UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

MICROALGAS VERDE AMARILLENTAS – DULCE ACUICOLA CON POTENCIAL DE REMOCIÓN DE CADMIO

Tesis

Para optar al título de:

INGENIERO AMBIENTAL

OLORTEGUI MUÑOZ ROSSMERY

PROMOCIÓN 2005 – I

Tingo María -

Perú 2015

BIBLIOTECA CENTRAL - UNAS

T
AMB

OLORTEGUI MUÑOZ, Rossmery

Microalgas Verde Amarillentas – Dulce Acuícola con Potencial de Remoción de Cadmio – Tingo María 2015

68 páginas; 21 Figuras; 32 Cuadros; 33 ref.; 30 cm.
Tesis (Ingeniero Ambiental) Universidad Nacional Agraria de la Selva Tingo María (Perú). Facultad de Recursos Naturales Renovables

1. BIORREMOCIÓN 2. MICROALGAS 3. CADMIO

4. SCENEDESMUS OBLIQUUS 5. FOTOBIORREACTORES

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María – Perú

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 16 de noviembre del 2015, a horas 11:40 a.m. en la Sala de Grados de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para calificar la Tesis titulada:

"MICROALGAS VERDE AMARILLENTAS – DULCE ACUÍCOLA CON POTENCIAL DE REMOCIÓN DE CADMIO"

Presentado por la Bachiller **OLÓRTEGUI MUÑOZ, Rossmery**, 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, la sustentante queda apta para optar el Título de **INGENIERO AMBIENTAL**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del Título correspondiente.

Tingo María, 10 de diciembre del 2015.

Dr. CÉSAR SAMUEL LÓPEZ LÓPEZ
PRESIDENTE

Ing. Mg. ROBERTO OBREGÓN PEÑA
VOCAL

Ing. M.Sc. NELINO FLORIDA ROFNER
VOCAL

Ing. VÍCTOR M. BETETA ALVARADO
ASESOR

DEDICATORIA

A Dios por ser la fuente de sabiduría y bondad infinita.

A mis padres Luis Olortegui Ortega y Zoila Muñoz Cachay por su inmenso amor, dedicación y entrega brindado durante todo este tiempo para ser cada día mejor.

A mis hermanos Margarita y Franco, por su confianza y el gran afecto que nos une siendo la fuerza de mi vida.

A mis Tíos, Rosita, Antonio, Walter, José, María, Luisa, Mary y mi familia en general, por su confianza apoyo incondicionalmente a lo largo de mi vida universitaria y mi formación como profesional.

AGRADECIMIENTOS

Durante mi formación profesional, personal y elaboración de la presente investigación, varias personas colaboraron directa e indirectamente, a quienes deseo expresar mi más profundo reconocimiento:

A los docentes de la Facultad de Recursos Naturales Renovables que se esforzaron por entregarme sus conocimientos y experiencias.

Al Ing. Victor Beteta Alvarado quien me asesoro desinteresadamente, brindándome su tiempo para la realización de la presente investigación. Gracias por su paciencia, empeño y confianza.

Al Dr. Cesar Lopez Lopez, por compartir sus sabios consejos y siempre estuvo dispuesto a brindar asesoramiento técnico y metodológico a mi persona.

A mi amiga Lousiana Llanco Ochoa, quien me apoyo durante toda la elaboración de mi tesis, brindándome su apoyo desde el día que iniciamos esta carrera profesional.

A mi amigo Juan Pérez Ocampo, quien desinteresadamente me apoyo con la instalación y acondicionamiento del equipo que fue usado en la ejecución de la presente tesis.

ÍNDICE GENERAL

Pág.

I. INTRODUCCIÓN 1

II. REVISIÓN DE LITERATURA 4

2.1. Definición de Microalga 4

2.2. Condiciones para el crecimiento de las Microalgas 6

2.3. Metales pesados 12

2.4. Biorremoción como alternativa a la eliminación de Cadmio. 18

2.5. Principales sistemas de Cultivos de Microalgas 19

2.6. Fotobiorreactor 23

2.7. Principales especies de microalgas usadas 25

2.8. Estudios realizados en eliminación de metales pesados con microalgas 29

III. MATERIALES Y MÉTODOS 33

3.1. Lugar de ejecución 33

3.2. Materiales y equipos 35

3.2.1. Componentes en estudio 35

3.2.2. Materiales y equipos de campo 35

3.2.3. Materiales y equipos de gabinete 35

3.3. Metodología 36

3.3.1. Montaje del Fotobiorreactor. 36

3.3.2. Reconocimiento de la zona de estudio 37

3.3.3. Recolección de muestras 38

3.3.4. Cosecha de Microalgas 38

3.3.5. Preparación de Medio de Cultivo Líquido 38

3.3.6. Análisis de Biorremoción 40

3.3.7. Monitoreo de Crecimiento Celular. 41

3.3.8. Determinación de Cd por Fotoespectrometría 43

3.3.9. Medición de parámetros ambientales 44

3.4. Determinación del Porcentaje de Remoción de Cadmio 45

3.5. Análisis estadístico 46

3.5.1. Prueba de Tukey 46

3.5.2. Coeficiente de Variabilidad: 46

3.5.3. Análisis de Variable 47

IV. RESULTADOS 48

4.1. Determinación de microalgas con potencial de remoción de cadmio..... 48

4.1.1. Clasificación de especies encontradas en la piscigranja Villa Hidalgo..... 49

4.1.2. Clasificación de especies encontradas en la laguna de los Milagros 51

4.2. Determinación del grado de tolerancia de las algas al contaminante cadmio para su crecimiento 54

4.2.2. Densidad Celular 57

4.3. Eficiencia de Remoción de cadmio 59

V. DISCUSIÓN..... 62

VI. CONCLUSION..... 65

VIII. ABSTRACT..... 67

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 69

X. ANEXO 75

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro Pág.

1. Fuentes de contaminación con metales pesados 14

2. Principales fuentes de cadmio en el medio ambiente 18

3. Ventajas y desventajas de los fotobiorreactores de sistemas abiertos 22

4. Ventajas y desventajas de los fotobiorreactores de sistemas cerrados..... 25

5. Microalgas usadas en la depuración de aguas residuales. 27

6. Reactivos usados en la elaboración del medios MIGUEL (ALLEN – NELSON 1910) para la inoculación de Microalgas 39

7. Primera Evaluación de Cd durante dos semanas, a diferentes concentraciones (0, 5, 10 mg/L)..... 40

8. Segunda Evaluación de Cd durante dos semanas a diferentes concentraciones (0, 160, 625 mg/L)..... 41

9. Tercera Evaluación de Cd durante dos semanas a diferentes concentraciones (0, 1000, 2500 mg/L)..... 41

10. Diseño Experimental para la remoción de cadmio con miroalgas..... 45

11. Especies de microalgas encontradas en los puntos de muestreos..... 48

12. Análisis de Varianza para degradación de cadmio 55

13. Prueba de Tukey para degradación de cadmio con respecto al tratamiento 56

14. Prueba de Tukey para degradación de Cadmio con respecto al tiempo 56

15. Análisis de Varianza para la Densidad Celular 58

16. Prueba de Tukey de la Densidad Celular Con Respecto al Tratamiento 58

17. Prueba de Tukey de la Densidad con respecto al tiempo. 59

18. Eficiencia de remoción de cadmio 59

19. Niveles de degradación de cadmio por tratamiento por día 75

20. Medias por Mínimos Cuadrados para remoción de Cadmio, con intervalos de confianza del 95.0%. 77

21. Contraste prueba estadística Tukey Degradación de cadmio con tratamientos 79

22. Contraste prueba estadística Tukey Degradación de metales pesados con tiempo. 80

23. Densidad celular a diferentes concentraciones de Cd (0, 5, 10, 160, 625, 1000, 2 500 ppm) 81

24. Medias por Mínimos Cuadrados para la Densidad Celular, con intervalos de confianza del 95.0%. 82

25. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD para la Densidad celular por Tratamiento..... 84

26. Medias por Mínimos Cuadrados para la Densidad Celular, con intervalos de confianza del 95.0% 85

27. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD para la Densidad celular por Tiempo..... 86

28. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD para la Densidad celular por Tiempo..... 87

29. Porcentaje de Remoción de Cadmio a los 9 días 88

30. Medición de pH para la primera evaluación 89

31. Medición de pH para la segunda evaluación..... 89

32. Medición de pH para tercera evaluación..... 90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura Pág.

1. Ubicación del lugar de ejecución..... 33

2. Diagrama de Flujo del Fotobiorreactor usado en el crecimiento celular de microalgas..... 37

3. Procedimiento para realizar el conteo Celular..... 42

4. Modelo de conteo de cuadriculas del hematocímetro o cámara de neubauer..... 43

5. Cosmarium Sp, especie de microalga dulce acuícola..... 49

6. Scenedesmus obliquus, especie de microalga dulce acuícola..... 50

7. Stauroneis sp., especie de microalga dulce acuícola..... 51

8. Cymbella sp., especie de microalga dulce acuícola..... 52

9. Pinnularia maior., especie de microalga dulce acuícola..... 53

10. Niveles de remoción de cadmio por tratamiento y días..... 54

11. Densidad Celular de microalgas de tratamiento por días..... 57

12. Eficiencia de remoción de cadmio con microalgas a diferentes tratamientos..... 60

13. Comparación de remoción de cadmio con el estandar de calidad a 0.01 61

14. Porcentaje de remoción de cadmio a diferentes tratamientos..... 61

15. Grafico Dispersión de Degradación de Cadmio 78

16. Gráfico de ANOVA para degradación de cadmio..... 78

17. Grafico Dispersión de la Densidad Celular respecto al tratamiento 83

18. Grafico Dispersión de Degradación de la Densidad Celular respecto al Tiempo 83

19. Gráfico de ANOVA para la densidad celular 84

20. Rango Densidad Celular por tratamiento 86

21. Rango Densidad Celular por tiempo 87

RESUMEN

Se desarrolló una técnica de biorremoción, para evaluar la biorremoción de Cd^{2+} usando microalgas verde amarillas dulceacuícolas del grupo Diatomeas, recolectados en los cuerpos de aguas de la Piscigranja Villa Hidalgo y la laguna de los Milagros de la ciudad de Tingo María, trabajados en las instalaciones del laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, utilizando un fotobiorreactor de diseño propio.

El crecimiento se determinó por cuenta directa, revelando que a bajas concentraciones de Cd^{2+} (5,10,160 mg/L) permite el desarrollo de microalgas *Scenedesmus obliquus*. Sin embargo, no resiste periodos largos de exposición a concentraciones altas (625, 1,000, y 2,500 mg/L).

Se observó una rápida remoción de cadmio durante los dos primeros días de incubación, seguida por una reducción gradual observadas mediante lecturas en el espectrofotómetro de absorción atómica, existiendo una diferencia entre las concentraciones iniciales de Cadmio; en tres de las muestras instaladas se apreció que la biorremoción en Microalgas era eficiente para 5, 10, 160 mg/L, pero en las otras concentraciones de Cd^{2+} (625, 1,000, y 2,500 mg/L) la reducción de Cd^{2+} no era la misma como al inicio de las evaluaciones, en tanto que a concentraciones de 2,500 mg/L de Cd^{2+} las microalgas no llegan a crecer produciéndose la muerte al tercer día de incubación.

Esta especie resultó ser un buen remediador de Cd^{2+} con alta capacidad de biorremoción.

Palabras clave: Biorremoción, Microalgas, *Scenedesmus obliquus*, Fotobiorreactores.

I. INTRODUCCIÓN.

La preocupación por la contaminación ambiental ha dado como resultado investigación más intensa y el desarrollo de tecnologías sustentables, así como una normatividad cada vez más estricta. Como resultado, la introducción de tecnologías limpias en los procesos industriales ha logrado disminuir las descargas de sustancias contaminantes al ambiente. (REYES, 2006).

La contaminación del agua, aire y suelo por metales pesados (plomo, arsénico, cromo, cobre, cadmio, etc.) es uno de los problemas ambientales más severos, además de ser muy difícil de resolver. Las fuentes más comunes de contaminación por dichos metales son los procesos de refinación del petróleo, las plantas generadoras de energía y los procesos metalúrgicos (ACOSTA *et al.* 2007). A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales pesados no son biodegradables, es decir, pueden persistir y acumularse en el medio ambiente y en los organismos vivos (PANINI, 2004)

En algunas partes del Perú el desarrollo industrial y el manejo inadecuado de los residuos que contienen metales pesados generando una problemática muy grave y un claro ejemplo es el caso de la ciudad de La Oroya la cual ha sido calificada en el año 2006 en un informe de la Organización

Mundial de la Salud (OMS) como la quinta ciudad más contaminada del mundo, esto ha conducido a un deterioro de los recursos hídricos, el rio Mantaro, así como el suelo y lo más importante la repercusión sobre la salud de sus pobladores.

Actualmente existen diferentes procesos físicos y químicos utilizados en la eliminación de metales pesados así también la biosorción ha surgido como solución alternativa para el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados, debido a que los biosorbentes usados son de bajo costo, ambientalmente amigables, exhiben cierta selectividad por los metales pesados es el caso de las algas se utilizan en cultivos por su capacidad de biorremover o bioadsorber contaminantes. La biorremoción consiste en el atrapamiento pasivo de algunas substancias, especialmente metales tóxicos en las estructuras externas de las células. Este proceso es independiente del metabolismo celular (WASE Y FOSTER, 1997).

Este trabajo permitió el establecimiento de un esquema productivo de aprovechamiento integral de microalgas y su remoción de Cd^{2+} encontrados en el medio ambiente habiendo tenido como problema: ¿las microalgas verde amarillentas dulceacuícolas tienen el potencial de remover cadmio del agua a diferentes concentraciones?

Contrastando la hipótesis que el potencial de remoción de cadmio alcanzado por las algas verde amarillentas reduce los niveles de cadmio por debajo de los estándares de calidad ambiental del agua.

1.1. Objetivo general

Determinar el potencial de remoción de cadmio a diferentes concentraciones a partir del agua de microalgas verde amarillentas dulceacuícolas

1.1.1. Objetivos específicos

- Determinar microalgas verde amarillentas dulceacuícola con potencial de remoción de cadmio a diferentes concentraciones.
- Determinar el grado de tolerancia de las microalgas verde amarillentas dulceacuícola al contaminante Cd^{2+} en su desarrollo.
- Identificar el género de microalga verde amarillenta con mayor potencial de remoción de Cd^{2}.
- Determinar la eficiencia de Remoción de Cd^{2+} en función al tiempo de exposición.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Definición de Microalga

Las Microalgas son un conjunto de microorganismos en su mayoría fotosintéticos, unicelulares, filamentosos que forman cadenas, colonias o cenobios. Están presentes en aguas saladas, agua dulce o en el suelo. Los grupos que las conforman presentan individuos con notables similitudes morfológicas, las cuales surgen como respuestas adaptativas convergentes al medio físico en el que habitan: altamente heterogéneo y caracterizado por diversas gradientes de luz, temperatura y nutrientes que son modificados por la turbulencia del agua.

Se consideran responsables del material orgánico que se encuentra en los ecosistemas acuáticos, así como el 40% de la fotosíntesis del total del planeta (MARDGALEF, 1993).

Su importancia radica en su papel como productores primarios de la cadena trófica, que las constituyen en las primeras formadoras de materia orgánica. Por su tamaño reducido y variado (5–50 µm en promedio) son de fácil captura y digestión por multitud de organismos que se alimentan en forma directa del fitoplancton (ABALDE, 2004)

2.1.1. Características de las Microalgas

Las características adaptativas que presentan las microalgas están relacionados con la resistencia al hundimiento, y con la habilidad para absorber rápidamente nutrimentos cuando estos se encuentran disponibles o para acumularlos intracelular cuando escasean por ello a fin de mantenerse en la capa iluminada de las aguas naturales, solo las formas más pequeñas tienden a ser redondeadas; las medianas y las más grandes muestran algún grado de alargamiento o poseen apéndice, prolongaciones, cuernos, espinas y otras estructuras que aumentan tanto la ficción del agua como la regulación de la superficie / volumen para la absorción de Nutrientes.

Los ciclos de vida son cortos e incluyen la formación de esporas de resistencia o de células de reposo, con lo cual sobreviven en situaciones desfavorables. Su nutrición es por absorción iónica de carbono, hidrogeno, oxigeno, nitrógeno, fosforo, azufre, potasio, Calcio, hierro y Magnesio, así como de cantidades traza de Manganeso, boro, Cobalto, Cobre, Zinc y Molibdeno; si bien, para algunas especies son necesarias otras moléculas inorgánicas y orgánicas complejas. De los grupos que las conforman, las cianofitas, clorofitas, crisófitas, euglenofitas y diatomeas pennales son más comunes en las aguas dulces (MARDGALEF, 1993)

2.2. Condiciones para el crecimiento de las Microalgas

Las condiciones óptimas de temperatura, intensidad luminosa, salinidad, nutrientes y pH para el cultivo de microalgas, varían ampliamente de una especie a otra, estos parámetros fisicoquímicos, han sido determinados en laboratorio y nos ayudan a comprender las condiciones óptimas para el desarrollo de las diferentes especies en cultivo. Actualmente a nivel comercial, los cultivos masivos de microalgas al exterior y los fotobiorreactores cobran mayor importancia para la producción de compuestos químicos de alta pureza, como: biocombustibles, biofertilizantes, intercambiadores iónicos y carotenos; así mismo, para el tratamiento de aguas residuales, obtención de compuestos terapéuticos y como alimento de consumo humano y animal.

