos sistemas, desde luego fue rociar con agua a temperaturas controladas y amortiguar la temperatura de la alimentación de recirculación (CHEN, *et al.*, 2011).

## **2.10. Biotecnología para la biorremoción de los metales pesados**

Los métodos “convencionales” para la biorremoción de los metales pesados de aguas contaminadas es la (precipitación, coagulación, intercambio iónico). Por otra parte, estos métodos requieren muchas construcciones de tanques de estaciones de bombas, gran cantidad de compuestos químicos, energía y personas capacitadas en el tema, es por ello que se basa en el desarrollo, uso y regulación de los “sistemas biológicos” para biorremediación de

ambientes contaminados (agua, aire, suelo), para la mejora del medio ambiente. A nivel nacional, la biotecnología puede convertirse en un futuro en una opción viable en la utilización de manera natural, los microorganismos como métodos alternativos para todo tipo de tratamientos a pequeña y gran escala de metales pesados en los efluentes de residuos industriales y municipales, disminuyendo así el costo y aumentando la eficiencia de tratamiento (JUWARKAR Y MUDHOO, 2010).

### **2.10.1. Biorremoción de metales pesados mediante microalgas**

Las descargas de aguas residuales, se encuentran principalmente a elevadas concentraciones de carga orgánica, no obviando los desechos inorgánicos que son altamente tóxicos como el plomo y cadmio, causante de muchas sensibilizaciones de los seres vivos, esto se debe la problemática de la acumulación en la sangre, sistema nervios, piel, etc. La biorremoción de metales mediante los sistemas biológicos, da a conocer muchas ventajas, porque presentan muchas “adaptaciones” y ciertos mecanismos de tolerancia y sensibilidad, que son responsables para que se lleven a cabo los procesos de absorción, adsorción y sorción. Los metales más estudiados en este tipo de pretratamiento son: Pb, Cd, Zn, Cu, Ag, y Cr, de los cuales, las microalgas de *Chlorella sp* y *Scenedesmus sp*, mostraron una elevada nivel de capacidad de remoción de los metales (KOJIMA Y LEE, 2001); del mismo modo también señalan que a comparación a las bacterias y hongos, las microalgas son más eficientes en la remoción de los metales pesados esto se debe básicamente por usar con microalgas vivas, asociadas a procesos metabólicos y la fotosíntesis,

del mismo modo menciona que las microalgas a grandes cantidades de metales presentan una sensibilidad a dichos metales.

Cuadro 4. Principales microalgas con capacidad de acumular metales

Alga	Metal	Referencia
	K, Mg, Ca, Fe, Sr,	
<i>Chamydomonas Reinhardtii</i>	Co, Cu, Mn, Ni, V, Zn, As, Cd, Pb	Mahan <i>et al.</i> , 1989
<i>Chlorella Salina</i>	Co, Zn, Mn	Garnham <i>et al.</i> , 1992
<i>Chlorella Sorokiniana</i>	Ni	Arhtar <i>et al.</i> , 2004
<i>Chlorella Vulgaris</i>	Cd, Pb, Cu, Ag	Gin <i>et al.</i> , 2002
<i>Chlorella Miniata</i>	Cr (VI)	Han <i>et al.</i> , 2007
<i>Chorococcum Sp</i>	Cd, Pb, Cu	Gin <i>et al.</i> , 2002
<i>Cyclotella Cryptica</i>	Al, Zn, Pb, Cu, Cd	Schmitt <i>et al.</i> , 2001
<i>Lyngbya Taylorii</i>	Pb, Cd, Ni, Zn	Klinmek <i>et al.</i> , 2001
<i>Phaeodactylum</i>		Schmitt <i>et al.</i> , 2001; Zhou
<i>Tricornutum</i>	Al, Zn, Pb, Cu, Cd	<i>et al.</i> , 1998
<i>Porphyridium Purpureum</i>	Al, Zn, Pb, Cu, Cd	Schmitt <i>et al.</i> , 2001
<i>Scenedesmus Quadricauda</i>	Cd, Pb, Cu, Ag	Gin <i>et al.</i> , 2002
<i>Scenedesmus Subspicatus</i>	Al, Zn, Pb, Cu, Cd	Schmitt <i>et al.</i> , 2001
<i>Spirogyra Sp</i>	Cr, Pb	Gupta <i>et al.</i> , 2001
<i>Spirulina Sp</i>	Cd	Rangsayator <i>et al.</i> , 2002
<i>Spirulina Platensis</i>	Cr	Li Z.Y. <i>et al.</i> , 2006
	K, Mg, Ca, Fe, Sr,	
<i>Stichococcus Bacillaris</i>	Co, Cu, Mn, Ni, V, Zn, As, Cd, Pb	Mahan C.A. <i>et al.</i> , 1989
<i>Stigeodonium Teme</i>	Cd, Pb, Zn	Pawlik - Skowronska B., 2001

Fuente: GARNHAM Y GADD (1992).

El proceso donde las moléculas se concentran en una capa interfacial se conoce como el proceso de adsorción. Si las moléculas penetran al

interior de la fase sólida, el proceso es conocido como absorción. El termino sorción es usado con regularidad en los procesos de adsorción y absorción que ocurren simultáneamente, ya que la adsorción de uno o varias especies iónicas es acompañada por la desorción. Se han demostrado mediante investigaciones que las microalgas tienen la capacidad de absorber metales de soluciones acuosas, estas pueden estar metabólicamente activas o inactivas, libres o inmovilizadas, esto varía según las condiciones dadas. Las algas y microalgas ofrecen muchas ventajas para la biorremoción de metales, debido que contienen muchos sitios polifuncionales de unión para complejos metálicos en su superficie, ya sea especies iónicas (DAVIS, VOLESKY Y MUCCI, 2003).

#### **2.10.2. Mecanismo de acumulación de metales**

CASTILLO Y ROLDAN (2005), los fitoquelatinas (FQ) y las metalotioneinas (MT), que son péptidos de elevado contenido en grupo tiol generados por las plantas y animales, en respuesta a una ingesta de metales pesados, estas biomoléculas alcanzan fuertemente los iones metálicos con el propósito de disminuir su toxicidad. También se argumentan que la capacidad de acumular los metales pesados se debe a los fitoquelatinas, polímero de glutatión cuya síntesis se activa a exposición de los iones metálicos, estos mismos intervienen en el confinamiento vacuolar de los metales, los complejos FQ- metal se acumulan en las vacuolas. Por lo que la biorremoción de los metales pesados en sistemas biológicos se hace posible gracias a los cultivos de microalgas, de modo que presentan diversos mecanismo de adaptaciones y tolerancias, los cuales son responsables a que se lleve acabe los procesos de

adsorción, absorción, desorción y translocación donde los metales se depositan de manera simultánea en varios organelos celulares como se muestra.

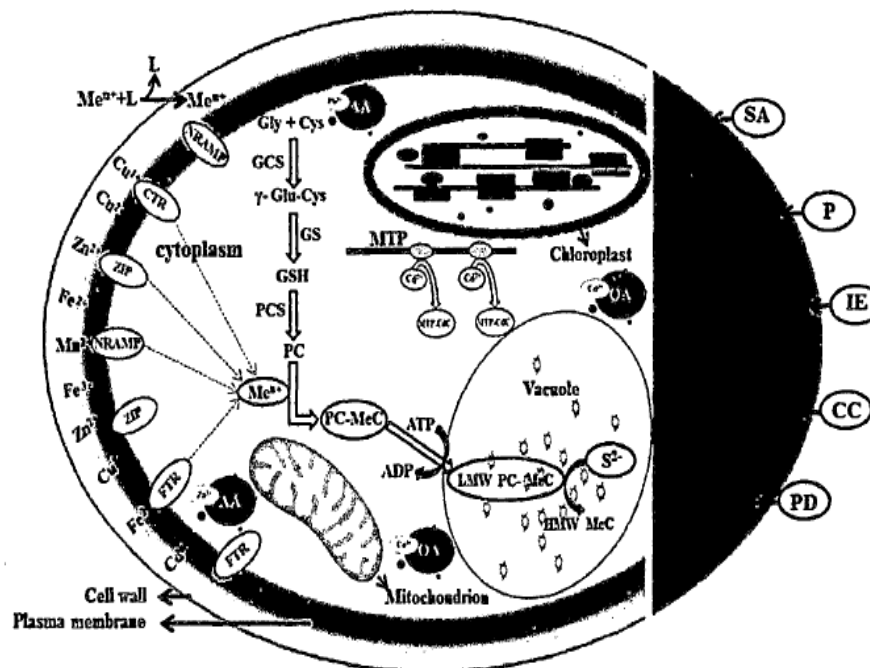


Figura 5. Mecanismos de la translocación y absorción de metales pesados en microalgas

Fuente: PERALES *et al.* (2006).

### 2.10.3. Adsorción

En la acumulación de moléculas de soluto en la superficie de un sólido. Se distingue entre la adsorción física (fisisorción), donde la especie adsorbida mantiene su forma química original donde intervienen las atracciones de tipo electrostático y fuerzas de Van der Waals; y la adsorción de tipo química (Quimisorción), en la que la especie adsorbida cambia de forma química como consecuencia de su interacción con el sólido. Este proceso se divide en tres fases que incluyen transferencia de las moléculas del adsorbato (que se refiere a la especie que van a ser adsorbidas contenidas en un solvente) a través de la

capa que lo rodea el adsorbente (que nos hace entender a la fase solida capaz de atraer el sorbato), difusión a través de los poros y la adsorción de las moléculas del adsorbato por la superficie activa (MARTINEZ *et al.*, 2013).

#### 2.10.4. Biosorción una alternativa de solución

(PINO, MESQUITA Y OREM, 2006), cuando los compuestos químicos solubles se encuentran presentes en ambientes acuosos interaccionan con la parte biológica de dos formas, se unen a la pared celular (proceso llamado biosorción) o puede acumularse en el interior de la célula (proceso llamada bioacumulación). Tales interacciones son estudiadas con la finalidad de proponer una metodología de remoción, recuperación y detoxificación de radio nucleótidos y metales pesados.

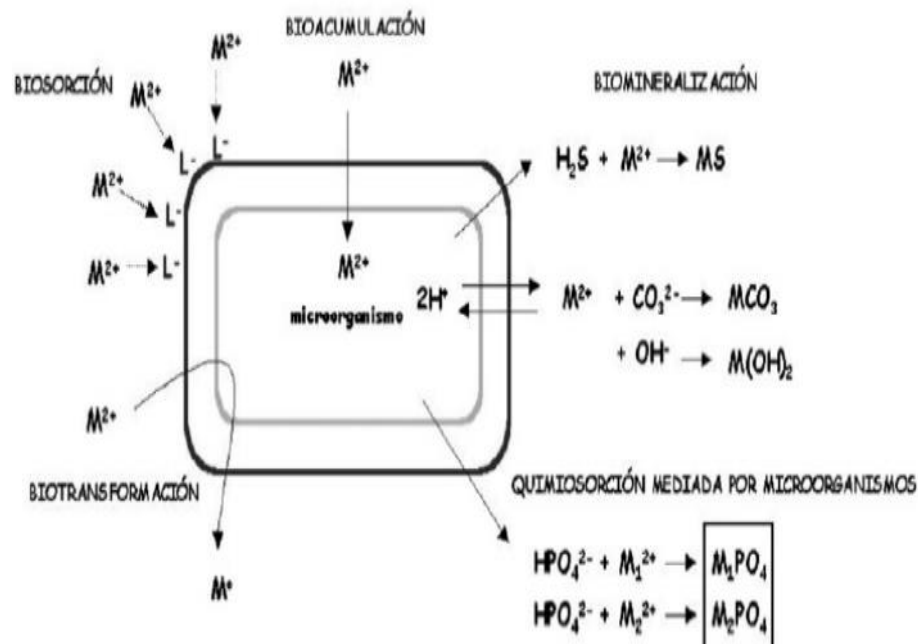


Figura 6. Interacciones entre microorganismo y metal pesado

FUENTE: SOTO *et al.* (2010).

El principio de la biosorción describe el proceso de la remoción de los metales pesados en aguas residuales de varias actividades empleando microalgas. Este fenómeno es investigado para la remediación de aguas contaminadas con metales pesados. Se denomina biosorbentes a la pared celular de los microorganismos utilizados en el tratamiento que puede ser biomasa viva o muerta; en el caso de la biomasa viva es aislada y cultivada y su principal característica es retener o inmovilizar los iones metálicos (sorbato) de medios sólidos o líquidos (agua) en intervalos de tiempo, la biomasa muerta se da generalmente en procesos químicos (MARTÍNEZ, TORRES Y GARCÍA, 2013).

#### **2.10.5. Parámetro que afectan la bioadsorción**

El proceso de adsorción se ve afectado por diferentes factores como el pH, temperatura, naturaleza del adsorbente, tipo y concentración del adsorbato (HIDALGO Y MARTINEZ, 2004). Estos parámetros son vitales para que se lleve a cabo de manera eficiente la adsorción.

##### **a) Influencia del pH**

Los distintos metales en disolución acuosa se encuentran en diferentes especies químicas en función del pH de la disolución, siendo el principio de la fuerte dependencia que existe entre el pH de la disolución y la posibilidad de extracción del metal, ya que según la especie química los mecanismos de sorción el valor de pH es de gran importancia en la retención de iones, de esta manera la sorción de cationes se ve favorecida a pH mayores a 4 – 5 (CUIZANO Y NAVARRO, 2008).

**b) Naturaleza del adsorbato**

Es un factor muy influyente en el equilibrio de adsorción, existe una regla general para saber el efecto de la polaridad del soluto sobre la adsorción, un soluto polar será fuertemente adsorbido por un adsorbente polar, cuando este en un disolvente no polar. Otro factor es la naturaleza del adsorbato en el caso de los metales, en pocas palabras se basa en el radio atómico del metal, pues se deduce que a mayor tamaño disminuye la afinidad por los ligandos de la pared celular (VARANES *et al.*, 2011).

**c) Temperatura**

La adsorción es un proceso exotérmico y es generada de manera espontánea si el adsorbente no se encuentra saturado con la sustancia toxica. La cantidad de material acumulada depende del equilibrio dinámico que se alcanza ente la tasa a la cual el material se adsorbe a la superficie, y la tasa que se puede liberar (YANG *et al.*, 2014).

**d) Concentración del metal**

Para ver la efectividad de un material sorbente sé tiene que conocer cuál es la máxima cantidad del metal que puede adsorber. Los materiales establecen diferentes equilibrios de extracción cuanto se ponen en contacto con Las distintas concentraciones del metal. Estos equilibrios dependen en la mayoría de los casos de las condiciones experimentales y son diferentes para cada temperatura, son equilibrios isotérmicos (HIDALGO Y MARTINEZ, 2004).

### e) Tiempo de contacto

En toda investigación sobre bioadsorción es necesario conocer el tiempo de equilibrio entre el soluto el material. Es un tiempo necesario para poder completar el proceso de adsorción es determinante para desarrollar los demás estudios y optimizar el proceso, además del interés que tiene en sí mismo el conocimiento de la cinética de proceso de eliminación (CORDOVA, 2016).

#### 2.10.6. Equilibrio del proceso de bioadsorción

HIDALGO Y MARTINEZ (2004), la bioadsorción es un proceso complejo debido a que no todos los sitios de adsorción son idénticos y a medida que esto avanza, la adsorción de la fuerza se verá reducida, lo que involucra que existe una interferencia en cada sitio de unión durante la adsorción. Este proceso calcula la cantidad del metal adherida a la biomasa, por ende, es un parámetro importante en el análisis de cualquier sistema de adsorción por su eficiencia que se calcula mediante la siguiente ecuación.

$$q_{\text{capacidad de adsorción}} = \frac{V(C_0 - C_e)}{m} \quad (1)$$

Donde:

$q_e$ : Capacidad de adsorción (mg/g)

V: Volumen de la solución donde se encuentra el contaminante (L)

$C_0$ : Concentración inicial del metal (mg/L)

$C_e$ : Concentración del metal residual en equilibrio o final en fase líquida (mg/L)

m: Masa del adsorbente (g).

### 2.10.7. Modelo de Isoterma de Freundlich

Es un modelo clásico para describir la adsorción heterogénea, dado que es un modelo empírico con dos parámetros manipulables que nos indica la capacidad de “eliminación finita” de sustancias tóxicas (ROMERO et al., 2007).

$$q_e = k_f c_e^{1/n} \quad (2)$$

Dónde:

$q_e$  = concentración del soluto por unidad de peso de adsorbente (mg/g)

$C_e$  = concentración de soluto en equilibrio (mg/L)

$K_f$  = constante de Freundlich (L/mg)

$n$  = la constante de afinidad entre el adsorbato y el adsorbente

Este modelo de isoterma de Freundlich presenta una variación según el valor de  $1/n$  que se da de la siguiente manera.

Cuando  $1/n = 1$  la isoterma es de tipo C

Cuando  $1/n < 1$  la isoterma es de tipo L

Cuando  $1/n > 1$  la isoterma es de tipo S

En consecuencia, cuando el valor de  $1/n$  es menor que la unidad indica que la adsorción es normal. Por otra parte, si  $1/n$  es mayor a la unidad esto indica que la adsorción es cooperativa.

La magnitud de  $n$  en pocas palabras es un indicativo de la favorabilidad y capacidad del sistema adsorbato/ adsorbente. En mayor parte de los casos un valor entre a  $1 < n < 10$ , esto son muestra que es una adsorción favorable.

Linealización que puede ser transformada en una ecuación lineal tomando logaritmos tal como se muestra en la siguiente ecuación

$$\log(q_e) = \log(K_f) + \frac{1}{n} \log(C_e) \quad (3)$$

En la gráfica de  $\text{Log}(q_e)$  en función  $\text{Log}(C_e)$ , se obtendrá la linealización de la recta con su respectivo pendiente. Se usa en su forma lineal para el análisis de los datos experimentales, donde la ecuación de la recta cuyo coeficiente de correlación más próxima a uno. “En el sistema solido – liquido” es importante recalcar que estos modelos de isoterma ajuste exitosamente los datos de equilibrio de sorción, no ratifica que el mecanismo de sorción se da de acuerdo con los principios fundamentales que sustentan el modelo. Es por ello que se toma en cuenta el origen del material adsorbente y el tiempo de retención de ella.

### **2.11. Estudios realizados en eliminación de metales pesados con microalgas**

VERANES *et al.* (2011), realizaron una investigación con *Scenedesmus obliquus* utilizándola con la finalidad de evaluar la aplicación de la microalga *Scenedesmus obliquus* en la precipitación de cromo (Cr) de aguas residuales crómicas sintéticas. La colecta de la microalga fue obtenida de la colección del “Centro Nacional de Investigaciones Científicas”, se inmovilizó en espuma de poliuretano en un reactor de 150 L de capacidad y se trabajó con concentraciones iniciales del metal de 20, 60 y 100 mg/L.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Descripción del lugar de ejecución**

##### **3.1.1. Ubicación del lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación de tesis se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Microbiología general de la escuela profesional de ingeniería ambiental de la facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, localizada entre las coordenadas UTM 390701 Este 8970221 Norte y una altura promedio 670 m.s.n.m.

