



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

**USO DE UN CONSORCIO DE MICROALGAS PARA EL
TRATAMIENTO Y REMOCIÓN DE METALES EN AGUA RESIDUAL**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
Q. DANIELA CASASOLA GÓMEZ

TUTOR PRINCIPAL
DRA. MARÍA TERESA ORTA LEDESMA, INSTITUTO DE INGENIERÍA, - UNAM

COMITÉ TUTOR
DR. ARMANDO GONZÁLEZ SÁNCHEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA - UNAM
M. EN C. GLORIA MORENO RODRÍGUEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA -
UNIDAD ACADÉMICA JURQUILLA - UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, ABRIL DE 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Mario Villalobos Peñalosa

Secretario: Dr. Armando González Sánchez

1 er. Vocal: Dr. Pandiyan Thangarasu

2 do. Vocal: M. en C. Gloria Moreno Rodríguez

3 er. Vocal: Dra. María Teresa Orta Ledesma

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería (LIA), Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México

TUTOR DE TESIS:

Dra. María Teresa Orta Ledesma

FIRMA

El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado Certificación Mexicana, S.C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad con los requisitos de la norma internacional ISO 9001:2015

No. de Certificado CMX C SGC 209 2020, válido en el período del 12 de noviembre de 2020 al 11 de noviembre de 2023



ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Metales en el ambiente	3
2.2. Métodos convencionales para la remoción de metales pesados de las aguas residuales	6
2.2.1. Precipitación química	6
2.2.2. Coagulación-Floculación.....	8
2.2.3. Intercambio iónico.....	8
2.2.4. Adsorción.....	9
2.2.5. Filtración con membranas.....	9
2.2.6. Tratamientos electroquímicos	10
2.2.7. Biosorción	10
2.3. Microalgas, generalidades	11
2.4. Tratamiento de agua residual con un consorcio microalgas – bacterias	12
2.4.1. Factores que influyen en el crecimiento de microalgas.....	14
2.4.2. Remoción de Nutrientes.....	15
2.4.3. Consorcio microalga-bacteria.....	16
2.5. Remoción de metales pesados con Microalgas.....	17
2.5.1. Proceso de biosorción en microalgas.....	17
2.6. Toxicidad de metales pesados sobre microalgas.....	19
2.6.1. Especiación de Cadmio y Plomo en el ambiente.....	20
2.6.2. Interacción entre Cadmio, Plomo y microalgas	21
2.6.3. Reparto del metal en el organismo y los efectos biológicos resultantes.....	23
2.6.4. Ensayos de toxicidad de Cd y Pb con microalgas	23
2.7. Isotermas de sorción.....	25
2.7.1. Isoterma de Langmuir.....	26
2.7.2. Isoterma de Freundlich.....	27

2.7.3.	Isoterma de Temkin.....	28
2.8.	Cinética de sorción.....	28
2.8.1.	Modelo de pseudo-primer orden.....	29
2.8.2.	Modelo de pseudo-segundo orden.....	29
2.8.3.	Modelo cinético de Elovich	30
3.	ANTECEDENTES	31
4.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	35
4.1.	HIPÓTESIS.....	35
4.2.	OBJETIVOS.....	35
4.2.1.	Objetivo general	35
4.2.2.	Objetivos particulares.....	35
5.	METODOLOGÍA.....	36
5.1.	Descripción general	36
5.2.	Agua tratada sintética.....	36
5.3.	Caracterización de agua residual.....	37
5.4.	Consortio de microalgas.....	38
5.5.	Isotermas de sorción.....	39
5.5.1.	Determinación de Clorofila	41
5.6.	Cinética de sorción.....	41
5.7.	Desorción	42
5.8.	Digestión de biomasa.....	43
5.9.	Diseño de experimentos: elección de solución desorbente.....	45
5.10.	Balance de masa.....	46
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
6.1.	Agua residual tratada.....	47
6.2.	Isotermas de sorción.....	48
6.3.	Cinética de sorción.....	61
6.3.1.	Crecimiento y remociones de cadmio, plomo y nutrientes durante cinética de sorción	63
6.4.	Desorción	67
6.4.1.	Pruebas de soluciones desorbentes.....	67

6.4.2.	Viabilidad de biomasa	68
6.4.3.	Desorción de metales durante cinética de sorción.....	70
6.5.	Digestión de biomasa microalgal.....	72
6.6.	Balance de masa de Cd y Pb sorbido	73
7.	CONCLUSIONES	76
8.	BIBLIOGRAFÍA	78
A.	ANEXO	88
A.1.	Curva de calibración DQO.....	88
A.2.	Curva Sólidos suspendidos totales (SST) vs Absorbancia λ 680 nm	90
A.3.	Curva de concentración de Clorofila vs Absorbancia λ 680 nm	92
A.4.	Determinación de concentración de Cadmio (II) y Plomo (II)	93
	Agradecimientos.....	97

LISTA DE TABLAS

Figura 1. Esquema de la cadena de valor del cultivo de microalgas y su biomasa (imagen modificada de Spain, O, Plöhn, M, Funk, 2021).....	12
Figura 2. Representación esquemática de la relación simbiótica entre microalgas y bacterias (CONAGUA, 2007).	16
Figura 3. Interacciones entre microalgas y bacterias (imagen modificada de Gonçalves et al., 2017).....	17
Figura 4. Representación de mecanismos de sorción de iones metálicos en microalgas (imagen modificada de Salam, 2019).....	19
Figura 5. Representación esquemática de la interacción del Plomo con proceso de captación de Plomo con la superficie de un microorganismo (Slaveykova, Vera I.; Wilkinson, 2002).	22
Figura 6. Diagrama de flujo de la metodología experimental.....	36
Figura 7. Cultivos de consorcio microalgal en agua residual.	38
Figura 8. Cultivos de microalgas en condiciones de luz y agitación constantes durante experimento de isotermas de sorción.	39
Figura 9. Diagrama de la metodología para la Determinación de Clorofila.	41
Figura 10. Equipo de digestión por microondas MARS XPRESS (izquierda) y tubos de teflón (derecha) donde se llevó a cabo la digestión de la biomasa microalgal.....	44
Figura 11. Diagrama de la metodología de cinética de sorción, desorción y digestión de biomasa microalgal.	45
Figura 12. Isotermas de sorción de Cadmio (II) (arriba) y Plomo (II) (abajo) por biomasa microalgal.....	49
Figura 13. Isotherma de Freundlich de la sorción de Cd (II) por biomasa microalgal.....	50
Figura 14. Isotherma de Langmuir de la sorción de Cd (II) por biomasa microalgal.....	51
Figura 15. Isotherma de Temkin de la sorción de Cd (II) por biomasa microalgal.....	52
Figura 16. Isotherma de Langmuir de la sorción de Pb (II) por biomasa microalgal.....	52
Figura 17. Isotherma de Freundlich (arriba) y Tamkin (abajo) de la sorción de Pb (II) por biomasa microalgal.	53
Figura 18. Crecimiento de biomasa microalgal (SST) durante el experimento de sorción de cadmio.....	54
Figura 19. Crecimiento de biomasa microalgal (Clorofilas a+b) durante experimento de sorción de cadmio.	55
Figura 20. Determinación de Dosis Letal Media (EC50) de cadmio en biomasa microalgal por método gráfico.....	56
Figura 21. Crecimiento de biomasa microalgal (SST) durante experimento de sorción de plomo.	57
Figura 22. Remoción de Cd (II) durante experimento de sorción.....	58
Figura 23. Remoción de Pb (II) durante experimento de sorción.....	59

Figura 24. Fotografías tomadas al microscopio óptico Zeiss (x100) de los cultivos con cadmio al término del tiempo de cultivo. a) 0.10 mg Cd·L ⁻¹ , b) 1.0 mg Cd·L ⁻¹ , c) 3.0 mg Cd·L ⁻¹ , d) 6.0 mg Cd·L ⁻¹ , e) 9.0 mg Cd·L ⁻¹ y e) 12.0 mg Cd·L ⁻¹ .	60
Figura 25. Fotografías tomadas al microscopio óptico Zeiss (x100) de los cultivos con plomo al término del tiempo de cultivo. a) 0.5 mg Pb·L ⁻¹ , b) 1.0 mg Pb·L ⁻¹ , c) 6.0 mg Pb·L ⁻¹ , d) 8.68 mg Pb·L ⁻¹ , e) 12.0 mg Pb·L ⁻¹ y e) 27.1 mg Pb·L ⁻¹ .	61
Figura 26. Cinética de sorción de Cd (II) y Pb (II) en microalgas durante 11 días, n=4.	62
Figura 27. Aplicación del modelo cinético de pseudo-segundo orden de la sorción de Cd (II) y Pb (II) en biomasa microalgal.	63
Figura 28. Curva de crecimiento de biomasa microalgal (SST) durante experimento de cinética de sorción de cadmio, plomo y del cultivo control, n=4.	64
Figura 29. Curva de pH de los cultivos control, con cadmio y con plomo durante el tiempo de cultivo, n=4.	65
Figura 30. Remoción de nitrógeno amoniacal, nitratos y ortofosfatos en agua residual después de tratamiento con microalgas.	65
Figura 31. Reacciones para la asimilación de NO ₃ ⁻ en tejidos vegetales (Iriarte et al., 2007).	67
Figura 32. Curvas de crecimiento medida como SST de cultivos con biomasa pre-desorción.	69
Figura 33. Porcentaje de Cadmio y Plomo recuperado durante la desorción con solución de EDTA 0.02 M, n=4.	71
Figura 34. Porcentaje de Cadmio y Plomo recuperado durante la digestión de la biomasa microalgal, n=2.	72
Figura 35. Balance de masa de la sorción de cadmio considerando como mecanismos de sorción adsorción y absorción.	73
Figura 36. Balance de masa de la sorción de plomo considerando como mecanismos de sorción adsorción y absorción.	74
Figura 37. Termostato HACH Modelo DRB 200.	89
Figura 38. Patrones para elaboración de la curva de calibración.	89
Figura 39. Curva de calibración DQO.	90
Figura 40. Curva de calibración de Sólidos Totales Suspendidos.	92
Figura 41. Curva de calibración de Clorofila.	93
Figura 42. Curva de calibración de [Cd] mg/L vs. Absorbancia.	96
Figura 43. Curva de calibración de [Pb] mg/L vs. Absorbancia.	96

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Efecto tóxico y dosis letal en la dieta humana de metales pesados con mayor relevancia ambiental (Amábilis Sosa, 2015; O'Connell et al., 2008; Reinoso Carrasco, 2014; Caviedes Rubio et al., 2015).....	3
Tabla 2. Principales fuentes antropogénicas de metales pesados en el medio ambiente (Caviedes Rubio et. al., 2015; O'Connell et al., 2008).....	4
Tabla 3. Concentraciones de Cd (II) y Pb(II) reportadas en los efluentes de diferentes industrias y de los parques industriales "5 de mayo" y "Puebla 2000" ubicados en el estado de Puebla.....	5
Tabla 4. Niveles guías de la calidad de agua establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas.	6
Tabla 5. Resumen de los principales contaminantes encontrados en Aguas Residuales y los mecanismos de eliminación convencionales vs. Mecanismos de remoción con Microalgas (Alcántara, et al., 2015).	12
Tabla 6. Estudios de Toxicidad de Cd (II) y Pb (II) con microalgas.....	24
Tabla 7. Estudios de la remoción de Cd (II) y Pb (II) con microalgas.....	32
Tabla 8. Metodología empleada para la caracterización fisicoquímica del agua residual tratada y cultivos de microalgas.	37
Tabla 9. Composición de soluciones de cada concentración para la isoterma de sorción de Cd (II). Se realizaron dos réplicas, n = 2, para cada concentración.....	40
Tabla 10. Composición de soluciones de cada concentración para la isoterma de sorción de Pb (II). Se realizaron dos réplicas, n = 2, para cada concentración.....	40
Tabla 11. Composición de medio de cultivo de experimentos de Cinética de sorción. Se realizaron cuatro réplicas, n = 4.....	42
Tabla 12. Diseño de experimento para la elección de solución desorbente.	46
Tabla 13. Características fisicoquímicas de la muestra de Agua Residual Tratada.....	47
Tabla 14. Parámetros de los modelos de Freundlich, Langmuir y Temkin de las isotermas de cadmio y plomo en biomasa microalgal.	49
Tabla 15. Parámetros de tasa de crecimiento y porcentaje de inhibición durante la sorción de cadmio por microalgas.....	56
Tabla 16. Parámetros de tasa de crecimiento y porcentaje de inhibición de la sorción de plomo por microalgas.....	57
Tabla 17. Parámetros de modelos de pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden y Elovich de la cinética de sorción de Cd (II) y Pb (II) por microalgas.	62
Tabla 18. Concentración inicial y final y % de remoción de cadmio y plomo en el experimento de cinética de sorción, n=4.....	64
Tabla 19. Porcentaje de eficiencias de recuperación de Cadmio y Plomo de las soluciones desorbentes, n=3.....	68

Tabla 20. Productividad y Tasa de crecimiento de cultivos pre-tratamiento de desorción y cultivo control a los 10 días de crecimiento.	69
Tabla 21. Remoción de nutrientes por los cultivos sometidos al tratamiento de desorción y cultivo control.	70
Tabla 22. Balance de masa de la sorción de cadmio biomasa microalgal durante 11días. ...	74
Tabla 23. Balance de masa de la sorción de plomo por biomasa microalgal durante 11días.	75
Tabla 24. Concentraciones utilizadas para la curva de calibración.....	90
Tabla 25. Preparación de patrones para curva de calibración de SST.	92
Tabla 26. Concentraciones de soluciones de Cd (II) y Pb (II) para la elaboración de la curva de calibración.	95

NOMENCLATURA Y ACRÓNIMOS

ARM: Agua Residual Municipal

A_T : constante de unión de equilibrio

b_T constante de Temkin

B_T constante de calor de sorción

C_e : Concentración de sorbato al equilibrio

C_i y C_f : es la concentración inicial y final del sorbato (mg o mmol / L)

CML: Límite Máximo de Concentración

DQO: Demanda Química De Oxígeno

EC50: Dosis Letal Media

FCPyS: Facultad de Ciencias Políticas y Sociales

k_1 : constante de velocidad del modelo cinético de pseudo-primer orden

k_2 : constante de velocidad del modelo cinético de pseudo-segundo orden

K_F Constante de Freundlich

K_L : Constante de Langmuir

LOEC: Concentración más baja de efectos observables

MES: Ácido 2-(N-Morfolino)-etanosulfónico

MP: Metal Pesado

Mt [III]: Metaloteínas de clase III

PC's: Fitoquelatinas

PSO: modelo de pseudo-segundo orden

PTAR: Planta De Tratamiento De Agua Residual

q_e : capacidad de sorción en equilibrio

q_{max} : capacidad de sorción máxima

q_t : capacidad de sorción al tiempo t

R : constante universal de los gases (8.314 J/mol K).