2.2.1. La Luz

Las microalgas como organismos autótrofos fotosintetisadores, dependen de la luz para su desarrollo y producción de materia orgánica. La respuesta fotosintética a la energía luminosa se caracteriza por una respuesta lineal baja al incremento en la irradiación, hasta llegar a su máxima capacidad fotosintética, donde las células son independientes de la irradiación (ABALDE, 2004). Bajo condiciones estables (no movimiento) las células se aclimatan a un nivel de irradiancia, obteniendo bajo esas condiciones tasas de crecimiento y fotosintéticas no necesariamente óptimas mediante un ajuste en sus procesos fisiológicos. En células aclimatadas a bajas irradiancias, la concentración de

clorofila se incrementa para poder obtener la energía luminosa necesaria para continuar con el proceso fotosintético. Por otro lado, células aclimatadas a altas irradiancia, decrece la concentración celular de clorofila-a e incrementan la concentración de pigmentos accesorios fotoprotectores (carotenos) para evitar la oxidac0ión de los fotosistemas (MACINTYRE, 2002), reportan que células aclimatadas a alta iluminación no mostraron una tasa de crecimiento mayor que células en baja iluminación, porque a saturación de luz, las concentraciones de clorofilas serán proporcionalmente mucho menores de la masa total de los pigmentos celulares en alta iluminación.

2.2.2. Nutrientes

En función de los nutrientes empleados, las microalgas se pueden clasificar en autótrofas, heterótrofas, o mixotróficas. Es importante destacar que un déficit de nutrientes provoca en las microalgas una acumulación de lípidos siempre que haya luz y CO_2 disponibles (RODOLFI, 2009).

Los principales nutrientes minerales que las microalgas toman del medio y necesitan para su desarrollo son:

- **Carbono**

Las microalgas autótrofas pueden emplear como fuente de carbono el CO_2 presente en la atmósfera o en gases de escape, así como los iones bicarbonato (HCO^{3-}) mediante la enzima anhidrasa carbónica. Son capaces de

tolerar hasta unas 150.000 ppmv de CO_2 en aire de media, aunque hay especies de microalgas como *Chlorella,* que han demostrado que toleran hasta 400.000 ppmv. Cuando se provee a las algas de carbonato, se hace generalmente en forma de Na_2CO_3 y $NaHCO_3$.

Los compuestos orgánicos proporcionan para las microalgas heterótrofas tanto la energía como la fuente de carbono. Así mismo, las microalgas mixotróficas son capaces de crecer bajo procesos tanto autótrofos como heterótrofos, de manera que la fuente de energía es tanto la luz como la materia orgánica, obteniendo el carbono de compuestos orgánicos y del CO_2.

- **Nitrógeno**

Es otro de los macronutrientes esenciales en el crecimiento de las microalgas. El contenido en nitrógeno de la biomasa algal puede suponer desde un 1% hasta más del 10%, en función de la disponibilidad y el tipo de fuente de nitrógeno. Las microalgas pueden tomar nitrógeno del medio generalmente en forma de urea, nitrato, nitrito, amonio, nitrógeno gas y óxidos de nitrógeno (NO_x). En un estudio (XIN, 2010) se demostró que la microalga *Scenedesmus sp.*, crece más rápidamente con amonio, seguido de urea y finalmente de nitrato, en cambio, la eliminación de fósforo y nitrógeno fue más completa en el cultivo donde el nitrógeno estaba presente en forma de nitrato y urea que en el cultivo realizado con amonio, puesto que el nitrógeno en forma de amonio, cuyo equilibrio de disociación depende de la temperatura y el pH del medio, inhibe también el

crecimiento de las microalgas debido a que es normalmente tóxico para los organismos fotosintéticos, ya que desacopla el transporte electrónico en el fotosistema II y compite con el agua en las reacciones de oxidación que generan el O_2 libre. La tolerancia al amonio depende de la especie cultivada: por ejemplo, *Spirulina* se ve prácticamente inhibida ante concentraciones de 200 mg NH^{4+}/L mientras que *Chlorella sorokiniana* no muestra inhibición ante concentraciones de 400 mgNH_4+/L. Lo que aún no se ha determinado es qué forma de nitrógeno es más beneficiosa energéticamente para la producción de microalgas.

- **El fósforo**

La cantidad necesaria de fósforo es mucho menor que la de nitrógeno para una misma cantidad de biomasa generada.

Diversos autores concluyen que la toma de nutrientes por parte de las microalgas se ve influida por la relación N:P en el medio de cultivo, de modo que se producirá un mayor crecimiento y toma de nutrientes cuanto más próxima esté a la composición de las microalgas. Por ejemplo, para la microalga *Chlorella* la relación óptima es de 8:1 (ASLAN y KAPDAN, 2008). Sin embargo, como las microalgas son capaces de adaptarse al medio de cultivo pueden tomar, en principio, uno de los nutrientes en una proporción mayor que la presente en su composición celular.

Las microalgas requieren, para su crecimiento, además de otros macro- y micronutrientes (RICHMOND, 2004). Aparte del C^{2+}, N^{3-} y P, otros

elementos son necesarios para el cultivo de microalgas, tanto macronutrientes (S, K, Na, Fe^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}) como micronutrientes o elementos traza (B^{3-}, Cu, Mn^{2+}, Mo^{2+}, Zn^{2+}, V^{2+} y Se^{2-}), tal como se observa en la composición elemental de las células microalgales (RICHMOND, 2004).

2.2.3. pH

El pH del medio influye tanto en la proporción de las especies del equilibrio químico del CO2, y por tanto, en la alcalinidad del medio, como en la forma química en que se encuentran algunos nutrientes y micronutrientes necesarios. Cada especie de microalga tiene un rango de pH en el cual su crecimiento es óptimo, dependiendo de qué especies químicas esté más habituada a asimilar. El pH en la mayoría de cultivos de microalgas se encuentra entre 7 y 9, con un óptimo entre 8,2–8,7.

El proceso fotosintético de fijación de CO_2 provoca un aumento gradual de pH en el medio debido a la acumulación de OH^-, lo que puede promover la eliminación de nitrógeno en forma de amoniaco por stripping a la atmósfera y la eliminación de fósforo por precipitación de ortofosfatos.

El control de pH se consigue mediante aireación o inyección controlada de CO_2, pero también mediante la adicción de ácidos o bases (RICHMOND, 2004).

2.2.4. Oxígeno

El nivel de oxígeno disuelto es un parámetro que debe ser controlado en el cultivo de microalgas, ya que altas concentraciones de oxígeno disuelto pueden inhibir la fijación de carbono por parte del enzima RuBisCo. Esta inhibición se ve favorecida por un déficit de CO_2 y por la alta radiación y temperatura.

Muchas especies de microalgas no son capaces de sobrevivir en un medio sobresaturado de oxígeno más de 2 o 3 horas. El nivel de saturación varía siendo para algunas especies el 120% de saturación en el aire mientras que para otras el 200%.

Así mismo, en cultivos de alta densidad, la producción fotosintética de oxígeno puede alcanzar hasta los 40 mg/L, de forma que con la radiación adecuada pueden llegar a desarrollarse radicales de oxígeno libres. Estos radicales son tóxicos para las células y causarían daños en sus membranas. La presión parcial del oxígeno en el cultivo puede disminuirse aumentando la turbulencia y stripping de aire (RICHMOND, 2004).

2.2.5. Temperatura

En el crecimiento de las microalgas, la temperatura es un factor a considerar, puesto que influye en los coeficientes de velocidad de las reacciones biosintéticas La relación entre temperatura y velocidad de crecimiento aumenta exponencialmente hasta que se alcanza la temperatura óptima.

A pesar de que una gran variedad de microalgas son capaces de desarrollarse en un rango amplio de temperaturas, como la especie *Chlorella* que puede crecer entre 5 y 42°C, todas ellas presentan un rango fuera del cual se ven inhibidas e incluso mueren.

Por otro lado, si existe una fluctuación muy amplia entre la temperatura máxima y mínima, puede ser igual de importante tanto el calentamiento durante las horas del día con poca luz como la refrigeración durante las horas de mayor iluminación. Diversos autores han demostrado que en el caso de que el dióxido de carbono o la luz sean limitantes en el cultivo, la temperatura no ejerce una influencia significativa (RICHMOND, 2004).

2.3. Metales pesados

Los metales pesados son un grupo de elementos químicos, con elevado peso atómico y una densidad superior a 5 g/cm^3, que presentan cierta toxicidad para el ser humano. No se dispone de una definición oficial aceptada, existiendo varios criterios que los clasifican.

Algunos, los denominados esenciales, son imprescindibles para el desarrollo de las funciones vitales de los organismos como por ejemplo, el Co^{2+}, Cu^{+}, Fe^{2+}, Mg^{2+}, Mo^{2+} y Zn^{2+}, pero, en cantidades excesivas son perjudiciales e incluso letales para los seres vivos. Por otra parte, los metales no esenciales, altamente tóxicos en cantidades muy reducidas y comúnmente implicadas en problemas de contaminación ambiental, son el Cr^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{+}, Pb^{2+}, As^{3-} y Sb^{3-}.

Para evaluar el grado de toxicidad que un metal pesado presenta en el medio ambiente se deben considerar diversos factores. Algunos de los más relevantes son la propia naturaleza del metal, su biodisponibilidad (grado de absorción en los seres vivos) y las diversas fuentes que los introducen en el medio ambiente.

Los metales pesados presentes en el medio ambiente pueden ser de naturaleza geogénica (origen natural) o antropogénica. Se habla de origen natural cuando el contenido de metales se atribuye a la composición de los distintos minerales presentes en el suelo. Por otra parte, los metales de naturaleza antropogénica son el resultado de las actividades industrial, minera y agrícola realizadas por el hombre. En el Cuadro 1 se muestran las diferentes fuentes, especificando su grado de aportación. Se observa que las actividades con mayor riesgo ambiental se deben a la descarga de metales procedentes de la expulsión de gases y partículas en los procesos de combustión y de la deposición de residuos urbanos e industriales (DIAZ, 2001).

Cuadro 1. Fuentes de contaminación con metales pesados

Fuente	Contribución (%)
Cenizas de combustión	74
Desechos Urbanos	9
Turba	6
Residuos Metalúrgicos	6
Residuos de materia orgánica	3
Fertilizantes	<2
Otros (residuos de alimentos, agrícola, madera, etc)	<1

Fuente Díaz 2001.

La biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo está dada por las fracciones soluble y adsorbida; sólo cuando los metales se encuentran en solución o adsorbidos en los sitios activos de intercambio de los constituyentes inorgánicos del suelo están realmente disponibles para que las plantas los extraigan (SILVERA, 2003).

Otro de los factores que determina la peligrosidad de estos elementos es que, aun cuando se encuentren presentes en cantidades bajas e indetectables, la inexistencia de vías naturales para su asimilación y su consiguiente persistencia en el agua, implica que a través de procesos naturales se produzca bioacumulación en los seres vivos, es decir, se da una concentración mayor que la del ambiente en el interior de los organismos debido a que su acumulación es más rápida que su metabolización o excreción. Esto genera un problema ecológico importante ya que, una vez que estos seres entran en la cadena trófica, se produce un proceso conocido como biomagnificación, haciendo que en los

estados superiores de esta cadena, por ejemplo, en los seres humanos, la concentración de metales pesados puede llegar a ser tan elevada que empiece a ser tóxica, mientras que en el ambiente más próximo no existe un problema de contaminación por metales pesados (TENORIO, 2006)

2.3.1. Cadmio

El cadmio (cadmia en latín y en griego kadmeia, significa "calamina", nombre que recibía antiguamente el carbonato de zinc) fue descubierto en Alemania en 1817 por Friedrich Stromeyer como una impureza en el carbonato de zinc. Stromeyer observó que algunas muestras de calamina con impurezas cambiaban de color cuando se calentaban, mientras que el mineral puro no lo hacía; el nuevo elemento era el responsable de esta diferencia de comportamiento.

Elemento químico, con número atómico 48, peso atómico de 112,4 g/mol y densidad de 8650 kg/m3, que pertenece, junto con el zinc y el mercurio, al grupo 12 de la tabla periódica. Metal dúctil y maleable, de color blanco y con un cierto tono azulado, que presenta una presión de vapor relativamente alta de 14,8 Pa (597 K). Su vapor, de color anaranjado, se oxida rápidamente en presencia de aire para producir óxido de cadmio (IPCS, 1992).

2.3.1.1. Efectos sobre la salud Humana

El cadmio es un metal tóxico, incluso en concentraciones muy pequeñas, y no esencial para el organismo, que tiende a acumularse en los tejidos humanos, En los seres humanos, el cadmio puede ser adquirido mediante dos vías: ingestión e inhalación. La primera de ellas es la más frecuente si el individuo no sufre exposición laboral.

En exposiciones laborales, la inhalación es la ruta principal de ingreso y la absorción a partir de esta vía depende del tipo de compuesto inhalado, del tamaño de las partículas y de su retención en el pulmón. Los puestos de trabajo más agresivos en exposición laboral se hallan en la industria metalúrgica primaria de cadmio, plomo y zinc, en la producción y uso de pigmentos de cadmio, en la producción de estabilizadores de plásticos con cadmio y en la fabricación de baterías de cadmio-níquel.

Por otro lado, el cadmio adquirido por ingestión entra en la alimentación humana a través de vegetales y productos animales. Se fija a las plantas más rápidamente que el plomo. Los frutos y semillas contienen menos cadmio que las hojas. El pescado, los crustáceos, el riñón y el hígado de animales acumulan cadmio en grado relativamente elevado. Una dieta deficiente en Ca^{2+}, Fe^{2+} o proteína incrementa su velocidad de absorción.

La contaminación por vía digestiva, ingestas de hasta 100 mg van a producir síntomas gastrointestinales, mientras que a partir de los 350 mg se

considera que es potencialmente mortal. Por vía inhalatoria, concentraciones ambientales superiores a 200 µg/m3 inducen a la "fiebre de los metales", a partir de 500 µg/m3 aparece una neumonitis química y más allá de los 5.000 µg/m3 se considera mortal (RAMIREZ, 2002).

2.3.1.2. Efectos sobre el Medio Ambiente

El cadmio es uno de los mayores agentes tóxicos asociado a contaminación ambiental e industrial, pues reúne cuatro de las características más temidas de un tóxico: efectos adversos para el hombre y el medioambiente, bioacumulación, persistencia en el medio ambiente y que 'viaja' grandes distancias con el viento y en los cursos de agua.

Este metal ingresa al medio ambiente mediante diversas fuentes tanto naturales como antropogénicas. En el Cuadro 2 se indican las principales fuentes de entrada de cadmio al ambiente (RAMIREZ, 2002).

Cuadro 2. Principales fuentes de cadmio en el medio ambiente

Fuentes de cadmio	
Antropogénicas	**Naturales**
Lodos residuales y estiércol	Actividad Volcánica
Fertilizantes, fosfatos y nitrogenados	Rocas
Industrias de plateado y galvanizado	
Minería Cinc, cobre, plomo y otros metales	
Industria de fundición de metales	
Incineración	
Industrias de Alimentos fosfatos para animales	

Fuente Ramírez 2002.

Como muestra la tabla anterior, el cadmio se encuentra naturalmente en el medio ambiente. Pequeñas cantidades de este metal se encuentran naturalmente en el aire, en el agua, en el suelo y en los productos alimenticios

2.4. Biorremoción como alternativa a la eliminación de Cadmio.

La necesidad de métodos económicos y efectivos para la eliminación de metales pesados ha tenido como resultado el desarrollo de nuevas tecnologías de separación. En este sentido, existen varios procesos que están siendo investigados con el fin de retirar metales pesados de residuos líquidos, destacando entre ellos: la precipitación extracelular, la Biorremoción y la captación a través de biopolímeros purificados y de otras moléculas especializadas derivadas de células microbianas, basadas las dos últimas en la capacidad de los metales para unirse por distintos mecanismos a materiales biológicos.

La biorremoción es una de las tecnologías más prometedoras para la retirada de metales tóxicos de las aguas residuales ya que, al tratarse de un proceso con características únicas, lo convierte en una alternativa potencial a los procesos convencionales, entre otras cuestiones, porque es un proceso generalmente rápido y que resulta muy interesante para la extracción de iones metálicos a bajas concentraciones de grandes volúmenes de agua.

Un proceso de biorremoción involucra una fase sólida (biosorbente) y una fase líquida (solvente, que es normalmente agua) que contiene las especies disueltas que van a ser biosorbidas (sorbato, esto es, iones metálicos).

Los biosorbentes naturales generalmente usados se pueden clasificar, según su origen, en dos tipos: biomasa microbial (algas, bacterias, hongos y levaduras) y residuos vegetales procedentes de procesos industriales o agrícolas (PAGNANELLI, 2005).

2.5. Principales sistemas de Cultivos de Microalgas

Las microalgas se pueden cultivar de manera fotoautótrofa, fotoheterótrofa, heterótrofa o en condiciones de mixotrofia. Según (BRENNAN Y OWENDE, 2010) la producción fotoautótrofa es hoy en día el único método de producción de microalgas a gran escala que resulta económicamente rentable y técnicamente viable en el caso de que no haya producción de energía.

Respecto a los sistemas de cultivo, éstos se suelen clasificar, según su configuración y el tipo de funcionamiento en:

2.5.1. Sistemas de cultivos abiertos

El sistema de cultivo abierto se ha venido empleando desde los años 50 para la producción comercial de microalgas estas se pueden clasificar en aguas superficiales naturales, como estanques, lagunas y lagos, y estanques artificiales.