##### **3.1.2. Ubicación geográfica del lugar de muestreo**

La obtención de las muestras de microalgas del presente trabajo de investigación se llevó a cabo de la poza cristalina con una altitud de 665 msnm con las coordenadas de 0390659 este; 8968697 Norte y de las desviaciones estacionales del río Huallaga con una altitud de 659 msnm con las coordenadas de 0390766 este; 8968450 Norte, de la Provincia de Leoncio Prado - Huánuco.

##### **3.1.3. Características ambientales del lugar de muestreo**

El clima en distrito de Rupa - Rupa de la provincia de Leoncio Prado es muy variado con precipitaciones alcanzan los 3000 mm a 3400 mm al año

aproximadamente, la temperatura varía entre 19 °C – 38 °C, la humedad promedio anual de 80%.

Los puntos de colección de muestras se realizaron a través de la carretera central entre la ciudad de Tingo María- Huánuco en la poza cristalina a 2.18 km y las pozas de las desviaciones estacionales de Huallaga a 2.52 km aproximadamente desde la puerta 1 de la Universidad Nacional Agraria de la selva.

### **3.2. Materiales y equipos**

En el presente trabajo se hizo uso de materiales de origen biológico y químico, de acuerdo a ello se usaron numerables equipos para determinar de manera cuantitativa los resultados sobre la biorremoción de plomo mediadas por microalgas.

#### **3.2.1. Material biológico**

El material de origen biológico se basa netamente en recolección de poblaciones de microalgas entre las posiblemente se encontrarían: *Actinotaenium sp*, *Scenedesmus sp*, *Chlorella sp* y la *Spirogyra sp* entre otros

#### **3.2.2. Materiales químicos**

Sulfato de plomo ( $PbSO_4$ ), Ácido nítrico ( $HNO_3$ ), Nitrato de potasio ( $KNO_3$ ), Fosfato de sodio dodecahidrato dibásico ( $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ ), Cloruro de calcio hexahidratado ( $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ ), tricloruro de hierro ( $FeCl_3$ ), Bicarbonato de sodio ( $NaHCO_3$ ).

### **3.2.3. Equipos**

pH-metro marca Orión Thermo Scientific, Multiparámetro marca – Hanna, ICP-OES marca - Horiba, Balanza analítica marca Ohaus 0 / 200g, Estufa marca Thermo Scientific, Termómetro ambiental, marca Thermo Scientific, Laptop, marca AZUS Core i7, Cámara digital KODAK AF 3X óptica aspheric lens, Centrífuga american, Microscopio óptico Leica, SEM (microscopio electrónico).

## **3.3. Metodología**

### **3.3.1. Montaje del fotobiorreactor de columna**

El montaje de los fotobiorreactores fue diseñado incluyendo cuatro soportes en la base de madera de 10 cm y dos soportes circulares que facilitan el acoplamiento de los 5 tubos de 55 cm de largo y 4.3 cm de diámetro dando lugar a un volumen total del fotobiorreactor de 600 ml, con volumen de trabajo de 570 mL, adaptados a un temporizador programado cada 18 horas de luz y 6 horas oscuridad (fotoperiodo 18/6) creando condiciones artificiales similares a un ambiente natural, un sistema de electrificación de la luz de 1,600 Lumen de 20 watts para la fotosíntesis de las microalgas y tres sistema de aireación con bombas de oxígeno (AIR PUMP JUNIOR) con dos salidas de aire la que proporcionó un caudal de 3,5L/min para el crecimiento y desarrollo de las microalgas, más un frascos de 300 mL con solución saturada de NaCl como filtros para la oxigenación de los fotobiorreactores de columnas, de esta manera se pudo adaptar para un funcionamiento óptimo del sistema tal como se muestra en la figura 7.

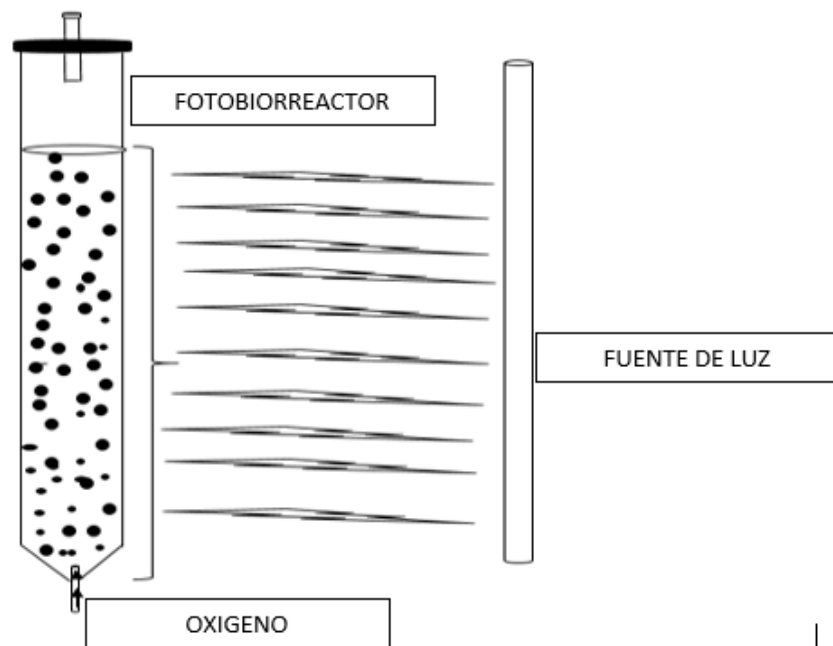


Figura 7. Diseño del fotobiorreactor para el crecimiento celular de las microalgas

### 3.3.2. Colecta de microalgas

La colecta de microalgas se realizó con matraces de 500 ml esterilizados, varilla y en algunos casos se tomaron muestra de agua a una profundidad menor a 20 cm de los puntos de muestreo de la poza de cristalina y las pozas formadas por la desviación estacional del río Huallaga para ser trasladada con una nevera portátil al Laboratorio de Microbiología general.

### 3.3.3. Aislamiento y adaptación de las microalgas

Luego de la colecta de diferentes tipos de microalgas se procedió con el aislamiento y adaptar en los cinco fotobiorreactores previamente esterilizados (MOLINA, 2003).

- Enriquecimiento: consistió en condicionar cultivos que favorezcan netamente a las microalgas, para este trabajo de investigación se

inoculo la muestra en el medio de cultivo de Allen – Nelson de acuerdo al cuadro 5.

- Aislamiento: La obtención de alícuotas de microalgas se realizó mediante frascos de 50 mL para su posterior centrifugación para luego separar el sobrenadante que fue desechado y obtener el sedimento puro de alícuotas de microalgas
- Adaptación: luego del aislamiento de cepas y biomasa de microalgas, se realizó la adaptación en cinco fotobiorreactores de columnas con los nutrientes adecuados y controlando los parámetros fisicoquímicos adecuados (luz, OD, pH, T°) durante 15 días.

Cuadro 5. Medio de cultivo de ALLEN – NELSON modificada

<b>Solución</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Cantidad</b>
A	KNO <sub>3</sub>	20 g
	H <sub>2</sub> O	100 mL
B	Na <sub>2</sub> HPO + 12H <sub>2</sub> O	4 g
	CaCl <sub>2</sub> + 6H <sub>2</sub> O	4 g
	FeCl <sub>3</sub>	2 g
	NaHCO <sub>3</sub>	0.005 g
	NaCl	0.1 g
	H <sub>2</sub> O	80 mL

Fuente: ALLEN – NELSON (1910)

Para la preparación del medio de cultivo se agregó 2 mL de la solución A, 1 mL de la solución B en matraz de 1 L de agua destilada lo cual fue

llevado a baño maría por un tiempo de 20 minutos a una temperatura de 70°C, luego se le agregara vitaminas (1 cápsula de complejo B), generando condiciones adecuadas.

### 3.3.4. Concentraciones de plomo en el medio acuoso

Las soluciones de plomo de concentraciones: 10, 50, 100, 200 mg/L, se prepararon a partir de una solución estándar de 200 mg/L de plomo, teniendo en cuenta la ecuación de dilución siguiente.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \quad (4)$$

Donde:

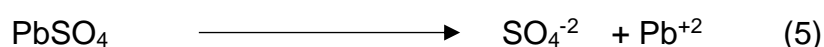
$C_1$  = Concentración madre de sulfato de plomo

$V_1$  = volumen de la concentración requerida

$C_2$  = concentración de plomo dada

$V_2$  = volumen estándar

En la preparación de la solución estándar de plomo, se tuvo en consideración la ecuación y fórmulas siguientes.



$$[mg/L(sustancia)] = \frac{\text{peso de la sustancia}(g)}{\text{volumen de la solución}(ml)} \times 10^6 \quad (6)$$

$$W_{\text{sustancia buscada}} = \frac{PM \text{ PbSO}_4}{PM \text{ Pb}} \times W_{\text{Pb}} \quad (7)$$

Luego de este proceso se depositaron las muestras de microalgas purificadas con agua destilada en los fotobiorreactores junto al medio de cultivo

por espacio de 15 días que fueron usadas como algas eficientes para la biorremoción del metal plomo, teniendo en cuenta el pH, la intensidad de Luz y el oxígeno disuelto (OD).

Por otra parte, la preparación del volumen de trabajo de los cinco fotobiorreactores se determinó a partir de la siguiente fórmula.

$$V_t = V_{contaminante} + V_{inoculo/biomasa} + V_{nutriente} \quad (8)$$

Donde:

$V_{contaminante}$  = volumen del contaminante a diferentes concentraciones

$V_{inoculo/biomasa}$  = volumen de la cepa/ biomasa de microalgas

$V_{nutriente}$  = volumen de nutrientes (medio de cultivo)

### 3.3.5. Resistencia de las microalgas al metal plomo

Para la determinación del nivel de resistencia de las microalgas frente a diferentes concentraciones de plomo, se evaluó el crecimiento y el grado de tolerancia en función al tiempo de exposición, donde se realizaron mediante la combinación de 20 mL de inóculo de cepas de microalgas y 4 g de masa húmeda de *Spirogyra sp* aisladas de la poza cristalina y de las desviaciones estacionales de río Huallaga con las concentraciones de 10, 50, 100, 200 mg/L de plomo a partir de  $PbSO_4$  más 50 mL de medio de cultivo. Donde la unidad experimental es representada por 5 fotobiorreactores de 570 mL de trabajo total, se incubaron a 28° C e y fotoperiodo de (18/6h) de luz blanca los cuales se midieron el crecimiento celular cada 3 días durante 15 días de evaluación.

**a) Crecimiento de biomasa de la *Spirogyra sp***

El procedimiento del incremento de la biomasa (masa viva de la *Spirogyra sp* sobre el volumen de la solución), esto se realizó mediante el uso de la balanza analítica de 200 g de capacidad, pesando la masa húmeda inicial y el peso de la masa final.

- En primer lugar, se pesó 4 g de *Spirogyra sp* antes del tratamiento por separado para los 5 tratamientos que fueron recolectada y adaptada en el laboratorio previamente purificada con agua destilada.
- En segundo lugar, se pesó la masa viva después del tratamiento, luego de la exposición al metal durante un tiempo de 15 días de evaluación.
- En tercer lugar, se evaluó el grado de tolerancia a diferentes concentraciones de plomo.
- Al final se determinó el incremento de la biomasa en gramos por litro.

**b) Crecimiento celular de las microalgas**

Para la evaluación del crecimiento celular de las microalgas se basó principalmente en la cantidad de concentración de plomo y el tiempo de exposición, realizados durante 15 días de evaluación, mediante el recuento de la cámara de Newbauer con una magnificación inicial de 10 se tomó una gota de agua que equivale a 1 mL de cada tratamiento del fotobiorreactor, se contaron en 4 campos en la cámara, a la sumatoria de los campos se multiplicará por 16 (total de campos) y se multiplicará por 10000 por ser el factor de conversión como se muestra en la ecuación (9).

$$\text{crecimiento} \frac{\text{celular}}{\text{ml}} = \Sigma_{\text{campos}} \times 16 \times 10000 \quad (9)$$

El procedimiento para el recuento de la densidad celular de las microalgas mediante la cámara de Neubauer, donde se muestra en la (figuras 8), donde se retiró un mililitro de alícuota de microalga para ser lleva al cámara y luego cubrirlo con la porta objeto.

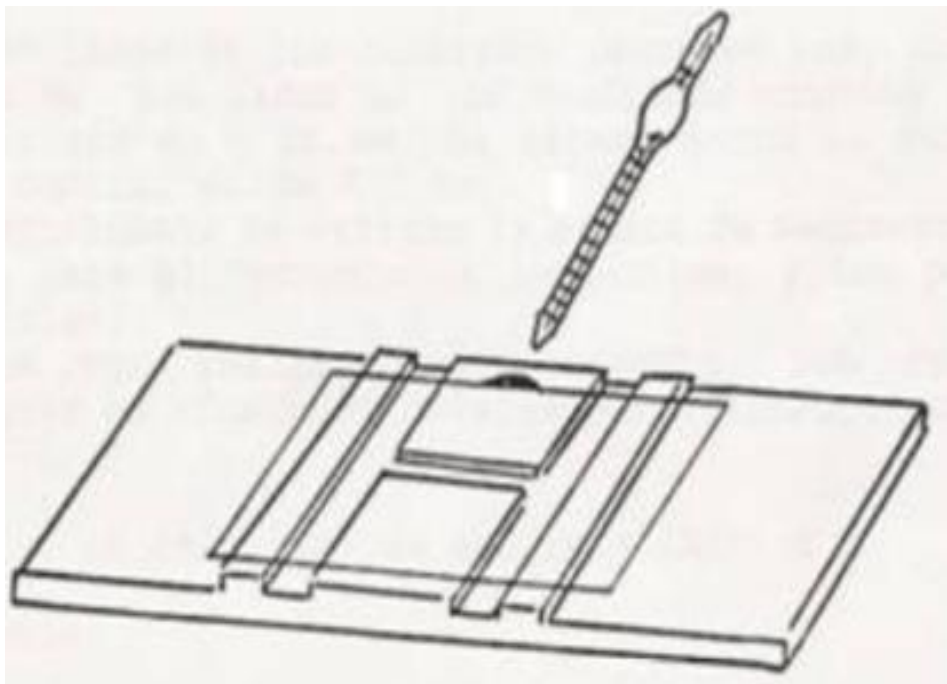


Figura 8. Montaje del cubre objeto en la cámara de recuento de Neubauer

Luego de tres minutos de espera para que las densidades celulares de las microalgas se posen en el fondo de la cámara, para que las células que están sobre o cerca de las líneas de limitación de cada cuadradito no se cuenten dos veces o no se cuenten, es por ello que se tuvo que tenerse al criterio de contar únicamente las células apoyadas sobre las líneas izquierda y superior; o contar solo las células apoyadas sobre las líneas derecha e inferior, así como se muestra en la figura 9.

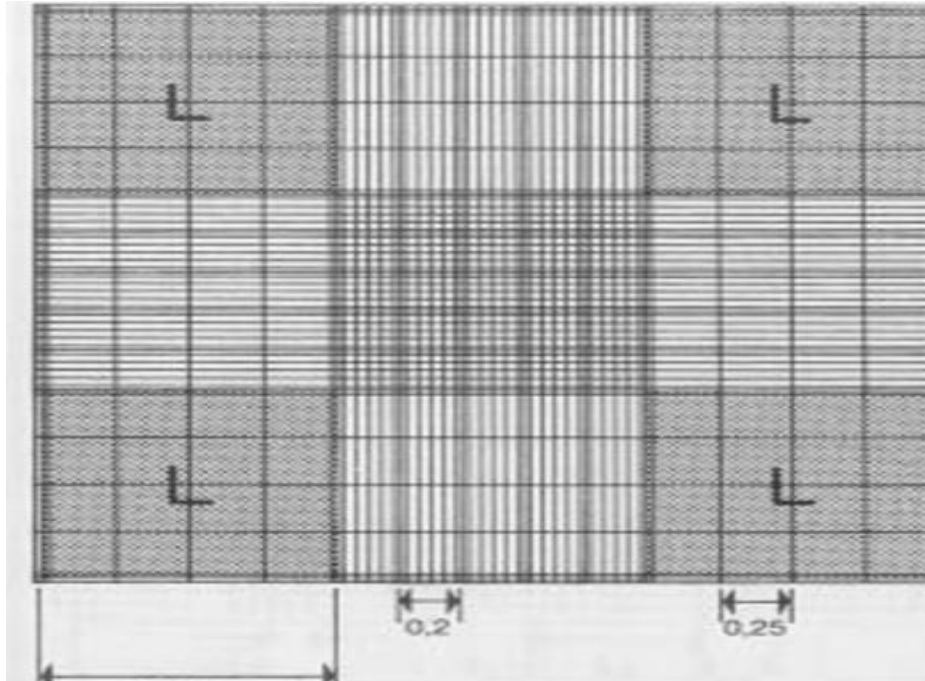


Figura 9. Contabilización de los crecimientos celulares utilizando los cuadros

### **3.3.6. Nivel de biorremoción mediante porcentaje de eficiencia, capacidad de adsorción plomo de soluciones acuosas**

Los análisis de biorremoción se llevó a cabo del medio acuso por separado de los cinco fotobiorreactores de columnas de acuerdo a la concentración inicial y final del metal plomo de las tres repeticiones realizadas.

#### **a) Lectura de la concentración final de plomo mediante la Espectrofotómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)**

El procedimiento de basa netamente en que un plasma de radiofrecuencia acoplado inductivamente (ICP) genera los correspondientes espectros de líneas de emisión atómicas. Los haces de luz son dispersados por un espectrómetro de red de difracción y los detectores se encargan de medir las

intensidades de las líneas. Las señales originadas en los detectores se procesan y controlan mediante un sistema informático (GADD, 1993).

Para el presente trabajo de investigación se hizo uso del equipo de ICP – OES para el análisis de la muestra líquida de los 5 tratamientos para ver el porcentaje de absorción de plomo por parte de las microalgas.

#### **b) Metodología de la digestión de la muestra**

El extracto resulto de la digestión líquida de la muestra, método propuesto por (GARCIA 1985).

En primera instancia se añadió 10 mL de ácido nítrico al 100% de pureza en 25 mL de muestra líquida para un posterior lavado de la muestra. Este proceso se repetirá 15 veces para los 5 tratamientos de cada columna tal como se muestra a continuación.