R_L : factor de separación o parámetro de equilibrio

RS: Residuos Sólidos

S : cantidad de sorbente base seca (g)

T : temperatura absoluta

t : tiempo

TRIS HCl: 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol

V : volumen (L)

X_i : concentración de biomasa al tiempo i ;

X_j : concentración de biomasa al tiempo j .

α : constante de sorción inicial de Elovich

β : constante de desorción de Elovich

%I: Porcentaje de inhibición

μ_c : tasa de crecimiento en el cultivo control

μ_{i-j} : tasa de crecimiento específico del tiempo i a j;

μ_T : tasa de crecimiento del cultivo con tratamiento

RESUMEN

La contaminación de cuerpos de agua por metales pesados es uno de los problemas ambientales más serios, debido a su toxicidad a bajas concentraciones, no son biodegradables y a que pueden bioacumularse a través de la cadena alimenticia. Debido a su efectividad y bajo costo, el uso de microalgas para el tratamiento de agua residual contaminada con metales pesados ha ganado interés en los últimos años. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el uso de un consorcio de microalgas con predominancia en los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp.* para el tratamiento y remoción de cadmio y plomo en agua residual.

En la primera etapa del trabajo de investigación, se trazaron las isotermas de sorción para cada ion metálico. Se utilizó 450 mg de biomasa como sorbente y se estudiaron 9 concentraciones de cadmio (0.10 a 12.00 mg·L⁻¹), mientras que, para el plomo, se estudiaron 8 concentraciones (0.50 a 27.10 mg·L⁻¹). Los datos de la isoterma de sorción de cadmio se ajustaron de manera similar a los dos modelos, de Freundlich y Langmuir, los valores de la constante de Freundlich y $1/n$ obtenidas fueron, 1.33 mg·g⁻¹ (0.018 mmol·g⁻¹) y 0.887, respectivamente; mientras que los valores obtenidos con el modelo de Langmuir, q_{max} y K_L fueron 6.08 mg·g⁻¹ (0.05 mmol·g⁻¹) y 0.25 L·mg⁻¹ (28.08 L·mmol⁻¹), respectivamente. Por otro lado, la isoterma de sorción de plomo se ajustó mejor al modelo de Langmuir, los valores obtenidos de q_{max} y K_L fueron de 9.23 mg·g⁻¹ (0.045 mmol·g⁻¹) y 0.04 L·mg⁻¹ (8.29 L·mmol⁻¹).

Durante la construcción de las isotermas de sorción, se determinó la dosis letal media, encontrando que, bajo las condiciones de estudio, la EC₅₀ de cadmio para el cultivo es de 3.71 mg·L⁻¹. En el caso de plomo, no se tuvo inhibición en el crecimiento del cultivo, por lo que se determinó que, la EC₅₀ de plomo es superior a 21.4 mg·L⁻¹.

La segunda etapa consistió en el estudio de la cinética de sorción de cadmio y plomo por la biomasa microalgal, el tiempo de equilibrio fue de 11 días. La sorción de ambos iones metálicos se ajustó mejor al modelo cinético de pseudo-segundo orden. Los valores de q_e obtenidos con el modelo fueron 1.27 y 9.93 mg·g⁻¹ (0.01 y 0.05 mmol·g⁻¹) y las velocidades de sorción, v_2 , 0.02 y 0.09 g·mmol⁻¹·min⁻¹ para cadmio y plomo, respectivamente. Las remociones de cadmio y plomo obtenidas por el tratamiento con biomasa microalgal fueron de 99.7 y 90.9%, respectivamente, por lo que las concentraciones de cadmio y plomo al final del tratamiento fueron de 0.007 y 0.44 mg·L⁻¹, cumpliendo con la normatividad vigente.

El mecanismo de sorción de cadmio por la biomasa microalgal varía en función del tiempo, ya que, en tiempos de cultivo cortos, el mecanismo de sorción principal es por adsorción y al aumentar el tiempo de cultivo (> 4 d), es por absorción. Por otro lado, se determinó que el mecanismo principal de remoción de plomo por la biomasa microalgal es por adsorción, en un 95.2%, mientras que únicamente el 3.5% fue por absorción.

ABSTRACT

The water bodies contamination by heavy metals is one of the most serious environmental problems, as consequence to their toxicity at low concentrations, they are not biodegradable and they can bioaccumulate through the food chain. Due to its effectiveness and low cost, the use of microalgae for wastewater treatment contaminated with heavy metals has gained interest in recent years. The aim of the present investigation was to evaluate the use of microalgae consortium with *Scenedesmus obliquus* and *Desmodesmus sp.* predominance for wastewater treatment and cadmium and lead removal.

In the first stage, the sorption isotherms for each metal ion were plotted. 450 mg of biomass was used as sorbent and 9 concentrations of cadmium (0.10 to 12.00 mg·L⁻¹) were studied, while for lead, 8 concentrations (0.50 to 27.10 mg·L⁻¹) were studied. The cadmium isotherm sorption data were fitted in a similar way to the two models, Freundlich and Langmuir, the values of the Freundlich constant and 1/n obtained were, 1.33 mg·g⁻¹ (0.018 mmol·g⁻¹) and 0.887, respectively; while the values obtained with the Langmuir model, q_{max} and K_L were 6.08 mg·g⁻¹ (0.05 mmol·g⁻¹) and 0.25 L·mg⁻¹ (28.08 L·mmol⁻¹), respectively. On the other hand, lead sorption isotherm fitted the Langmuir model better, the values obtained for q_{max} and K_L were 9.23 mg·g⁻¹ (0.045 mmol·g⁻¹) and 0.04 L·mg⁻¹ (8.29 L·mmol⁻¹).

During sorption isotherms experiments, the median lethal dose was determined, finding that, under study conditions, the cadmium EC₅₀ is 3.71 mg·L⁻¹. In the case of lead, there was no growth inhibition, so it was concluded that lead EC₅₀ is greater than 21.4 mg·L⁻¹.

Cadmium sorption mechanism by microalgal biomass varies as a function of time, since, in short culture times, the main sorption mechanism is by adsorption and when the culture time increases (> 4 d), it is by absorption. On the other hand, it was determined that the main mechanism of lead removal by microalgal biomass is by adsorption, in 95.2%, while only 3.5% was by absorption.

1. INTRODUCCIÓN

Debido al incremento de la población mundial, principalmente en áreas urbanas, la disposición de aguas residuales municipales e industriales se ha convertido en un serio problema de contaminación del medio ambiente.

De acuerdo a los datos reportados en el año 2016, en México se generaron más de 7,200 millones de metros cúbicos de aguas residuales municipales ($228.94 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), de las cuales el 92.7% fueron captadas ($212.204 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$). Del volumen recolectado, un 58.2% recibió tratamiento ($123.587 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), mientras que el 41.8% del caudal colectado restante fue vertido sin previo tratamiento ($88.617 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) (INECC & PNUD, 2018).

Entre los contaminantes que se encuentran en el agua residual industrial y municipal que representan mayor riesgo para la salud humana y el equilibrio de los ecosistemas, se encuentran los metales pesados y metaloides, debido a su toxicidad a bajas concentraciones, persistencia, bioacumulabilidad y a que no son biodegradables, lo que los hace una fuente de contaminación de las cadenas alimenticias al ser ingeridos por alguno de sus eslabones (Mendoza, *et al.*, 1996).

Domenech & Peral, 2008, citado por Caviedes Rubio, *et al.*, 2015 señalan que en el medio hidrosférico, hay cantidades cercanas a 109 Kg por año de metales traza que se han vertido, siendo las aguas residuales de origen domésticas, las plantas térmicas, las fundiciones y las acereras, las principales fuentes de emisión; el orden de flujos de emisión o cargas contaminantes de metales a la hidrosfera corresponde a $\text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cr} > \text{Pb} > \text{Ni} \approx \text{Cu} > \text{Se} \approx \text{As} > \text{Sb} > \text{V} \approx \text{Mo} \approx \text{Cd} > \text{Hg}$. Aunque con base en el nivel de toxicidad, el arsénico (As), cadmio (Cd), plomo (Pb) y mercurio (Hg) son clasificados como los metales prioritarios de importancia para la salud pública (Salam, 2019).

Los efectos adversos en la salud humana y en el medio ambiente han propiciado la búsqueda de nuevos tratamientos y tecnologías para la eliminación de metales tóxicos de las aguas residuales que han dirigido la atención hacia la bioremediación, la cual se basa en la utilización de sistemas biológicos (bacterias, levaduras, hongos y algas) para la restauración del medio ambiente.

De los sistemas biológicos estudiados, las microalgas tienen la capacidad para remover nutrientes como nitrógeno y fósforo, así como compuestos patógenos y contaminantes, como metales pesados (Alcántara, *et al.*, 2015), produciendo biomasa de alto valor agregado.

El uso de microalgas para la remoción de metales pesados ha sido estudiado desde hace 40 años (Fu & Wang, 2011) debido a su bajo costo de obtención y su capacidad de retención

para la mayoría de los metales pesados tóxicos, a pesar de esto, el estudio de estos sistemas a gran escala no ha sido suficientemente explorado.

Con base en lo anterior, se propone evaluar el uso de un consorcio de microalgas para la remoción de metales pesados en agua residual urbana, a la cual se añadieron concentraciones conocidas de los iones metálicos. Se eligieron los metales Cadmio y Plomo debido a su toxicidad a muy bajas concentraciones y a que no constituyen como micronutrientes para los organismos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Metales en el ambiente

Los metales pesados constituyen un grupo cercano a los 40 elementos de la tabla periódica, los cuales poseen una densidad superior a los 5 gcm^{-3} (Cañizares-Villanueva, 2000). Sin embargo, desde el punto de vista eco toxicológico, el rango distintivo es que a pesar de que muchos de ellos son esenciales para el metabolismo como el cobalto, cobre, hierro, manganeso, cromo y zinc (Co, Cu, Fe, Mn, Cr y Zn), se ha reportado que también tienen efectos tóxicos sobre las células, principalmente como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas (Amábilis Sosa, 2015). Por otro lado, metales como arsénico, cadmio, mercurio y plomo, son tóxicos en concentraciones muy bajas, por lo que no tienen un rol benéfico para la biota y han sido catalogados por la U.S. EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América) dentro de los 10 metales tóxicos prioritarios, que por acuerdo internacional no pueden ser descargados o vertidos en los sistemas marinos y dulceacuícolas (Salam, 2019; Calva B. & Torres A., 2004).

De acuerdo a Bulgariu and Gavrilesco (2015), de los diferentes tipos de contaminantes, los metales pesados son de los más dañinos debido a su toxicidad, persistencia, resistencia a la degradación biológica y su acumulación a largo plazo en la cadena alimenticia causando problemas a la salud como trastornos al sistema nervioso, daños a riñones e hígado, cáncer, pérdida ósea, pérdida de función pulmonar, entre otros (Zeraatkar, et al., 2016). En la Tabla 1 se indican los principales efectos a la salud que propician los metales pesados con mayor relevancia ambiental, así como la dosis letal en la dieta humana.

Tabla 1. Efecto tóxico y dosis letal en la dieta humana de metales pesados con mayor relevancia ambiental (Amábilis Sosa, 2015; O'Connell et al., 2008; Reinoso Carrasco, 2014; Caviedes Rubio et al., 2015).