Los sistemas artificiales presentan diferentes diseños: inclinados (de capa fina), circulares y los más extendidos son los estanques de carrusel o canales (raceway ponds) y suelen ser canales de hormigón ovalados poco profundos (de 15-20 cm) en forma de circuito cerrado, donde el cultivo es recirculado y mezclado para favorecer la estabilización del crecimiento y la productividad de las microalgas. Elementos como un rodete, hélices, inyectores de aire, para evitár así la sedimentación, debido a la poca profundidad de los canales, la difusión desde la atmósfera permite a las algas obtener el CO_2 necesario para su crecimiento. No obstante, se pueden instalar difusores en el fondo del estanque y reflectantes de luz para poder aumentar la profundidad de los mismos.

Otro tipo de sistemas de cultivo abierto son "piscinas inclinadas" en las que la turbulencia es creada por la propia gravedad. Presentan una serie de inconvenientes tales como la fuerte evaporación, la ineficiente utilización del terreno y la sedimentación de las células en los sectores en los que la velocidad

de flujo es menor, así como el coste energético de bombear el cultivo de nuevo a la parte superior.

También existen "tanques circulares" para el cultivo de microalgas pero este sistema presenta una serie de desventajas tales como la ineficiente utilización del terreno, el elevado coste de las construcciones de hormigón y el alto consumo de energía, la agitación se realiza mediante una pala que gira recorriendo toda la superficie. A pesar de ser costosos en su construcción y operación, son muy usados en Japón, Taiwán e Indonesia para la producción de *Chlorella*.

La producción mediante estanques o lagunaje es un método más barato en comparación con los fotobioreactores, tanto en inversión como en mantenimiento y consumo energético durante el funcionamiento.

Sin embardo, en un sistema de cultivo abierto es difícil mantener una sola especie de microalga, debido a la facilidad de contaminación biológica, que puede incluso suponer la infección de dicho cultivo por bacterias u otros microorganismos. El modo de conseguir mantener un monocultivo en este tipo de sistemas es mediante el control de las condiciones ambientales, de modo que éstas tomen valores extremos, lo que es posible en el cultivo de microalgas extremófilas, pero no con otro tipo de microalgas. Por ejemplo, *Chlorella, Dunaliella salina* y *Spirulina* presentan esta opción, mediante el control de un alto

nivel de nutrientes, una elevada salinidad y una elevada alcalinidad respectivamente (LEE, 2001).

Cuadro 3. Ventajas y desventajas de los fotobiorreactores de sistemas abiertos

Ventajas	Desventajas
barato de construir	Baja productividad (bajas densidades de cultivo)
Bajo coste de funcionamiento	grandes superficies de cultivo necesarias
	Trabajo intensivo preciso
	Falta real de control de Cultivo
	Riesgo de Enfermedades bacterianas para las algas
	Complejo control de Temperatura
	Dificultad de mezclado eficiente
	Potencial falta de CO_2
	Limitación de la luz en capas inferiores

Fuente: Aplicaciones de las Microalgas: estado y la técnica.

2.5.2. Sistema cerrado

Los sistemas cerrados de cultivo de algas surgieron para solucionar la problemática de los sistemas de cultivo abiertos. Son sistemas más caros pero suplen las carencias de los sistemas tradicionales.

Los sistemas cerrados se encuentran en total aislamiento con el ambiente exterior y, por tanto, sin contacto directo con la atmósfera. Este aislamiento total del medio externo supone una reducción total de la contaminación, un mayor control de las condiciones de cultivo y, en general, una mayor rentabilidad.

2.6. Fotobiorreactor

Un fotobioreactor es un sistema cerrado forzado al máximo en busca de la obtención del mayor crecimiento de la microalga que se desee cultivar, se caracterizan por la regulación y control de la mayoría de parámetros de crecimiento importantes, al mismo tiempo que reducen el riesgo de contaminación y las pérdidas de CO_2 por difusión. Además, permiten condiciones de cultivo reproducibles, el control de la temperatura y un diseño flexible.

En estos equipos, la luz no incide directamente en las células, sino que atraviesa unas paredes transparentes para llegar hasta ellas. Por ello en los fotobioreactores cerrados el intercambio directo de gases entre el cultivo y la atmósfera suele estar fuertemente limitado. La principal consecuencia es la acumulación de oxígeno en su interior.

Las posibilidades técnicas de un fotobioreactor cerrado son mucho mayores que las de los sistemas abiertos.

Pueden clasificarse según su diseño y modo de operación:

- Desde el punto de vista del diseño, los fotobioreactores pueden clasificarse como: planos o tubulares, horizontales, verticales, inclinados o espirales, serpentines (tubos acodados, circulación en serie) o múltiples (circulación en paralelo desde un colector repartidor a uno recogedor).

- Desde el punto de vista del modo de operación, los fotobioreactores pueden clasificarse como: impulsado agitados por aire o por bombas, reactores de una fase (el intercambio de gases se produce en una cámar separada) o reactores de dos fases (no existe cámara de intercambio de gases, sino que éste se produce a lo largo de todo el reactor) (PULZ, 2001).

2.6.1. Fotobioreactores de columna vertical

Los fotobioreactores de columna vertical constan de un tubo vertical de altura generalmente entre 1 y 3 m, y un diámetro que oscila entre 5 y 50 cm, en el que se burbujea aire desde el fondo (UGWU. 2007) como sistema de agitación. Son compactos y de bajo coste, y muy sencillos de esterilizar y de operar monosépticamente. La desorción de gases tiene lugar en la parte alta de la columna. Se estima que pueden ser adecuados para el cultivo a gran escala, sin embargo, tampoco existen aplicaciones comerciales.

Por su posición vertical absorben menos radiación que los dispuestos horizontalmente, pero no acumulan oxígeno. Estos reactores suelen utilizarse como sistemas de producción de inóculos debido al elevado control de las condiciones de operación que se alcanzan en los mismos.

Cuadro 4. Ventajas y desventajas de los fotobiorreactores de sistemas cerrados

Ventajas	Desventajas
Alta productividad por km^2	
Posibilidad de producción continua	
Total control del crecimiento del alga	Mayor coste de inversión por Km2 que otros sistemas de producción hasta que se alcancen las economías de escala
Sistema de auto limpieza	
Tiempo mínimo de mantenimiento	
Vida útil de 30 años	
Amplia área para la luz en el sistema	
No hay partes plásticas	
Bajo consumo de energía	
Mínimos costes de operación y mantenimiento	

Fuente: Aplicaciones de las Microalgas: estado y la técnica.

2.7. Principales especies de microalgas usadas.

En la actualidad, existen diversos estudios publicados y experimentos realizados para calcular el rendimiento de la depuración de metales pesados mediante distintas especies de microalgas, las tasas de remoción de contaminantes del agua y la consecuente producción de biomasa con alto valor como materia prima para la generación de biocombustibles u otros usos.

2.7.1. Microalgas usadas en depuración de Aguas residuales.

Una de las primeras descripciones del empleo de algas en el tratamiento de aguas residuales se remonta al año 1957 y se debe a Oswald, quien describe un sistema de tratamiento mediante lagunaje. Las algas han ido

ganando atención desde entonces debido a su potencial de eliminación de nutrientes de aguas residuales urbanas.

Se han desarrollado tanto monocultivos como cultivos de varias especies en aguas residuales artificiales y reales, de modo que estudios simultáneos sobre un extenso número de especies de microalgas han concluido que éstas son aptas para la eliminación de contaminantes en aguas residuales y que la eficacia del proceso es muy prometedora. Los resultados muestran porcentajes de eliminación que alcanzan el 100% en algunos casos, variando en función de las condiciones de operación, las especies empleadas y las características del agua residual.

Algunas de las especies estudiadas son *Phormidium*, *Botryococcus*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus obliquus*, *Spirulina platenses* y *Chlorella sp*. (HERNÁNDEZ *et al.*, 2006). Estas especies pueden utilizar en su crecimiento diferente compuestos de nitrógeno tales como amonio, nitrato o urea.

Hay que destacar el potencial que presentan las microalgas no sólo en la eliminación de nutrientes de las aguas residuales sino también en la eliminación de metales pesados en dichas aguas.

En el cuadro 5 se resumen algunas de las microalgas que han sido empleadas en la depuración de diversos tipos de aguas residuales. (XIN, 2010).

Cuadro 5. Microalgas usadas en la depuración de aguas residuales.

Microalga	Tipos de aguas Residuales
Prototheca Zopfi	Hidrocarburo derivado del petróleo.
Chlorella pyrenoudosa	Tintes azoicos de aguas residuales
Chlorella sp.	Residuos de ganadería digeridos anaeróbicamente
Ankistrodesmus y Scenedesmus	Aguas residuales de industria del papel y alperujos
Spirulina platensis	Agua residual urbana
Chlorella sokoniana	Agua residual en heterotrofia sin luz
Botryococcus braunii	Agua residual tras tratamiento secundario
Scenedesmus sp.	Altos niveles de amonio en efluente de digestión anaerobia

Fuente XIN, 2010.

2.7.2. Microalgas para la depuración de aguas residuales industriales

En el caso de las aguas residuales industriales el principal interés no suele ser la eliminación de nutrientes sino la eliminación de metales pesados, tales como cadmio, cromo, zinc, etc., o compuestos tóxicos orgánicos (hidrocarbonos, biocidas, tensioactivos) que pueden ser fijados por determinadas microalgas.

Las microalgas fotosintéticas son capaces de acumular metales pesados mediante adsorción química, intercambio iónico y quimisorción, enlace covalente, precipitación de superficie, reacciones redox o cristalización sobre la superficie de su pared celular. En ocasiones el metal es transportado al interior de la célula como mecanismo de defensa para evitar su intoxicación, o simplemente

como medio para acumular elementos traza necesarios para su desarrollo. A su vez, las microalgas son capaces de segregar metabolitos que actúan como agentes quelantes de iones metálicos. Otro motivo por el cual las aguas industriales tratadas mediante microalgas presentan menor concentración de iones metálicos es la precipitación química debido al aumento de pH asociado a la fotosíntesis.

En un estudio llevado a cabo por WANG Y MIN (2009) queda patente que la capacidad de eliminar metales como hierro, aluminio, manganeso, magnesio y zinc de las microalgas es mayor que la de la biomasa bacteriana y fúngica, estudiándose cuatro tipos diferentes de agua residual, obteniéndose porcentajes de eliminación de entre el 56 y el 100%.

Así mismo, las algas (ej. *Phormidium, Scenedesmus, Chlorella*) inmovilizadas en matrices sintéticas como acrilamida, poliuretano, resinas, espumas de polivinilo o en polímeros naturales como alginato, carragenato, agar, agarosa, así como en quitosano, son capaces de eliminar diversos metales pesados.

Existe un estudio en agua residual de una industria de fabricación de alfombras, donde las microalgas *Chlorella saccharophila, Pleurochrysis carterae* y *Botryococcus braunii* son capaces de generar, sin embargo, una cantidad importante de biomasa, que podría ser empleada para usos energéticos (CHINNASAMY 2010).

2.8. Estudios realizados en eliminación de metales pesados con microalgas.

TAPIA et al. (2011) realizaron en la Universidad de Atacama del departamento de Metalurgia los experimentos de biosorción batch y en continuo para remover cobre desde soluciones acuosas usando como adsorbentes algas verdes y residuos de aceituna en condiciones vírgenes y activadas químicamente. Los resultados de la biosorción a escala batch indican que las algas presentan mayor capacidad de eliminación que los orujos, alcanzándose captaciones de cobre del orden de 96 % con algas activadas con disoluciones de Na_2SO_4 bajo condiciones óptimas de las variables estudiadas. Los resultados de los ensayos en columna muestran que las algas vírgenes captan más iones cobre que las activadas con Na_2SO_4, con eficacias de eliminación del 98 % durante los primeros 20 min, con un tiempo de ruptura de 240 min y una saturación a los 600 min. Al ser sometidas a un segundo ciclo de biosorción, las algas regeneradas muestran un mejor rendimiento lo que indica que pueden ser usadas en otro ciclo de eliminación.

ABALDE (1995) realizo estudios en Bioacumulación de cobre en la diatomea marina *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, indicando que La bioacumulación de metales pesados por las microalgas marinas es de particular importancia ya que éstas constituyen el primer eslabón de la cadena trófica marina. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la mayor parte del cobre acumulado por las células de Phaeodactylum tricornutum se encuentra

unido a la su-perficie de las mismas, con relaciones entre cobre adsorbido y cobre total retirado superiores al 90%, mientras que el porcentaje de cobre acumulado intracelularmente se sitúa entre el 3 y el 6% del cobre total retirado. La cantidad de cobre adherido a la superficie celular de esta diatomea aumenta con la concentración de cobre del medio, con un valor máximo de 1.52 x 106 |ig célula1, para una concentración de cobre en el medio de 1 mg l1. La capacidad de acumulación intracelular de cobre se satura a partir de 0.5 mg 1'" de cobre en el medio, obteniéndose un valor máximo de cobre intracelular de 0.037 x 10"6 (ig célula'.

XUECHENG Y SONG (2007) realizo estudios de investigación en la Universidad de China Con el objeto de limpiar cuerpos de agua que han sufrido contaminación por metales pesados, se han desarrollado técnicas de biorremoción. En el presente estudio de laboratorio, se evaluó la bioacumulación de Pb^{2+} y Cd^{2+}. Se utilizaron cianobacterias *Synechocystis sp.* PCC 6803, organismo modelo que ha sido utilizado ampliamente en estudios genéticos, fisiológicos y morfológicos. El crecimiento fue medido mediante el conteo de células, revelando que a bajas concentraciones de Pb^{2+} (0.5 y 1 μg mL^{-1}) su influencia es positiva en *Synechocystis sp.* PCC 6803 resultando en una ligera estimulación del crecimiento. Sin embargo, la especie no pudo resistir periodos largos expuestos a concentraciones altas de ambos metales (2, 4, 6 y 8 μg mL^{-1}).

Las inhibiciones más altas registradas después del periodo de incubación de 6 días fueron de 53.14% y 70.07% para Pb^{2+} y Cd^{2+}

respectivamente a una concentración de 8 μg mL^{-1}. Se observó una rápida remoción de los metales durante los dos primeros días de incubación, seguida por una reducción gradual. Sin embargo, sólo se pudo encontrar una pequeña diferencia en la cantidad acumulada, ya que el porcentaje de Pb^{2+} removido de la solución fue mayor que el del Cd^{2}+ en todos los tratamientos. Aunque las diferencias entre las cantidades acumuladas de los dos metales son muy reducidas, el porcentaje de Pb^{2+} removido de la solución fue más alto que el de Cd^{2+} en el transcurso de incubación. Las cantidades de metal acumulado aumentaron en una relación dependiente de la dosis para ambos metales. La especie resultó ser un buen acumulador de metales con altos factores de bioconcentración, de 20 657 y 24 980 respectivamente para Pb^{2+} y Cd^{2+}.

VERANES *et al* (2011) el departamento de estudio sobre Contaminación Ambiental (DECA), Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), Cuba, realizo estudio del comportamiento de la microalga *Scenedesmus obliquus* para la precipitación de cromo en albañal sintético con la finalidad de evaluar la aplicación de la microalga *Scenedesmus obliquus* en la precipitación de cromo (Cr) de aguas residuales crómicas sintéticas. La microalga procedió 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. La precipitación fue el proceso que se vio más favorecido en la remoción del metal. Se lograron eficacias mayores del 95 % en la remoción del cromo, lo que se traduce en concentraciones

del metal inferiores a la máxima permisible normada en aguas, según la Norma Cubana NC 27:1999, para la concentración de 20 mg/L. Estos resultados sugieren la capacidad de *Scenedesmus obliquus* para la remoción de cromo, mediante precipitación, en efluentes galvánicos en las condiciones estudiadas.

PELLON *et al* (2005) realizo estudios en la eliminación de cromo y cadmio mediante *Scenedesmus obliquus* en estado inmovilizado, empleando un reactor con un cultivo de Scenedesmus obliquus inmovilizado. Se obtuvo una eficiencia de eliminación de Cr(III) del 92,40 y del 95 % para el Cd(II). El rápido ascenso experimentado en el pH tuvo un efecto importante sobre la forma de eliminación del metal por la microalga *Scenedesmus obliquus*, todo lo cual, permitió que los metales en disolución formaran un precipitado que sedimenta formando un lodo de color verde-azul.

De esta manera, se logra recuperar del 83 al 85 % de la masa de los iones metálicos presentes en el agua residual tratada. La temperatura del agua residual se mantuvo entre 22,5 y 34 °C, condición óptima para el buen desarrollo del *Scenedesmus obliquus,* así como del proceso de eliminación de esos metales pesados.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, políticamente ubicado en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado y región Huánuco; con una altitud de 660 m.s.n.m., en coordenadas 09° 09' 00" de latitud sur y 75° 59' 00" de longitud oeste.