- Se retiraron 25 ml muestras líquidas de cada tratamiento más 10 mL de ácido nítrico (rotulados matraces de 25 mL esterilizados) serán llevadas a dos hornillas en un tiempo de 4 a 5 horas
- Se dejó enfriar las muestras y después se colocaron en fioles debidamente rotulados y enrasados con agua destilada a 25 mL.
- Luego se procedió a leer la lectura en el ICP

#### **c) Eficiencia de biorremoción**

La eficiencia se obtuvo a partir de las concentraciones iniciales y finales de plomo, donde las mediciones de las lecturas de plomo se llevaron a cabo con la ayuda del espectrofotómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) del laboratorio de investigación central de la UNAS,

para luego determinar la eficiencia de remoción mediadas por las microalgas tal como se muestra en la siguiente ecuación.

$$\% \text{ de biorremoción} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \quad (7)$$

Donde:

$C_i$  = concentración inicial de la muestra de Plomo

$C_f$  = concentración final de la muestra de Plomo

#### **d) Capacidad o equilibrio del proceso de bioadsorción**

Se evaluó el comportamiento de la bioadsorción en función del tiempo de contacto del metal a la biomasa de microalgal con la solución hasta encontrar el tiempo de equilibrio del proceso, este proceso se llevó acabo en fotobiorreactores de columnas de manera cerrada. El procedimiento consistió en evaluar la biomasa de las microalga vivas que actúan como biosorbente en una solución de 570 ml de volumen de trabajo con las concentraciones iniciales de plomo de (10, 50, 100, 150, 200 mg/L) en un tiempo de 15 días hasta encontrar la capacidad máxima de adsorción mediante la observación del microscopio electrónico de barrido (SEM), tal como se como se muestra en la ecuación (1).

#### **e) Modelo de Isotherma de Freundlich**

El procedimiento se basa principalmente en linealizar el modelo de isoterma de Freundlich como se muestra en la ecuación (3), de modo que se puedo hallar la capacidad máxima de adsorción en un tiempo dado, además se

pudo predecir la constante que indican la afinidad al metal por los sitios activos de biosorbente de la biomasa viva.

### **3.3.7. Identificar el género de microalgas removedoras de Plomo**

Se preparó las muestras de microalgas para observarlas al microscopio óptico en diferentes concentraciones. El estudio en vivo de la muestra de microalgas se desarrolló durante las tres repeticiones sin y con tratamiento, realizada en el presente trabajo de investigación obteniendo las muestras de cada fotobiorreactor de columna.

Preparación húmeda: para observar las microalgas se puso una gota del líquido que los contiene (volumen de trabajo) sobre los portaobjetos, y se manipulo el cubreobjetos con cuidado para no dejar formarse las burbujas de aire y así poder observar el tamaño, movimiento y estabilidad de las microalgas presentes en el medio acuoso; esto permitió una observación minuciosa de las estructuras de las células de algas que por comparación en los claves taxonómicos se llegó a identificar el género de la microalga.

#### **a) Lista de claves taxonómicas (Género)**

Las claves de clasificación taxonómica se llevaron a cabo según BICUDO y MENEZES (2006) para microalgas, donde se hizo un registro fotográfico de las muestras para posteriormente usar las claves taxonómicas o dicotómicas.

## **3.4. Variables experimentales**

### **3.4.2. Variables dependientes**

- Nivel de eficiencia de biorremoción de plomo (%)

### 3.4.3. Variables independientes

- Concentración de Plomo (mg/L)

### 3.4.4. Variables de control

- pH
- Temperatura
- Oxígeno disuelto (OD)
- Intensidad de la luz

## 3.5. Diseño experimental

Los tratamientos y las réplicas se asignan al azar a las unidades experimentales. Se obtuvo un diseño experimental de diferentes concentraciones de contaminante de plomo (10, 50, 100, 200mg/L), por un tiempo de 15 días calendarios como se muestra en la (figura 10).

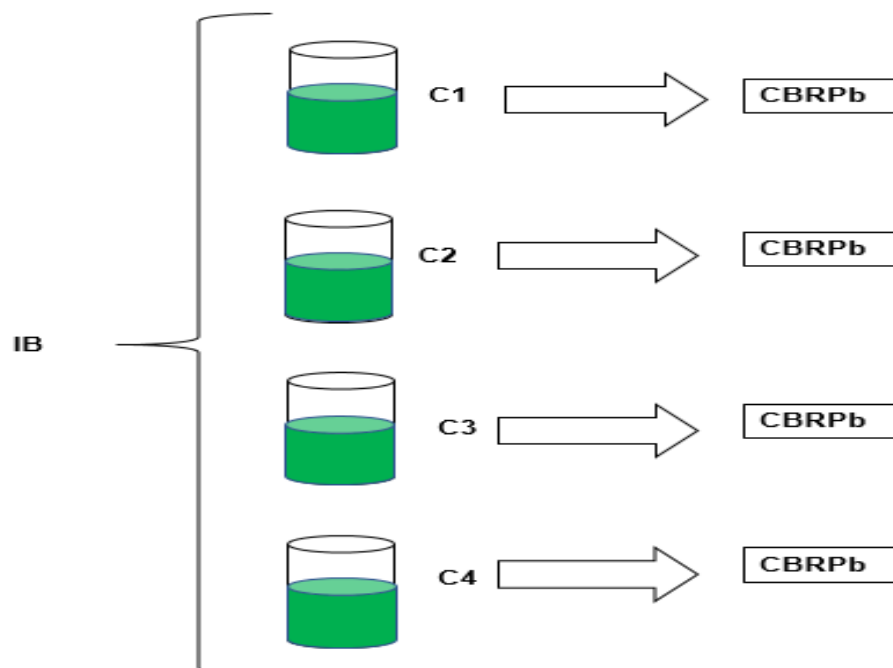


Figura 10. Diseño estadístico

Donde:

IB: Inoculo/ biomasa de las microalgas

C1, C2, C3, C4: Concentraciones de plomo (10, 50, 100, 200mg/L)

CBRPb: Capacidad de biorremoción de plomo.

La descripción de los tratamientos se muestran en el (cuadro 6), donde indica la cantidad de repeticiones en función a las concentraciones

Cuadro 6. Descripción de los tratamientos

<b>Tratamientos</b>	<b>Contaminante (mg/L)</b>	<b>Repeticiones</b>
T <sub>0</sub>	Control	3
T <sub>1</sub>	10	3
T <sub>2</sub>	50	3
T <sub>3</sub>	100	3
T <sub>4</sub>	200	3

### **3.5. Ajuste estadístico**

#### **3.5.1. Análisis de variable**

En el presente trabajo de investigación se utilizó el diseño completamente al azar (DCA) que exige unidades experimentales homogéneas. Para el ajuste estadístico se realizó un ANOVA Multifactorial con 4 tratamientos y 3 repeticiones, evaluados en un tiempo de 15 días, utilizando el programa de infostat en español para determinar el análisis estadístico con el nivel de significancia de 5% (GARCÍA y PORRAS, 1998).

Cuadro 7. Análisis de varianza (ANOVA)

<b>Fuentes de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F<sub>c</sub></b>	<b>F<sub>t</sub></b>
Tratamiento	t - 1	ST - e	SC <sub>tra</sub> /Gl <sub>tra</sub>	CM <sub>tra</sub> /CM <sub>e</sub>	F <sub>C</sub> > F <sub>T</sub>
Error	t(r-1)	SCT - SC <sub>tra</sub>	SC <sub>error</sub> /Gl <sub>error</sub>		
Total	t.r - 1				

### 3.5.2. Prueba de Tukey

Para el contraste de las medias se utilizó la prueba estadística Tukey al 5% de error a fin de determinar la similitud entre los tratamientos si diferencias significativas, para un nivel de significación 5%.

### 3.5.3. Coeficiente de Variabilidad

El coeficiente de variación es básicamente medio la relación entre la desviación típica de la muestra y su media y los datos que se expresa en porcentaje en la cual se comparara el respectivo valor y la desviación estándar.

$$CV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100$$

A continuación, se muestra los grados de variabilidad de los datos según el coeficiente de variabilidad, menos de 10% variabilidad baja, 10% a 30% variabilidad moderada, más del 30% la variabilidad alta (CASTILLO, 2008).

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Resistencia de las microalgas frente a diferentes concentraciones de Plomo

#### 4.1.1. Resistencia de *Scenedesmus sp* a diferentes concentraciones de plomo

La figura 11 nos muestra el grado de resistencia de *Scenedesmus sp* a diferentes concentraciones de plomo (control, 10, 50, 100, 200 mg/L), en un tiempo determinado de 15 días, donde se observa que la resistencia máxima se llevó a cabo en el T3 del décimo día, para ello realizó la preparación del volumen de trabajo del fotobiorreactor de columna a 570 ml, evaluándose los recuentos de crecimiento celular con la cámara de Newbauer.

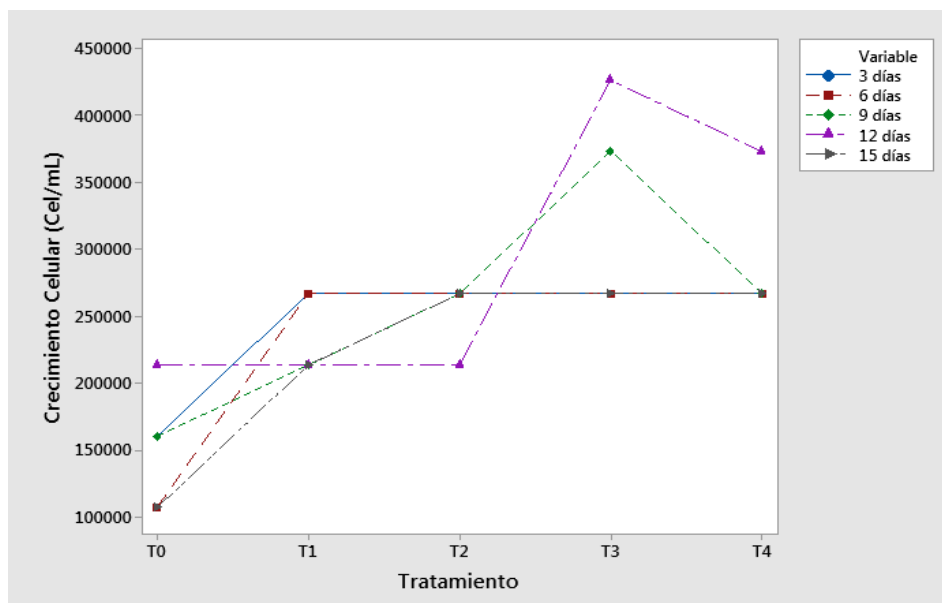


Figura 11. *Scenedesmus sp* en función al tiempo de exposición del plomo

El cuadro 8, nos muestra el análisis de varianza para los promedios del crecimiento celular de *Scenedesmus sp* registrados luego de 15 días, donde nos muestra que el análisis es altamente significativo con un valor de p-valor de 0.0002.

Cuadro 8. ANOVA de la resistencia de *Scenedesmus sp*

<b>F.V.</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Concentración	4	8.37E+10	2.09E+10	9.2	0.0002
Error	20	4.55E+10	2.28E+09		
Total	24	1.29E+11			

CV (coeficiente de variación) = 19.11 %

De modo que existe significancia entre las concentraciones de plomo, se determinó mediante la prueba de tukey la influencia en la resistencia y crecimiento de la *Scenedesmus sp*, donde se observa que los resultados fueron heterogéneos, tal como se muestra en el cuadro 9 y figura 12.

Cuadro 9. HSD Prueba de tukey para la resistencia de *Scenedesmus sp*

<b>Plomo (mg/L)</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Subconjuntos</b>
0	149333.4	5	19955.43	A
10	234666.6	5	19955.43	A B
50	256000.2	5	19955.43	B
100	320000.2	5	19955.43	B
200	288000.2	5	19955.43	B

DMS (diferencia mínima significativa) = 90279.46818, Alfa = 0.05

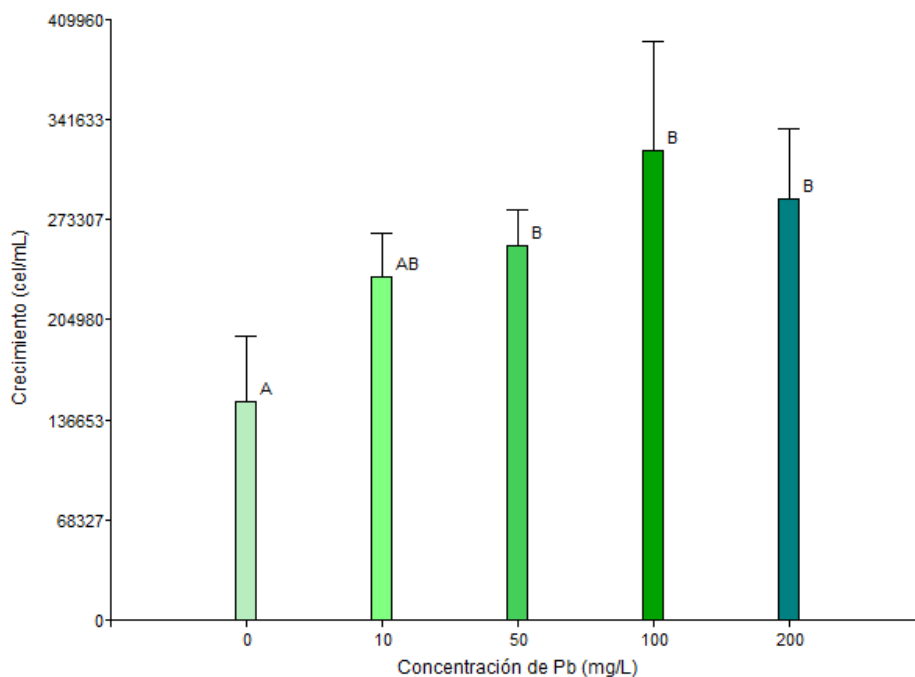


Figura 12. Resistencia de *Scenedesmus sp* durante los 15 días de evaluación

#### 4.1.2. Resistencia de *la Chlorella sp* a diferentes concentraciones de plomo

La figura 13 nos muestra la resistencia de la *Chlorella sp* a diferentes concentraciones de plomo (control, 10, 50, 100, 200mg/L) en un tiempo de evaluación de 15 días, donde indica que existe crecimiento celular optima hasta el tratamiento 3, del décimo día de evaluación y posterior a ello presenta un decaimiento celular. Esta evaluación se llevó gracias a la preparación del volumen de trabajo a los cinco fotobiorreactores de columnas un volumen de 570ml, conteniendo los siguientes: 50ml de medio de cultivo, 20 ml de cepa/ biomasa y la diferencia se enrasaba con agua destilada hasta obtener el volumen de trabajo optimo, de microalgas, evaluándose los recuentos de crecimiento celular con la cámara de Newbauer

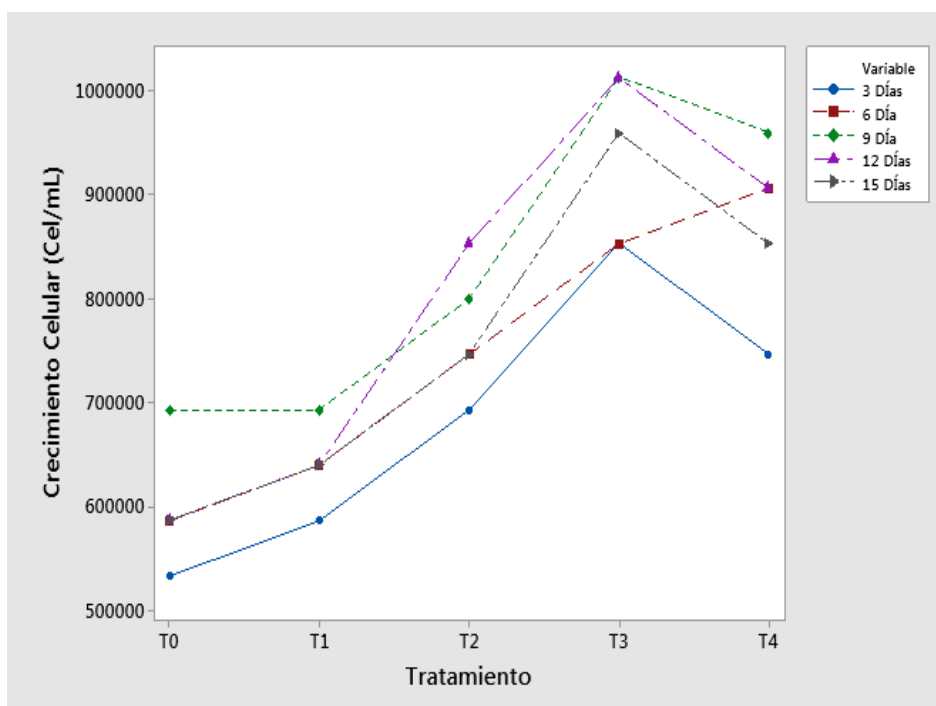


Figura 13. *Chlorella sp* en función al tiempo de exposición del plomo

El cuadro 10, nos muestra el análisis de varianza para los promedios de la resistencia y/o crecimiento celular de *Chlorella sp* registrados luego de 15 días, donde nos muestra que el análisis es altamente significativo con un valor de p-valor de <0.0001.

Cuadro 10. ANOVA de la resistencia de *Chlorella sp*

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Concentración	4	4.2962E+11	1.0741E+11	24.84	<0.0001
Error	20	8.6471E+10	4323547378		
Total	24	5.16E+11			

CV (coeficiente de variación) = 8.61 %

Con la prueba de tukey se determinó que la influencia del plomo en la resistencia y/o crecimiento de la *Chlorella sp* a distintas concentraciones fue heterogénea, tal como se muestra en el cuadro 11 y figura 12.