Metal pesado	Efecto tóxico	Dosis letal en dieta humana $\text{mg}\cdot\text{d}^{-1}$
Arsénico	Manifestaciones cutáneas y enfermedades vasculares	50 – 340
Cadmio	Desórdenes renales y carcinogénico humano	0.0015 - 0.009
Cobre	Daños al hígado, Enfermedad de Wilson e insomnio	175 – 250
Cromo	Dolor de cabeza, náuseas, diarrea, vómitos y carcinogénico humano	0.003 – 0.008

Hierro	Dolor de cabeza, náuseas, diarrea, vómitos y puede reducir la absorción de Zinc	--
Mercurio	Problemas reumatoides y enfermedades en el sistema nervioso y circulatorio	150 – 300
Níquel	Dermatitis, náuseas, asma crónica, tos, cancerígeno humano	--
Plomo	Enfermedades en el sistema nervioso central y circulatorio	0.010
Zinc	Depresión, letargo y daño neurológico	0.006

Los metales pesados son de los principales contaminantes de aguas marinas, terrestres, industriales, y hasta de aguas tratadas. El aumento de la concentración de metales pesados en aguas naturales se debe, principalmente, a los efluentes industriales los cuales no cumplen con los niveles de descarga establecidos a nivel gubernamental (Plaza Cazón, 2012). Aun cuando se encuentren en concentraciones bajas, sus características recalcitrantes y su consiguiente persistencia en cuerpos de agua implican que, a través de procesos naturales como la biomagnificación, su concentración puede llegar a ser tóxica. Los metales pesados pueden encontrarse en su estado elemental o en forma de sales por medio de enlaces iónicos. De cualquier manera, los iones metálicos no pueden ser mineralizados como la materia orgánica (Amábilis Sosa, 2015).

Numerosas industrias, a través de alguno de sus procesos, así como actividades domésticas (e.g. quema de combustibles fósiles, incineración de RS), generan efluentes con concentraciones considerables de metales pesados (O’Connell *et al.* 2008), en la tabla 2 se muestran las industrias que generan descargas con concentraciones altas de metales pesados, mientras que en la tabla 3 se muestran las concentraciones de Cd (II) y Pb (II) reportadas en efluentes industriales que los generan en mayor cantidad.

Tabla 2. Principales fuentes antropogénicas de metales pesados en el medio ambiente (Caviedes Rubio *et al.*, 2015; O’Connell *et al.*, 2008).

Industria	Metales	Contaminación derivada
Minería de metales ferrosos	Cd, Cu, Ni, Cr, Co, Zn	Drenaje ácido de mina, escoria, escombreras

Extracción de minerales	As, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn	Presencia en las menas como en los subproductos
Fundición	As, Cd, Pb, Tl	Proceso del mineral para obtención de metales
Agricultura y ganadería	Cd, Cr, Mo, Pb, U, V, Zn, As, Ni, Mn	Contaminación por escorrentía, aguas superficiales y subterráneas, bioacumulación de MP en la planta.
Lodos de depuradora	Zn, Cu, Ni, Pb, Cd, Cr, As, Hg	Esparcimiento de contaminación a aguas superficiales y subterráneas
Industria Metalúrgica	Pb, Mo, Ni, Cu, Cd, As, Te, U, Zn	Manufactura, disposición y reciclaje de metales. Relaves y escoria
Lixiviado generado en depósitos de RS	Zn, Cu, Cd, Pb, Ni, Cr, Hg	Esparcimiento de contaminación a aguas superficiales y subterráneas por lixiviado.
Electrónica	Pb, Cd, Hg, Pt, Au, Cr, As, Ni, Mn	Residuos sólidos y líquidos procedentes de manufactura y proceso de reciclaje.
Galvanoplastia	Cr, Cd, Ni, Zn, Cu	Efluente líquido del proceso de recubrimiento.
Baterías	Pb, Sb, Zn, Cd, Ni, Hg	Ácido de baterías, contaminación de suelo y agua subterránea.
Pintura y pigmentos	Pb, Cr, As, Ti, Ba, Zn	Residuos acuosos procedentes de la manufactura y el deterioro de la pintura vieja.

Tabla 3. Concentraciones de Cd (II) y Pb(II) reportadas en los efluentes de diferentes industrias y de los parques industriales “5 de mayo” y “Puebla 2000” ubicados en el estado de Puebla.

Metal que generan	Principal industria	Concentración [mg·L⁻¹]	Referencia
Cd (II)	Galvanoplastia	≈ 82,000	Silva, Thelma, & Teresa, 2000
	Recubrimientos metálicos	48 – 240	
	Parques industriales	4.48 y 3.73	Bonilla y Fernández, 2014
Pb (II)	Industria de baterías	Hasta 300	Soto, et al., 2006

Subproducto de minerías y refinerías	7 – 130 mg/L	Amábilis Sosa, 2015
Parques industriales	0.47 y 1.12	Bonilla y Fernández, 2014

La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales ha establecido un criterio de concentraciones máximas permitidas de diversos contaminantes en el agua residual en Normas Oficiales. Las normas [NOM-001-SEMARNAT-1996](#), [NOM-002-SEMARNAT-1996](#) y [NOM-003-SEMARNAT-1997](#) establecen la concentración máxima permisible de metales pesados en las descargas de agua residual a cuerpos de agua, a sistemas de alcantarillado y para reúso, respectivamente. En la tabla 4 se encuentran los límites máximos permisibles de los metales que se estudiarán en el presente trabajo, los cuales oscilan de 0.1 a 0.5 mg·L⁻¹ para el Cadmio, mientras que para Plomo oscilan de 0.2 a 1.0 mg·L⁻¹.

Tabla 4. Niveles guías de la calidad de agua establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas.

Metal	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Cadmio	0.2-0.4	0.1-0.2	0.1-0.2	0.1-0.2	0.2-0.4	0.1-0.2	0.1-0.2	0.5
Plomo	0.5-1.0	0.2-0.4	0.2-0.4	0.2-0.4	0.5-1.0	0.2-0.4	0.2-0.4	1.0

Referencias: Valores en (mgL⁻¹). (1) Uso en riego agrícola, (2) Uso público urbano, (3) Protección de vida acuática, (4) Explotación pesquera, navegación, (5) Recreación, (6) Estuarios, (7) Humedales naturales (8) Descarga a sistemas de alcantarillado, promedio mensual

2.2. Métodos convencionales para la remoción de metales pesados de las aguas residuales

Los metales pesados no pueden ser degradados a diferencia de los contaminantes orgánicos, sino sólo pueden eliminarse por separación o convirtiéndolos a un estado químicamente inerte, lo cual generalmente implica inmovilizarlos (Q. Chen *et al.*, 2009), a fin de disponer de ellos de forma segura. A continuación, se describe brevemente los métodos convencionales para la remoción de metales pesados en aguas residuales.

2.2.1. Precipitación química

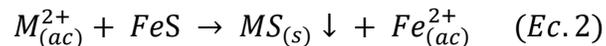
La precipitación química puede ser realizada con tres tipos de compuestos, hidróxidos, sulfuros y con agentes quelantes.

La precipitación con hidróxidos es la técnica más utilizada en los procesos industriales, ya que es un proceso relativamente sencillo y económico. Consiste en la retención de metales pesados haciéndolos insolubles con la adición de hidróxidos de calcio o sodio, se ajusta el pH a condiciones básicas (pH de 8 a 11). Como resultado, los iones metálicos disueltos en el agua residual son convertidos a hidróxidos metálicos (Ec. 1), o en algunos casos el del Pb(II) a hidroxicarbonatos, los cuales son insolubles y pueden ser removidos por floculación y sedimentación (Barakat, 2011; Huisman *et al.*, 2006).



De acuerdo a Gautam *et al.* 2014, la precipitación de iones metálicos con hidróxidos presenta las siguientes desventajas. Los lodos producidos que contienen los hidróxidos metálicos exhiben una densidad muy baja, por lo que abarca grandes volúmenes, presentando dificultades técnicas y económicas para su deshidratación y reutilización o disposición controlada. La segunda desventaja es que no es eficiente a bajas concentraciones.

La precipitación con sulfuros es un proceso efectivo para la remoción de metales pesados en medio acuoso. Las principales ventajas son, la baja solubilidad del precipitado del compuesto y que éste no es anfotérico. Özverdi and Erdem (2006) mencionan que el mecanismo que gobierna la remoción de los iones metálicos que presenta a valores bajos de pH (<3), se ilustra en la siguiente ecuación (Ec. 2):



Se utilizan diferentes fuentes de sulfuros, como el sulfuro de sodio (Na₂S), hidrosulfuro de sodio (NaHS) y el sulfuro ferroso (FeS).

La desventaja de este proceso es la generación de ácido sulfhídrico, que es un gas tóxico, aunado a que tienen a formar precipitados coloidales, lo cual puede provocar problemas en las etapas de sedimentación y/o filtración (Fu & Wang, 2011).

Con respecto a la precipitación con agentes quelantes, este tipo de compuestos tienen la capacidad de formar complejos estables con metales. Los factores principales en la selección de agentes quelantes para la extracción de metales son (1) deben de formar complejos muy estables en un amplio rango de pH, (2) deben de tener una baja biodegradabilidad si los reactivos deben de ser reciclados para su reutilización, y (3) los reactivos deben de ser rentables.

La desventaja de este proceso es que precipitantes comerciales de metales pesados hoy en día carecen de los sitios de unión necesarios o plantean demasiados riesgos ambientales

para ser utilizados de manera segura y por lo tanto, existe una necesidad definida de sintetizar precipitantes nuevos y más efectivos para cumplir con los requisitos de descarga (Fu & Wang, 2011).

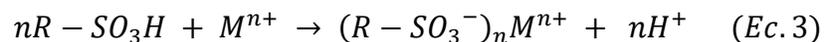
2.2.2. Coagulación-Floculación

Es el método mediante el cual se logra desestabilizar el coloide y aglomerar posteriormente. En la primera etapa, la coagulación elimina la doble capa eléctrica que caracteriza a los coloides y con la floculación, se aglomeran mediante la atracción de partículas con el aglutinamiento de los floculantes. Las partículas más grandes son separadas por filtración, colado o flotación. Los factores más importantes que se deben tener en cuenta para esta técnica son la dosis química apropiada, el efecto energético de la mezcla y el tiempo de la mezcla; los coagulantes químicos que se utilizan comúnmente en el tratamiento de aguas residuales incluyen sulfato de aluminio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$), sulfato ferroso (FeSO_4) y cal ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) (Nyström *et al.*, 2020; Soto Regalado *et al.*, 2004).

2.2.3. Intercambio iónico

En el proceso de intercambio iónico los iones en solución se transfieren a una matriz sólida que, a su vez liberan iones de un tipo diferente, pero de la misma carga. Es un proceso de separación física en la que los iones intercambiados no se modifican químicamente. Esta técnica es ampliamente utilizada para la remoción de metales pesados en aguas residuales debido a su capacidad para tratar grandes volúmenes y presentar alta eficiencia de remoción (Kang, *et al.*, 2004).

Las resinas de intercambio pueden ser sintéticas o naturales, aunque las resinas sintéticas son comúnmente preferidas debido a su eficiencia; las resinas catiónicas más comunes son las resinas fuertemente ácidas con grupos de ácido sulfónico ($-\text{SO}_3\text{H}$) y las resinas débilmente ácidas con grupos de ácido carboxílico ($-\text{COOH}$). Los iones de hidrógeno en el grupo sulfónico o el grupo carboxílico de la resina pueden servir como iones intercambiables con cationes metálicos. A medida que la solución que contiene metales pesados pasa a través de la columna de cationes, los iones metálicos se intercambian por iones de hidrógeno en la resina con el siguiente proceso de intercambio iónico (Ec. 3 y 4) (Alyüz & Veli, 2009; Fu & Wang, 2011):



Las principales ventajas del intercambio iónico son, la recuperación del metal, la selectividad, y menor volumen de lodos generados. Sin embargo, la principal desventaja del uso de resinas sintéticas es que son sumamente costosas.

2.2.4. Adsorción

La técnica presenta remoción de una amplia variedad de contaminantes para el tratamiento de metales en aguas residuales. Es una opción económica y efectiva debido a su alta capacidad, cinética rápida y posiblemente selectiva cuando se elige el adsorbente apropiado (Liu & Lee, 2014). Además, el adsorbente puede ser regenerado por un proceso de desorción.

El carbón activado es la principal materia prima utilizada por este método, debido a su alta superficie específica. Sin embargo, en la actualidad se experimenta el agotamiento de la fuente del carbón activado comercial, propiciando que se incremente su precio de adquisición, por lo que se empieza a limitar su utilización como adsorbente, además de la problemática derivada de su disposición final (Amábilis Sosa, 2015).

Por otro lado, los nanotubos de carbono han despertado una amplia atención como un nuevo tipo de adsorbentes debido a su capacidad para la eliminación de diversos contaminantes inorgánicos, orgánicos y radionucleidos a partir de grandes volúmenes de aguas residuales (Caviedes Rubio *et al.*, 2015). Se han realizado estudios sobre la remoción de Cd(II) y Pb(II) con nanotubos de carbono, Wang *et al.*, 2007 reportó la remoción de 75.3% de Pb(II) a partir de una concentración inicial de 50 mg/L utilizando nanotubos de carbón de multicapa, en comparación con Kabbashi *et al.*, 2009 quien reportó remoción de 85% utilizando nanotubos de carbón de capa simple. Mientras que Vukovic *et al.*, 2010 reportan una capacidad de sorción máxima de 25.7 mg/g utilizando nanotubos de carbón de multicapa.