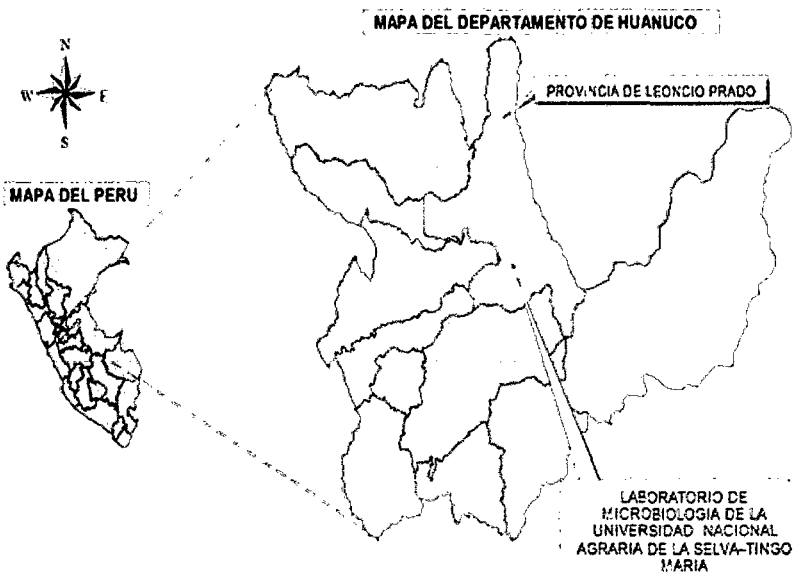

Figura 1. Ubicación del lugar de ejecución.

La colecta de muestras de microalgas se realizó en la Piscigranja Villa Hidalgo ubicado en el Distrito de Padre Felipe Luyando – Naranjillo, con coordenadas UTM 391102 E – 8981956N y en la laguna de los Milagros ubicado en el Distrito José Crespo y Castillo - Aucayacu, con coordenadas UTM 390615 Este, 8989104

3.1.1. Características ambientales del lugar de muestreo.

3.1.1.1. El clima

El clima en la provincia de Leoncio Prado la precipitación alcanza los 3,300 mm al año, su temperatura varía desde 18 °C hasta 36 °C, la humedad promedio anual de 80%., la laguna de los Milagros se encuentra entre los 2000 a 4,000 ml de precipitación anual, el clima es húmedo y la evapotranspiración esta entre 0.5 a 1, Villa Hidalgo el clima es húmedo y la evapotranspiración de 0.25 a 0.50.

3.1.1.2. Zona de vida

De acuerdo a la clasificación ecológica de las zonas de vida de (HOLDRIDGE, 1987) dichas áreas pertenecen a la formación vegetal de bosque muy húmedo Pre Montano Tropical (bmh - PT) y bosque húmedo Tropical (bh-T), perteneciendo a la Ecorregión de Selva alta.

3.1.1.3. Suelo

El uso actual de suelos de las áreas de colecta es destinada a la crianza de peces de distintas especies.

3.1.1.4. Accesibilidad

La zona de colección de muestras se realizó a través de la carretera central entre la ciudad de Tingo Maria - Aucayacu en la laguna de los Milagros a 25 km de recorrido y la piscigranja Villa Hidalgo Naranjillo está a 15 km en vehículo motorizado.

3.2. Materiales y equipos

3.2.1. Componentes en estudio

Microalgas verde amarillentas dulceacuícola del Genero Diatomea.

3.2.2. Materiales y equipos de campo

En la colección de las muestras de agua con microalgas, se utilizó frascos de vidrio 1 L esterilizados así como también guantes y mascarillas, además del respectivo kooler para el transporte de muestras rotuladas.

3.2.3. Materiales y equipos de gabinete

Materiales biológicos colectados, centrifuga para purificación de microalgas, tubos de centrifugas con tapa rosca de 50 ml, fotobiorreactor para el

crecimiento celular, matraces de 300 ml, bomba de aire de pecera (AIR PUMP JUNIOR) la que proporcionó 1,100 mL/min de O_2, medio de cultivo, capsulas de fluconazol 75 mg, ceftriazona de 1gr, para la eliminación de hongos y bacterias, vitaminas complejo B para el crecimiento de las muestras colectadas.

3.3. Metodología

3.3.1. Montaje del Fotobiorreactor.

El Sistema del Fotobiorreactor fue diseñado incluyendo un soporte de madera para seis fotobiorreactores de 55 cm de largo y 4.5 cm de diámetro para un volumen de 600 ml, adaptados a un temporizador programado cada 18 horas de luz y 6 horas apagado creando condiciones adecuadas a un ambiente natural, un sistema de electrificación de la luz de 1,600 Lumen de 20 wats para la fotosíntesis de la microalgas, y un sistema de aireación con bombas de oxígeno AIR PUMP JUNIOR) la que proporcionó 1,100 mL/min de O_2 para el crecimiento de las microalgas y matraces de 300 ml con solución saturada de NaCl como filtros para aire.

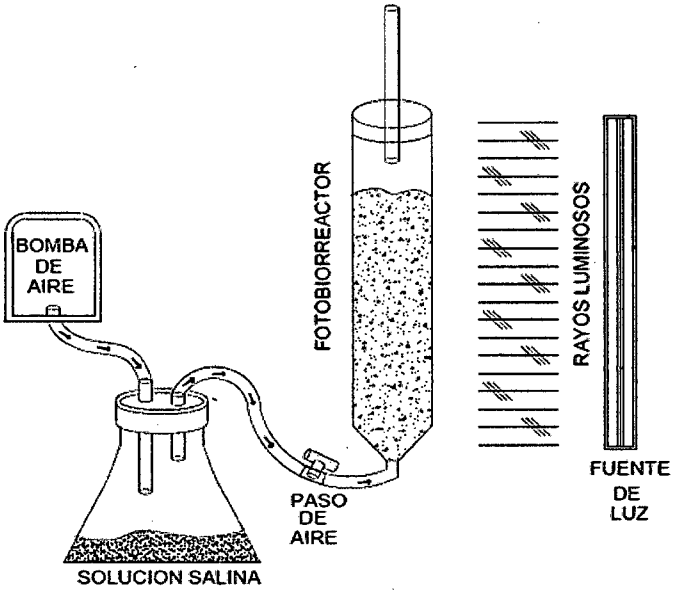

Figura 2. Diagrama de Flujo del Fotobiorreactor usado en el crecimiento celular de microalgas

3.3.2. Reconocimiento de la zona de estudio

Los estudios se realizaron en diferentes cuerpos de agua de la Piscigranja Villa Hidalgo de coordenadas UTM 391102 Este, 8981956 Norte, ubicado en el distrito de Felipe Luyano - Naranjillo y la laguna de los Milagros coordenadas UTM 390615 Este, 8989104 Norte en el distrito de Jose Crespo y Castillo - Aucayacu.

3.3.3. Recolección de muestras

Se realizó la recolección de las Microalgas de las aguas de la Piscigranja Villa Hidalgo y Laguna de los Milagro en frascos de 1 L esterilizados, para luego ser llevada a las Instalaciones del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para su identificación y separación de las muestra.

3.3.4. Cosecha de Microalgas

La cosecha de las microalgas recolectadas fueron realizadas por centrifugación para luego separar el sobrenadante por drenaje (MOLINA, 2003), el cual fue desechado.

Al sedimento solido colectado se agregó 45 ml agua destilada se volvió a centrifugar por tres veces hasta obtener una cosecha de microalgas puras.

3.3.5. Preparación de Medio de Cultivo Líquido

Consistió en la preparación de Medio MIGUEL (ALLEN – NELSON 1910), para microalgas dulce acuícolas, quien recomienda usar agua destilada y adicionar a los ingredientes.

Cuadro 6. Reactivos usados en la elaboración del medio MIGUEL (ALLEN – NELSON 1910) para la inoculación de Microalgas

	REACTIVOS	
Solución A	KNO_3	20.2 gr
	H_2O	100 ml
Solucion B	$Na_2HPO+12H_2O$	4 gr
	$CaCl_26H_2O$	4 gr
	$FeCl_2$	2 ml
	H_2O	80 ml

Fuente Allen Nelson, 1910.

Para la preparación del medio de cultivo agrego 2 ml de la solución A, 1 ml de la solución B, el cual se depositó en matraces de 1 L y 0.1 mg de bicarbonato de sodio los cuales fueron llevado a baño María por espacio de 20 minutos a una temperatura de 70°C, luego es retirado hasta que baje la temperatura y se procede a colocar los antibióticos (1 cápsula de fluconazol de 75 mg, 0.3 gr de ceftriazona de 1gr) para evitar el crecimiento de hongos y bacterias; vitaminas (1 cápsula de complejo B), generando condiciones adecuadas, al término de este proceso se depositaron las muestras de microalgas purificadas en los fotobiorreactores junto a los medio de cultivo por espacio de 20 días tiempo máximo, para su propagación y encontrar su punto óptimo de saturación que fueron usadas como algas eficientes para la degradación de metales pesados, teniendo en cuenta las mediciones de pH, OD e intensidad de Luz.

3.3.6. Análisis de Biorremoción

Los análisis de Biorremoción se llevaron a cabo por separado utilizando tubos de centrifuga con tapa rosca de 50 ml. La suspensión algal fue tratada inicialmente con varias concentraciones de metal (0, 5,10, 160, 625, 1000, y 2500 mg/L) como se aprecia en los Cuadros 7, 8 y 9, homogeneizada continuamente en los Fotobiorreactores. La incubación fue realizada durante 6 días en las condiciones anteriormente mencionadas. Cada dos días se tomaron alícuotas de 20 mL de cada suspensión, las cuales fueron centrifugadas 7 500 rpm por 20 min separando el sobrenadante para determinar las concentraciones metálicas en el medio (VOLESKY, 1990), durante 10 días calendarios hasta su punto de saturación.

Cuadro 7. Primera Evaluación de Cd^{2+} durante dos semanas, a diferentes concentraciones (0, 5, 10 mg/L)

Primera Evaluación de Cd en mg/L						
	0 mg		**5 mg**		**10 mg**	
Tiempo	T01	T01	T1	T1	T2	T2

Cuadro 8. Segunda Evaluación de Cd^{2+} durante dos semanas, a diferentes concentraciones (0, 160, 625 mg/L).

Segunda Evaluación de Cd en mg/L						
	0 mg		**160 mg**		**625 mg**	
Tiempo	T02	T02	T3	T3	T4	T4

Cuadro 9. Tercera Evaluación de Cd^{2+} durante dos semanas, a diferentes concentraciones (0, 1000, 2500 mg/L)

Tercera Evaluación de Cd en mg/L						
	0 mg		**1000 mg**		**2500 mg**	
Tiempo	T03	T03	T5	T5	T6	T6

Para calcular el factor de bioconcentración (BCF) se utilizó la proporción entre la cantidad acumulada, que incluía el metal contenido en el precipitado adherido a la pared celular y el acumulado en las células, y la concentración de metal en la solución.

3.3.7. Monitoreo de Crecimiento Celular.

Para el monitoreo del crecimiento celular se usó una micropipeta para la toma de muestra microalgal y se desliza en la cámara que previamente tiene adherido el cubreobjetos, se deja pasar 5 a 10 minutos para que la muestra se

estabilice; se procede a contar mediante un contador de mano, como se aprecia en la Figura 3.

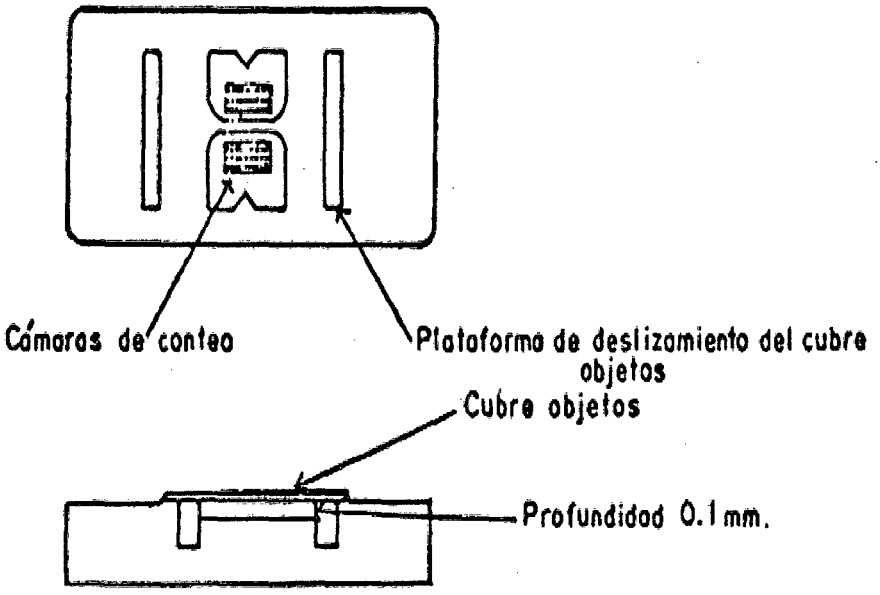

Figura 3. Procedimiento para realizar el conteo Celular

Para la cuantificación celular se realizó el conteo de cada cuadrante y la sumatoria promediado entre la cantidad de cuadriculas (4) multiplicado por el factor de profundidad 10000 del hematocímetro (LOPEZ, 1993)

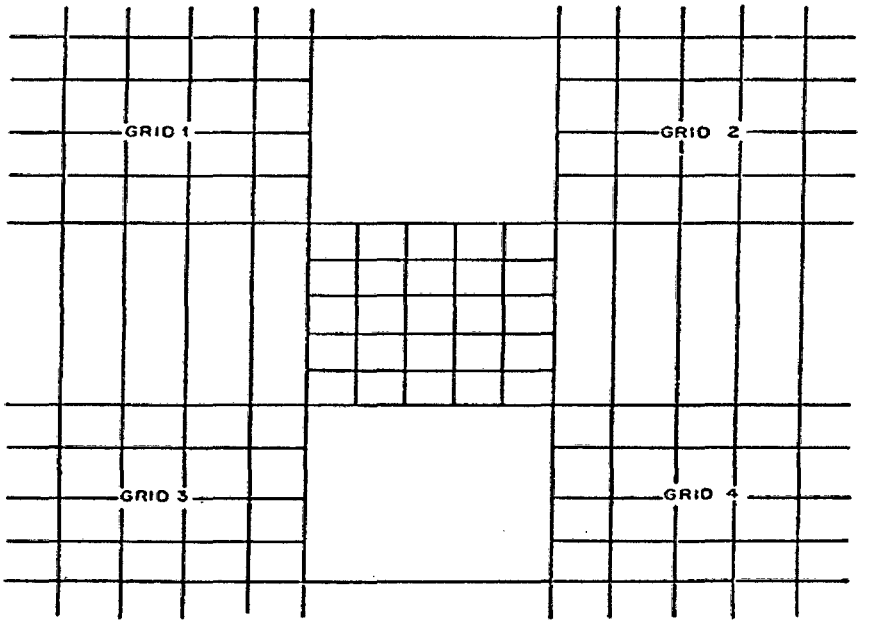

Figura 4. Modelo de conteo de cuadriculas del hematocímetro o cámara de neubauer.

3.3.8. Determinación de Cd por Fotoespectrometría

La determinación de la cantidad de cadmio retirado del medio por la microalga ensayada, se realizó utilizando un método de Fotoespectrometría de absorción atómica transcurridas 72 horas de exposición a las distintas concentraciones del metal, es llevada a centrifugación por espacio de 15 a 20 minutos a 7500 rpm los que se separan en dos fracciones una de ellas se utiliza para medir el cadmio total retirado por las células microalgales La concentración de Cadmio en la muestra se determina por espectro-fotometría de absorción

atómica en un espectrofotómetro VARIAN, modelo EspectrAA 55B. (STAUBER & FLORENCE, 1985).

3.3.9. Medición de parámetros ambientales

Se registró la iluminación, Oxígeno Disuelto y el pH, en el caso de la Iluminación se evaluó la intensidad de Luz con el Luxómetro, el Oxígeno Disuelto y el pH se evaluaron al inicio de cada prueba y durante las lecturas a realizar con el Espectrofotómetro.

3.3.10. Diseño experimental.

Se tuvo un diseño experimental de diferentes concentraciones de contaminantes (5,10, 160, 625, 1,000, y 2,500 mg/L), por espacio de 10 dias calendarios, teniéndose seis tratamientos y un testigo, con dos repeticiones cada uno tal como se aprecian en el cuadro 9.

Cuadro 10. Diseño Experimental para la remoción de cadmio con microalgas

Tratamiento	Contaminante mg/L	Repeticiones
T0	0	2
T1	5	2
T2	10	2
T3	160	2
T4	625	2
T5	1000	2
T6	2500	2

3.4. Determinación del Porcentaje de Remoción de Cadmio

Con los resultados Obtenidos en las mediciones con el espectrofotómetro de la Remoción de Cadmio para luego ser comparados con la eficiencia de remoción de 75% se calculó el porcentaje de remoción haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$\%\ de\ Remoción = \frac{CI - CF}{CI} X\ 100$$

Donde:

CI= Concentración inicial de la muestra de Cadmio

CF= Concentración Final de la muestra de Cadmio

3.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de la cuantificación de las especies encontradas se realizaron bajo las Pruebas Estadísticas de Tukey.

3.5.1. Prueba de Tukey

Para el contraste se utilizó la prueba estadística Tukey al 5% de error a fin de determinar entre tratamientos hubo diferencias significativas, para un nivel de significación 5%, utilizando el programa Statgraphics Centurion XVII en español.

3.5.2. Coeficiente de Variabilidad:

Es una medida de variabilidad de los datos que se expresa en porcentaje en La cual se comparar la desviación estándar con el respectivo valor Es una medida de variabilidad de los datos que se expresa en porcentaje en la cuales comparar al a desviación estándar con el respectivo valor del promedio de los datos.

$$CV = \left(\frac{s}{\bar{x}}\right) x100$$

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 variabilidades alta (RUBIO, 2010)

3.5.3. Análisis de Variable

Para el ajuste estadístico se realizó un ANOVA Multifactorial con 6 tratamientos, 2 repeticiones, evaluados en tiempo y tratamientos, Utilizando el programa Statgraphics Centurion XV.II en español para un nivel se significancia del 5% (BETETA, 2012).