Cuadro 11. HSD Prueba de tukey para la resistencia de *Chlorella sp*

Plomo (mg/L)	Medias	n	Error estándar	Subconjuntos
0	597333.4	5	19955.43	A
10	640000	5	19955.43	A
50	768000	5	19955.43	B
100	938666.4	5	19955.43	B
200	874666.8	5	19955.43	BC

DMS (diferencia mínima significativa) =124441.74, Alfa=0.05

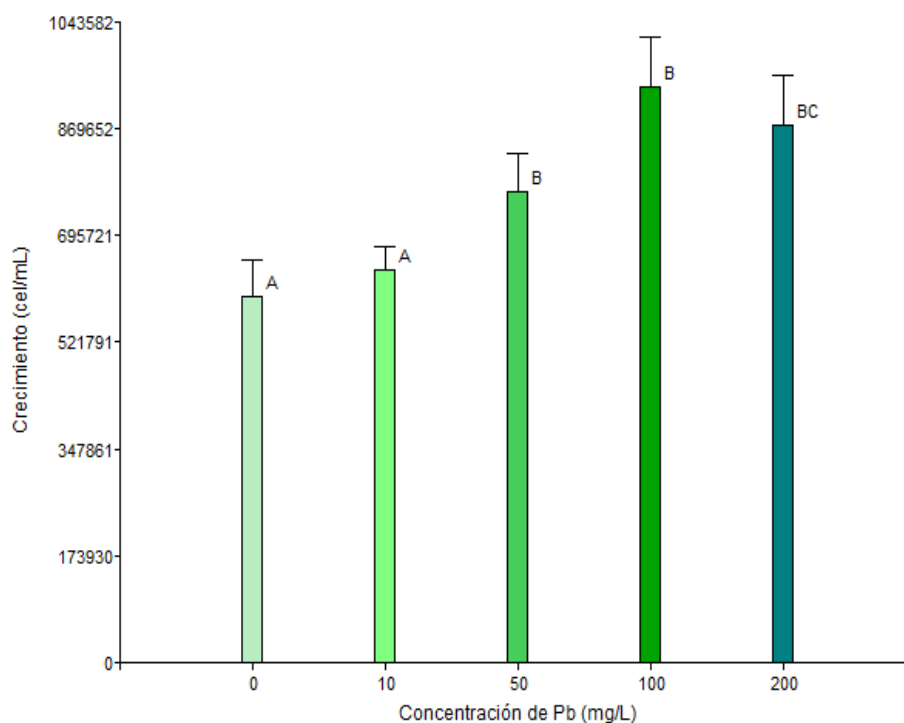


Figura 14. Resistencia de *Chlorella sp* en los 15 días de evaluación

#### 4.1.3. Resistencia de la *Spirogyra sp* a diferentes concentraciones de plomo

Para determinar la resistencia de la *Spirogyra sp* a diferentes concentraciones de plomo (control, 10, 50, 100, 200 mg/L), en primer lugar, se preparó el volumen de los cinco fotobiorreactores de 570 ml de trabajo con 50ml de medio de cultivo y 20 ml de cepa/ biomasa de microalgas, evaluándose mediante los pesos en un tiempo de 15 días de evaluación.

Para la cuantificación del incremento de biomasa de la *Spirogyra sp*, se realizó mediante pesos húmedos ( $W_{hi}$  y  $W_{hf}$ ) y el volumen del sistema por cada tratamiento tal como se muestra en la figura 15, donde indica que el incremento de la biomasa se llevó hasta el tratamiento 3 con una biomasa de 7.863 g/L, en el tratamiento 4 se puede apreciar un breve decaimiento debido al estrés del metal.

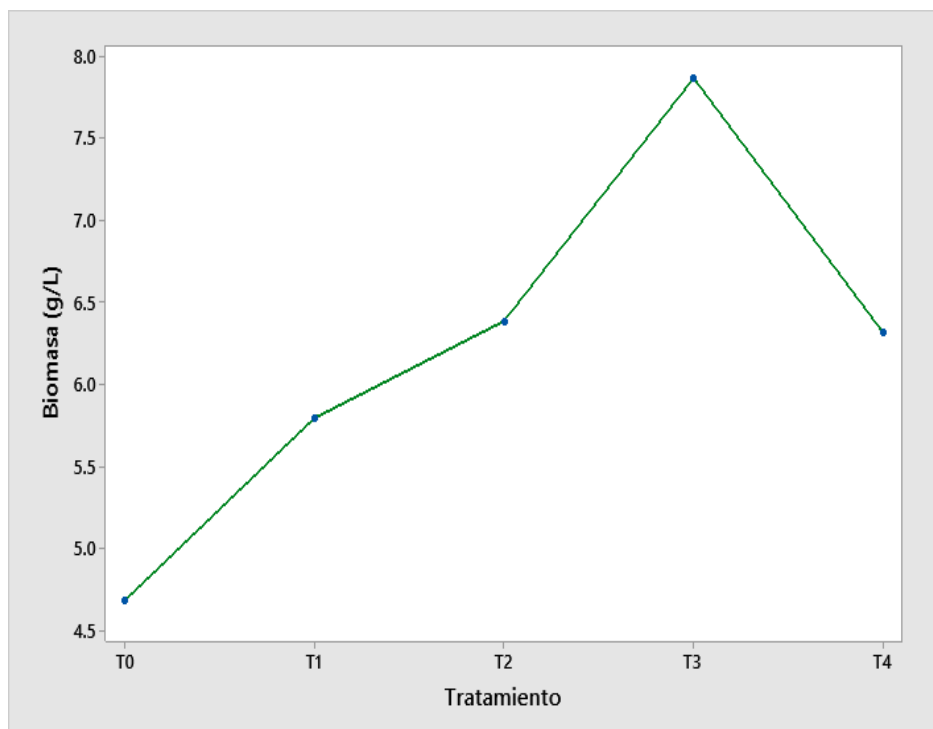


Figura 15. *Spirogyra sp* en función al tiempo de exposición del plomo

El cuadro 12 nos muestra el análisis de varianza para los promedios de la resistencia y crecimiento celular de *Spirogyra sp* registrados luego de 15 días, se puede observar que el análisis fue altamente significativo con un valor de p-valor de  $< 0.0001$ .

Cuadro 12. ANOVA de la resistencia de *Spirogyra sp*

<b>F.V.</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Concentración	4	15.84	3.96	102.92	$< 0.0001$
Error	10	0.38	0.04		
Total	14	16.22			

CV (Coeficiente de variación) = 6.16 %

De modo a la existencia de significancia estadística entre tratamientos, se pudo determinar con la prueba de tukey la influencia del plomo con respecto a la resistencia y el incremento de biomasa de la *Spirogyra sp* fue heterogénea a distintas concentraciones (0, 10, 50, 100, 200 mg/L) de plomo, tal como se muestra en el cuadro 13 y figura 16.

Cuadro 13. HSD Prueba de tukey para la resistencia de *Spirogyra sp*

<b>Plomo (mg/L)</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Subconjuntos</b>
0	4.68	3	0.11	A
10	5.79	3	0.11	B
50	6.31	3	0.11	BC
100	7.86	3	0.11	D
200	6.38	3	0.11	C

DMS (diferencia mínima significativa) = 0.52702 Alfa=0.05

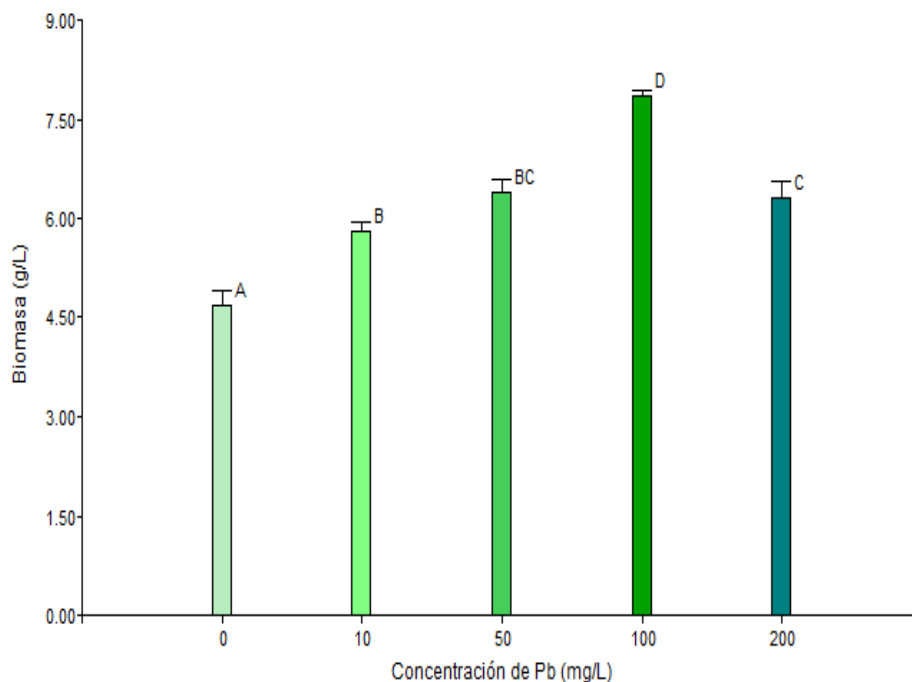


Figura 16. Resistencia de la *Spirogyra sp* en los 15 días de evaluación

#### 4.2. Nivel de biorremoción mediante porcentaje de eficiencia, capacidad de adsorción de plomo en soluciones acuosas

##### 4.2.1. Determinación de la concentración de plomo después del tratamiento

Los resultados obtenidos con el ICP-OES de las concentraciones finales plomo de la muestra líquida del tratamiento se muestran en la figura 17, donde se pueden observar que las concentraciones finales aumentan en proporción a las concentraciones añadidas a cada tratamiento.

Estos resultados de la concentración final de plomo del medio acuoso nos indican que las microalgas son capaces de biorremover el plomo a un tiempo y concentración determinada.

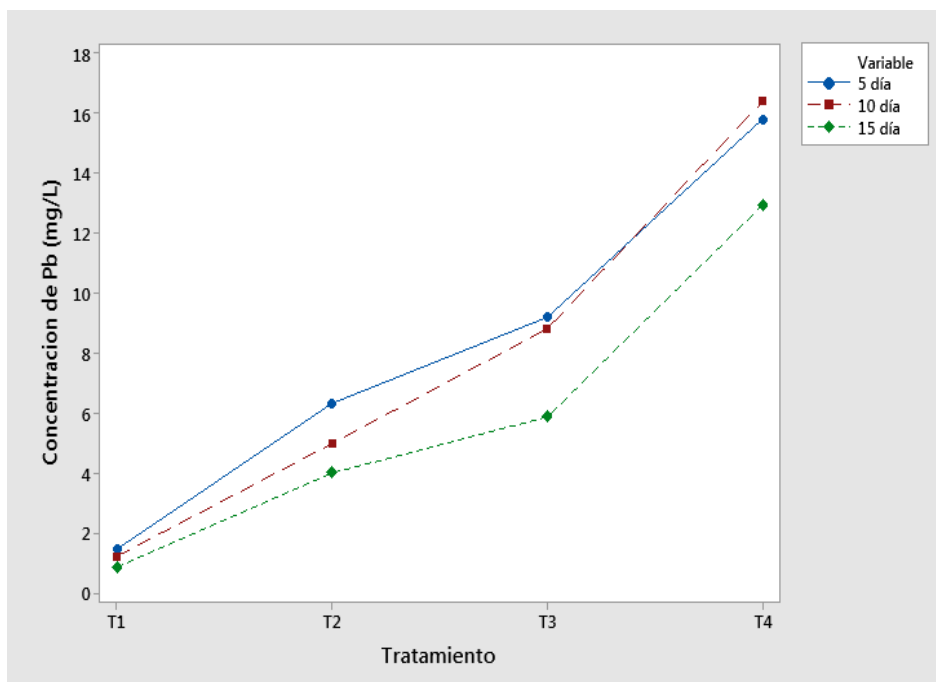


Figura 17. Concentraciones finales plomo después del tratamiento

El análisis de varianza muestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos respecto a la remoción de plomo mediadas por microalgas registrados luego de 5 días como se muestra en el cuadro 14, se obtuvo que el análisis fue altamente significativo con un valor de p-valor de  $< 0.0001$ .

Cuadro 14. ANOVA de las concentraciones finales de plomo del día 5

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	3	388.77	129.59	50.85	$< 0.0001$
Error	8	20.39	2.55		
Total	11	409.16			

CV (Coeficiente de variación) = 19.89 %

De acuerdo a la existencia de la significancia estadística entre tratamientos del día 5, se determinó por la prueba de tukey que la influencia de

las concentraciones de plomo sobre la eficacia de biorremoción mediados por microalgas fue heterogénea cuadro 15 y figura 18.

Cuadro 15. Prueba de tukey para las concentraciones finales de plomo del día 5

Pb (mg/L)	Medias	n	Error estándar	subconjuntos
T1	1.15	3	0.92	A
T2	5.19	3	0.92	AB
T3	9.2	3	0.92	B
T4	16.57	3	0.92	C

DMS (diferencia mínima significativa) = 4.17 Alfa = 0.05

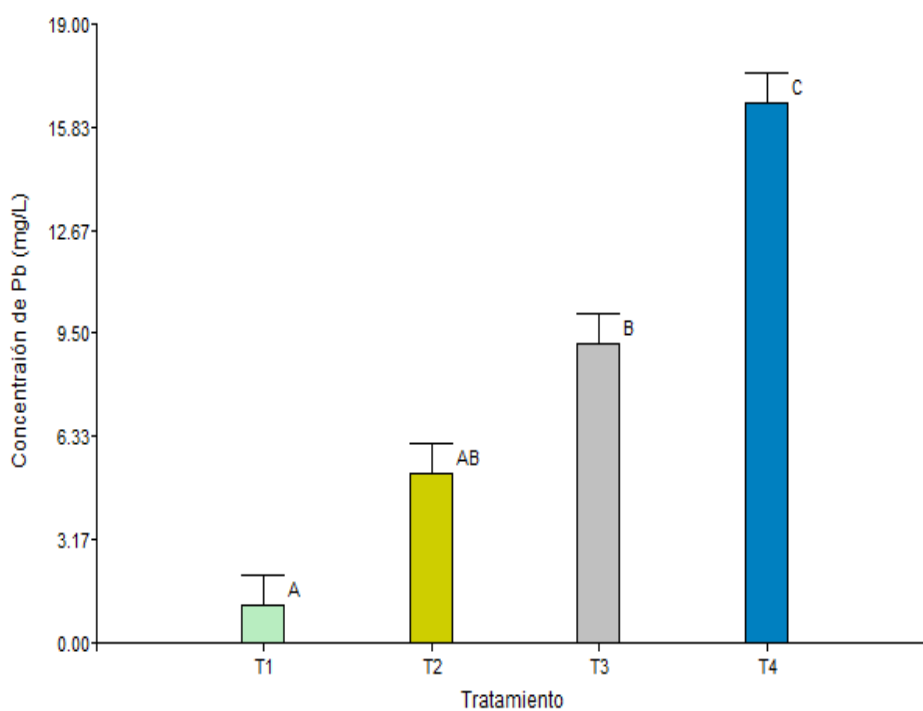


Figura 18. Grafica de la concentración final de plomo del día 5

El análisis de varianza demuestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos respecto a la remoción de plomo mediadas por microalgas

registrados luego de 10 días como se muestra en el cuadro 16, nos muestra que el análisis es altamente significativo con un valor de p-valor de  $< 0.0001$ .

Cuadro 16. ANOVA de las concentraciones finales de plomo del día 10

<b>F.V.</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	3	259.93	86.64	53.62	$<0.0001$
Error	8	12.93	1.62		
Total	11	272.86			

CV (coeficiente de variación) = 22.7 %

De acuerdo a la existencia de la significancia estadística entre tratamientos del día 10, se determinó por la prueba de tukey que la influencia de las concentraciones de plomo sobre la eficacia de biorremoción mediados por microalgas fue heterogénea cuadro 17 y figura 19.

Cuadro 17. Prueba de tukey para las concentraciones finales de plomo del día 10

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Subconjuntos</b>
T1	0.85	3	0.73	A
T2	3.11	3	0.73	AB
T3	5.27	3	0.73	B
T4	13.2	3	0.73	C

DMS (diferencia mínima significativa) = 3.32 Alfa = 0.05

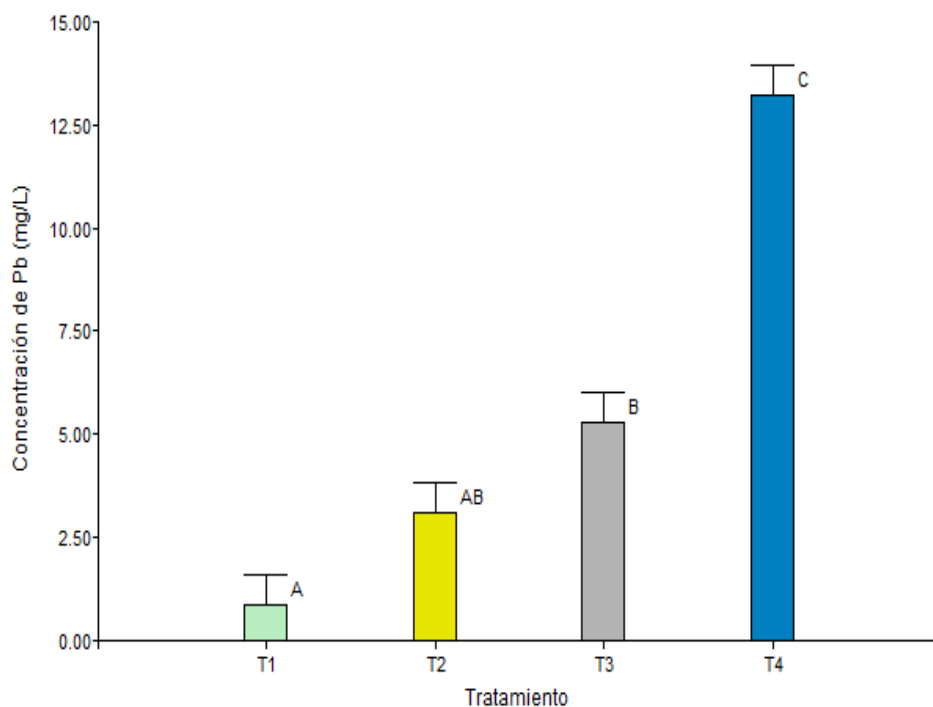


Figura 19. Grafica de la concentración final de plomo del día 10

El análisis de varianza demuestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos respecto a la remoción de plomo mediadas por microalgas registrados luego de 15 días como se muestra en el cuadro 18, nos muestra que el análisis es altamente significativo con un valor de p-valor de  $< 0.0001$ .

Cuadro 18. ANOVA de las concentraciones finales del día 15

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	3	334.47	111.49	44.7	$<0.0001$
Error	8	19.95	2.49		
Total	11	354.42			

CV (coeficiente de variación) = 22.97 %

De acuerdo a la existencia de la significancia estadística entre tratamientos del día 15, se determinó por la prueba de tukey que la influencia de

las concentraciones de plomo sobre la eficacia de biorremoción mediados por microalgas fue heterogénea cuadro 19 y figura 20.