2.2.5. Filtración con membranas

Esta tecnología presenta altas eficiencias, requiere poco espacio, no es selectiva y es de fácil operación, pero genera una gran cantidad de lodos que contienen metales. Se emplea en procesos para el tratamiento de agua potable, aguas residuales industriales y en menor medida, aguas residuales domésticas.

La separación por membrana se emplea comúnmente para tratar y recuperar sales metálicas de residuos generados en procesos galvanoplásticos, en el reciclaje de aceites, en la producción de alimentos y bebidas y en la explotación y producción de hidrocarburos (Fu & Wang, 2011; Soto Regalado *et al.*, 2004). Los procesos en los que se utiliza la filtración

por membrana para la remoción de metales en aguas residuales son: Ultrafiltración, Ósmosis inversa, Nano filtración y Electrodiálisis.

2.2.6. Tratamientos electroquímicos

Los métodos electroquímicos involucran la deposición de iones metálicos en la superficie del cátodo, con la posible recuperación de metales en estado elemental. Este tipo de métodos requiere una gran inversión y generan altos costos de operación por el suministro de la energía requerida para el proceso, por lo anterior, no es ampliamente utilizada (Wang, *et al.*, 2007).

Una de las tecnologías más socorridas de los tratamientos electroquímicos es la electrocoagulación. Es un proceso que aplica los principios de la coagulación-floculación en un reactor electrolítico. Este es un recipiente dotado de una fuente de corriente y varios electrodos encargados de aportar los iones desestabilizadores de partículas coloidales que reemplazarán las funciones de los compuestos químicos que se utilizarán en el tratamiento convencional, induciendo la corriente eléctrica en el agua a través de placas metálicas paralelas de hierro o aluminio.

2.2.7. Biosorción

La biosorción de metales pesados a partir de soluciones acuosas es un proceso relativamente nuevo que se considera como un proceso prometedor para la eliminación de metales pesados de aguas residuales (Wan Nghah, *et al.*, 2011). Esta técnica es particularmente adecuada para el tratamiento de aguas residuales con concentraciones de metales diluidas. Las principales ventajas de esta técnica es la alta efectividad en la remoción de iones metálicos, rápida sorción, bajo costo y grandes cantidades disponibles del sorbente, aparte de que no se generan residuos secundarios (Fu & Wang, 2011; Rangabhashiyam & Balasubramanian, 2019).

Gadd, 2009 define la biosorción como la remoción de una sustancia de una solución por un material biológico para reducir la concentración del sorbato en la solución y acumular el sorbato en la interfaz solución-sorbente. Se emplea un amplio espectro de materiales biológicos y con base en Apiratikul and Pavasant (2008) pueden provenir de tres clasificaciones de fuentes: 1) Biomasa residual como corteza, lignina, residuos de crustáceos, etc., 2) biomasa algal y 3) biomasa microbiana, e.g. bacterias, hongos y levaduras.

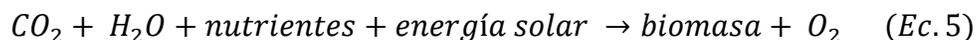
El proceso de biosorción puede ser llevado a cabo utilizando biomasa viva, inactiva o bien, biomasa inactiva modificada mediante métodos de activación para mejorar su rendimiento.

La calidad del biosorbente está ligada a la cantidad de sorbato que pueda atraer y retener; razón por la cual, se han realizado diversos estudios evaluando la efectividad de diferentes tipos de biomasa, al igual que productos derivados del pretratamiento físico y modificación química de la biomasa (Tejada-Tovar *et al.*, 2015).

2.3. Microalgas, generalidades

Las microalgas son un grupo diverso de microorganismos fotosintéticos que comprende a algas microscópicas *sensu stricto* (eucariotas) y bacterias fotosintéticas oxigénicas, cianobacterias. Estos microorganismos contribuyen con casi el 50% de la actividad fotosintética global, en la que el CO₂ y la energía solar son transformados en materia orgánica. En la actualidad, se estima que existen alrededor de 200,000 a 800,000 especies de microalgas, de las cuales, aproximadamente 35,000 especies han sido descritas en la literatura (González Balderas, 2020; J. Singh & Saxena, 2015).

Debido a la simplicidad de requerimientos para su crecimiento, tolerancia a condiciones extremas y alta adaptabilidad, las microalgas pueden encontrarse en diversos hábitats ecológicos como agua dulce, marina, salobre, así también en el suelo, en rocas, en desiertos, pantanos, aguas termales e incluso, en simbiosis como líquenes (Spain, *et al.*; 2021) y pertenecen a los organismos fotosintéticos de crecimiento más rápido ya que su tiempo de duplicación celular puede ser de tan solo unas pocas horas. La producción de biomasa por microalgas se basa en el esquema que se muestra a continuación (Ec. 5), que determina todos los requisitos necesarios de este proceso biológico (J. Masojídek, 2014):



En general, las microalgas son organismos fotoautótrofos, sin embargo, también son capaces de crecer empleado materia orgánica como fuente de energía o de carbono, es decir son capaces de crecer en condiciones mixotróficas o heterótrofas.

La investigación con microalgas ha alcanzado una enorme importancia debido, fundamentalmente, a la combinación de usos que puede tener para múltiples tecnologías, por ejemplo, mitigación de carbono; obtención de productos con fines energéticos, principalmente para la obtención de biocombustibles como el bioetanol, biometano y biodiesel; productos de alto valor añadido con aplicaciones en la nutrición y salud humana, así como en la industria cosmética y acuicultura. Otras aplicaciones están enfocadas a sistemas de tratamiento de aguas, pudiendo retirar metales pesados y macronutrientes del medio acuático (García *et al.*, 2017; Gonçalves *et al.*, 2017).

En la figura 1 se representa la cadena de valor del cultivo y de la biomasa microalgal.

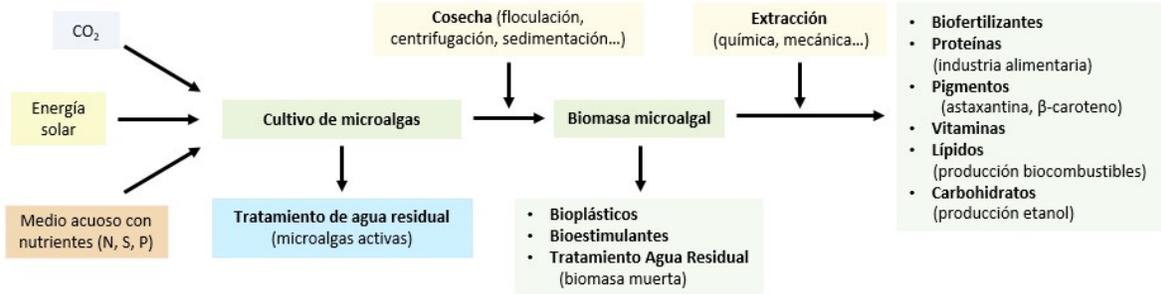


Figura 1. Esquema de la cadena de valor del cultivo de microalgas y su biomasa (imagen modificada de Spain, O, Plöhn, M, Funk, 2021)

2.4. Tratamiento de agua residual con un consorcio microalgas – bacterias

El uso de microalgas para el tratamiento biológico de aguas residuales ha sido ampliamente estudiado en las últimas décadas debido a que son sistemas con una configuración simple, de fácil manejo, bajo costo y se ha demostrado su eficiencia en la remoción de contaminantes (Rittmann and McCarty, 2001), además de que estos sistemas están diseñados para la obtención y recuperación de biomasa (Park, Craggs, & Shilton, 2011).

Se ha reportado tratamiento de AR de diferentes tipos de efluentes con microalgas, como agua residual municipal (García et al. 2000; Park et al. 2011), porcina (Godos, et al., 2009), de industria papelera (Tarkan, Dilek, & Yetis, 2002), de proceso de curtido (Ajayan, et al., 2015) así como aguas residuales de la industria minera y refinería de zinc (I. Rawat et al. 2016), entre otros.

En la tabla 5 se describen los principales contaminantes en aguas residuales y los mecanismos de remoción por tratamientos convencionales y con microalgas.

Tabla 5. Resumen de los principales contaminantes encontrados en Aguas Residuales y los mecanismos de eliminación convencionales vs. Mecanismos de remoción con Microalgas (Alcántara, et al., 2015).

Contaminante (y riesgos asociados)	Tratamiento Convencional	Tratamiento con microalgas
Sólidos suspendidos (reduce claridad del agua, obstrucción en tuberías, gran parte de los sólidos también son	Sedimentación por gravedad antes o durante el tratamiento biológico.	El tratamiento de agua residual con microalgas son sistemas de mezcla completa, por lo que no está diseñado para la

<p>contaminantes orgánicos biodegradables).</p>		<p>remoción de sólidos inertes (no biodegradables). Se utiliza una sedimentación previa para evitar problemas de operativos y mejorar la penetración de la luz.</p>
<p>Contaminantes orgánicos biodegradables, generalmente expresada como DBO o COD (la biodegradación sin control puede ocasionar agotamiento de oxígeno, algunos compuestos orgánicos son tóxicos).</p>	<p>La biodegradación aerobia o anaerobia por microorganismos heterótrofos, utilizada como tratamiento para aguas residuales domésticas e influentes recalcitrantes como aguas residuales industriales.</p>	<p>Biodegradación aerobia por microorganismos heterótrofos, las microalgas proporcionan habilidades metabólicas adicionales y ayuda la degradación por microorganismos heterótrofos por intercambio de sustratos</p>
<p>Nutrientes: nitrógeno y fósforo (ocasiona crecimiento de algas no controlado en el ecosistema).</p>	<p>Asimilación microbiana, proceso de nitrificación/desnitrificación , remoción biológica de fosfatos por bacterias acumuladoras de fosfato, precipitación química de fosfato.</p>	<p>Asimilación de nutrientes por fotosíntesis microalgal para la obtención de biomasa. Las condiciones ambientales favorecen la volatilización de N y precipitación de fósforo.</p>
<p>Patógenos (causantes de enfermedades en humanos y animales).</p>	<p>Desinfección en lagunas de maduración, desinfección química (e.g. radiación UV, cloro, ozono).</p>	<p>La fotosíntesis microalgal puede promover la desinfección de patógenos al aumentar el pH y la solubilidad de O₂. La superficie de la laguna con gran iluminación favorece la desinfección por radiación UV.</p>
<p>Metales pesados (bioacumulación y toxicidad).</p>	<p>Descritos en el apartado 2.2</p>	<p>Las microalgas tienen el potencial para funcionar como un biosorbente. La</p>

fotosíntesis puede promover la precipitación de los MP por el aumento de pH.

2.4.1. Factores que influyen en el crecimiento de microalgas

El crecimiento de las microalgas se puede ver afectado por diversos factores bióticos y abióticos. Los factores bióticos incluyen la presencia de patógenos, como bacterias, hongos, virus y la competencia de otras especies de microalgas, mientras que los factores abióticos incluyen la luz (calidad y cantidad), temperatura, pH, salinidad, nutrientes, concentración de oxígeno disuelto, así como la presencia de compuestos tóxicos.

Luz

La luz es el factor más importante para el crecimiento *de* las microalgas, ya que es su fuente de energía para convertir el carbono inorgánico, generalmente CO₂, en carbono orgánico.

En ausencia de limitación por nutrientes, la fotosíntesis se incrementa con la intensidad lumínica, hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento específica para cada especie en el punto de saturación por luz. Pasado este punto, se alcanza el punto de fotoinhibición, con resultados perjudiciales para la misma célula, implicando pérdida de eficiencias fotosintéticas y productividad en el cultivo (Gonçalves *et al.*, 2017).

Los cultivos microalgales exteriores suelen sufrir fotoinhibición en las principales horas del día, debido a la alta intensidad lumínica (Martínez García, 2008). Bajo ciertas condiciones, los cultivos con mayor densidad celular (> 3 gL⁻¹) son capaces de utilizar la luz incidente con mayor eficiencia en comparación con cultivos con concentraciones menores. Esto se debe al auto sombreado, donde las células más cercanas a la superficie dan sombra a las capas inferiores. Un sistema de mezcla eficiente permitirá un acceso periódico de todas las células a la luz, de lo contrario, será perjudicial puesto que la intensidad lumínica decrece con el aumento de la turbidez (Hernández-Pérez, A. & Labblé, 2014; Park *et al.*, 2011).

Temperatura

La producción microalgal aumenta con el incremento de la temperatura hasta alcanzar la temperatura óptima de cada especie. Por encima de ésta, aumenta la respiración y la fotorespiración reduciendo la productividad. La temperatura óptima en condiciones de máxima tasa de crecimiento (con suficientes nutrientes y condiciones de luz adecuadas) varía entre las especies de algas, pero generalmente está entre 28 y 35°C (Park *et al.*, 2011).

pH y disponibilidad de CO₂

La mayor parte de las especies de microalgas crecen en un rango de pH de 7.0 a 9.0, sin embargo, algunas microalgas son alcalófilas mientras otras, acidófilas. Por ejemplo, la microalga *Spirulina platensis* es capaz de crecer en medios con pH básicos, entre 9.0 y 10.0, mientras que la microalga *Chlorococcum littorale*, prefiere medios ácidos, con valores de pH entre 5.0 y 6.0 (Gonçalves *et al.*, 2017).