IV. RESULTADOS

4.1. Determinación de microalgas con potencial de remoción de cadmio

Se encontraron diferentes especies de microalgas en los cuerpos de agua de la Piscigranja Villa Hidalgo y de la Laguna de los Milagros, de los cuales fueron llevados a una primera fase de adecuación al medio de cultivo, para posteriormente aplicarse las diferentes clases de contaminantes, las microalgas encontradas pertenecían a las especies de agua dulce como se puede apreciar a continuación:

Cuadro 11. Especies de microalgas encontradas en los puntos de muestreos.

LUGAR	
Villa Hidalgo	**Laguna de los Milagros**
Cosmarium Sp	*Stauroneis sp*
Scenedesmus Sp	*Cymbella sp*
	Pinnularia maior

4.1.1. Clasificación de especies encontradas en la piscigranja Villa Hidalgo.

a. Cosmarium sp

Dominio: Eucarya

Division: Algae

Clase: Zygnematophyceae

Orden: Desmidiales

Genero: *Cosmorium*

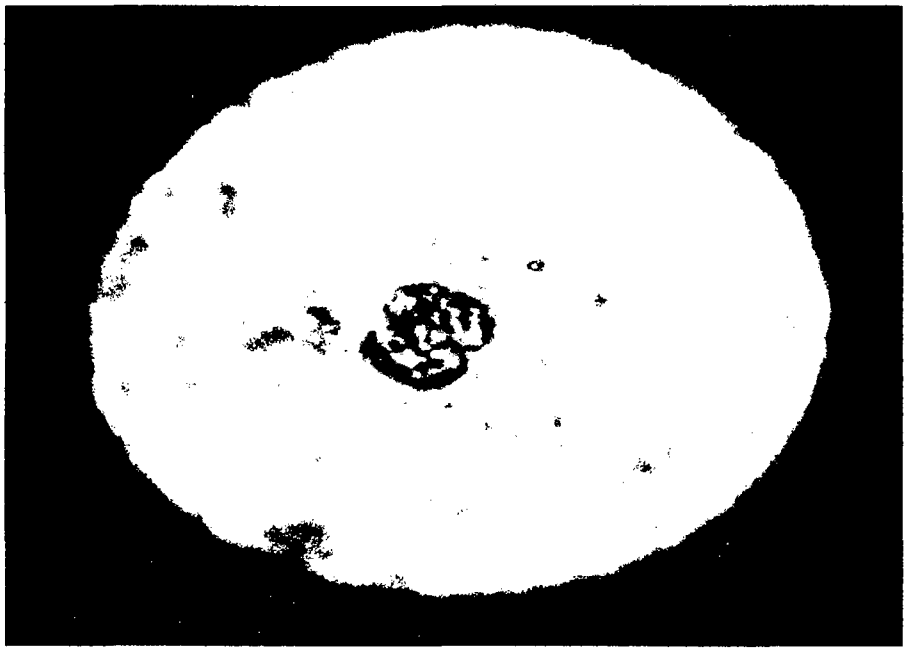

Figura 5. *Cosmarium sp.* especie de microalga dulce acuícola

b. Scenedesmus obliquus

Dominio: Eucarya

Division: Algae

Clase: Chlorophyceae

Orden: Sphaeropleales

Familia: Scenedesmaceae

Género: *Scenedesmus*

Especie: *Obliquus*

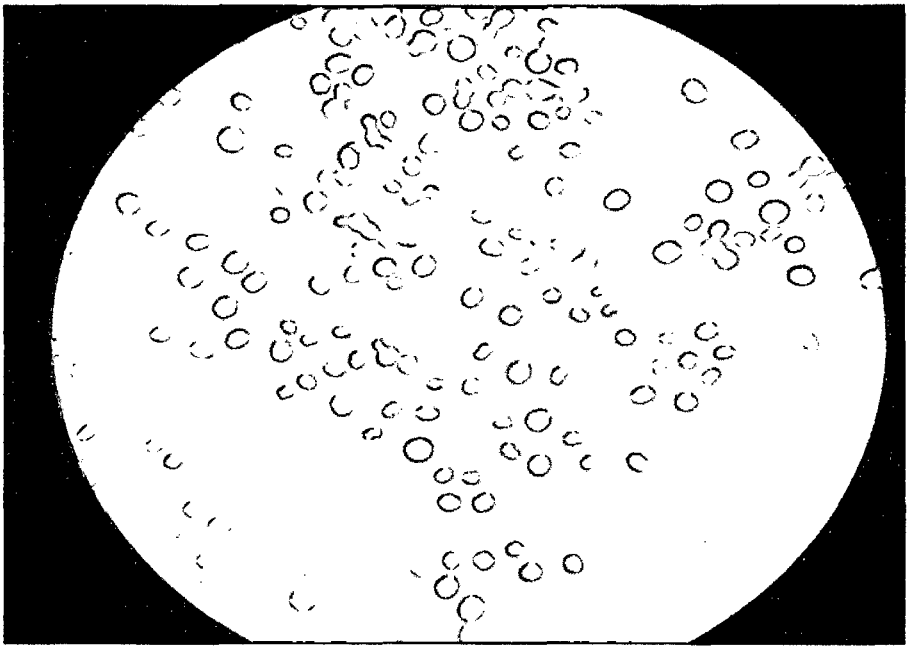

Figura 6. *Scenedesmus obliquus*, especie de microalga dulce acuícola

4.1.2. Clasificación de especies encontradas en la laguna de los Milagros

a. *Stauroneis sp.*

Dominio: Eucarya

División: Algae

Clase: Bacillariophyceae

Orden: Naviculales

Familia: Stauroneidaceae

Genero: *Stauroneis*

Figura 7. *Stauroneis sp.*, especie de microalga dulce acuícola

b. *Cymbella sp.*

Dominio: Eucarya

División: Cianobacteria

Clase: Bacillariocianobacteria

Orden: Cymbellales

Familia: Cymbellaceae

Género: *Cymbella*

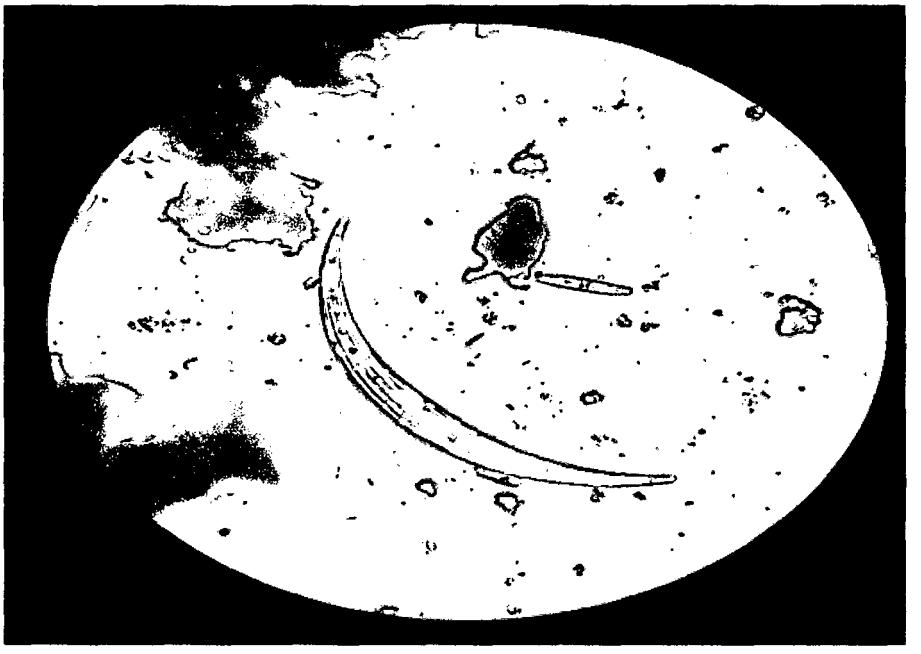

Figura 8. *Cymbella sp.*, especie de microalga dulce acuícola

c. ***Pinnularia maior***

Dominio: Eucarya

División: Algae

Clase: Bacillariophyceae

Orden: Naviculales

Familia: Pinnulariceae

Genero: *Pinnularia*

Especie: *maior*

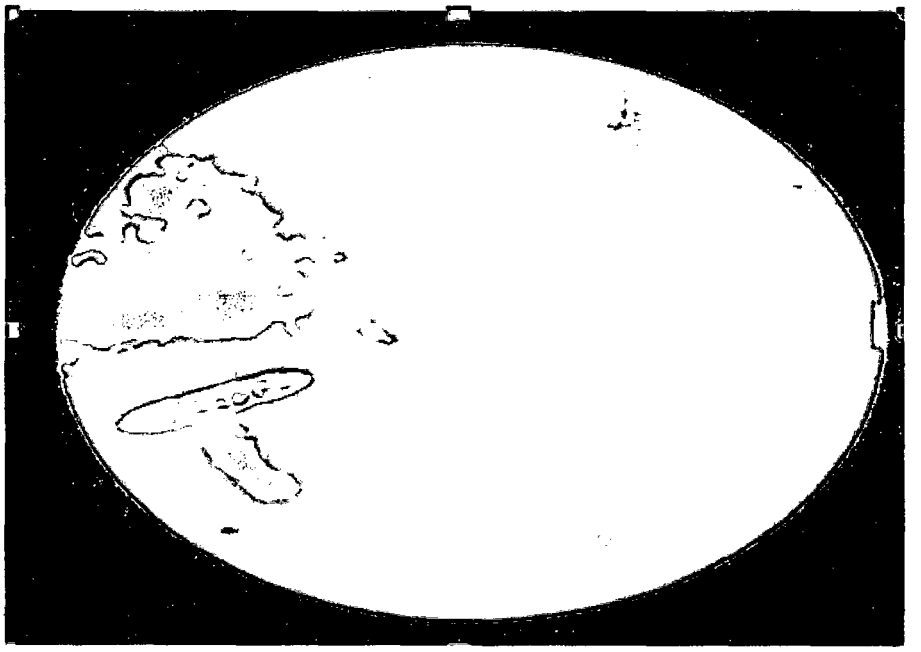

Figura 9. *Pinnularia maior.*, especie de microalga dulce acuícola

4.2. Determinación del grado de tolerancia de las algas al contaminante cadmio para su crecimiento

4.2.1. Remoción de Cadmio

Se dio inicio con diferentes concentraciones de contaminantes para cada tratamiento, los cuales fueron evaluando cada dos días, por espectrofotometría de absorción atónica, obteniéndose una base de datos desde el primer día en cada repetición y verificar la degradación de cadmio.

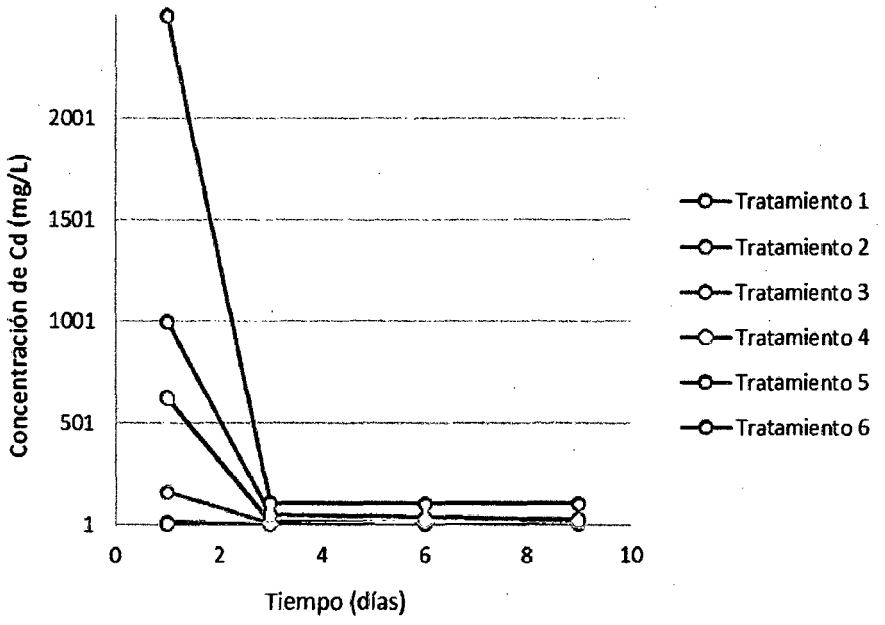

Figura 10. Niveles de remoción de cadmio por tratamiento y días

Asimismo los valores encontrados en el ANOVA demuestran que hay diferencia significativa en los resultados de la degradación de cadmio, contrastando los tratamientos y el tiempo a los que fueron sometidos, valor de $P \leq 0.05$, lo que se muestra en el Cuadro 11, contrastando con las pruebas estadística de Tukey referenciados en los cuadros 12 y 13.

Cuadro 12. Análisis de Varianza para degradación de cadmio

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tiempo	3.679140	3	1226380	8.16	0.0002
B:Tratamiento	3.191770	6	531961	3.54	0.0058
RESIDUOS	6.916300	46	150354		
TOTAL (CORREGIDO)	1.3787200	55			

Cuadro 13. Prueba de Tukey para degradación de cadmio con respecto al tratamiento.

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
T0	8	0	137.092	X
T1	8	1.5285	137.092	X
T2	8	2.87212	137.092	X
T3	8	41.8337	137.092	X
T4	8	163.719	137.092	XX
T5	8	277.975	137.092	XX
T6	8	704.446	137.092	X

Cuadro 14. Prueba de Tukey para degradación de Cadmio con respecto al tiempo

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
9	14	20.1834	103.632	X
6	14	22.0879	103.632	X
3	14	24.7999	103.632	X
1	14	614.286	103.632	X

4.2.2. Densidad Celular

Los datos obtenidos respecto a la densidad celular se puede apreciar que si hay diferencia respecto a los Tratamientos.

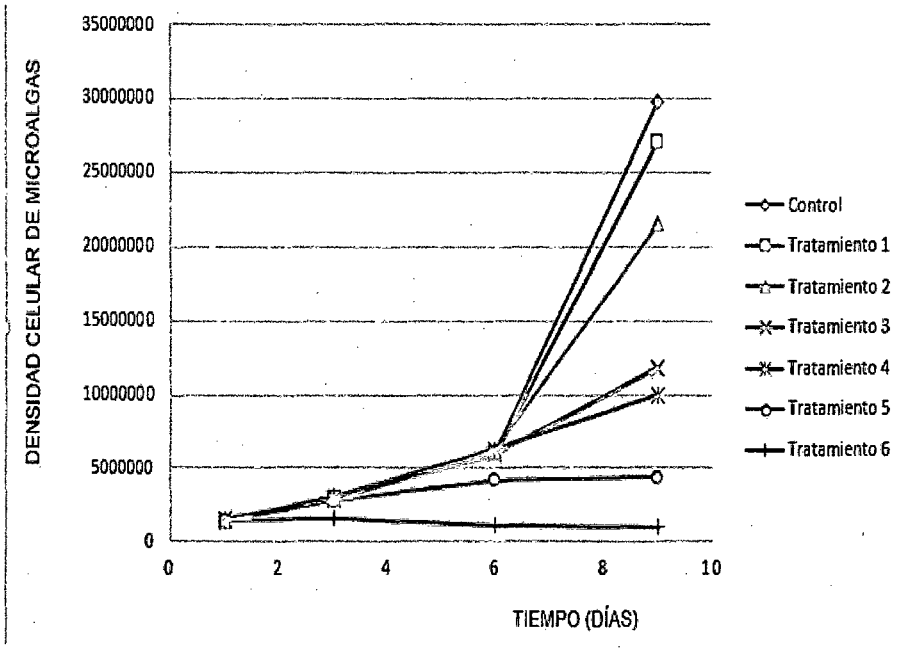

Figura 11. Densidad Celular de microalgas de tratamiento por días

Los valores encontrados en el ANOVA indican que tienen un efecto estadísticamente significativo sobre Densidad celular, contrastando los tratamientos y el tiempo a los que fueron sometidos, puesto que 2 valores $P \leq 0.05$, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre Densidad celular con un 95.0% de nivel de confianza, lo que se muestra en el Cuadro 14, contrastando con las pruebas estadística de Tukey referenciados en los cuadros 15 y 16.

Cuadro 15. Análisis de Varianza para la Densidad Celular

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tiempo	$5.07259E^{14}$	6	1226380	$8.45431E^{13}$	0.0043
B:Tratamiento	$1.60341E^{15}$	3	531961	$5.3447E^{14}$	0.0000
RESIDUOS	$1.04924E^{15}$	46	150354		
TOTAL (CORREGIDO)	$3.1599E^{15}$	55			

Cuadro 16. Prueba de Tukey de la Densidad Celular Con Respecto al Tratamiento

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
T0	8	$1.28375E^{6}$	$1.68854E^{6}$	X
T1	8	$3.14781E^{6}$	$1.68854E^{6}$	XX
T2	8	$5.14781E^{6}$	$1.68854E^{6}$	XX
T3	8	$5.55219E^{6}$	$1.68854E^{6}$	XX
T4	8	$8.04219E^{6}$	$1.68854E^{6}$	XX
T5	8	$9.34594E^{6}$	$1.68854E^{6}$	X
T6	8	$1.00977E^{7}$	$1.68854E^{6}$	X

Cuadro.17. Prueba de Tukey de la Densidad con respecto al tiempo.