Cuadro 19. Prueba de tukey para las concentraciones finales de plomo al día 15

Tratamiento	Medias	n	Error estándar	subconjunto
T <sub>1</sub>	1.11	3	0.91	A
T <sub>2</sub>	4.01	3	0.91	AB
T <sub>3</sub>	7.17	3	0.91	B
T <sub>4</sub>	5.23	3	0.91	C

DMS (diferencia mínima significativa) = 4.13 Alfa = 0.05

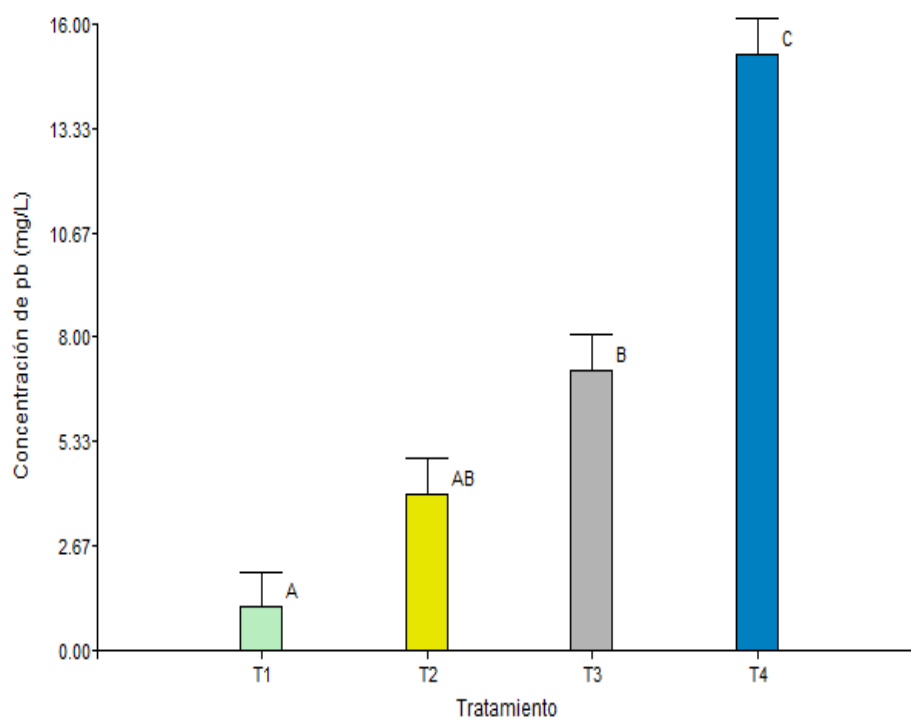


Figura 20. Grafica de la concentración final de plomo del día 15

#### 4.2.2. Eficiencia de biorremoción plomo

Los valores obtenidos de la eficiencia de biorremoción de plomo mediados por las microalgas en un tiempo de evaluación de 15 días, donde se obtuvieron mayor eficiencia en el tratamiento T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> con concentración de 100 mg/L y 200 mg/L, seguidas de menor eficiencia que se dieron en los tratamientos de T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> con concentraciones de 10 mg/L y 50 mg/L del medio acuoso.

En la figura 21 se muestra que el porcentaje de biorremoción de plomo supera el 80% que fue planteado en la hipótesis por lo que indica que las microalgas son eficientes en remover el plomo en el medio acuoso.

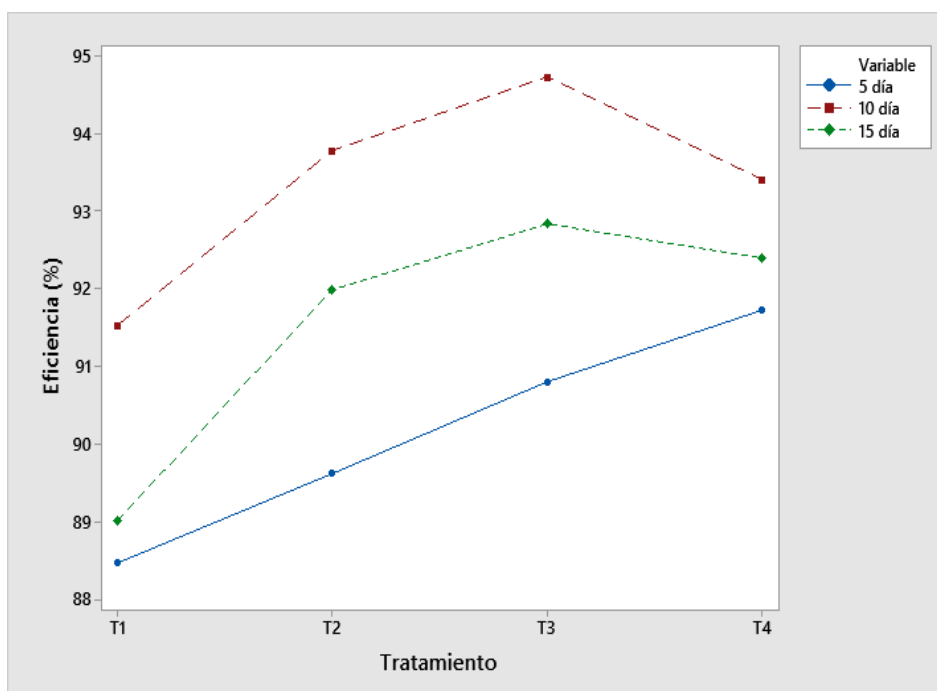


Figura 21. Eficiencia de biorremoción de plomo evaluada hasta el día 15

En la figura 22 nos muestra que la eficiencia máxima alcanzada se da en el décimo día, esto nos indica que la capacidad de adaptación y remoción de las microalgas se dio en el tratamiento tres con una concentración de plomo de 100mg/L a comparación del tratamiento cuatro que decae la eficiencia donde existe un decaimiento.

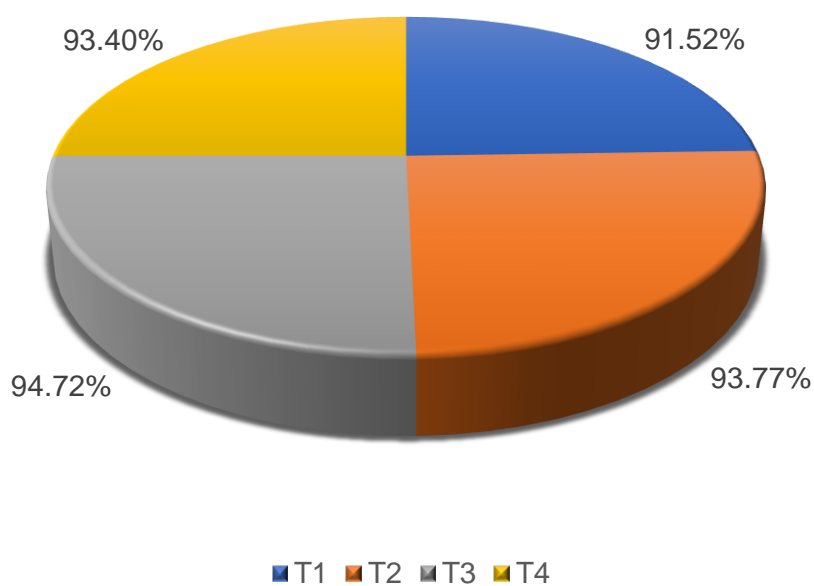


Figura 22. Eficiencia Máxima de biorremoción de plomo en el día 10

### 4.2.3. Capacidad o equilibrio del proceso de bioadsorción

Teniendo en cuenta la ecuación de equilibrio se graficó el modelo de bioadsorción de plomo como se muestra en la figura 23.

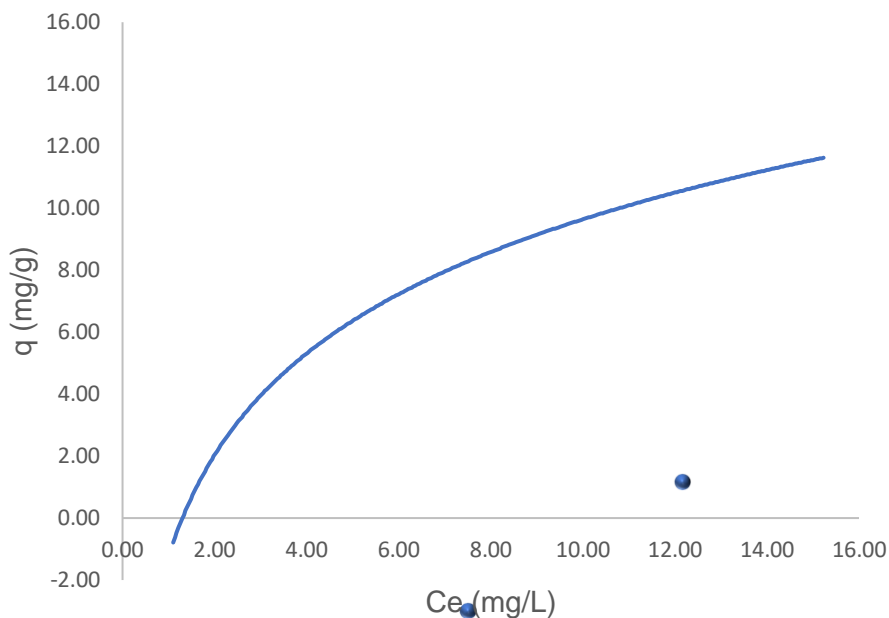


Figura 23. Bioadsorción de plomo en equilibrio mediada por la biomasa

En el resultado de la figura 24, se evaluó la capacidad de adsorción de plomo mediadas por la biomasa, puesta en contacto con el medio acuoso durante un tiempo de 15 días, tal como se muestra en el anexo (figura 46) donde se muestra que la capacidad de adsorción de plomo aumenta respecto a la concentración y el tiempo.

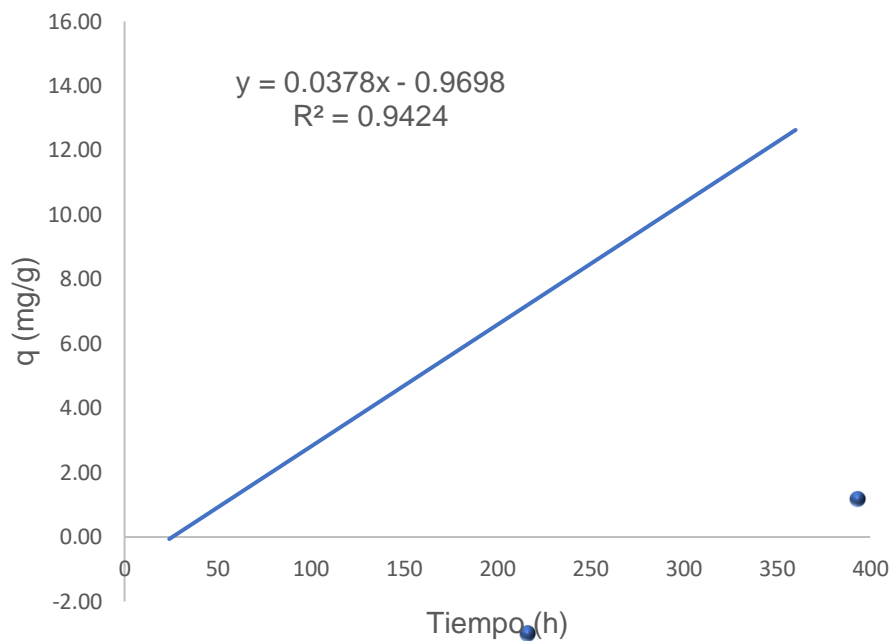


Figura 24. Modelo de equilibrio en función al tiempo de exposición

#### 4.2.3. Modelo de Isotherma de Freundlich para plomo

El resultado obtenido de la linealización de Freundlich, donde se aplicó para el análisis de los datos experimentales de equilibrio.

En la figura 25 nos muestra que este modelo presento un coeficiente de correlación  $R^2 = 0.9978$ , Esto nos indica que el mecanismo de bioadsorción de plomo usando la biomasa viva de microalgas se ajusta en un 99.78% al modelo de Freundlich. Los parámetros del modelo de Freundlich relacionado con la capacidad de adsorción de la biomasa de microalga ( $K_f$ ) y la intensidad de la adsorción ( $n$ ) obtenidas de la ecuación de la recta.

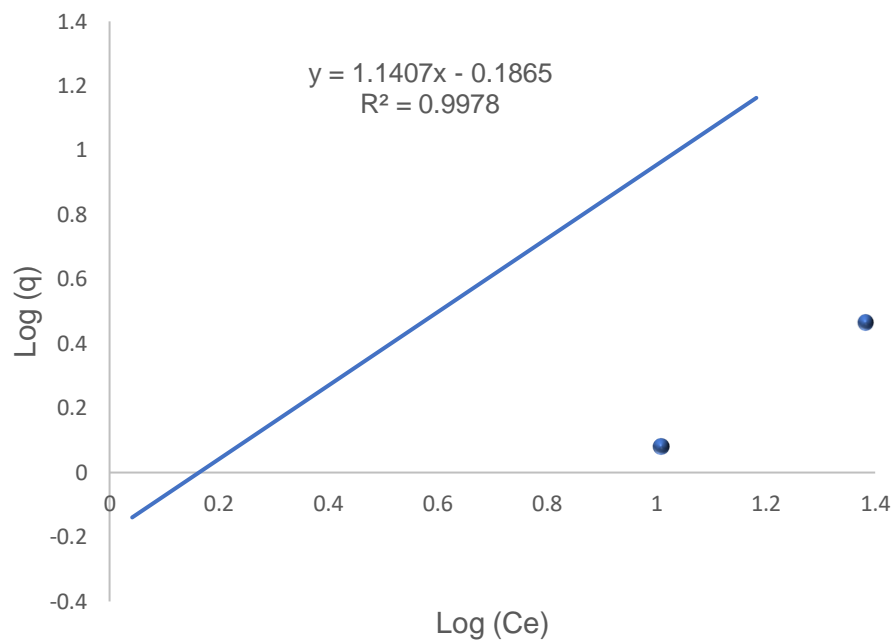
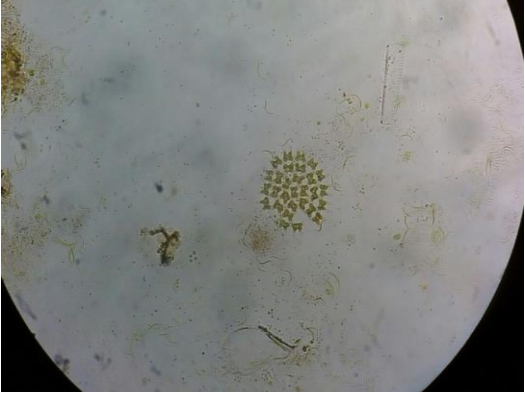
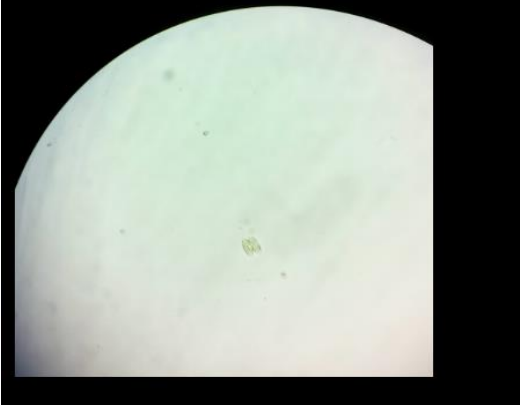



Figura 25. Isoterma de Freundlich linealizada para la adsorción de plomo

#### 4.3. Genero de microalgas que remueven el plomo




Se identificaron géneros de microalgas antes y después del tratamiento usando la clave dicotómica o taxonómica de las diferentes microalgas, las diatomeas no fueron identificadas por clave taxonómica ya que su abundancia relativa en el consorcio fue mínima, las microalgas en consorcio identificados el 84% fueron pertenecientes a la chorophyta y el resto pertenecientes a la diatomeas que en su mayoría también aportan como fotosintetisadoras (*Scenedesmus sp*, *Chlorella sp*) y *Spirogyra sp*) tal como se muestra en el cuadro 20.

Cuadro 20. Identificación de 3 morfotipos de microalgas antes del tratamiento

<p><b>A</b></p> 	<p><b>Genero</b></p> <p><i>Lacunastrum sp</i></p> <p>Vista al microscopio optico a un aumento de 40X</p>
<p><b>B</b></p> 	<p><b>Genero</b></p> <p><i>Navicula sp</i></p> <p>Vista al microscopio optico a un aumento de 40X</p>
<p><b>C</b></p> 	<p><b>Genero</b></p> <p><i>Actinotaenium sp</i></p> <p>Vista al microscopio optico a un aumento de 40X</p>

Se identificaron los géneros de microalgas capaces de remover el plomo del medio acuoso tal como se muestra en el cuadro 21.

Cuadro 21. Identificación de 3 morfotipos de microalgas después del tratamiento a diferentes según la clave taxonómica

 <p><b>A</b></p>	<p><b>Genero</b></p> <p><i>Scenedesmus sp</i></p> <p>Vista al microscopio optico a un aumento de 40X</p>
 <p><b>B</b></p>	<p><b>Genero</b></p> <p><i>Spirogyra sp</i></p> <p>Vista al microscopio optico a un aumento de 40X</p>
 <p><b>C</b></p>	<p><b>Genero</b></p> <p><i>Chlorella sp</i></p> <p>Vista al microscopio optico a un aumento de 40X</p>

## V. DISCUSIÓN

### 5.1. Resistencia de las microalgas a diferentes concentraciones de plomo de solución acuosa

Según los ensayos realizados por CHULLE Y VILLALOBOS (2016) demostraron que las resistencias de las microalgas se basaban principalmente en el tiempo de exposición a las concentraciones de Hg y Pb se observó que a las concentraciones bajas menores a 20 mg/L, no tuvo un efecto estimulador en el crecimiento celular de esta manera mostrándose la tolerancia de *Scenedesmus acutus* frente a dichos metales; esto se puede ratificar con las especies encontradas en el presente trabajo como *Scenedesmus sp*, *Chlorella y sp Spirogyra sp*, resistiendo a concentración de 100 mg/L de plomo en un tiempo de evaluación de 15 días, es decir superiores a ello existen efectos estimulador en el crecimiento celular, llegando a la toxicidad de las microalgas.

Por otro lado, el efecto del plomo a otras concentraciones (30, 60, 90 mg/L) evaluados en dicha investigación, de modo que resulto ser toxica para el alga, observándose la disminución del crecimiento celular, esta toxicidad puede ser causada por el efecto inhibitorio del plomo sobre la fotosíntesis, respiración, síntesis enzimática, proteínas y ácidos nucleicos. Según los reportes mencionados se puede deducir que la inhibición del crecimiento depende de la dosis a la que están expuestas las microalgas tal como se demostró en la presente investigación.

PERALES *et al.*, (2006) realizaron estudios preliminares donde indican que el metal plomo superiores a 300mg/L puede producir efectos desfavorables de manera dependiente al tiempo, en el crecimiento y cultivos de *Scenedesmus obliquus* que contienen ciertos metabolitos primarios. Así mismo se puede ratificar que en los resultados obtenidos de esta investigación, el número de células (*Scenedesmus sp*, *Chlorella sp*) disminuyeron notoriamente en el cuarto tratamiento (200 mg/L) a 15 días de evaluación, es posible que este síntoma de fitotoxicidad del plomo se lleve a cabo gracias al proceso que refleja el metabolismo de las células; del mismo modo que la acumulación intracelular están básicamente relacionados a los cambios metabólicos que sufren internamente a medida que la concentración del metal se incrementa algunos de los cuales contribuyen directamente a la capacidad de resistencia de esta a los metales pesados existentes en el medio acuoso.