Este parámetro influye en la concentración de dióxido de carbono en el medio debido al equilibrio de las especies: CO₂, H₂CO₃, HCO₃⁻ y CO₃²⁻. El incremento en la concentración de CO₂ gaseoso, disminuye el pH en el cultivo y, por otro lado, es común observar que durante el crecimiento de las microalgas haya un incremento en el pH, debido al consumo de CO₂.

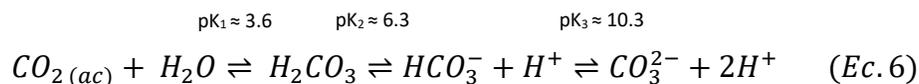
Salinidad

Los niveles óptimos de salinidad difieren de acuerdo a la especie de microalga. Las modificaciones en la salinidad pueden tener efectos adversos en el crecimiento y composición de éstas debido a i) estrés osmótico, ii) estrés iónico y iii) alteraciones en la permeabilidad de iones en la membrana (Gonçalves *et al.*, 2017).

2.4.2. Remoción de Nutrientes

Desde mediados del siglo XX se sabe que las microalgas son eficientes en la remoción de carbono inorgánico, nitrógeno y fósforo de aguas residuales (Abdel-Raouf, 2012; O. Hammouda, 1995; Park *et al.*, 2011), debido a que son nutrientes esenciales en la formación de biomasa (Wong, 1996).

EL carbono es principalmente asimilado en su forma inorgánica de CO₂ por los organismos fotosintéticos, sin embargo, dado que la mayoría de las microalgas se encuentran en medio acuoso, el dióxido de carbono se disuelve en el sistema, por lo que se forma un sistema buffer ácido-base, representado en la siguiente ecuación (Ec. 6):



Este equilibrio depende del pH, pero considerando que el pH óptimo para la mayoría de las algas es entre 7.0 y 9.0, la forma dominante del carbono en el rango de pH será HCO₃⁻, el cual es transportado dentro de la célula para ser convertido en carbono orgánico a través del Ciclo de Calvin (Markou, Vandamme, & Muylaert, 2014).

El nitrógeno es el segundo compuesto más abundante en la biomasa microalgal, su contenido puede ser desde 1 hasta 14%. Las principales formas en que puede ser tomado el nitrógeno por la célula de las microalgas son NH_4^+ y NO_3^- . La utilización de amonio como fuente de nitrógeno suele ser problemática, ya que, al ser fijado por los microorganismos, el pH baja significativamente, mientras que, con la utilización del nitrato, conlleva un aumento de pH, pero no muy marcado (Martínez García, 2008). Un problema adicional del amonio es que, éste puede perderse por volatilización, sobre todo a pH elevado.

El fósforo es esencial para muchos procesos celulares, como lo es la transferencia de energía, formación de ácidos nucleicos. El contenido de este nutriente es menor al 1%, pero su deficiencia en el medio de cultivo, es una de las mayores limitaciones al crecimiento; se absorbe en forma de PO_4^{3-} (ortofosfato).

2.4.3. Consorcio microalga-bacteria

La implementación de un consorcio estable de microalgas y bacterias para la degradación de la materia orgánica y remoción de nutrientes está basada en la producción de O_2 (gracias a la fotosíntesis microalgal) y éste es después utilizado por las bacterias heterótrofas como aceptor final de electrones para degradar los contaminantes del agua (materia orgánica disuelta). En esta simbiosis, el CO_2 liberado por las bacterias heterótrofas es tomado por la microalga como fuente de carbono durante la etapa de fotosíntesis, (Alcántara, *et. al.* 2015; CONAGUA, 2007) como se observa en la figura 2.

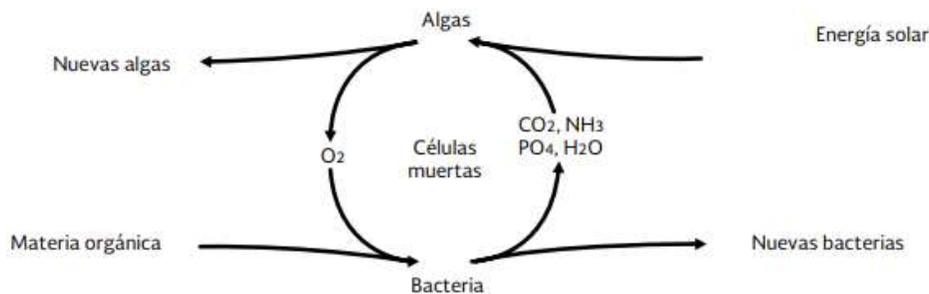


Figura 2. Representación esquemática de la relación simbiótica entre microalgas y bacterias (CONAGUA, 2007).

El sistema de tratamiento con microalgas y bacterias es económicamente prometedor, ya que requiere menos energía que una planta de tratamiento de AR convencional (Young, *et al.*, 2017), debido a que el método convencional requiere sistemas de aireación en los tanques para el suministro de oxígeno, mientras que en el tratamiento con el consorcio

algas y bacterias, las algas serían los proveedores de O₂ en el sistema y la energía se toma directamente del sol. En la figura 3 se muestran las interacciones entre microalga y bacteria.

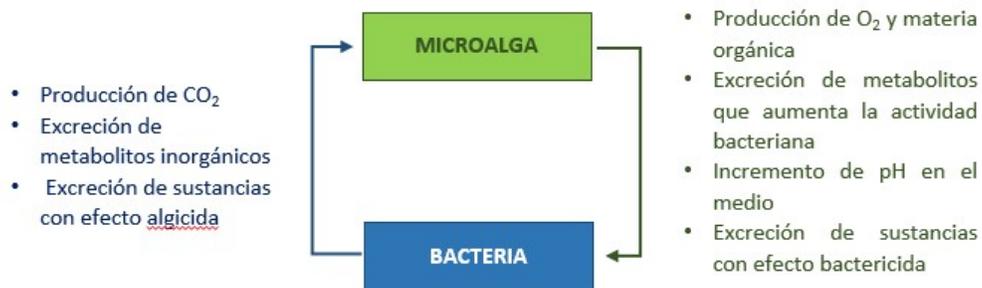


Figura 3. Interacciones entre microalgas y bacterias (imagen modificada de Gonçalves et al., 2017).

2.5. Remoción de metales pesados con Microalgas

Como se indicó anteriormente, existen diferentes métodos para la remoción de metales pesados en aguas residuales, la selección de la técnica depende del tipo y concentración del metal, homogeneidad del efluente, nivel requerido de remoción, así como costo del proceso de descontaminación.

De acuerdo a Bulgariu & Gavrilescu, 2015, la mayoría de los métodos convencionales tienen desventajas debido a i) altos costos de operación, ii) son ineficientes, especialmente en grandes volúmenes y en concentraciones bajas, iii) no son ambientalmente amigables, ya que se utilizan grandes cantidades de agentes químicos y iv) se generan residuos secundarios, los cuales requieren una disposición adecuada o tratamientos posteriores. Por lo anterior, se han desarrollado tecnologías alternas como la bioremediación.

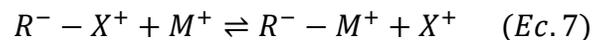
2.5.1. Proceso de biosorción en microalgas

La biosorción se clasifica en términos generales en biosorción activa ("bioacumulación") que implica células vivas y biosorción pasiva ("biosorción") cuando se utiliza biomasa muerta. La biosorción pasiva ocurre a través de la interacción de iones metálicos en una solución con los grupos funcionales en la pared celular de la biomasa, se produce rápidamente dentro de los 5 a 10 minutos del contacto inicial con las células, además, es independiente del metabolismo. Mientras que la biosorción activa o bioacumulación consiste en dos pasos consecutivos. El primer paso es una unión rápida independiente del metabolismo similar a la de la biomasa muerta. Esto es seguido por la segunda fase lenta dependiente del metabolismo donde los metales son transportados a través de la membrana celular (Salam, 2019).

El mecanismo de biosorción es complejo e implica una combinación de varios mecanismos independientes como quimisorción, complejación, intercambio iónico, precipitación, condensación de hidróxido de metales pesados y adsorción de superficie.

Intercambio iónico: se considera que es el mecanismo dominante, donde las interacciones pueden ser físicas (electrostáticas o van der Waals) o químicas (iónicas o covalentes).

En general, las microalgas contienen en su estructura iones metálicos móviles como K^+ , Na^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} , los cuales están unidos a los grupos funcionales (R-COOH, R-OH) que se encuentran en la membrana de la microalga. En el proceso de biosorción, dichos cationes son intercambiados por metales pesados con base en la siguiente reacción (Ec. 7):



Donde R- es el grupo funcional; X^+ es el ion móvil y M^+ es el ion del metal pesado presente en solución.

Las microalgas pueden retener metales pesados de la solución, liberando iones móviles a la solución. Este mecanismo es rápido (0-10 h) y reversible al inicio, es seguido por una unión covalente irreversible.

Complejación o quelación: implica la formación de un complejo en la superficie de la célula, el ion metálico queda atrapado entre la membrana celular, grupos funcionales y moléculas del medio acuoso. En este proceso, están involucradas interacciones electrostáticas, enlaces covalentes y de coordinación.

Comparado con el mecanismo de intercambio iónico, los compuestos de coordinación son más estables.

Microprecipitación: puede ocurrir cuando el pH de la solución aumenta durante la biosorción o cuando la concentración del metal pesado es alta y alcanza la saturación.

La segunda etapa es la bioacumulación de las especies metálicas al interior de la célula; este proceso implica una primera etapa que es la bioadsorción, sin embargo, luego le siguen otras etapas las cuales permiten el transporte de los contaminantes a través de un sistema de transporte activo que permite el consumo de energía al interior de la célula.

En la figura 4 se muestran los mecanismos de biosorción como son intercambio iónico, precipitación y bioacumulación a través del transporte activo del metal al interior de la célula.

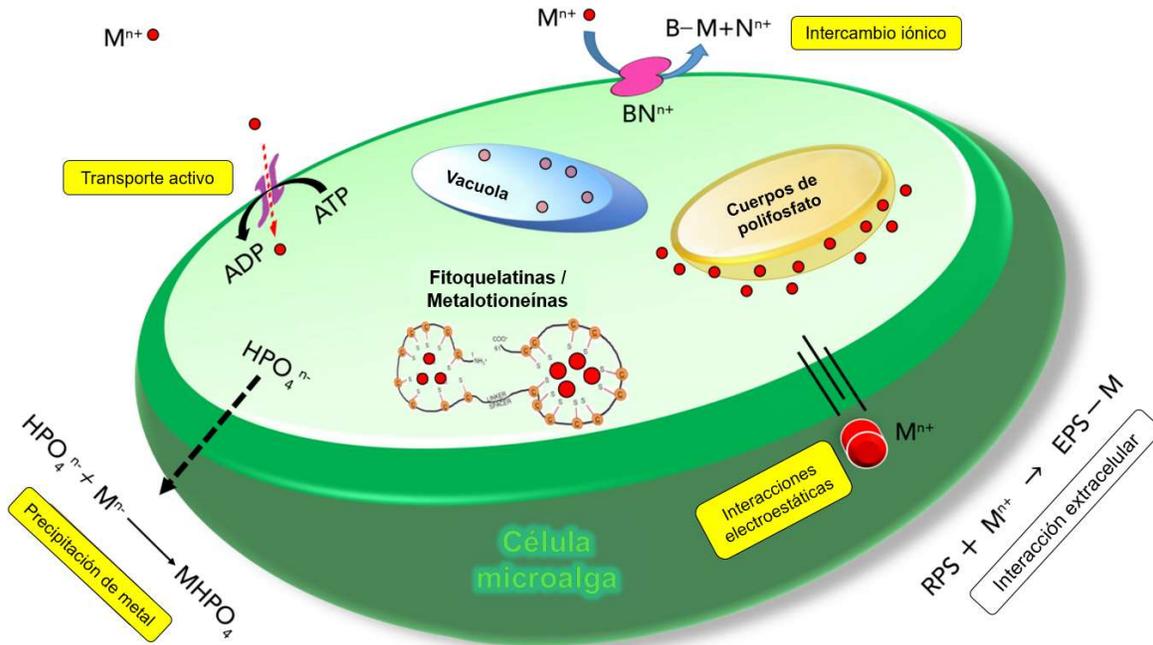


Figura 4. Representación de mecanismos de sorción de iones metálicos en microalgas (imagen modificada de Salam, 2019).

La exposición de microalgas vivas a iones metálicos por encima de sus necesidades celulares puede interferir con su metabolismo regular. Las células activas, incluidas las microalgas, resisten los efectos adversos de las altas concentraciones de metales a través de la unión extracelular o intracelular del metal (Monteiro, Castro, & Malcata, 2012). Esta desintoxicación intracelular se logra mediante la unión del metal a compuestos intracelulares específicos, tales como metalotioneínas de clase III o fitoquelatinas (Téllez, et al., 2018). Las células activas también se desintoxican al transportar iones metálicos a compartimentos celulares como las vacuolas o los cuerpos de polifosfato (Pawlik-Skowronska, 2003). Del mismo modo, las células activas devuelven metales a la solución utilizando transporte activo.