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	14	$1.4153E^6$	$1.27642E^6$	X
3	14	$2.73518E^6$	$1.27642E^6$	X
6	14	$5.13917E^6$	$1.27642E^6$	X
9	14	$1.50632E^7$	$1.27642E^6$	X

4.3. Eficiencia de Remoción de cadmio

De los resultados obtenidos se observa que la eficiencia de remoción al 75% de las microalgas indica que las Microalgas Dulceacuícolas son capaces de remover más del 90% de Cadmio.

Cuadro 18. Eficiencia de remoción de cadmio

Tratamientos	CI	CF	%
Tratamiento 1	5	0.31	93.87
Tratamiento 2	10	0.41	95.885
Tratamiento 3	160	1.58	99.01
Tratamiento 4	625	9.21	98.52
Tratamiento 5	1000	44.15	95.585
Tratamiento 6	2500	104.51	95.819

En la figura 14 se puede apreciar que el porcentaje de Remoción supera los 75% del parámetro del diseño por lo que indica que las microalgas son capaces de remover el cadmio encontrado en los cuerpos de aguas

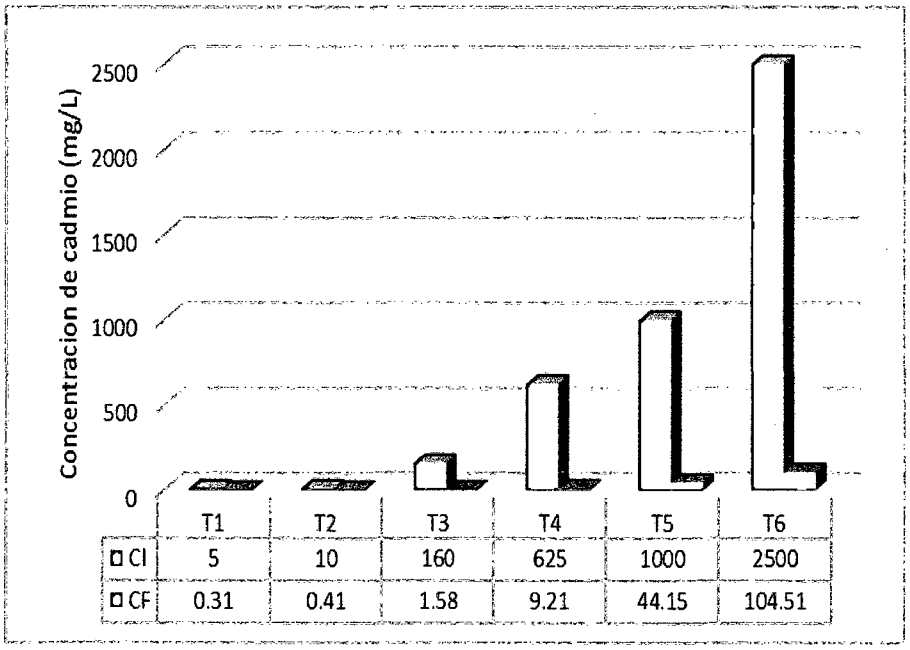

Figura 12. Eficiencia de remoción de cadmio con microalgas a diferentes tratamientos

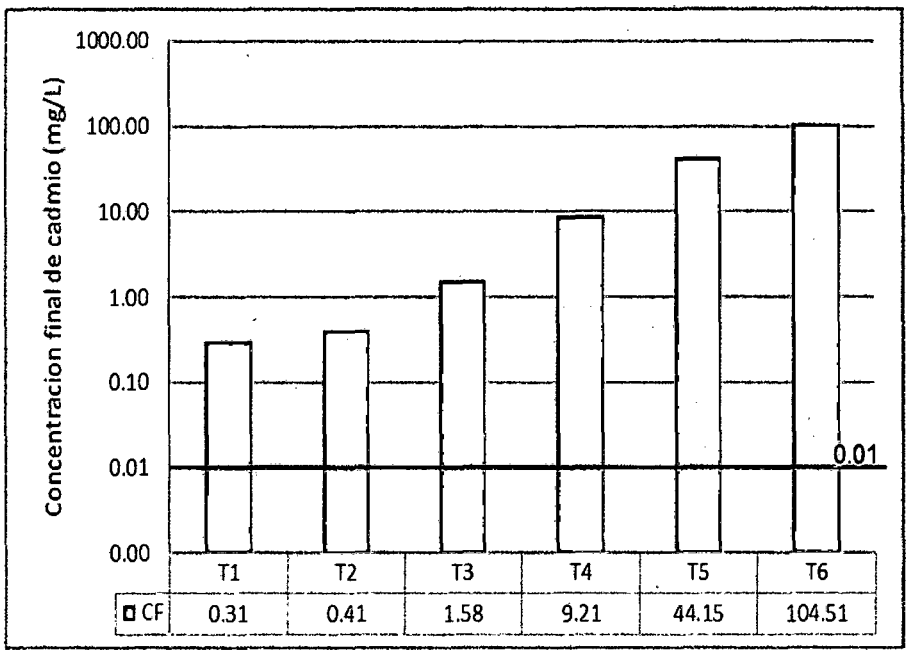

Figura 13. Comparación de remoción de cadmio con el estandar de calidad a 0.01 mg/L

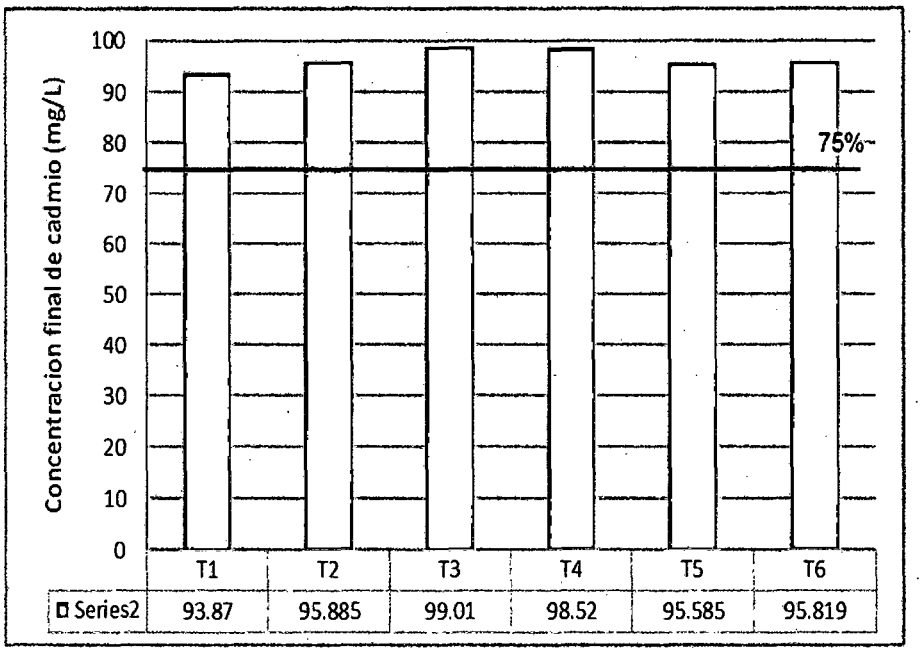

Figura 14. Porcentaje de remoción de cadmio a diferentes tratamientos

V. DISCUSIÓN

5.1. Microalgas dulceacuícola con potencial de remoción de cadmio

HERNANDEZ *et al.* (2006), indica que el extenso número de especies de microalgas han concluido que éstas son aptas para la eliminación de contaminantes en aguas residuales y que la eficacia del proceso es muy prometedora. Algunas de las especies estudiadas son *Phormidium, Botryococcus, Chlamydomonas, Scenedesmus obliquus*, *Spirulina platenses* y *Chlorella sp.*, destacando el potencial que presentan las microalgas no sólo en la eliminación de nutrientes de las aguas residuales sino también en la eliminación de metales pesados en dichas aguas.

En el cuadro 11 la diversidad de microalga encontradas durante la investigación fueron de 5 tipos de microalgas, siendo la más predominante la especie *Scenedesmus obliqqus* (figura 6), lo cual demuestra su capacidad de remoción y resistencia a las diferentes concentraciones de cadmio aplicadas (cuadro 7,8,9); VERANES *et al* (2011) realizó estudio del comportamiento en la microalga *Scenedesmus obliquus* en la precipitación de cromo (Cr) de aguas residuales crómicas sintéticas con concentraciones iniciales del metal de 20, 60 y 100 mg/L, quien no resistió a otras concentraciones de contaminantes.

5.2. Grado de tolerancia de las algas al contaminante Cd para su crecimiento.

El cultivo de microalgas se encontraban con un pH óptimo para su crecimiento y propagación, 7 y 9 de pH como se puede observar en los cuadros 28, 29 y 30 lo mismo que influenciaron en la densidad celular de las Microalgas; para RICHMOND (2004), cada especie de microalga tiene un rango de pH para que su crecimiento sea óptimo, dependiendo de qué especies químicas esté más habituada a asimilar. El pH en la mayoría de cultivos de microalgas se encuentra entre 7 y 9, con un óptimo entre 8,2–8,7; también el pH se consigue mediante aireación o inyección controlada de CO_2, pero también mediante la adicción de ácidos o bases.

Nuestro investigación (figura 11) tuvieron un rango de tolerancia hasta el tercer tratamiento 160 mg/L, a partir del cuarto tratamiento 625 mg/L, se observó el decaimiento celular debido a la altas concentraciones a la cual fueron expuestas las microalgas del tratamiento 4, 5 y 6, con concentraciones de cadmio de 625, 1000 y 2500 mg/L, lo cual denota la intolerancia de las microalgas a partir de estas concentraciones lo que explica el decaimiento que se observa en el cuadro 10.

Al respecto de lo indicado XUECHENG Y SONG (2007) evaluaron la bioacumulación de Pb^{2+} y Cd^{2+}. Se utilizaron cianobacterias *Synechocystis sp.* PCC 6803, El crecimiento fue medido mediante el conteo de células, revelando

que a bajas concentraciones de Pb^{2+} (0.5 y 1 µg mL^{-1}) su influencia es positiva en *Synechocystis sp.* PCC 6803 resultando en una ligera estimulación del crecimiento. Sin embargo, la especie no pudo resistir periodos largos expuestos a concentraciones altas de ambos metales (2, 4, 6 y 8 µg mL^{-1}), observando una rápida remoción de los metales durante los dos primeros días de incubación, seguida por una reducción gradual.

En el caso de las microalgas (figura 11) se tiene un rango de tolerancia hasta el tercer tratamiento, a partir del cuarto tratamiento se observó el decaimiento celular debido a la altas concentraciones a la cual fueron expuestas las microalgas del tratamiento 4, 5 y 6, con concentraciones de cadmio de 625, 1000 y 2500 mg/L, lo cual denota la intolerancia de las microalgas a partir de estas concentraciones lo que explica el decaimiento que se observa en el cuadro 10.

5.3. Eficiencia de Remoción de Cd en función al tiempo de exposición.

Al realizar las pruebas de eliminación de cadmio durante los 9 días de evaluación el tratamiento 3 fue el más eficiente con 160 mg/L el Primer día a 1.58 mg/L al novenos día, con lo que alcanzo una eficiencia de 99.01%, superando el límite establecido de 75% del parámetro de diseño. Por lo que HERNANDEZ *et al.* (2006), corrobora los resultados obtenidos muestran porcentajes de eliminación que alcanzan el 100% en algunos casos, variando en función de las condiciones de operación, las especies empleadas y las características del agua residual.

VI. CONCLUSION

1. *Scenedesmus obliquus* , fue la microalga verde amarillenta con mayor potencial de remoción y resistencia a diferentes concentraciones de Cadmio al presentar mayor densidad celular.

2. El grado de tolerancia de las microalgas se encuentran entre los 5, 10, 160 mg/L de cadmio, donde se registra la mayor densidad de microalgas.

3. El tratamiento 3 (160 mg/L) obtuvo el mayor porcentaje de remoción de Cadmio con un total de 99,32%, removiendo 158.917 mg/L de Cd^2

4. El tratamiento 1 (5 mg/L de Cd^{2+}) logro remover hasta 0.301 mg/L, siendo aún una cifra elevada considerando el estándar de calidad ambiental (0.01 mg/L)

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar las evaluaciones de cada muestra por separado según el lugar de colecta.

2. Implementar el laboratorio con equipos apropiados en un futuro poder realizar evaluaciones directas con las microalgas y de esta manera contrastar los valores obtenidos en el agua y en las células microalgales.

3. Instalar un cepario con cultivos de especies que sean fuente de abastecimiento para remociones futuras de metales pesados.

4. Diseñar un protocolo que permite la utilización de microalgas para remover Cd^{2+} a partir de vegetales y suelos a nivel de la zona

VIII. ABSTRACT

Technique bioremotión developed to assess the biorremoción of Cd^{2+} using green algae yellow freshwater of diatoms group collected the bodies of waters Piscigranja Villa Hidalgo and lagoon of Miracles in the city of Tingo Maria, worked on site Microbiology Laboratory of the National Agrarian University of the Jungle, using a photobioreactor own.

The growth was determined by direct count, revealing that at low concentrations of Cd^{2+} (5, 10, 160 mg/L) allows the development of microalgae Scenedesmus obliquus. But not withstand long periods of exposure to high concentrations (625, 1,000, and 2,500 mg/L).

A quick removal of cadmium was observed during the first two days of incubation, followed by a gradual reduction in the readings observed by atomic absorption spectrophotometer with a difference between the initial concentrations of cadmium; in three of the samples installed appreciated that biorremoción microalgae was efficient for 5, 10, 160 mg / L, but other concentrations of Cd^{2+} (625, 1,000, and 2,500 mg/L) reduction of Cd^{2+} was not same as at the beginning of the assessments, while at concentrations of 2,500

mg/L Cd^{2+} microalgae fail to grow resulting in the death the third day of incubation. This species proved a good remedial of Cd^{2+} with high capacity biorremoción.

Keywords: Biorremoción, microalgae, Scenedesmus obliquus, Fotobiorreactores

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALDE, J. y HERRERO, C. 2004. Microalgas en acuicultura: calidad nutricional. 30 p.

ABALDE, J., CID A., TORRES E., HERRERO J. 1995. Bioacumulación de cobre en la diatomea marina *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin. Facultad de Ciencias. La Coruña, España. Universidad de la Coruña. 141 p.

ACOSTA, I. 2007. Bioadsorción de cadmio (II) en solución acuosa por biomasas fúngicas. Inf. Tec. 40 p.

ASLAN, S, KAPDAN, I. 2006. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. Ecological Engineering, p 64-70.

BRENAN, M., OWENDE, P., 2010. Biofuels from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extraction of biofuels and co-products. Renewable and Sustainable Energy Reviews, p 557-577.

DIAZ, A. 2001. Desarrollo de un sistema integrado para la monitorización 'in situ' de metales pesados. Tesis doctoral. Barcelona, España. Universidad Politécnica de Cataluña. 190 p.

HERNÁNDEZ, P., DE-BASHAN, L., 2006. Starvation enhances phosphorus removal from wastewater by the microalga *Chlorella sp.* co-immobilized with *Azospirillum brasilense*. Enzyme and Microbial Technology, p.190-198.

HOLDRIGE, L. 1987. Ecología basada en zonas de Vida. Edit. IICA. Costa Rica. 159 p.

IPCS. 1992. International Programme on Chemical Safety. Environment Health Criteria – Cadmium. EHC 134, 1992 (en línea) disponible en http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc134.htm consultado el 11 de agosto del 2015.

LEE, Y. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. Journal of Applied Phycology, p 307-315, 2001 (en línea) disponible en http://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1017560006941consultado el 20 de agosto del 2015.

LÓPEZ, E. 1993 Manual de técnicas analíticas aplicadas al cultivo de microalgas Departamento del centro de investigaciones científicas y tecnológicas. México. Universidad de Sonora. 74 p.

MARGALEF, R. 1993. Teoría de los sistemas Ecológicos. Universidad de Barcelona. España. 290 p.

MACINTYRE H. 2002. Photoacclimation of Photosynthesis irradiance response curves and Photosynthetic pigment in Microalgae and Cyanobacteria. J. Phycol. Australia. 160 p.

MOLINA, E. 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. Murdoch, Australia. Springer, 285 p.

PAGNANELLI, F., MAINELLI, S., ANGELIS, S.D. y TORO, L. 2005. Biosorption of protons and heavy metal sonto olive pomace: modelling of competition effects. Roma, Italia. p 1639-1651.

PELLON, A., FRADES, J., *et al.* 2005. Eliminación de cromo y cadmio mediante *Scenedesmus obliquus* en estado inmovilizado. La Habana, Cuba. Departamento de Estudios sobre Contaminación Ambiental, Centro Nacional de Investigaciones cientificas. 7 p.

PLAZA, J. 2012. Remoción de metales pesados empleando algas marinas. Tesis Ing. Química. La Plata, Argentina. Universidad Nacional de la Plata. 140 p.

PULZ, O. 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. Applied Microbiology and Biotechnology, p 287-293, 2001 (en línea) disponible en http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs002530100702 consultado el 20 de agosto del 2015.

RAMIREZ, A. 2002. Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. Facultad de Medicina. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 64 p.

REYES, E. 2006. Remoción de metales pesados con carbón activado como soporte de biomasa. Ingenierías IX (31) 64 p.

RICHMON, A. 2004. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology. Australia. Blackwell Science Ltd. UK. 543 p.

RODOLFI, L. 2009. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. Biotechnology and Bioengineerin, p 100 -112.

STAUBERJ.L. & FLORENCE,T. 1985. The influence of iron on copper toxicity to the marine diatom, Nitzschia closterium Ehrenberg W. Smith. Aquat. Toxicol. 305 p.