Por otra parte, el mismo autor especifica que a concentraciones superiores a 500mg/L de plomo pueden causar una despigmentación notable de las células de las microalgas, lo que se deduce que afecta a la producción de clorofilas. En el trabajo de investigación se puede comprobar que *Scenedesmus sp* sufrió una leve despigmentación en el cuarto tratamiento (200mg/L) de plomo. La *Spirogyra sp* posiblemente logro acumular el plomo a diferentes concentraciones por la naturaleza bioquímica de sus paredes celulares, de tal modo que estas algas poseen grupos funcionales tales como grupos sulfhídrico (SH), (PO<sub>3</sub>O<sub>2</sub>), hidroxilos (OH), fosforilo amina (NH<sub>2</sub>), carboxilo (COOH), etc., estos grupos actuaron como un sitio de atracción y así absorbiéndose en las células de las algas (PEÑA, PALACIOS Y OSPINA, 2005); coincidiendo con los resultados obtenidos en la (figura 15) donde se muestra el incremento de la

biomasa en el tercer tratamiento, este mecanismo pudo haber sido influenciado por los metales pesados que tienen gran afinidad a estos grupos y por ello los resultados de estas uniones en casos extremos (mayor concentración de metal) es perjudicial para *Spirogyra sp*, provocando la toxicidad y estrés oxidativo.

## **5.2. Nivel de biorremoción mediante porcentaje de eficiencia, capacidad de adsorción de plomo en soluciones acuosas**

Al hacer las pruebas de la desintoxicación de plomo del medio acuoso durante los 15 días de evaluación el tratamiento más eficiente fue el tratamiento tres (100 mg/L), en el décimo día de evaluación con lo que alcanzo una eficiencia de 94.7 %, seguidamente el tratamiento cuatro (200 mg/L) con una eficiencia de 93.40 %, esto pudo haberse llevado a cabo por las supuestas dos etapas, la fase activa donde es el proceso más rápido, se da cuando los metales son adsorbidos a la superficie del alga por atracción electrostática a los sitios activo y la fase pasivo, que es un proceso más lento donde los iones metálicos son transportados a través de la membrana celular y dentro del organelo de cada especie (GARNHAM *et al.*, 1992).

Estudios que fueron realizadas por CHULLE Y VILLALOBOS (2016) en la eliminación de ion cromo en aguas residuales galvánicas se obtuvo una eficiencia máxima alcanzando un valor próximo de 60% utilizando *Scenedesmus obliquus* en estado libre; esto se puede comparar con los resultados obtenidos en la presente investigación, donde la eficiencia máxima se obtuvo al décimo día con 94.72%. esto pudo haberse llevado a cabo debido al proceso de bioadsorción y absorción, donde la biomasa del material biológico actúa como

adsorbente en condiciones experimentales tomando en cuenta el pH y T° que a valores muy altos tiende a precipitarse y por ende la biorremoción baja.

### **5.3. Identificación de géneros de microalgas removedoras de plomo**

Según BICUDO Y MENEZES (2006) se identificaron 31 morfotipos diferentes en la biorremediación. Las diatomeas por su abundancia en el consorcio de 1% no fueron identificadas según la clave taxonómica; del consorcio de microalgas el 84% de un conteo total de 3683 de microorganismo estaba compuesto por algas perteneciente a la clase *Chlorophyceae*, 11% *Cyanophyceae* y 1% *Trebouxiophyceae*. Por otra parte, la identificación realizada; las microalgas más representativas fueron: *Chlorococcus sp.* (26%), *Gloeococcus sp.* (15%), *Neosporangiococcum irregulare* (13%), *Synechococcus sp.* (9%), *Oocystis sp.* (7%) y *Chlorella sp.* (6%). Del mismo modo la clase más representativa en la *Cyanophyceae* con 12% de abundancia relativa, en la cual están representadas por tres grandes géneros: *Synechococcus sp.* (77%), *Chroococcus sp.* (17%) y *Microcoleus subtorulosus* (6%). Esto puede corroborarse con los conteos de morfotipos de microalgas, obtenidas en este trabajo de investigación donde muestra que los géneros de *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* presentan un conteo máximo de 1013333 y 426667 cel/mL tal como muestra en el cuadro 21; esto se ratifica con este autor que las microalgas se clasifican de acuerdo a caracteres establecidos como naturaleza de los pigmentos fotosintéticos, presencia y número de flagelos, metabolitos de reserva entre otros, para dar lugar a divisiones, clases y ordenes según el énfasis que los investigadores les otorgan a estos caracteres.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se evaluó que la resistencia de las microalgas frente a diferentes concentraciones de plomo fue en el tratamiento tres, en un tiempo de evaluación de diez días.
2. Las microalgas lograron un nivel alto de eficiencia de biorremoción en el tratamiento tres del décimo día de evaluación y con una capacidad de adsorción máxima de 13.86 g/L. Así mismo se encontró que el modelo de Freundlich describe mejor los datos de equilibrio de proceso de adsorción en un tiempo de evaluación de 15 días.
3. Se logró identificar el género de las microalgas removedoras de plomo del medio acuso mediante las claves taxonómicas, predominando a nivel celular el género de la *Chlorella sp*, seguida de *Scenedesmus sp* obtenidas mediante el recuento en la cámara de Neubauer en el décimo día de evaluación y la *Spirogyra sp* con una biomasa máxima en el tratamiento tres.
4. Esta técnica de remediación de aguas contaminadas por metales pesados mediadas por microalgas, es una alternativa para descontaminar lagos, lagunas, etc.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Preservar las cepas de microalgas por especie según su origen para un uso a futuro como industrial o biorremediador
2. Complementar la identificación de género de las microalgas según las claves taxonómicas o dicotómicas.
3. Determinar el efecto in – vitro de *Chlorella sp* y *Scenedesmus sp* sobre la biorremoción de otros metales pesados presentes en soluciones acuosas.
4. Realizar investigaciones respecto a los factores externos que puedan influir en la eficiencia de bioacumulación de plomo en la *Spirogyra sp*.
5. Implementar cultivos a gran escala de manera in-situ para depurar lagunas contaminadas mediante metales pesados.

## VIII. ABSTRACT

The increasing contamination of aquatic environments by industrial, domestic, agricultural and mining activities, leads to find new strategies that eliminate heavy metals such as lead, which is why an alternative based on the ability of microorganisms to biotransform and accumulate is proposed. said metal. For this, the level of bioremoption of lead in aqueous media mediated by microalgae at laboratory scale was evaluated, resistance and bioremoption of microalgae were evaluated, experiencing them at different concentrations of 10mg / L, 50mg / L, 100mg / L, 200mg / L of lead, in column photobioreactors with a working volume of 570 ml. The development of the microalgae on the different concentrations of lead, its resistance to the metal was determined, evaluating the growth every 3 days for 15 days by counting in the Newbauer chamber. The level of bioremoption in the column photobioreactor system has an efficiency of 94.72% at 10 days, becoming an efficient and low-cost method for bioremediation of water contaminated with metals. The identification of microalgae genera was carried out with the help of taxonomic keys

**Key words:** Photobioreactor, Bioremoption, heavy metal, lead, microalgae, *Scenedesmus sp*, *Chlorella sp*, *Spirogyra sp*

## IX. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABALDE, J. Y HERRERO, C. 2004. "Microalgas en acuicultura": calidad nutricional.
- ABALDE, J., CID, A., TORRES, E., Y HERRERO, J. 1995. "Bioacumulación de cobre en la diatomea marina *Phaeodactylum tricomutum bohlin*". Facultad de ciencias: Universidad de la Coriufa.
- ANDRADE, C., VERA, A., CARDENAS, C., Y MORALES, E. 2009. Biomass Production Of Microalga *Scenedesmus sp.* With wastewater from fishery. Revista técnica de la facultad de ingeniería. Maracaibo – Venezuela: Universidad de Zulia.
- BENAMOTZ, A. (1987). Eeffect of irradiance and nutrient deficiency on the chemical composition of *Dunaliella bardawil* (Volvocales, Chlorophyta). J. Plant physiol.
- BICUDO, C., Y MENEZES, M. 2006. Géneros de algas de águas continentais do Brasil (chave para identificação). São retrieved from.
- CAÑIZARES, R., Y JÁCOME, P. 2007. Cultivo continuo de microalgas como alternativa para la remoción de metales pesados en solución. departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Mexico: laboratorio de Biotecnología de Microalgas.

- CASTILLO, F., Y ROLDAN, M. 2005. *Biotecnología Ambiental*. Editorial Tébar S.L. Madrid, España. (Vol.616).
- CASTILLO, L. 2008. *Introducción a la "estadística experimental"*. Mexico: Universidad Autónoma de Chapingo.
- CHEN, C. Y., YEH, K., AISYAH, R., LEE, D. y CHANG, J. 2011. "Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production". A critical review. *Bioresour. Technol.*
- CHINNASAMY, S. 2010. "Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications". *Bioresource Technology*.
- CHISTI, Y. 2007. *Biodiesel from microalgae*. *Biotechnology Advances*.
- CHULLE, L. Y VILLALOBOS, P. 2016. Remoción de metales pesados (Hg y Pb) de soluciones acuosas sintéticas a diferentes concentraciones utilizando la microalga dulceacuícola *Scenedesmus acutus*. "Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque".
- CHUQUILIN, R. y ROSALES, D. 2016. Estudio de la biosorción de Cd (II) y Pb (II) usando como adsorbente *Nostoc* sp.
- CORDOVA, C. 2016. Biosorción de  $Pb^{+2}$  y  $Cd^{+2}$  en solución bajo diferentes condiciones de laboratorio usando la macrófita acuática *Typha latifolia* inerte. "Tesis de maestría". Santiago de Querétaro-Mexico: Universidad Nacional Autónoma de México.
- CUIZANO, N. Y NAVARRO, E. 2008. Biosorción de metales pesados por algas marinas. "Posible solución a la contaminación a bajas concentraciones. La real Soc". Española química.

- DAVIS, T., VOLESKY, B.Y MUCCI, A. 2003. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. (Vol. 37). Water Research,.
- DIGESA, D. G. 2016. Trípticos de salud ocupacional: Exposición a plomo en el ambiente de trabajo. Lima-Peru.
- EPA, E. P. (2004). Office of Air Quality Planning and Standards Emissions, Monitoring, and Analysis Division. Obtenido de EPA/600/P-99/002Af
- GADD, G. 1993. Microbial treatment of metal pollution a working biotechnology. Trends biotechnol , 11, 352 – 359.
- GARCÍA, L. J. Y LARA, P. A. 1998. “Diseño Estadístico de Experimentos. Análisis de la Varianza.” Grupo Editorial Universitario.
- GARCIA, M. 2006. Remoción de Cr (VI) de soluciones acuosas por biomasa de *spirulina maxima*. Universidad Autonoma de Nuevo Leon. Mexico.
- GARCIA, M. 2015. Producción de microalgas con fines biotecnológicos. cuaderno de estudio agroalimentario, 89.
- GARNHAM, G., CODD, G., y GADD, G. 1992. Kinetics of uptake and intracellular location of cobalt, manganese and zinc in the estuarine green alga *Chlorella salina*. 37:270-276. (Vol. 37). Applied Microbiology and Biotechnology.
- GHASEMI, S. M., BOUZARI, M., YOON, B. H. Y CHANG, H.-I. 2014. A novel agricultural waste based adsorbent for the removal of Pb (II) from aqueous solution: Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies, Journal of Industrial and Engineering Chemistry (Vol. 20).

- GONZÁLEZ, F. C., MOLINUEVO, S. M., y GARCÍA, G. 2010. Open and enclosed photobioreactors comparison in terms of organic matter utilization, biomass chemical profile and photosynthetic efficiency (Vol. 36). *Ecol. Eng.*
- HERNÁNDEZ, S. 2008. Influencia del tamaño de partícula en la biosorción de plomo con raspo de uva. . España: Universidad Politécnica de Cataluña.
- HIDALGO, S. Y MARTINEZ, M. 2004. Reutilización de residuos de raspo de uva para la eliminación de metales tóxicos en los efluentes líquidos. Ingeniero Químico. Universidad Politécnica de Cataluña. Cataluña: Departamento de Ingeniería Química.
- JUWARKAR, A. A., SINGH, S., Y MUDHOO, A. 2010. A comprehensive overview of elements in bioremediation. *Environmental Science and Bio/Technology.*
- KOJIMA, H., & LEE, K. 2001. *Photosynthetic microorganisms in Environmental Biotechnology.* (Vol. 30). Hong-Kong.: Springer-Verlag.
- MARTÍNEZ, C., TORRES, L. M., Y GARCÍA, R. 2013. Evaluación de la cinética de adsorción de  $Zn^{+2}$  y  $Cd^{+2}$  a partir de soluciones unitarias y binarias por raíces de *Eichhornia crassipes* y *Typha latifolia*. Av. En Ciencias e Ing.
- MASOJIDEK, J., KOBLIZEK, M., Y TORZILLO, G. 2004. Photosynthesis in microalgae.
- MOLINA, E. 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites. Australia: process options and economics.

- OLORTEGUI, R. 2015. Microalgas verdes amarillentas - dulce acuicolas con potencial de remoción de cadmio. Universidad Nacional Agraria de la Selva, 110 pág.
- OSPINA, N., PEÑA, E., BENITES, R. 2006. Efecto de la salinidad de bioacumulación de plomo en el agua verde *Rhizoclonium riparium* (Roth) Hervey (Chlorophyceae, cladophorales) *acta biol. Colombia* 28 (84). 17 - 25.
- PEÑA, E., PALACIOS, M., Y OSPINA, N. 2005. Algas indicadoras de contaminación. Imprenta Departamental.
- PERALES, V., PEÑA, C. J., CAÑIZARES, V., Y VILLANUEVA, R. 2006. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere*.
- PINO, G., MESQUITA, L., & OREM, M. 2006. Biosorption of heavy metals by powder of green coconut shell. *Separation Science And Technology*.
- RICHMOND, A. 2004. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology. Oxford, United Kingdom Blackwell Science.
- ROMERO, J., PARRA, F., CANO, I., RODRÍGUEZ, E., RÍOS, J., FUENTES, R., Y RAMÍREZ, J. 2007. Biosorción de Pb (II) por biomasa de *Agave tequilana* Weber (*Agave azul*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*., 295-300.
- SOTO, C., GUTIÉRREZ, S., REY, A., Y GONZÁLEZ, E. 2010. Biotransformación de metales pesados presentes en lodos ribereños de los ríos Bogotá y Tunjuelo. Bogota: NOVA.

- SPAIN, A., Y ALM, E. 2003. Implications of Microbial Heavy Metals Tolerance in the Environment. "Reviews in Undergraduate Research".
- VERANES, O., PELLÓN, A., ESPINOZA, S., Y PÉREZ, E. 2011. Estudio del comportamiento de la microalga *scenedesmus obliquus* para la precipitación de cromo en albañal sintético. "Departamento de Estudio sobre Contaminación Ambiental (DECA)".
- XIN, L., HONG, Y YIN, H. 2010. "Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus sp.*". Bioresource Technology.
- XU, H., MIAO, X., Y WU, Q. 2006. "High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. Journal of Biotechnology".
- YANG, J., CAO, J., XING, G., Y YUAN, H. 2014. Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX-2341. Bioresour Technol.
- YAQUB, A., ADNAN, A., KHAN, W., Y ANJUM, K. 2012. Biosorption of hexavalent chromium by *Spyrogira sp.*: equilibrium, kinetics and thermodynamics. The Journal of Animal y Plant Sciences.

## X. ANEXOS

### ANEXO I. Preparación de la solución madre como referente para la preparación de soluciones acuosa.

#### I.1. Preparación de solución madre de sulfato de plomo

$$[mg/L(sustancia)] = \frac{\text{peso de la sustancia}(g)}{\text{volumen de la solución}(ml)} \times 10^6$$

$$200 \text{ mg/L} = \frac{W_{Pb}}{1000ml} \times 10^6$$

$$W_{Pb} = 0.2 \text{ g}$$

Cálculo del sulfato de plomo (g)

$$W_{PbSO_4} = \frac{PM_{PbSO_4}}{PM_{Pb}} \times W_{Pb}$$

$$W_{PbSO_4} = \frac{303,26 \text{ g/mol}}{207.2 \text{ u}} \times 0.2$$

$$W_{PbSO_4} = 0.29272 \text{ g}$$

#### I. 2. Preparación de las concentraciones de plomo a partir de solución madre de sulfato de plomo.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

##### 1) Concentración de 10mg/L de plomo a partir de PbSO<sub>4</sub>

$$C_1 \times V_{c1} = C_2 \times V_t$$

$$200\text{mg/L} \times V_1 = 10\text{mg/L} \times 500 \text{ ml}$$

$$V_{c1} = 25 \text{ ml}$$

2) Concentración de 50mg/L de plomo a partir de PbSO<sub>4</sub>

$$C_1 \times V_{c2} = C_3 \times V_t$$

$$200\text{mg/L} \times V_1 = 50\text{mg/L} \times 500 \text{ ml}$$

$$V_{c2} = 125 \text{ ml}$$

3) Concentración de 100mg/L de plomo a partir de PbSO<sub>4</sub>

$$C_1 \times V_{c3} = C_4 \times V_t$$

$$200\text{mg/L} \times V_{c3} = 100\text{mg/L} \times 500 \text{ ml}$$

$$V_{c3} = 250 \text{ ml}$$

4) Concentración de 150mg/L de plomo a partir de PbSO<sub>4</sub>

$$C_1 \times V_{c4} = C_5 \times V_t$$

$$200\text{mg/L} \times V_{c3} = 200\text{mg/L} \times 500 \text{ ml}$$

$$V_{c4} = 500 \text{ ml.}$$

## Anexo II. Cuadros

Cuadro 22. Determinación de la concentración de plomo

Tratamiento	C <sub>1</sub> (mg/L)	V <sub>1</sub> (ml)	C <sub>2</sub> (mg/L)	V <sub>2</sub>
T <sub>0</sub>				500ml
T <sub>1</sub>	200	<b>25 ml</b>	10	500ml
T <sub>2</sub>	200	<b>125ml</b>	50	500ml
T <sub>3</sub>	200	<b>250ml</b>	100	500ml
T <sub>4</sub>	200	<b>375ml</b>	150	500ml

C<sub>1</sub>: Concentración madre, V<sub>1</sub>: volumen encontrado de plomo, V<sub>2</sub>: volumen estándar a aforar

Cuadro 23. Volumen del trabajo del fotobiorreactor con microalgas

<b>Tratamiento</b>	<b>V<sub>t</sub> (ml)</b>	<b>V<sub>c</sub> (ml)</b>	<b>V<sub>Inoculo /Biomasa</sub> (ml)</b>	<b>V<sub>Nutriente</sub> (ml)</b>
T <sub>0</sub>	570	0	20	50
T <sub>1</sub>	570	10	20	50
T <sub>2</sub>	570	50	20	50
T <sub>3</sub>	570	100	20	50
T <sub>4</sub>	570	200	20	50