La capacidad de sorción de la microalga por un ion en específico, dependerá de la composición de la célula (en función del genotipo y fenotipo del alga), pH, permeabilidad de la membrana, competencia por sitios activos con otros metales pesados (Chojnacka, et al., 2005). Para microalgas eucariotas como *Chlorella sp.*, *Chlamydomonas sp.* o *Scenedesmus sp.* se ha reportado capacidades de bioacumulación de 30 hasta 200 mg metal / g microalga para Cd, Cu, Zn y Pb (Alcántara et al., 2015). Con base en Muñoz et al., 2006 y en las capacidades de biosorción reportadas, el uso de microalgas a escala es posible.

2.6. Toxicidad de metales pesados sobre microalgas

Para el presente trabajo, es importante tener como antecedentes tanto la interacción de los microorganismos con los metales pesados, como los estudios relacionados con la tolerancia y/o capacidad de remoción hacia éstos.

La captación y toxicidad de los metales pesados para los organismos acuáticos están influidos no sólo por su concentración; también son relevantes el tiempo de exposición y los factores bióticos y abióticos del ambiente. Para considerar las relaciones de los metales con las microalgas se debe de tener en cuenta las siguientes consideraciones:

- a. La especiación en el ambiente
- b. Las interacciones con la membrana plasmática en la interfase organismo-ambiente
- c. La participación del elemento en los compartimentos del organismo y los efectos biológicos resultantes de su interacción con los receptores en los sitios de acción.

2.6.1. Especiación de Cadmio y Plomo en el ambiente

El comportamiento de los metales en el ambiente (biodisponibilidad, toxicidad, distribución, etc.) dependerá de la complejidad del ambiente en el que se encuentra, es decir de los elementos traza presentes en el medio.

En aguas residuales la concentración de ligantes inorgánicos como HCO_3^- , CO_3^{2-} , Cl^- , SO_4^{2-} , F^- , $\text{HS}^-/\text{S}^{2-}$ puede ser conocida con precisión; por el contrario de los compuestos orgánicos como aminoácidos, ácidos orgánicos, material particulado, NTA (ácido nitrilotriacético) y EDTA (ácido etilendiamintetraacético, los cuales sólo se conocen como parámetros colectivos y que pueden encontrarse en una concentración de 10^{-7} – 10^{-8} M (Castañé, *et al.*, 2003).

La dificultad analítica para determinar las concentraciones de una sola especie o de un grupo de especies ha tenido por consecuencia que en general se cuantifique la concentración total de elementos trazas en el ambiente. Sin embargo, el análisis de las distintas especies químicas es una herramienta importante para predecir su comportamiento en el ecosistema y desarrollar medidas de remediación en caso de contaminación.

De acuerdo al estudio de Campos, 2019 la precipitación de Cadmio está fuertemente ligada al incremento del pH (> 10) y a la reducción del potencial redox, es decir en condiciones anóxicas o anaerobias. Téllez *et al.*, 2018 indica que las formas solubles se pueden encontrar en asociación con cloruros, sulfhidrilo, hidroxilo y grupos tiol y éstas gobiernan en gran medida la actividad biológica del Cadmio.

Por otro lado, [Slaveykova & Wilkinson, 2003](#) indica que en el rango de pH de 5.0 a 6.0 la concentración de Plomo ($[Pb^{2+}]$) será prácticamente igual a la concentración total ($[Pb]_{tot}$). A pH 6.0, $[Pb^{2+}]$ representará aproximadamente el 97% de $[Pb]_{tot}$ mientras que en $pH > 6.0$, $[Pb^{2+}]$ decrecerá debido a la complejación con hidróxido y carbonato. A pH 8.0 $[Pb^{2+}]$ representa cerca del 1.5% de $[Pb]_{tot}$ en solución. A pH 4.0, únicamente el 47% del metal está presente como Pb^{2+} debido a la formación de complejos con el ion acetato. Sin embargo, arriba de pH 6 también comienza a precipitar minerales sólidos del Pb (II) en forma de carbonato o hidroxicarbonato, cerusita o hidrocerusita.

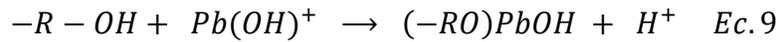
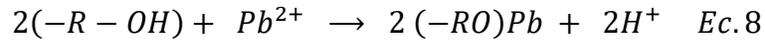
De forma general, los factores que aumentan la captación y/o toxicidad son el aumento en la temperatura y la acidificación del medio; entre los factores que la reducen está la presencia de cationes monovalentes (K, Na) y divalentes (Ca, Mg, Mn, Fe), aniones (acetato, fosfato, sulfato), productos extracelulares (ácidos orgánicos, polisacáridos, polipéptidos), sólidos suspendidos y en algunos casos, la presencia de otros metales ([Devars Ramos, 2008](#)).

2.6.2. Interacción entre Cadmio, Plomo y microalgas

Al aproximarse a la superficie de un organismo vivo, un metal, generalmente, encuentra primero una capa protectora de péptidos, exopolisacáridos o glicoproteínas. Las macromoléculas que forman esta capa externa contienen una variedad de grupos funcionales reactivos como amino, carboxil, hidroxil, imidazol, fosfato, sulfato, tiol, entre otros ([Bulgariu & Gavrilesco, 2015](#)), conformando una matriz de sitios cargados negativamente a través del cual el ion metálico puede formar interacciones.

[Shen et al., 2017](#) reporta que los grupos funcionales que contribuyen con la sorción de Cadmio (II) en un material sorbente elaborado a partir de biomasa de *Chlorella sp.* son $-OH$, $-NH$, $P=O$ (fosforil), $P=S$ (fosforotioato), $C=O$ del grupo amida y $C-O$ de alcoholes, mientras que [Dirbaz & Roosta, 2018](#) encontraron los grupos funcionales que contribuyen a la sorción del mismo metal en la microalga *Parachlorella sp.* son $-OH$, $-NH$, $C=O$ de amidas y $C-O$ de alcoholes.

Por otro lado, [Leong & Chang, 2020](#) indica que los grupos funcionales involucrados en la sorción de Pb^{2+} son aminoacil, amida, amino, carbonil, carboxil, hidroxil, fenol y fosfato. [Molazadeh et al., 2015](#) plantea que la sorción de dicho metal en *Chlorella sp.* puede ser descrita por mecanismos de intercambio iónico basada en la formación de complejos en la superficie de la microalga facilitada por la disociación de grupos funciones como se muestra en las ecuaciones 8 y 9.



Cuando el ion metálico se transporta al interior de la célula, el metal encuentra la membrana plasmática, con un gran número de receptores o sitios de unión que pueden ser de dos tipos: sitios fisiológicamente inertes, en los cuales el metal puede ser secuestrado sin perturbar el funcionamiento celular normal, o sitios fisiológicamente activos. En el último caso, la unión del metal puede afectar al metabolismo directamente (e.g. si el sitio de unión corresponde a una enzima de membrana) o indirectamente (si el metal unido es transportado a través de la membrana al interior de la célula) y una vez dentro de la célula, puede interactuar con una amplia variedad de sitios, con las consiguientes alteraciones del metabolismo.

Considerando este modelo general, la interacción de un metal con un microorganismo puede plantearse como un proceso que involucra los siguientes pasos:

- i. Difusión desde el seno de la solución a la superficie biológica,
- ii. Difusión a través de las barreras externas,
- iii. Sorción/complejación en la superficie del metal a sitios de unión pasivos en la capa protectora, o a sitios en la superficie externa de la membrana plasmática;
- iv. Internalización del metal mediante mecanismos de transporte a través de la membrana plasmática. (Castañé *et al.*, 2003).

En la figura 5 se representan los pasos involucrados en la interacción del ion metálico, en este caso plomo (II), con la microalga.

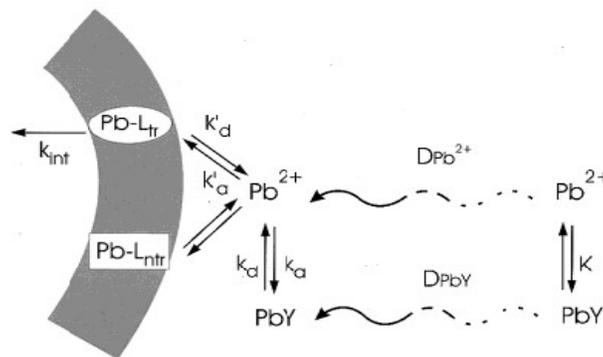


Figura 5. Representación esquemática de la interacción del Plomo con proceso de captación de Plomo con la superficie de un microorganismo (Slaveykova, Vera I.; Wilkinson, 2002).

2.6.3. Reparto del metal en el organismo y los efectos biológicos resultantes

Se ha reportado que las microalgas expuestas a concentraciones de iones metálicos por encima de sus requerimientos, exhiben una diversidad de estrategias para mitigar los efectos adversos del metal (Salam, 2019; Téllez *et al.*, 2018). La detoxificación intracelular se lleva a cabo mediante los siguientes mecanismos:

- i. Quelación intracelular a través de polipéptidos como las Metaloteínas de clase III (Mt [III]) o Fitoquelatinas. En el estudio realizado por Pérez-Rama, *et al.*, 2001 se reportó que la especie *Tetraselmis suecica* fue capaz de sintetizar Mt(III) ante la exposición de Cadmio después de 96 h, por otro lado Mera *et al.*, 2016 reporta el aumento en el contenido total de Fitoquelatinas (PC's por sus siglas en inglés Phytochelatins) por la microalga *Chlamydomonas moewusii* al aumentar la concentración de Cadmio en el medio.
- ii. Transportando los iones metálicos a compartimientos celulares como Vacuolas o gránulos de polifosfato. Pawlik-Skowronska, 2003 encontró que la especie *Stigeoclonium tenue* fue capaz de detoxificarse acumulando los iones de Zn en el compartimiento vacuolar. Shanab *et al.*, 2012 observó la presencia de cuerpos oscuros (precipitado) en la vacuola de *Pseudochlorococcum typicum* al exponerla a Pb^{2+} , por otro lado Hanikenne *et al.*, 2009 describe que los complejos PC's-Cd(II) se encuentran principalmente en el cloroplasto de la microalga *C. reinhardtii*.
- i. Regresa el ion metálico a la solución por medio de transporte activo Salam, 2019.

La exposición de las microalgas a agentes contaminantes como los metales pesados puede inducir alteraciones en la morfología celular, tanto en lo que se refiere al volumen y forma de las células como a alteraciones producidas a nivel subcelular (cambios en la morfología de cloroplastos o mitocondrias, aparición de inclusiones citoplasmáticas, alteración de las membranas, etc.). Estos cambios estructurales y ultraestructurales se pueden estudiar por medio de la microscopía óptica y electrónica, o bien utilizando la FCM.

2.6.4. Ensayos de toxicidad de Cd y Pb con microalgas

El crecimiento es el parámetro más estudiado en los ensayos de toxicidad con microalgas, de modo que el 95% o más de los trabajos publicados lo incluyen. Es un parámetro general que refleja el estado fisiológico de las células (Llera, 2017).

El crecimiento microalgal se puede monitorizar directamente mediante el recuento de células en cámaras especiales al microscopio, en contadores electrónicos de partículas o

mediante citometría de flujo. También se pueden hacer estimaciones indirectas del crecimiento ya que se puede correlacionar con la turbidez del cultivo, el peso seco o la concentración de clorofila.

Existen diversos índices, normalmente basados en los resultados obtenidos de densidad celular, que nos permiten cuantificar el efecto del metal sobre el crecimiento microalgal, siendo los más utilizados la tasa de crecimiento (μ) y la Dosis letal media (EC_{50} *Median Effective Concentration; Effective Concentration 50%*), que es la concentración del contaminante o compuesto tóxico que reduce el crecimiento de la población en un 50% (Devars Ramos, 2008). El cálculo de la dosis letal media, de acuerdo con la guía OECD, 2011 se realiza con base en la tasa de crecimiento del cultivo μ , con la siguiente ecuación (Ec 10):

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i} \text{ (día}^{-1}\text{)} \quad (\text{Ec. 10})$$

Donde μ_{i-j} es la tasa de crecimiento específico del tiempo i a j; X_i es la concentración de biomasa al tiempo i; X_j es la concentración de biomasa al tiempo j.

Con el valor de μ , se calcula el porcentaje de inhibición (% I) con la ecuación 11:

$$\% I = \frac{\mu_c - \mu_T}{\mu_c} \times 100 \quad (\text{Ec. 11})$$

Donde μ_c es la tasa de crecimiento en el cultivo control y μ_T es la tasa de crecimiento del cultivo con tratamiento. Para determinar la EC_{50} , se grafica el logaritmo de la concentración inicial del ion metálico vs. el % de inhibición; una vez que se obtiene la curva, se traza una línea horizontal desde el 50% de inhibición (en el eje de las ordenadas) hasta la curva trazada y en el punto de intersección, se traza una línea vertical que corta al eje de las abscisas en un punto que corresponde al logaritmo de la concentración inicial del ion metálico que inhibe en un 50% su crecimiento.