SILVIERA, L. 2003. Biosolids and heavy metals in soils. Scientia Agricola. Edit. Apple academic press. Canada. 806 p.

UGWU, C. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. Bioresource Technology, p. 4021-4028.

TAPIA, P., SANTANDER, M., PAVEZ, O. 2010. Biosorcion de iones cobre con biomasa de algas y orujos. Tesis ingeniería en metalurgia. Mexico. Universidad de Atacama. 132 p.

TENORIO, G. 2006. Caracterización de la biosorción de cromo con hueso de aceituna. Universidad de Granada. Departamento de Ingeniería Química. Tesis doctoral. 187 p.

VERANES, O., PELLÓN, A., ESPINOZA, S., PÉREZ, E. 2011. Estudio del comportamiento de la microalga *scenedesmus obliquus* para la precipitación de cromo en albañal sintético. Cuba. Departamento de Estudio sobre Contaminación Ambiental (DECA), Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). 9 p.

VOLESKY, B. 1990. Removal and recovery of heavy metals by biosorption, en Biosorption of heavy metals. Boca Raton - Florida, USA. 278 p.

WANG, L., MIN, M., 2009. Cultivation of Green Algae Chlorella sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. Applied Biochemical Biotechnology. 13 p.

WASE, J., FOSTER, C., 1997. Biosorbents for Metal Ions. Taylor & Francis, London. 230 p.

XIN, L., Hong-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 101, 5494-5500 Xiong, W., et al., 2008. High-density fermentation of microalga Chlorella protothecoides in bioreactor for microbio-diesel production. Appl Microbiol Biotechnol , p 29-36.

XUECHENG, Z., SONG, X. 2007. Estudio comparativo de la bioacumulación del plomo y cadmio en cianobacterias *Synechocystis sp.* PCC 6803 bajo condiciones de laboratorio. Universidad de China. 147 p.

X. ANEXO

ANEXO A. PRUEBAS ESTADÍSTICAS DE LOS PARAMETROS FISICOQUÍMICOS.

A.1 Degradación del cadmio

Cuadro 19. Niveles de degradación de cadmio por tratamiento por día

	Tiempo días	Repetición 1	Repetición 2
Tratamiento 1	1	5	5
	3	0.448	0.429
	6	0.361	0.377
	9	0.301	0.312
Tratamiento 2	1	10	10
	3	0.579	0.586
	6	0.464	0.525
	9	0.396	0.427
Tratamiento 3	1	160	160
	3	2.184	4.078
	6	2.125	3.127
	9	1.083	2.073
Tratamiento 4	1	625	625
	3	10.414	11.321

	6	9.611	9.981
	9	9.074	9.351
Tratamiento 5	1	1000	1000
	3	22.9	77.8
	6	21.1	51.4
	9	10.5	40.1
Tratamiento 6	1	2500	2500
	3	108.33	108.13
	6	105.21	104.95
	9	104.92	104.02
Control	1	0	0
	3	0	0
	6	0	0
	9	0	0

Cuadro.20. Medias por Mínimos Cuadrados para remoción de Cadmio, con intervalos de confianza del 95.0%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	56	170.339			
Tiempo					
1	14	614.286	103.632	405.685	822.887
3	14	24.7999	103.632	-183.801	233.401
6	14	22.0879	103.632	-186.513	230.689
9	14	20.1834	103.632	-188.417	228.784
Tratamiento					
T0	8	0	137.092	-275.953	275.953
T1	8	1.5285	137.092	-274.424	277.481
T2	8	2.87212	137.092	-273.081	278.825
T3	8	41.8337	137.092	-234.119	317.787
T4	8	163.719	137.092	-112.234	439.672
T5	8	277.975	137.092	2.02206	553.928
T6	8	704.446	137.092	428.493	980.399

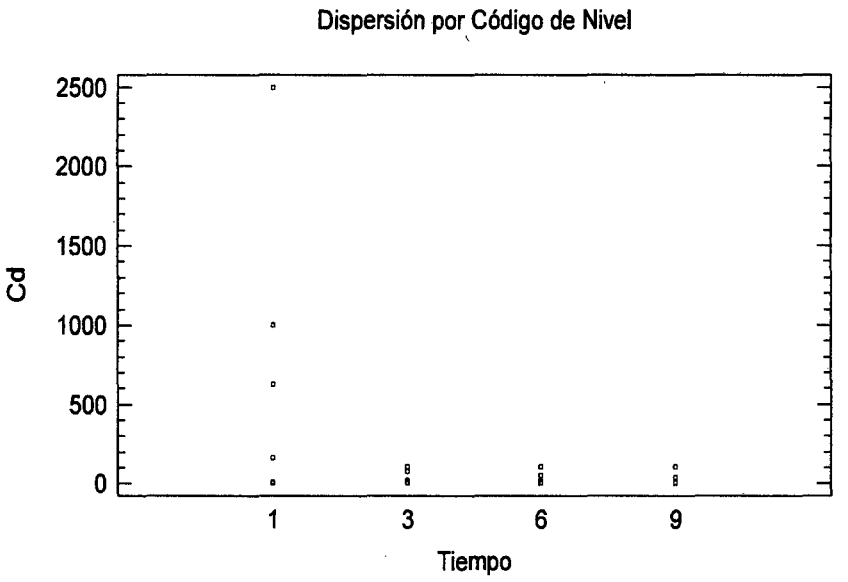

Figura 15. Grafico Dispersión de Degradación de Cadmio

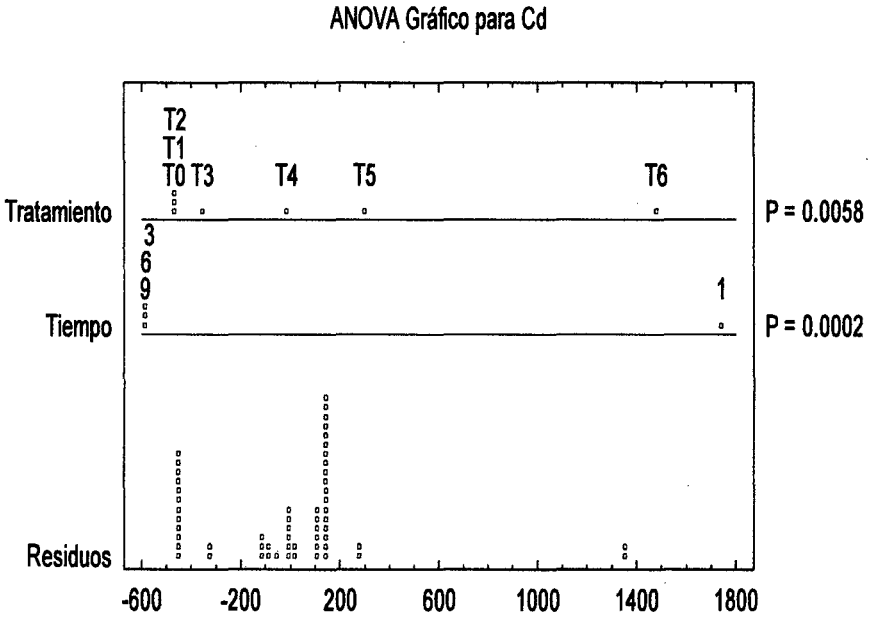

Figura 16. Gráfico de ANOVA para degradación de cadmio

Cuadro 21. Contraste prueba estadística Tukey Degradación de cadmio con tratamientos

Contraste	Sig.	Diferencia
T0 - T1		-1.5285
T0 - T2		-2.87212
T0 - T3		-41.8337
T0 - T4		-163.719
T0 - T5		-277.975
T0 - T6	*	-704.446
T1 - T2		-1.34363
T1 - T3		-40.3053
T1 - T4		-162.191
T1 - T5		-276.447
T1 - T6	*	-702.918
T2 - T3		-38.9616
T2 - T4		-160.847
T2 - T5		-275.103
T2 - T6	*	-701.574
T3 - T4		-121.885
T3 - T5		-236.141
T3 - T6	*	-662.612

T4 - T5	-114.256
T4 - T6	-540.727
T5 - T6	-426.471

* indica una diferencia significativa.

Cuadro 22. Contraste prueba estadística Tukey Degradación de metales pesados con tiempo.

Contraste	Sig.	Diferencia
1-3	*	589.486
1-6	*	592.198
1-9	*	594.102
3-6		2.712
3-9		4.61657
6-9		1.90457

* indica una diferencia significativa

A.2 Densidad Celular

Cuadro 23. Densidad celular a diferentes concentraciones de Cd (0, 5, 10, 160, 625, 1000, 2500 ppm)

	Concentraciones mg/L	Dia 1	Dia 3	Dia 6	Dia 9
Tratamiento 0	0	1295000	2910000	5390000	29412500
	0	1377500	3017500	5270000	29197500
	0	1540000	3005000	6837500	30057500
	0	1572500	3152500	6510000	29970000
	0	1370000	3057500	6577500	29870000
	0	1415000	3037500	6310000	30192500
Tratamiento 1	5	1360000	2972500	5820000	27182500
	5	1252500	2997500	6162500	27020000
Tratamiento 2	10	1307500	3022500	6307500	22067500
	10	1342500	3060000	6267500	20962500
Tratamiento 3	160	1417500	2940000	5820000	11785000
	160	1492500	2980000	6162500	11820000
Tratamiento 4	625	1580000	2817500	6307500	9872500
	625	1525000	2790000	6267500	10022500
Tratamiento 5	1000	1402500	2722500	4217500	4360000
	1000	1390000	2750000	4057500	4282500
Tratamiento 6	2500	1480000	1572500	1127500	932500
	2500	1407500	1607500	1132500	1010000

Cuadro .24. Medias por Mínimos Cuadrados para la Densidad Celular, con intervalos de confianza del 95.0%.

Nivel	Casos	Media	Error Est	Límite Superior	Límite Inferior
MEDIA GLOBAL	56	$6{,}09E^{10}$			
Tratamiento					
T0	8	$1{,}01E^{12}$	$1{,}69E^{11}$	$6{,}70E^{11}$	$1{,}35E^{12}$
T1	8	$9{,}35E^{11}$	$1{,}69E^{11}$	$5{,}95E^{11}$	$1{,}27E^{12}$
T2	8	$8{,}04E^{11}$	$1{,}69E^{11}$	$4{,}64E^{11}$	$1{,}14E^{12}$
T3	8	$5{,}55E^{11}$	$1{,}69E^{11}$	$2{,}15E^{11}$	$8{,}95E^{11}$
T4	8	$5{,}15E^{11}$	$1{,}69E^{11}$	$1{,}75E^{11}$	$8{,}55E^{11}$
T5	8	$3{,}15E^{11}$	$1{,}69E^{11}$	-251058.	$6{,}55E^{11}$
T6	8	$1{,}28E^{11}$	$1{,}69E^{11}$	$-2{,}12E^{11}$	$4{,}68E^{11}$
Tiempo					
1	14	$1{,}42E^{10}$	$1{,}28E^{11}$	$-1{,}15E^{11}$	$3{,}98E^{10}$
3	14	$2{,}74E^{11}$	$1{,}28E^{11}$	165874.	$5{,}30E^{11}$
6	14	$5{,}14E^{11}$	$1{,}28E^{11}$	$2{,}57E^{11}$	$7{,}71E^{11}$
9	14	$1{,}51E^{12}$	$1{,}28E^{11}$	$1{,}25E^{12}$	$1{,}76E^{12}$

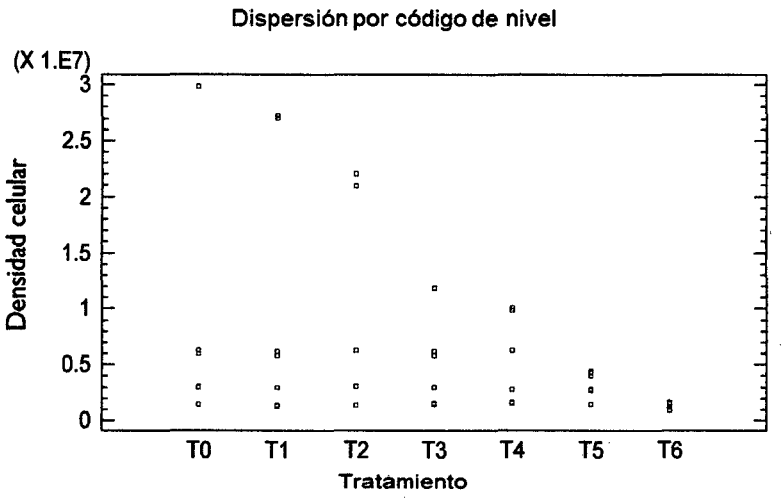

Figura 17. Grafico Dispersión de la Densidad Celular respecto al tratamiento

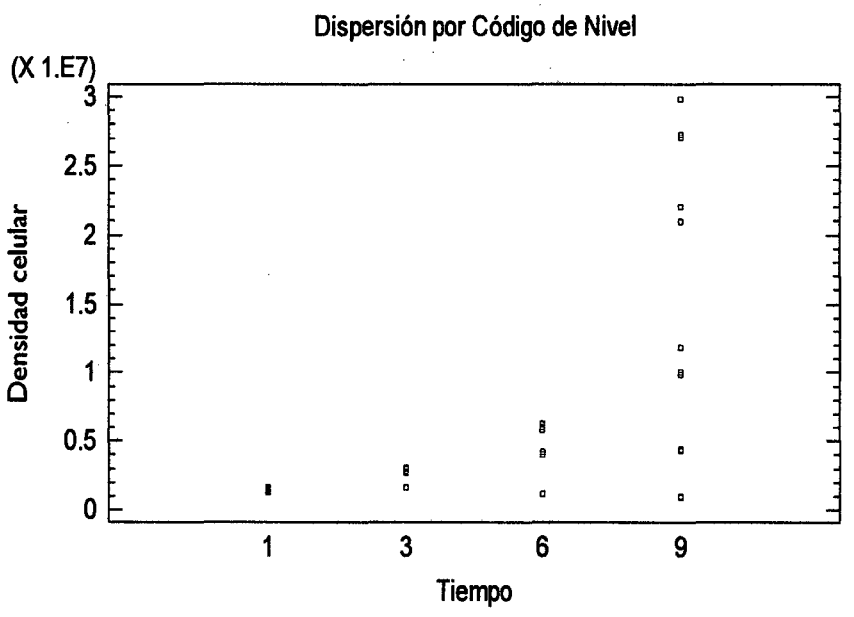

Figura 18. Grafico Dispersión de Degradación de la Densidad Celular respecto al Tiempo

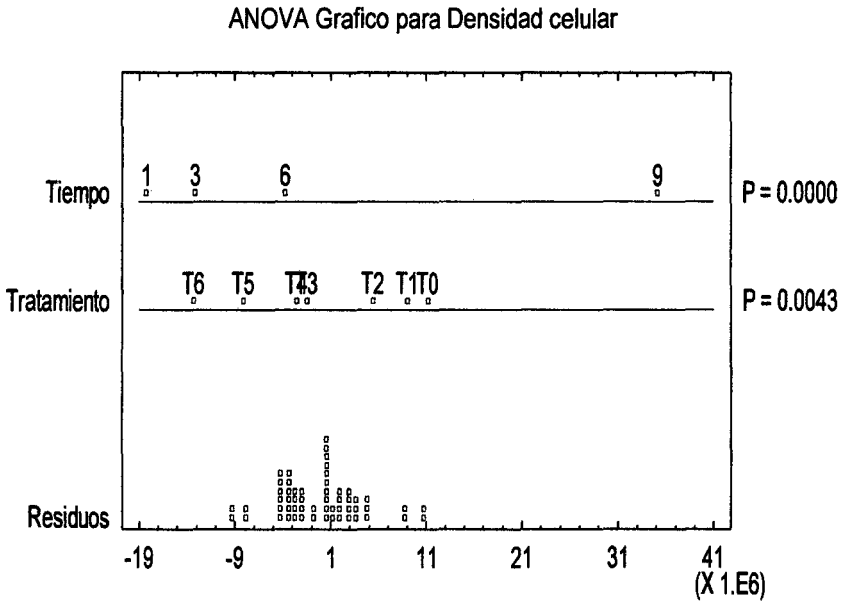

Figura 19. Gráfico de ANOVA para la densidad celular

Cuadro 25. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD para la Densidad celular por Tratamiento

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
T6	8	$1,28E^{11}$	$1,69E^{11}$	X
T5	8	$3,15E^{11}$	$1,69E^{11}$	XX
T4	8	$5,15E^{11}$	$1,69E^{11}$	XX
T3	8	$5,55E^{11}$	$1,69E^{11}$	XX
T2	8	$8,04E^{11}$	$1,69E^{11}$	XX
T1	8	$9,35E^{11}$	$1,69E^{11}$	X
T0	8	$1,01E^{12}$	$1,69E^{11}$	X

Cuadro 26. Medias por Mínimos Cuadrados para la Densidad Celular, con intervalos de confianza del 95.0%