V<sub>t</sub>: Volumen de trabajo, V<sub>c</sub>: volumen del contaminante

Cuadro 24. Parámetros del agua de la poza cristalina y desviaciones estacionales de río Huallaga

<b>Parámetros</b>	<b>Poza cristalina</b>	<b>Desviación estacional del río Huallaga</b>
pH (und.)	7.683	8.100
OD (mg/L)	4.153	5.817
STD (mg/L)	13.567	17.233
NaCl (%)	0.100	0.01
Conductividad (mS)	62.067	84.600
Potencial redox (ev)	-48.300	-66.467
Temperatura (°C)	29.000	29.333

Cuadro 25. Registro de la variación de pH durante los 15 días de evaluación

<b>Tratamiento</b>	<b>Pb (mg/L)</b>	<b>3 día</b>	<b>6 día</b>	<b>9 día</b>	<b>12 día</b>	<b>15 día</b>
T <sub>0</sub>	6.97	6.97	7.12	7.21	7.45	6.55
T <sub>1</sub>	7.40	7.40	6.90	7.10	7.65	7.50
T <sub>2</sub>	7.20	7.20	7.80	7.95	8.14	7.79
T <sub>3</sub>	7.76	7.76	7.10	8.10	8.23	6.34
T <sub>4</sub>	6.56	6.56	7.80	7.89	7.87	6.98

Tabla 26. Registro de la T °C durante los 15 días de evaluación

<b>Tratamiento</b>	<b>Pb (mg/L)</b>	<b>3 día</b>	<b>6 día</b>	<b>9 día</b>	<b>12 día</b>	<b>15 día</b>
T <sub>0</sub>	Control	25.77	25.70	25.54	25.41	25.33
T <sub>1</sub>	10	25.57	25.45	25.31	25.12	25.02
T <sub>2</sub>	50	25.29	25.25	25.04	24.89	24.85
T <sub>3</sub>	100	25.00	25.03	24.85	24.87	24.72
T <sub>4</sub>	200	24.74	24.67	24.57	24.46	24.43

Tabla 27. Registro de OD durante los 15 días de evaluación

<b>Tratamiento</b>	<b>Pb (mg/L)</b>	<b>3 día</b>	<b>6 día</b>	<b>9 día</b>	<b>12 día</b>	<b>15 día</b>
T <sub>0</sub>	Control	6.12	5.98	5.85	5.73	5.64
T <sub>1</sub>	10	6.01	5.70	5.67	5.79	5.56
T <sub>2</sub>	50	5.13	5.60	5.68	5.68	5.00
T <sub>3</sub>	100	5.73	5.00	5.59	5.69	5.20
T <sub>4</sub>	200	5.45	5.34	5.48	5.34	4.80

El cuadro 28 muestra los promedios, la desviación estándar y el coeficiente de variación del crecimiento de *Chlorella sp* a diferentes concentraciones de plomo hasta los 15 días de evaluación, al que se evaluó mediante microscopía óptica y la cámara de Neubauer para las diferentes concentraciones de plomo.

Cuadro 28. Resistencia de *chlorella sp* a diferente concentración de plomo

<b>Tratamiento</b>	<b>Pb (mg/L)</b>	<b>3 días</b>	<b>6 días</b>	<b>9 días</b>	<b>12 días</b>	<b>15 días</b>
T <sub>0</sub>	0	533333	586667	693333	586667	586667
T <sub>1</sub>	10	586667	640000	693333	640000	640000
T <sub>2</sub>	50	693333	746667	800000	853333	746667
T <sub>3</sub>	100	853333	853333	1013333	1013333	960000
T <sub>4</sub>	200	746667	906667	960000	906667	853333
<b>Promedio</b>		682667	746667	832000	800000	757333
<b>Desviación estándar (<math>\sigma</math>)</b>		127332	135974	148952	180862	152723
<b>Coeficiente de variación</b>		18.65	18.21	17.90	22.61	20.17

El cuadro 29 muestra los promedios, la desviación estándar y el coeficiente de variación del crecimiento de *Scenedesmus sp* a diferentes concentraciones de plomo hasta los 15 días de evaluación, al que se evaluó mediante microscopía óptica y la cámara de Newbauer para las diferentes concentraciones de plomo.

Cuadro 29. Resistencia de *Scenedesmus sp* a diferente concentración de plomo

<b>Tratamiento</b>	<b>Pb (mg/L)</b>	<b>3 día</b>	<b>6 día</b>	<b>9 día</b>	<b>12 día</b>	<b>15 días</b>
T <sub>0</sub>	0	160000	106667	160000	213333	106667
T <sub>1</sub>	10	266667	266667	213333	213333	213333
T <sub>2</sub>	50	266667	266667	266667	213333	266667
T <sub>3</sub>	100	266667	266667	373333	426667	266667
T <sub>4</sub>	200	266667	266667	266667	373333	266667
<b>Promedio (X)</b>		245333	234667	256000	288000	224000
<b>Desviación estándar (<math>\sigma</math>)</b>		47703	71554	79106	103966	69538
<b>Coeficite de variación</b>		19.44	30.49	30.90	36.10	31.04

Cuadro 30. Resistencia de la *Spirogyra sp* a diferentes concentraciones de plomo

<b>Plomo (mg/L)</b>	<b>Wh<sub>i</sub> (g)</b>	<b>Wh<sub>f</sub> (g)</b>	<b>Volumen(L)</b>	<b>Biomasa (g/L)</b>
0	4	6.735	0.57	4.682
10	4	7.205	0.57	5.793
50	4	7.527	0.57	6.384
100	4	8.524	0.57	7.863
200	4	7.460	0.57	6.311

Wh<sub>i</sub> = peso húmedo inicial de la *spirogyra sp*, Wh<sub>f</sub> = peso húmedo final de la *spirogyra sp*

Cuadro 31. Concentración final de plomo después del tratamiento

<b>Tratamiento</b>	<b>Concentración inicial de Plomo (mg/L)</b>	<b>Concentración final de plomo (mg/L)</b>		
		<b>5 día</b>	<b>10 día</b>	<b>15 día</b>
T <sub>1</sub>	10	1.46	1.23	0.87
T <sub>2</sub>	50	6.33	4.99	4.01
T <sub>3</sub>	100	9.20	8.82	5.88
T <sub>4</sub>	200	15.81	16.39	12.95

Cuadro 32. Eficiencia de biorremoción de plomo

Tratamiento	$C_{iPb}$ (mg/L)	Eficiencias (%)		
		5 día	10 día	15 día
T <sub>1</sub>	10	88.47	91.52	89.01
T <sub>2</sub>	50	89.62	93.77	91.98
T <sub>3</sub>	100	90.80	94.72	92.83
T <sub>4</sub>	200	91.72	93.40	92.39

Cuadro 33. Capacidad de bioadsorción de plomo mediadas por biomasa algal

Tratamiento	$C_i$ (mg/L)	$C_e$ (mg/L)	$V_{trabajo}$ (L)	Masa final (g)	$q$ (mg/g)
T <sub>1</sub>	10	1.10	0.57	7.30	0.69
T <sub>2</sub>	50	4.01	0.57	7.64	3.43
T <sub>3</sub>	100	7.17	0.57	8.48	6.24
T <sub>4</sub>	200	15.23	0.57	7.60	13.86

### Anexo III. Figuras

Evaluación de los parámetros (pH, T°, OD) durante la bioadsorción y acumulación del plomo mediados por microalgas en la solución acuosa durante 15 días de evaluación

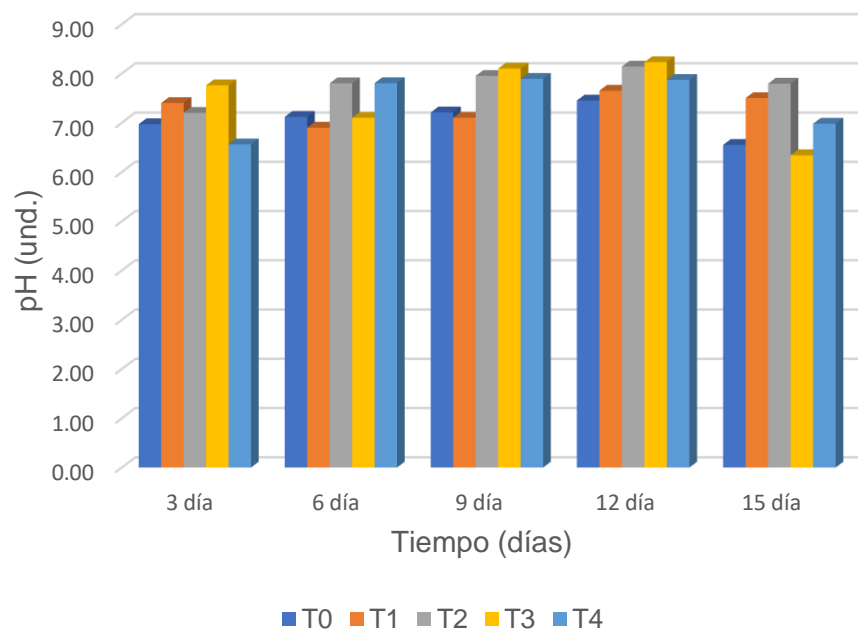


Figura 26. Variación de pH a diferentes concentraciones de plomo

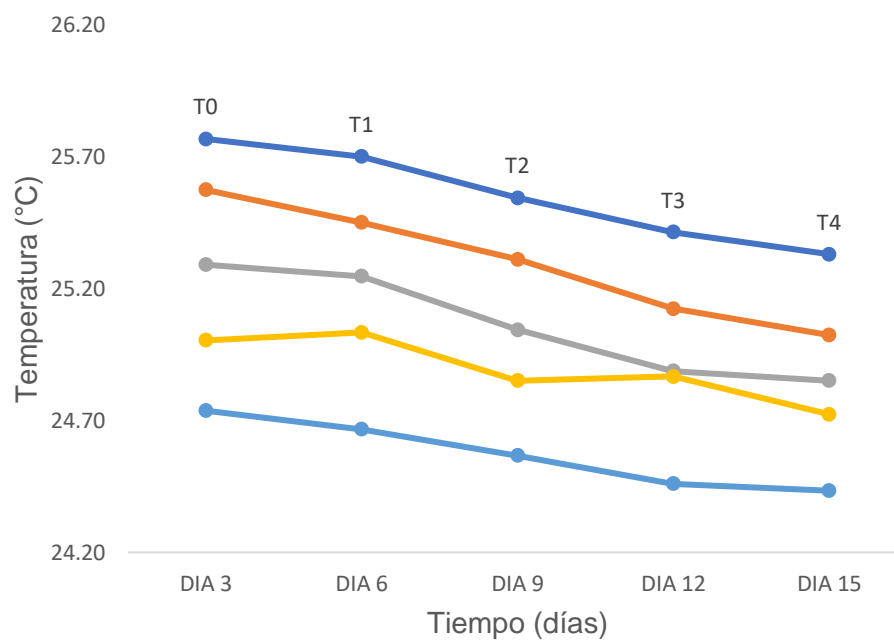


Figura 27. Variaciones de T° C a diferentes concentraciones de plomo

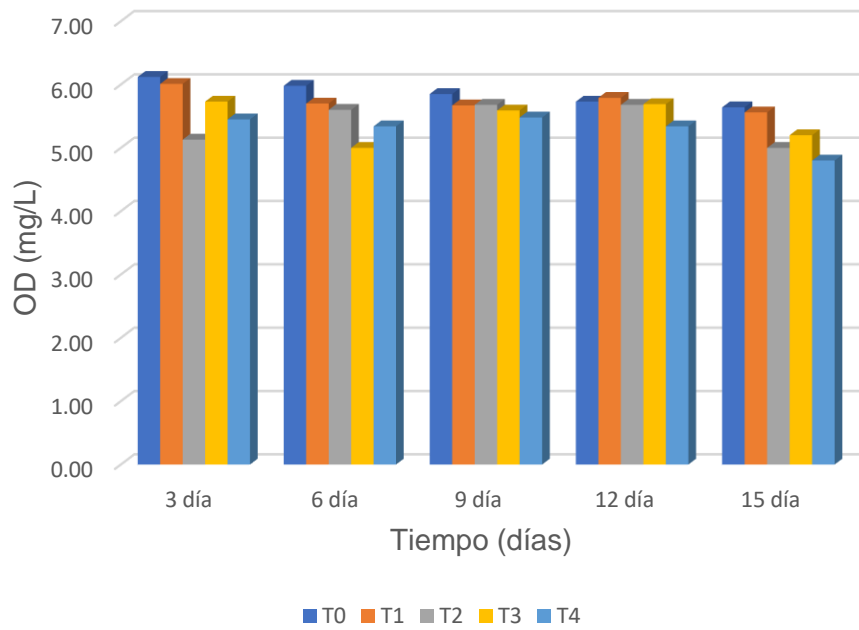


Figura 28. Variaciones de OD a diferentes concentraciones de plomo

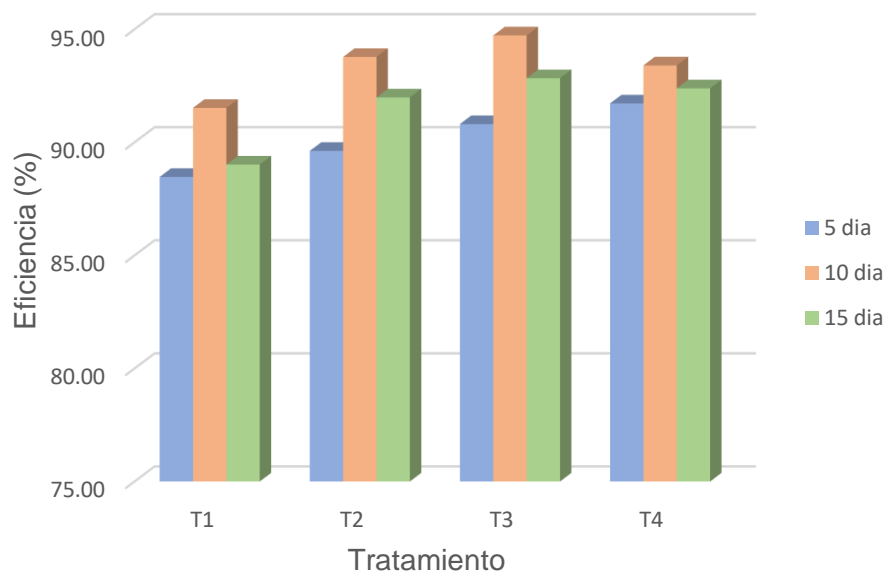


Figura 29. Eficiencia de biorremoción de plomo

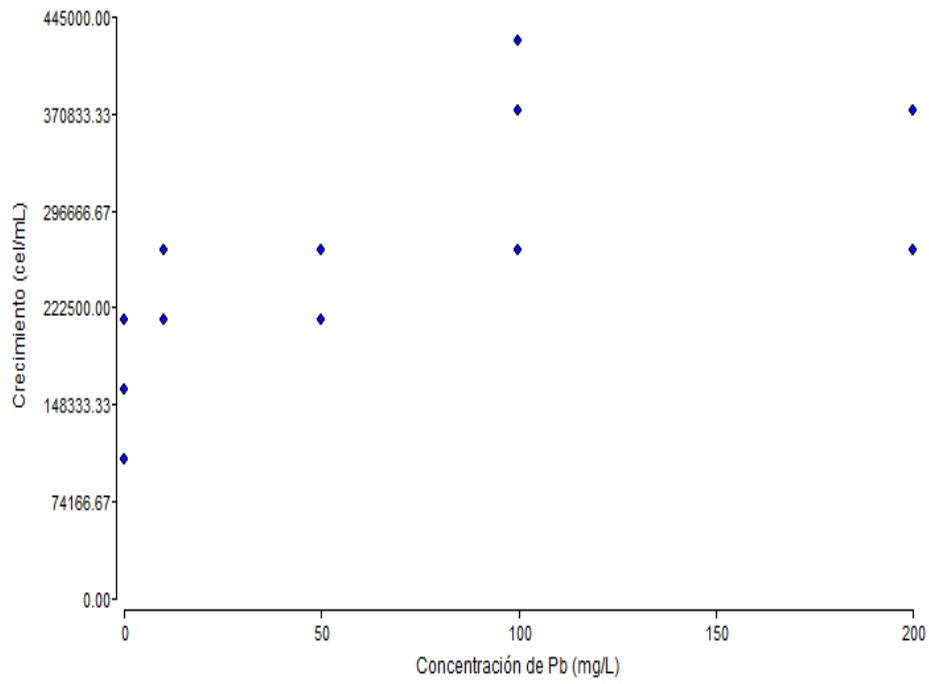


Figura 30. Diagrama de dispersión del crecimiento de *Scenedesmus sp*

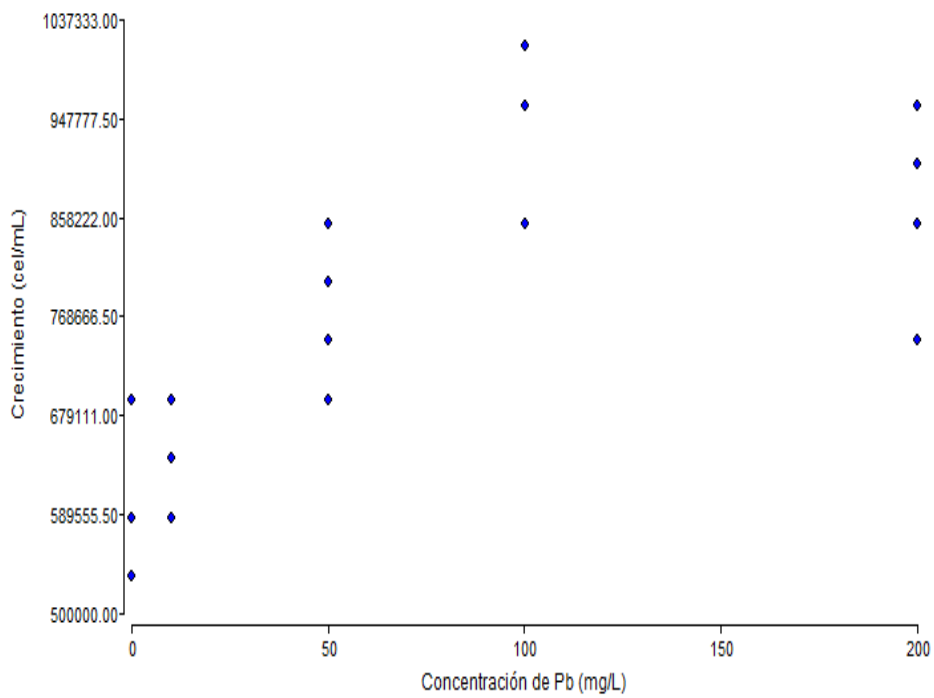


Figura 31. Diagrama de dispersión del crecimiento de *Chlorella sp*

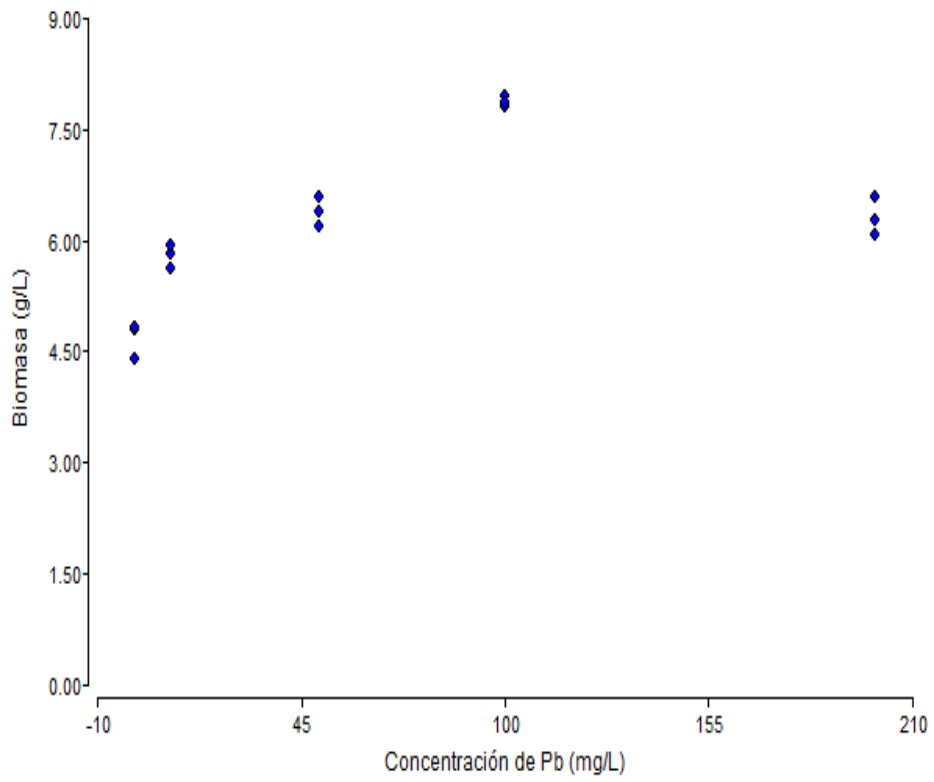


Figura 32. Diagrama de dispersión del crecimiento de *Spirogyra sp*

## ANÁLISIS

SOLICITANTE : Condor Bartolo, Minger Reynoso  
 DEPARTAMENTO : Huanuco  
 PROVINCIA : Leoncio Prado  
 DISTRITO : Rupa Rupa