En la tabla 6 se encuentran algunos de los estudios realizados sobre la toxicidad de Cadmio y Plomo en diferentes especies de microalgas verdes. Los rangos de la Dosis letal media varían de 0.01 a 11.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cadmio siendo *Chlorococcum sp.* la especie más resistente.

En el caso del Plomo, la EC_{50} varía de 0.132 $\times 10^{-3}$ hasta 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, ambos para diferentes especies del género *Scenedesmus sp.*

Tabla 6. Estudios de Toxicidad de Cd (II) y Pb (II) con microalgas.

Especie Microalga	Metal	EC50 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Referencia
<i>Scenedesmus sp.</i>	Pb	4.76	Pham et al., 2020

<i>Chlorella sp.</i>	Pb	0.645 x10 ⁻³	Dao & Beardall, 2016
<i>Scenedesmus acutus</i>		0.132 x10 ⁻³	
<i>Pseu-dokirchneriella,</i>		0.839	Schampelaere,
<i>Chlorella kesslerii,</i>	Pb	0.388	Nys & Janssen,
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>		0.172	2014
<i>Scenedesmus obliquus</i> y		0.058	Monteiro,
<i>Desmodesmus pleiomorphus</i>	Cd	1.92	Fonseca, Castro, & Malcata, 2011
<i>Tetraselmis chui</i>	Cd	4.25	Liu <i>et al.</i> , 2011
	Pb	0.690	
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Pb	0.6789	Li Y, Zhu L, Liu S, 2008
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Cd	1.0 (reducción de ≈ 40%)	Mohammed & Markert, 2006
	Pb	20 (reducción de ≈ 57%)	
<i>Chlorococcum sp.</i>	Cd	11.2	Satoh, <i>et al.</i> , 2005
	Pb	21.4	
<i>Scenedesmus acutiformis f.</i>	Cd	0.0125	Stokes, 1981
<i>Alternans</i>	Pb	0.08	
<i>Scenedesmus cuadricauda</i>	Pb	2.7	Starodub & Wong, 1987

2.7. Isotermas de sorción

Con el fin de poder cuantificar el proceso de sorción, se recurre al cálculo de los parámetros de capacidad de sorción máxima y afinidad de la biomasa por un determinado metal, mediante el ajuste de los datos experimentales a los modelos de isoterma de sorción.

De acuerdo a [Rangabhashiyam & Balasubramanian, 2019](#) la isoterma de sorción describe la relación entre la concentración del sorbato en solución al equilibrio (C_e) y la cantidad de sorbato que fue sorbida por unidad de masa de sorbente (q_e) a temperatura constante. Existen diferentes modelos de sorción, pero de acuerdo a [J. Wang & Chen, 2009](#), los modelos más usados en la literatura y ampliamente aceptados son los modelos de Langmuir y Freundlich. Estos modelos proporcionan información sobre la capacidad de sorción y la diferencia en la sorción entre diferentes sorbatos. Existen otros modelos que se han utilizado en investigación de remoción de metales pesados de dos y tres parámetros, como

son: Dubinin–Radushkevich, Temkin, Jovanovic, Flory–Huggins, Redlich–Peterson, Sips and Koble–Corrigan.

2.7.1. Isoterma de Langmuir

Es el modelo más simple y el más antiguo, formulado por Langmuir en 1916. Supone que las moléculas se adsorben sobre la superficie hasta formar una monocapa completa (saturación) y homogénea, en cuyo momento cesa la adsorción.

La ecuación empírica del modelo describe la relación entre la concentración del sorbato en solución y en el sorbente al equilibrio. El modelo está basado en los siguientes supuestos:

- i. Antes del contacto con el sorbato, todos los centros activos de la superficie se encuentran libres.
- ii. Todos los sitios activos tienen idéntica capacidad de sorción, no existiendo variación por la presencia de otros sorbatos en centros vecinos.
- iii. Cada sorbato se une exclusivamente a un único sitio activo.
- iv. La sorción se limita a una sola capa.

El modelo de Langmuir se representa de la siguiente forma (Ec. 12):

$$q_e = \frac{q_{max} K_L C_e}{1 + b C_e} \quad (Ec. 12)$$

Donde

q_e : cantidad de metal sorbido por unidad de gramo de sorbente al equilibrio (mg o mmol sorbato·g biomasa⁻¹).

$q_{m\acute{a}x}$: capacidad de sorción máxima (mg o mmol sorbato·g biomasa⁻¹)

C_e : concentración del sorbato en solución al equilibrio (mg o mmol sorbato·L⁻¹)

K_L : Constante de Langmuir (L·mg o mmol sorbato⁻¹)

La ecuación de Langmuir puede ser linealizada de la siguiente forma con el fin de facilitar su representación gráfica (Ec.13):

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{max}} + \frac{1}{q_{max} K_L C_e} \quad (Ec. 13)$$

Los valores de q_{\max} y K_L se obtienen de la ordenada al origen y pendiente de la ecuación que se obtiene al graficar $1/q_e$ vs. $1/C_e$, donde q_e se determina con base en la siguiente ecuación (Ec.14)

$$q_e = \frac{V(C_i - C_f)}{S} \quad (\text{Ec. 14})$$

C_i y C_f : es la concentración inicial y final del sorbato (mg o $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

V : volumen (L)

S : cantidad de sorbente base seca (g)

La característica esencial de la isoterma de Langmuir puede expresarse en términos del parámetro de equilibrio R_L , que es una constante adimensional denominada factor de separación o parámetro de equilibrio, representada por (Ec. 15):

$$R_L = \frac{1}{(1 + K_L C_i)} \quad (\text{Ec. 15})$$

Donde C_i es la concentración inicial del ion metálico (mg o mmol/L) y R_L representa la naturaleza del proceso de sorción. Si el valor de R_L se encuentra entre 0 y 1, indica que la sorción es favorable. El valor de $R_L > 1$ representa una sorción desfavorable, si $R_L = 1$ represente una sorción lineal, e irreversible si $R = 0$ (Rangabhashiyam & Balasubramanian, 2019).

2.7.2. Isoterma de Freundlich

Es un modelo matemático empírico, el cual supone que no existe saturación del adsorbente, por lo que no hay un valor límite para C_e . También considera que cada centro activo puede tener diferente capacidad de sorción, así como que el proceso puede tener varias capas. La expresión de este método es la siguiente (Ec. 16):

$$q = K_F \cdot C_e^{1/n} \quad (\text{Ec. 16})$$

Donde K_F es la constante de Freundlich ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), relacionada con la capacidad de sorción, mientras que $1/n$ está en función de la fuerza de sorción. Si $n=1$ el reparto entre ambas fases (acuosa y sorbente) es independiente de la concentración inicial. Si el valor de $1/n$ es menor a uno, indica una sorción normal. Por otro lado, si $1/n$ es mayor a 1, indica sorción cooperativa (Gautam *et al.*, 2014).

La ecuación 14 transformada en la ecuación de una línea recta se expresa de la siguiente forma (Ec. 17):

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (\text{Ec. 17})$$

La pendiente de la recta obtenida al representar $\log q_e$ frente a $\log C_e$ equivaldría a $1/n$ y la ordenada al origen a $\log K_F$. Si el valor de la pendiente se encuentra entre 0 y 1, representa la heterogeneidad de la superficie, volviéndose más heterogénea a medida que el valor de la intensidad biosorbente se acerca a cero (Rangabhashiyam & Balasubramanian, 2019).

2.7.3. Isoterma de Temkin

La isoterma de Temkin considera interacciones sorbato-sorbente. El modelo asume que el calor de sorción de todas las moléculas en la capa disminuye linealmente con la cobertura, debido a las interacciones biosorbente-sorbato y que la sorción se caracteriza por una distribución uniforme de las energías de unión, hasta en cierta energía de enlace máxima. El modelo se representa de la siguiente forma (Dada *et al.*, 2012) (Ec. 18):

$$q_e = B_T \ln(A_T C_e) \quad (\text{Ec. 18})$$

Donde B_T es la constante de calor de sorción ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$), $B_T = (RT)/b_T$, b_T constante de Temkin, A_T representa la constante de unión de equilibrio ($\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$) relacionada con la energía de enlace máxima, T representa la temperatura absoluta (K) y R es la constante universal de los gases ($8.314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\text{K}^{-1}$).

La forma lineal de la ecuación 18 se expresa de la siguiente forma (Ec. 19):

$$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln(A_T) + \frac{RT}{b_T} \ln(C_e) \quad (\text{Ec. 19})$$

Al representar gráficamente q_e vs. $\ln(C_e)$, se puede obtener el valor de b_T de la pendiente y de A_T de la ordenada al origen.

2.8. Cinética de sorción

Los estudios de cinética de sorción son importantes para concluir la eficacia de la remoción de los iones metálicos utilizando un biosorbente y para el entendimiento del proceso en términos de la constante de rapidez (Gautam *et al.*, 2014; Rangsayatorn *et al.*, 2002). Los modelos cinéticos son utilizados para obtener información sobre el mecanismo del proceso de sorción como transferencia de masa, reacciones químicas y difusión.

2.8.1. Modelo de pseudo-primer orden

La ecuación del modelo de pseudo-primer orden de Lagergen (1898) es el primer modelo cinético aplicado para la sorción de un sistema sólido-líquido basado en la capacidad de sorción. La ecuación lineal de este proceso se expresa como (Ec. 20):

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1}{2.303} \cdot t \quad (\text{Ec. 20})$$

Donde q_e y q_t representan la cantidad de metal sorbido al equilibrio y al tiempo t ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), k_1 es la constante de velocidad del modelo cinético de pseudo-primer orden (h^{-1}) y t es el tiempo en el que se toma la muestra (h^{-1}).

Para ajustar la ecuación anterior a los datos experimentales, se debe conocer la capacidad de sorción de equilibrio, q_e . En muchos casos se desconoce y como la quimisorción tiende a volverse lenta, la cantidad absorbida es aun significativamente menor que la cantidad de equilibrio. Por lo cual, en la mayoría de los casos reportados en la literatura, la ecuación de pseudo-primer orden de Lagergren no se ajusta bien a todo el rango de tiempo de contacto y generalmente es aplicable durante los primeros 20 a 30 minutos del proceso de sorción (Gautam *et al.*, 2014; Ho & Mckay, 1998).

Las principales desventajas de este modelo son (i) que la ecuación lineal no proporciona valores de q_e teóricos que concuerden con los valores de q_e experimentales, y (ii) las gráficas son solo lineales durante los primeros 30 min, aproximadamente. Más allá de este período inicial de 30 minutos, los datos experimentales y teóricos no se correlacionan bien.

2.8.2. Modelo de pseudo-segundo orden

Desde la introducción del modelo de pseudo-segundo orden (PSO) para la descripción de la cinética de sorción, ha sido el modelo más ampliamente utilizado para la sorción de iones metálicos y contaminantes orgánicos de las aguas residuales. El modelo predice el comportamiento de la biosorción durante todo el tiempo del proceso e incluye el factor limitante de la quimisorción que involucra la fuerza de enlace al compartir los electrones entre los grupos funcionales y los iones metálicos (Rangabhashiyam & Balasubramanian, 2019).

La ecuación para la cinética de pseudo-segundo orden se expresa de manera lineal como (Ec. 21):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (\text{Ec. 21})$$

Donde k_2 es la constante de velocidad del modelo cinético de pseudo-segundo orden ($\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\text{h}^{-1}$).

Al representar gráficamente (t/q_t) vs t , se obtiene el valor de q_e de la pendiente, mientras que, de la ordenada al origen, se obtiene el valor de k_2 .

2.8.3. Modelo cinético de Elovich

El modelo de Elovich es de aplicación general a la cinética de quimisorción. El modelo considera que la superficie del biosorbente es energéticamente heterogénea y ni la desorción ni las interacciones entre las especies sorbidas podrían afectar en gran medida a la cinética en una cobertura de superficie baja. El modelo generalmente se expresa como (Ec. 22):

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln(t) \quad (\text{Ec. 22})$$

Donde α es la constante de sorción inicial ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$), β es la constante de desorción relacionada con el grado de cobertura de la superficie y con la energía de activación para la quimisorción ($\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$).

3. ANTECEDENTES

El desarrollo de la biotecnología de las microalgas ha generado interés debido al bajo costo de obtención de la biomasa microalgal y a que pueden ser utilizadas simultáneamente para múltiples biotecnologías, como captura de carbono, tratamiento de agua residual y remoción de metales pesados (Kumar *et al.*, 2015).

De acuerdo a Lin *et al.*, 2020 dentro de los biosorbentes que se han estudiado para la remoción de metales pesados, las macro y microalgas han recibido especial atención debido a las altas eficiencias reportadas y al amplio rango de aplicaciones; por ejemplo, bajo condiciones experimentales, Monteiro *et al.*, 2009 reportó remoción de Cd (II) de 77% utilizando biomasa activa de *Scenedesmus obliquus*, mientras que Aksu, 2001 obtuvo una remoción de 68% con 750 mg de biomasa de *Chlorella vulgaris* con una concentración inicial de Cd(II) de 200 mg/L. Por otro lado, Deng *et al.*, 2007 obtuvo una eficiencia de remoción de 52.7% a partir de una concentración inicial de Pb²⁺ de 838.3 mg/L utilizando 500 mg de biomasa inactiva de *Cladophora fascicularis*.