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1		751771.	$7,36E^{11}$
T0 - T2		$2,06E^{11}$	$7,36E^{11}$
T0 - T3		$4,55E^{11}$	$7,36E^{11}$
T0 - T4		$4,95E^{10}$	$7,36E^{11}$
T0 - T5		$6,95E^{10}$	$7,36E^{11}$
T0 - T6	*	$8,81E^{11}$	$7,36E^{11}$
T1 - T2		$1,30E^{11}$	$7,36E^{11}$
T1 - T3		$3,79E^{11}$	$7,36E^{11}$
T1 - T4		$4,20E^{11}$	$7,36E^{11}$
T1 - T5		$6,20E^{11}$	$7,36E^{11}$
T1 - T6	*	$8,06E^{11}$	$7,36E^{11}$
T2 - T3		$2.49E^{6}$	$7,36E^{11}$
T2 - T4		$2,89E^{11}$	$7,36E^{11}$
T2 - T5		$4,89E^{11}$	$7,36E^{11}$
T2 - T6		$6,76E^{11}$	$7,36E^{11}$
T3 - T4		404375.	$7,36E^{11}$
T3 - T5		$2,40E^{11}$	$7,36E^{11}$
T3 - T6		$4,27E^{11}$	$7,36E^{11}$
T4 - T5		$2.E^{6}$	$7,36E^{11}$
T4 - T6		$3,86E^{11}$	$7,36E^{11}$
T5 - T6		$1,86E^{11}$	$7,36E^{11}$

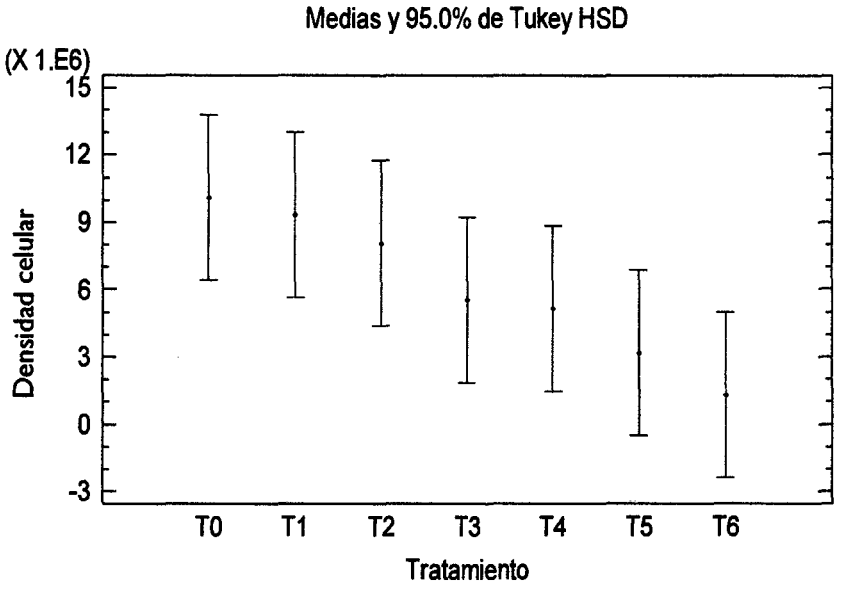

Figura 20. Rango Densidad Celular por tratamiento

Cuadro 27. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD para la Densidad celular por Tiempo

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos	
1	14	$1,42E^{10}$	$1,28E^{11}$	X	
3	14	$2,74E^{11}$	$1,28E^{11}$	X	
6	14	$5,14E^{11}$	$1,28E^{11}$	X	
9	14	$1,51E^{12}$	$1,28E^{11}$		X

Cuadro 28. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD para la Densidad celular por Tiempo

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 3		$-1.31988E^6$	$4.81193E^6$
1 - 6		$-3.72387E^6$	$4.81193E^6$
1 - 9	*	$-1.36479E^7$	$4.81193E^6$
3 - 6		$-2.40399E^6$	$4.81193E^6$
3 - 9	*	$-1.2328E^7$	$4.81193E^6$
6 - 9	*	$-9.92399E^6$	$4.81193E^6$

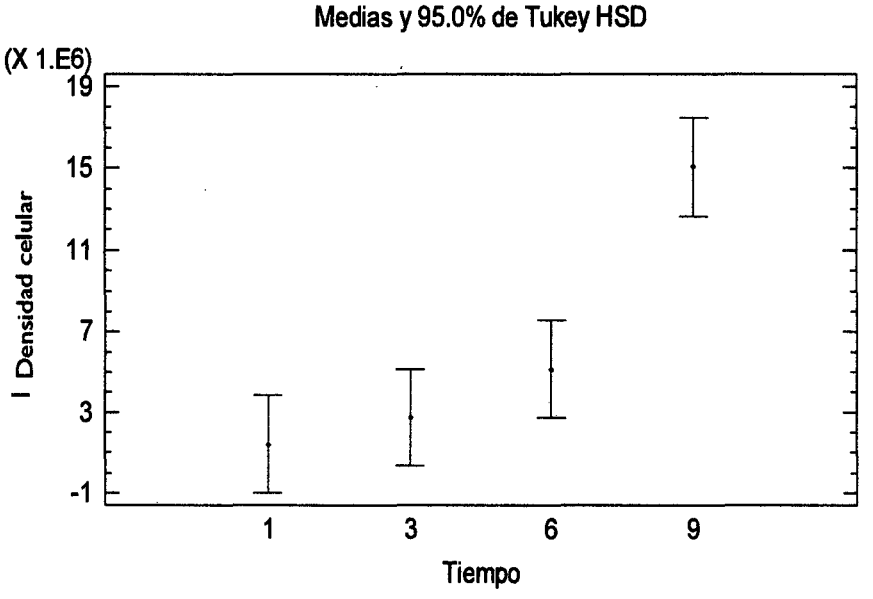

Figura 21. Rango Densidad Celular por tiempo

Cuadro 29. Porcentaje de Remoción de Cadmio a los 9 días

Tratamientos	Repeticiones	CI	CF	%
Tratamiento 1	R1	5	0,301	93,98
	R2	5	0,312	93,76
Tratamiento 2	R1	10	0,396	96,04
	R2	10	0,427	95,73
Tratamiento 3	R1	160	1,083	99,32313
	R2	160	2,073	98,70438
Tratamiento 4	R1	625	9,074	98,54816
	R2	625	9,351	98,50384
Tratamiento 5	R1	1000	10,5	98,95
	R2	1000	77,8	92,22
Tratamiento 6	R1	2500	104,82	95,8072
	R2	2500	104,2	95,832

ANEXO B. REGISTRO DE MEDICION DE pH.

B.1 Evaluación de pH para cada muestra en evaluación concentraciones diferentes de cadmio.

Cuadro 30. Medición de pH para la primera evaluación

pH/ Tratamiento	Testigo= 0		5 mg		10 mg	
pH	pH1	pH 2	pH1	pH 2	pH1	pH 2
1	9,2	9,17	8,83	8,15	7,99	8,06
2	9,72	9,61	9,22	8,97	8,52	8,64

Cuadro 31. Medición de pH para la segunda evaluación

pH/ Tratamiento	Testigo= 0		160 mg		625 mg	
pH	pH1	pH 2	pH1	pH 2	pH1	pH 2
1	8,48	8,62	8,21	7,94	7,88	7,36
2	9,71	9,64	8,54	8,58	8,47	8,42

Cuadro 32. Medición de pH para tercera evaluación

pH/ Tratamiento	Testigo= 0		1000 mg		2500 mg	
pH	pH1	pH 2	pH1	pH 2	pH1	pH 2
1	8,1	9,46	8,92	8,41	7,03	6,84
2	9,56	9,54	8,36	8,16	7,18	7,14

ANEXO C. PANEL FOTOGRAFICO

Figura 22. Preparación del Medio de Cultivo para las microalgas.

Figura 23. Separación de Muestras de Microalgas para ser llevado a la centrifuga.

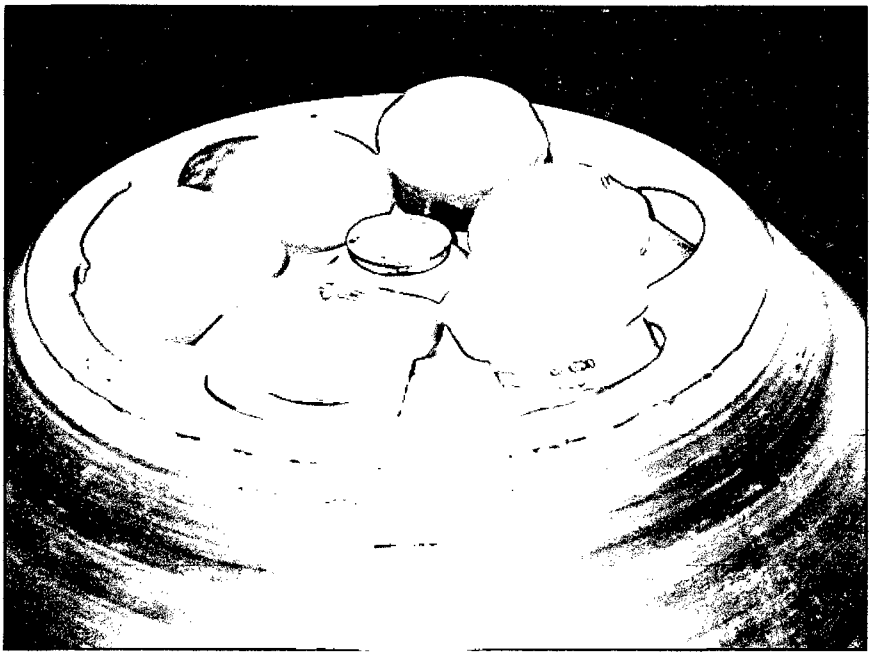

Figura 24. Muestras instaladas en la centrifuga para la separación sólido-líquido.

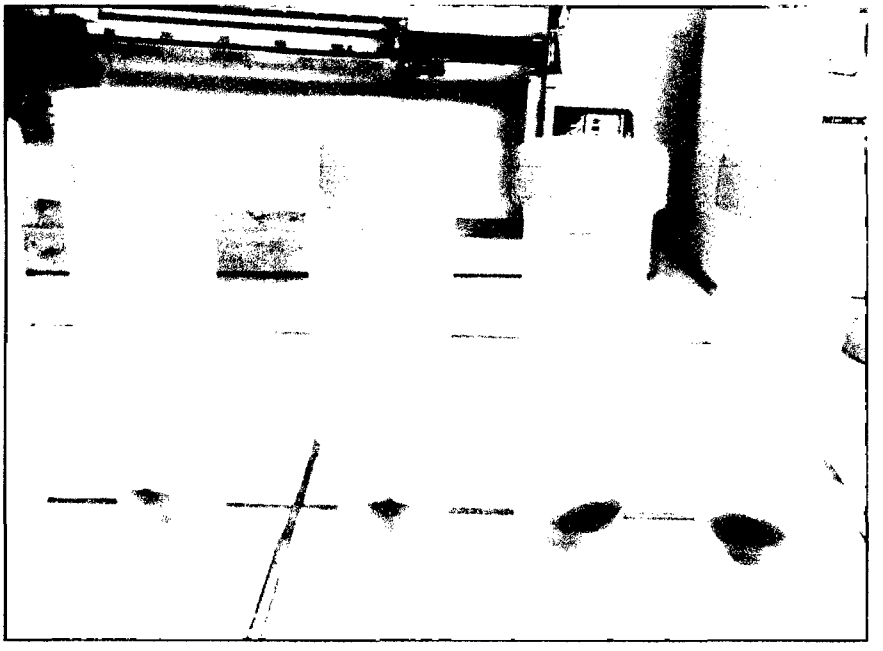

Figura 25. Resultado de proceso de centrifugado microalgas deparas del cuerpo de agua.

Figura 26. Instalación de las muestras en los fotobiorreactores.

Figura 27. Muestras Instaladas para su Evaluación.

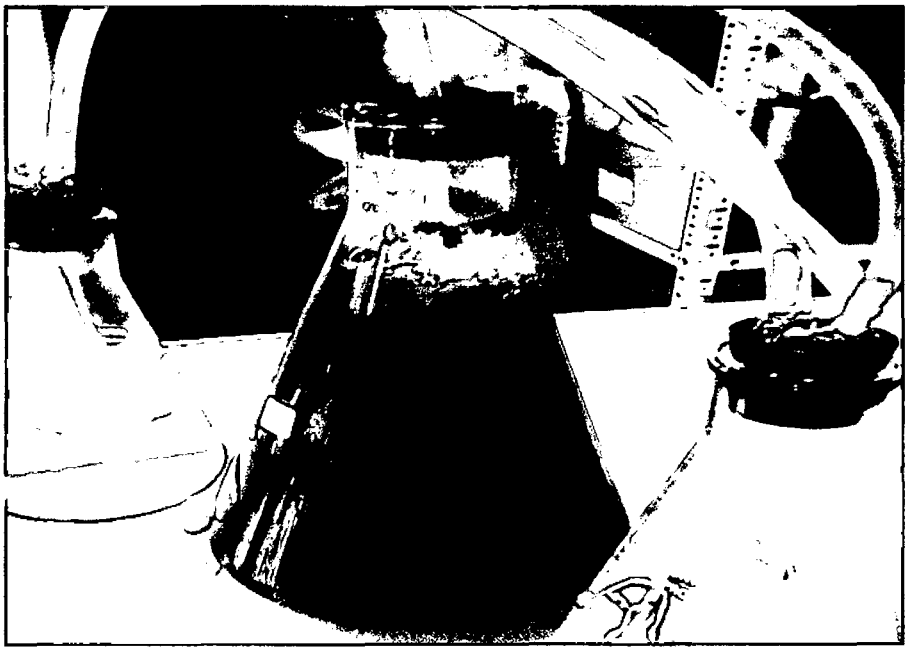

Figura 28. Microalgas Puras para el repique en las evaluaciones

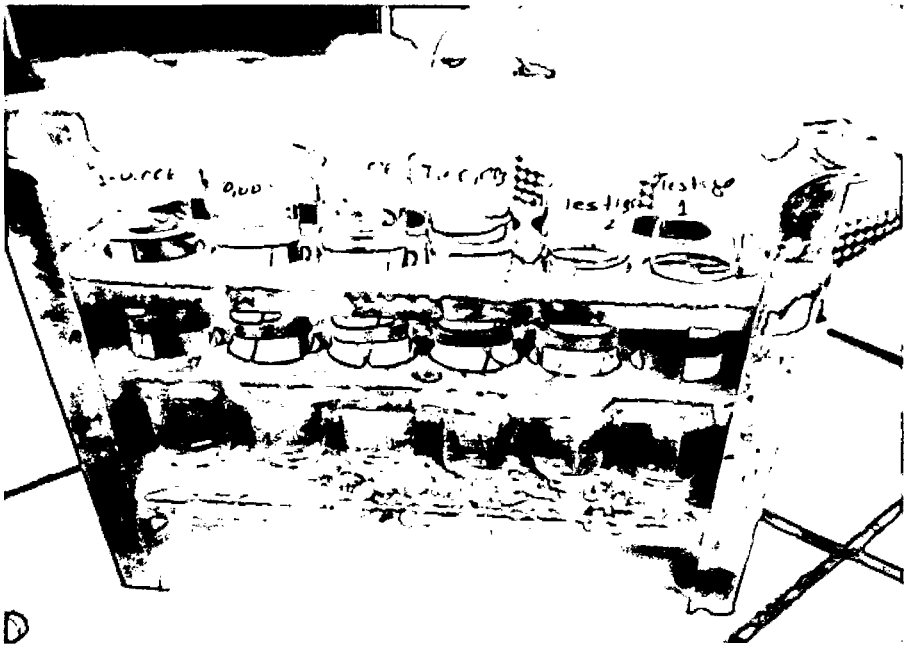

Figura 29. Muestras para ser medidas en el Espectrofotometro.

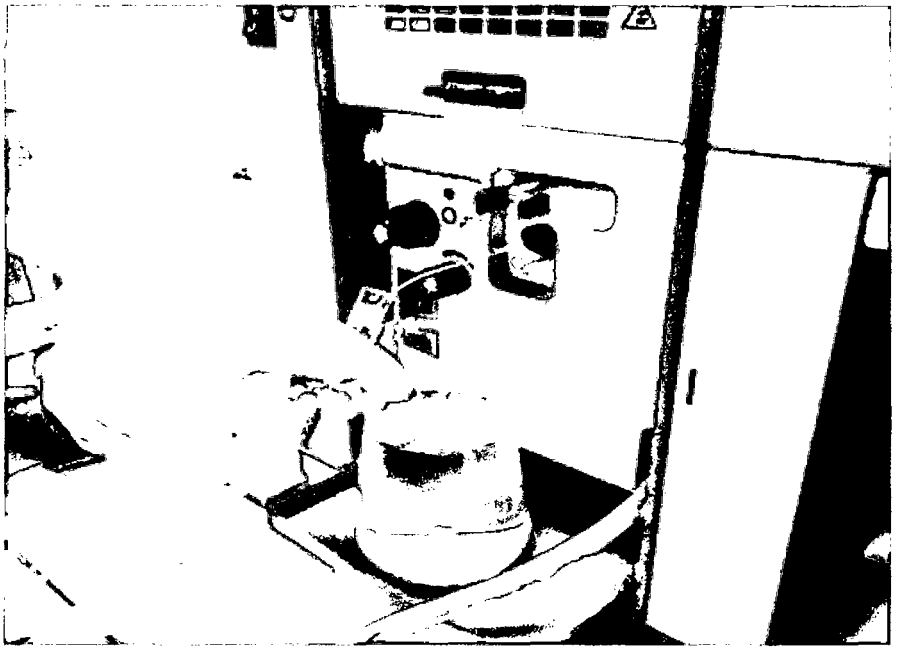

Figura 30. Medición de Cadmio en el Espectrofotómetro de adsorción atómica

Figura 31. Conteo celular con la cámara de neubauer para la determinación de la Densidad celular de las microalgas.