N°	CODIGO	DATOS DE LA MUESTRA		Pb mg/L
		Muestra	Etiquetas	
1	ICP 0474	Medio Acuoso	T0	0.000
2	ICP 0475	Medio Acuoso	T1	0.086
3	ICP 0476	Medio Acuoso	T2	0.228
4	ICP 0477	Medio Acuoso	T3	0.423
5	ICP 0478	Medio Acuoso	T4	0.782
6	ICP 0479	Medio Acuoso	T0	0.000
7	ICP 0480	Medio Acuoso	T1	0.060
8	ICP 0481	Medio Acuoso	T2	0.248
9	ICP 0482	Medio Acuoso	T3	0.386
10	ICP 0483	Medio Acuoso	T4	0.620

Equipo: ICP OES /HORIBA-Ultima expert  
 Nota: Muestras digeridas por el solicitante/resultados solo de lecturas  
 Recibo N° 0599774

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
 VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN  
 Ing. Elizabeth Orozco Cajm  
 DIRECTORA

N°	CODIGO	DATOS DE LA MUESTRA		Pb mg/L
		Muestra	Etiquetas	
11	ICP 0484	Medio Acuoso	T0	0.000
12	ICP 0485	Medio Acuoso	T1	0.047
13	ICP 0486	Medio Acuoso	T2	0.357
14	ICP 0487	Medio Acuoso	T3	0.402
15	ICP 0488	Medio Acuoso	T4	0.678

Fecha: 7/11/2019

Ing. Sánchez Rodríguez Miguel  
 ESPECIALISTA AREA ICP OES

Figura 33. Concentraciones finales plomo de soluciones acuosas a diferentes concentraciones de plomo del día 5



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
 TINGO MARIA  
 VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN  
 LABORATORIO CENTRAL DE INVESTIGACIÓN



**ANÁLISIS**

SOLICITANTE : Condor Bartolo, Minger Reynoso  
 DEPARTAMENTO : Huanuco  
 PROVINCIA : Leoncio Prado  
 DISTRITO : Rupa Rupa

N°	CODIGO	DATOS DE LA MUESTRA		Pb mg/L
		Muestra	Etiquetas	
1	ICP 0474	Medio Acuoso	T0	0.000
2	ICP 0475	Medio Acuoso	T1	0.066
3	ICP 0476	Medio Acuoso	T2	0.241
4	ICP 0477	Medio Acuoso	T3	0.440
5	ICP 0478	Medio Acuoso	T4	0.626
6	ICP 0479	Medio Acuoso	T0	0.000
7	ICP 0480	Medio Acuoso	T1	0.053
8	ICP 0481	Medio Acuoso	T2	0.229
9	ICP 0482	Medio Acuoso	T3	0.395
10	ICP 0483	Medio Acuoso	T4	0.764

N°	CODIGO	DATOS DE LA MUESTRA		Pb mg/L
		Muestra	Etiquetas	
11	ICP 0484	Medio Acuoso	T0	0.000
12	ICP 0485	Medio Acuoso	T1	0.042
13	ICP 0486	Medio Acuoso	T2	0.186
14	ICP 0487	Medio Acuoso	T3	0.326
15	ICP 0488	Medio Acuoso	T4	0.767

Equipo: ICP OES /HORIBA-Ultima expert  
 Nota: Muestras dilgeridas por el solicitante/resultados solo de lecturas  
 Recibo N° 0599774

Fecha: 7/11/2019

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
 Laboratorio Central de Investigación  
 Mgs. Elizabeth Orozco GJim  
 DIRECTORA

*[Signature]*  
 Ing. Sánchez Rodríguez Miguel  
 ESPECIALISTA AREA ICP OES

Figura 34. Concentraciones finales plomo de soluciones acuosas a diferentes concentraciones de plomo del día 10



# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA



TINGO MARIA  
VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN  
LABORATORIO CENTRAL DE INVESTIGACIÓN

## ANÁLISIS

SOLICITANTE : Condor Bartolo, Minger Reynoso

DEPARTAMENTO : Huanuco  
PROVINCIA : Leoncio Prado  
DISTRITO : Rupa Rupa

N°	CODIGO	DATOS DE LA MUESTRA		Pb mg/L
		Muestra	Etiquetas	
1	ICP 0474	Medio Acuoso	T0	0.000
2	ICP 0475	Medio Acuoso	T1	0.042
3	ICP 0476	Medio Acuoso	T2	0.199
4	ICP 0477	Medio Acuoso	T3	0.301
5	ICP 0478	Medio Acuoso	T4	0.613
6	ICP 0479	Medio Acuoso	T0	0.000
7	ICP 0480	Medio Acuoso	T1	0.038
8	ICP 0481	Medio Acuoso	T2	0.183
9	ICP 0482	Medio Acuoso	T3	0.259
10	ICP 0483	Medio Acuoso	T4	0.634

Equipo: ICP OES /HORIBA-Ultima expert

Nota: Muestras digeridas por el solicitante/resultados solo de lecturas

Recibo N° 0599774

N°	CODIGO	DATOS DE LA MUESTRA		Pb mg/L
		Muestra	Etiquetas	
11	ICP 0484	Medio Acuoso	T0	0.000
12	ICP 0485	Medio Acuoso	T1	0.035
13	ICP 0486	Medio Acuoso	T2	0.146
14	ICP 0487	Medio Acuoso	T3	0.213
15	ICP 0488	Medio Acuoso	T4	0.457

Fecha: 7/11/2019

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
LABORATORIO CENTRAL DE INVESTIGACIÓN  
Ing. Elizabeth Orozco Cajm.  
DIRECTORA

Ing. Sánchez Rodríguez Miguel  
ESPECIALISTA AREA ICP OES

Figura 35. Concentraciones finales plomo de soluciones acuosas a diferentes concentraciones de plomo del día 15

#### Anexo IV. Panel fotográfico



Figura 36. Registro de los parámetros in- del agua



Figura 37. Recolección de muestra de microalgas



Figura 38. Preparación del medio de cultivo



Figura 39. sembrado de las microalgas en la solución acuosa



Figura 40. Resistencia de las microalgas al cabo de 15 días

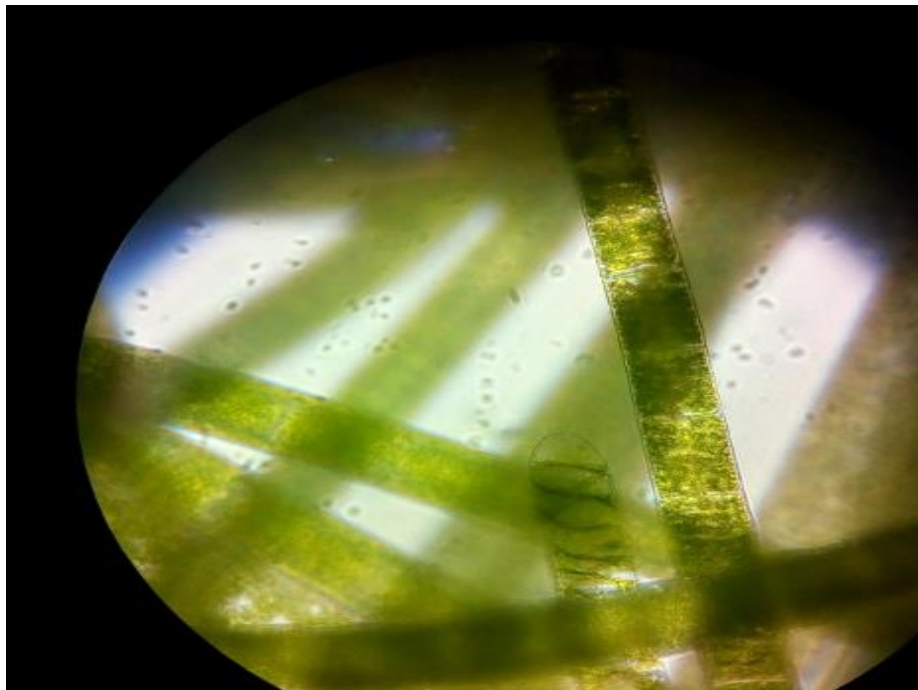


Figura 41. Identificación de las microalgas



Figura 42. Biomasa de las microalgas



Figura 43. Peso de la biomasa húmeda de las microalgas

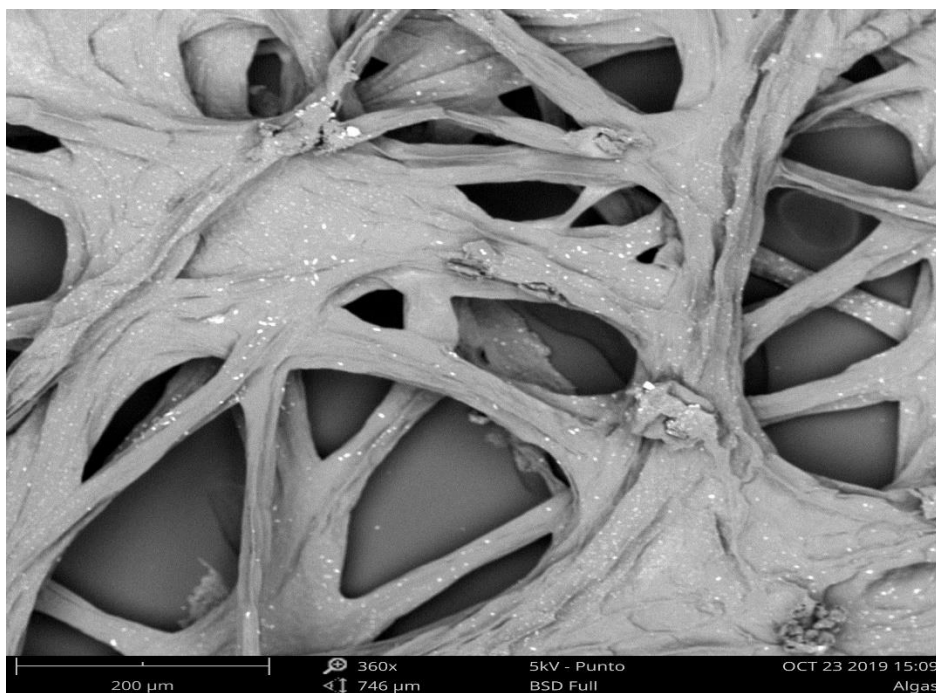


Figura 44. Vista al microscopio electrónico de barrido (SEM) a un aumento de 500X

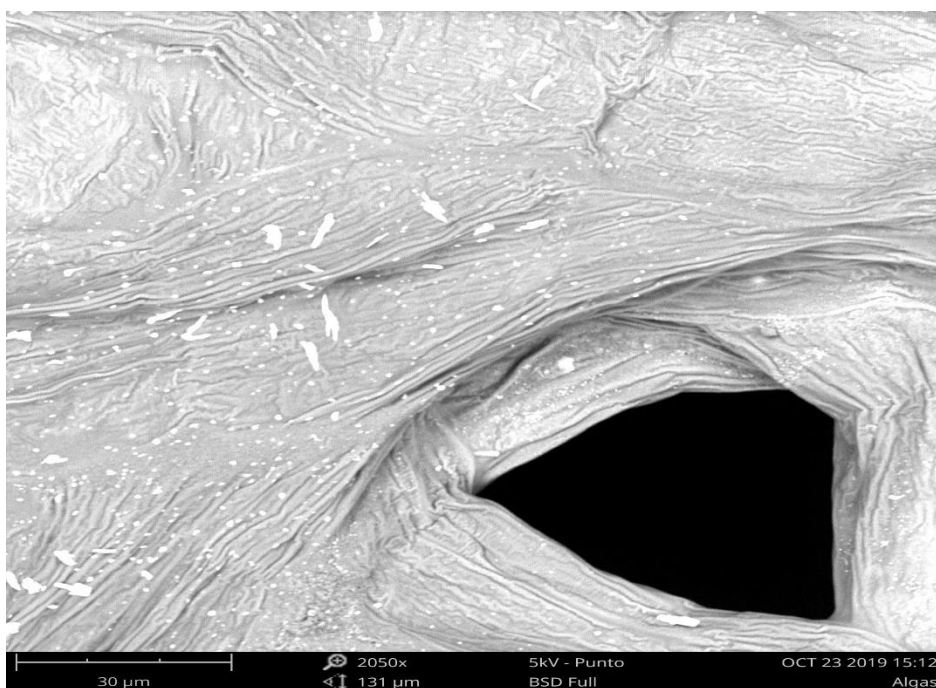


Figura 45. Vista al microscopio electrónico de barrido (SEM) a un aumento de 1000X

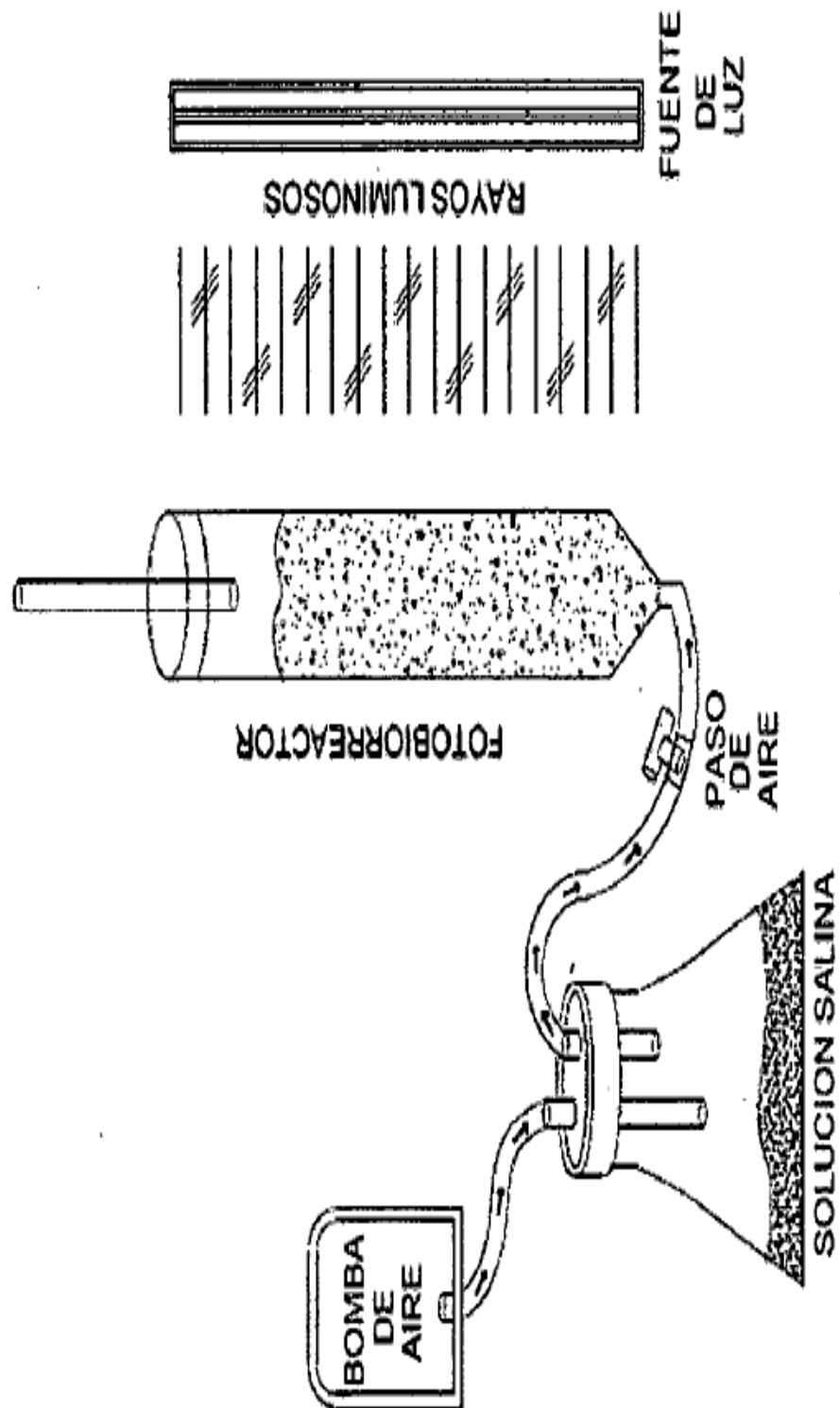


Figura 46. Diseño del fotobiorreactor (OLORTEGUI, 2015)