Aunque la biosorción de metales puede ser llevada a cabo por células vivas y biomasa inactiva, Salam, 2019 indica que se han reportado mejores eficiencias de sorción utilizando células activas, esto se debe a que la biomasa muerta únicamente involucra la sorción extracelular, mientras que la biomasa activa, puede acumular iones metálicos y causar efectos tóxicos, afectando su función metabólica y por lo tanto, una disminución en la eficiencia de sorción. Por lo tanto, las células vivas únicamente deben usarse para tratar concentraciones inferiores a 10 mgL⁻¹ del ión metálico o bien, no exceder la dosis letal media (Lin *et al.*, 2020).

En la tabla 7 se presentan los resultados de investigaciones sobre la capacidad de sorción y condiciones de estudio por algas y cianobacterias de los metales que se estudiarán en el presente trabajo.

Tabla 7. Estudios de la remoción de Cd (II) y Pb (II) con microalgas

Metal	Especie de Microalga	Tipo de biomasa	Medio	Sorción máxima (mg g ⁻¹)	pH óptimo	Concentración inicial de metal (mg L ⁻¹)	Concentración de Biomasa (g L ⁻¹)	Modelo de isoterma	Referencia
Cd (II)	<i>Spirulina platensis</i>	Inactiva	-	59.2	8	100	1.5	-	Abdulkareem & Anwer, 2020
	<i>Chlorella minutissima</i>	Activa	AR sintética	35.36 ± 1.54	7	67	7.09 ± 0.14	Langmuir	Yang, Cao, Xing, & Yuan, 2015
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Inactiva	-	135.1	5	10	0.2	Langmuir	Mirghaffari, et al., 2014
	<i>Chlorella vulgaris</i>	Inactiva	-	149.9	7	300	1	Langmuir	Edris, et al., 2014
	<i>Desmodesmus Pleiomorphus</i>	Activa	OHM Sin EDTA	61.2	4	5	0.02	-	Monteiro, et al., 2010
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Activa	OHM Sin EDTA	11.9	7	1	-	-	Monteiro, et al., 2009
	<i>Ulva Lactuca</i>	Inactiva	-	29.2	5	10	20	Langmuir	Sari & Tuzen, 2008

	<i>Spirulina platensis</i>	Inactiva	-	21.9	6	500	0.005	Freundlich	Şeker <i>et al.</i> , 2008
	<i>Chlorella vulgaris</i>	Inactiva	-	86.6	4	150	1	Langmuir & Freundlich	Aksu & Dönmez, 2006
Pb (II)	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Activa	BG-11	19.827	6	-	2.0	Langmuir	Ma <i>et al.</i> , 2021
	<i>Spirulina platensis</i>	Inactiva	-	62.4	8	100	1.5	-	Bdulkareem & Nwer, 2020
	<i>Chlorella sp.</i>	Inactiva	-	635.8	6	200	0.2	Langmuir	Li <i>et al.</i> , 2019
	<i>Chlorella vulgaris</i>	Inactiva	-	178.5	7	300	1	Langmuir	Edris, <i>et al.</i> , 2014
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Inactiva	-	333.3	5	10	0.2	Langmuir	Mirghaffari, <i>et al.</i> , 2014
	<i>Oscillatoria laete-virens</i>	Activa	BG-11 Sin EDTA	21.60 ± 1.05	5	60	-	Langmuir	Miranda <i>et al.</i> , 2012
	<i>Ulva Lactuca</i>	Inactiva	-	34.7	5	10	20	Langmuir	Sari & Tuzen, 2008
	<i>Spirulina platensis</i>	Inactiva	-	39.85	6	500	0.005	Freundlich	Şeker <i>et al.</i> , 2008

<i>Cladophora fascicularis</i>	Inactiva	-	198.5	5	901.6	2	Langmuir & Freundlich	Deng, <i>et al.</i> , 2007
--------------------------------	----------	---	-------	---	-------	---	-----------------------	----------------------------

4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1. HIPÓTESIS

El mecanismo principal de la sorción de metales pesados (Cd y Pb) en agua residual por el consorcio de microalgas con predominancia en los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp* es por absorción, lo que permitirá la recuperación de los metales. Así mismo el tratamiento del agua residual con el consorcio de microalgas, permitirá cumplir con la concentración máxima de cadmio y plomo permitida con base en la normatividad nacional vigente para la descarga o uso en riego agrícola del agua tratada.

4.2. OBJETIVOS

4.2.1. Objetivo general

Evaluar el desempeño del consorcio de microalgas con predominancia en los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp*. para el tratamiento y remoción de metales en agua residual.

4.2.2. Objetivos particulares

- i. Determinar el equilibrio del proceso de biosorción trazando las isothermas de sorción y aplicando los modelos matemáticos de Langmuir, Freundlich y Temkin y con base en éstos, obtener la capacidad de sorción máxima.
- ii. Calcular la Dosis Letal Media (EC_{50}) de Cd (II) y Pb (II) para el consorcio de microalgas.
- iii. Evaluar la cinética de biosorción de Cd (II) y Pb (II) por la biomasa microalgal.
- iv. Identificar el mecanismo predominante de biosorción de metales: absorción o adsorción.
- v. Cuantificar el porcentaje de remoción de nutrientes bajo las condiciones de estudio: presencia de metales pesados, pH, luz y tiempo de contacto.

5. METODOLOGÍA

5.1. Descripción general

Para examinar las interacciones de los metales pesados en estudio con los microorganismos del consorcio de microalgas y su potencial para remover dichos contaminantes del agua residual, se diseñó la siguiente propuesta experimental, que incluye la determinación de la capacidad de sorción máxima a través de la generación de isothermas de sorción, la evaluación de la cinética de biosorción, así como la caracterización y cuantificación de la sorción, desorción y digestión de los iones metálicos. Como se muestra en el siguiente diagrama.

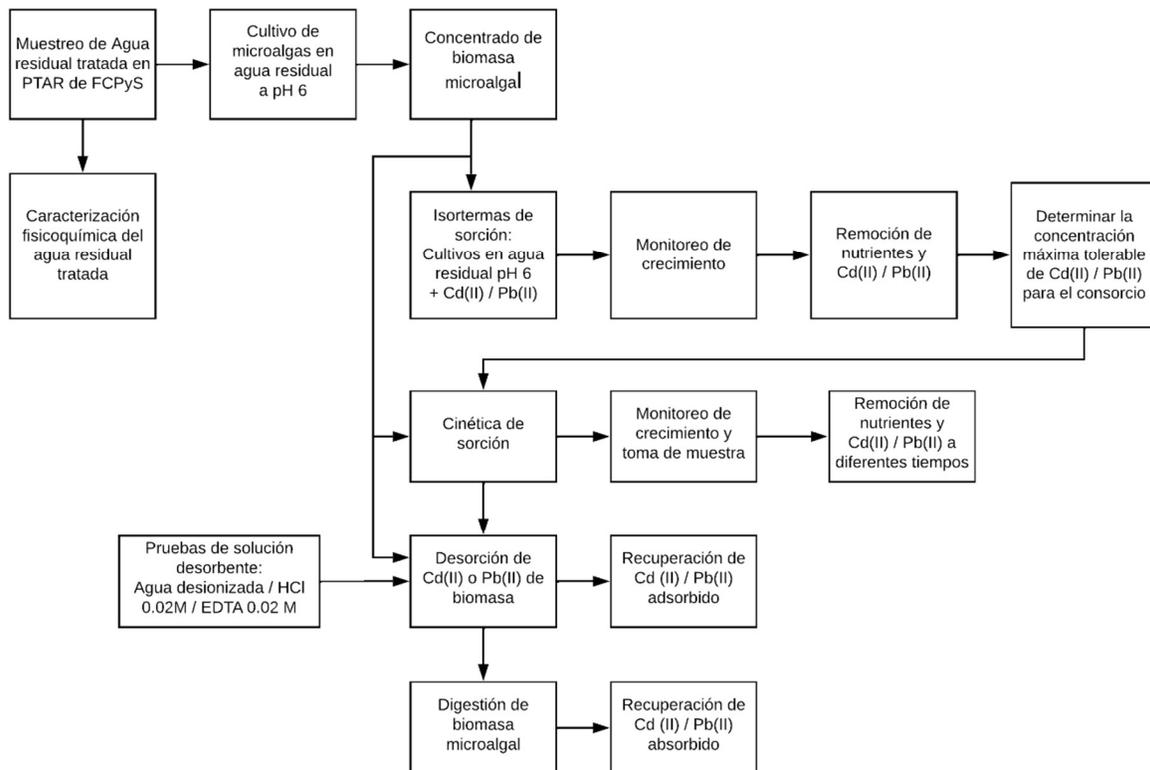


Figura 6. Diagrama de flujo de la metodología experimental.

5.2. Agua tratada sintética

Como medio de cultivo se utilizó agua tratada sintética, compuesta por agua residual tratada, a la cual se le añadió soluciones de los iones metálicos Cd (II) o Pb (II), para conseguir las concentraciones deseadas. El agua residual tratada se colectó del efluente secundario de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) de la Facultad de Ciencias Políticas y Sociales (FCPyS) en Ciudad Universitaria, la cual cuenta con un sistema de tratamiento con cárcamo de recepción, tanque de igualación, reactor biológico de lodos activados, un sedimentador secundario de placas paralelas y un filtro de arena a presión. El

efluente de la planta aún cuenta con alto contenido de nitrógeno y fósforo disueltos (N-NH_4^+ : $73.7 \pm 4.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NO_3^- : $45 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, ortofosfatos: $85.8 \pm 7.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), lo que la convierte en el medio ideal para el consorcio microalgal.

La toma de la muestra de agua residual se realizó en enero de 2020 utilizando bidones de 20 L. Con la finalidad de remover sólidos suspendidos, el agua residual se filtró por gravedad en conos Imhoff con relleno de delcrón siliconizado y posteriormente se filtró al vacío con papel filtro Whatman número 40 con diámetro de poro es de $8 \mu\text{m}$. La muestra de agua se almacenó en cuarto frío a temperatura de 4°C hasta su posterior uso.

5.3. Caracterización de agua residual

La caracterización fisicoquímica del agua residual, así como el monitoreo del cultivo comprenden los siguientes parámetros: concentración de Cadmio (II) y Plomo (II), nitrógeno amoniacal, ortofosfatos, nitratos, sólidos suspendidos totales, demanda química de oxígeno y pH. En la tabla 8 se indica la determinación y el método por el cual se llevó a cabo, así mismo en el anexo I se describe el procedimiento a detalle para la determinación de DQO, Cd (II), Pb(II) y sólidos suspendidos totales.

Tabla 8. Metodología empleada para la caracterización fisicoquímica del agua residual tratada y cultivos de microalgas.

Parámetro	Método analítico	Técnica de la determinación
Demanda química de oxígeno, DQO	Método 5220 D	Colorimétrico. Reflujo cerrado (digestión por 2 h y posterior lectura en espectrofotómetro a 600 nm)
Metales pesados: Cd (II) y Pb (II)	Métodos fotométricos Spectroquant® (109717 y 101745)	Colorimétrico. Medición en espectrofotómetro a 525 nm
Nitratos	Método 8039 HACH	Colorimétrico. Medición en espectrofotómetro a 500 nm
Nitrógeno amoniacal	Método titulométrico 4500 NH_3E en la unidad de destilación BÜCHI	Destilación con NaOH y posterior titulación con H_2SO_4 0.02 N
Ortofosfatos	Método 8178 HACH	Colorimétrico. Medición en espectrofotómetro a 530 nm
pH	Método electrométrico 4500 HB	Medición directa con potenciómetro

Sólidos suspendidos totales

Método 2540 D

Gravimetría. Sólidos secados a temperatura de 103-105°C

5.4. Consorcio de microalgas

El consorcio microalgal que se utilizó en este proyecto proviene del lago Nabor Carrillo ubicado en Texcoco, Estado de México, el cual está compuesto por diferentes especies de microalgas con predominancia de los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp.* (Hernández-García, 2017; Hernández-garcía *et al.*, 2019), previamente adaptado en agua residual por el grupo de trabajo de la Dra. María Teresa Orta Ledesma.

Con el propósito de obtener biomasa microalgal reciente para utilizarla como inóculo en el desarrollo experimental, se llevaron a cabo cultivos a partir de dicho consorcio de microalgas, utilizando como medio agua residual tratada a pH 6. Los cultivos se inocularon con 350 mg de biomasa por litro de medio en matraces Erlenmeyer de 3 L con agitación constante a 150 rpm con agitador magnético, temperatura ambiente e iluminación de $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ en fotoperiodos luz:oscuridad de 12:12 h, con base en las condiciones recomendadas en “OECD Guidelines for the testing of chemicals. Freshwater Algae and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test”. Una vez que el cultivo se encontraba en la fase exponencial de crecimiento, se dejaba sedimentar por dos días y se retiraba el agua por decantación para poder utilizar el concentrado de biomasa como inóculo.



Figura 7. Cultivos de consorcio microalgal en agua residual.

Los cultivos y experimentos se llevaron a cabo a pH 6 para evitar la precipitación de los metales en estudio, dicho valor de pH se ha reportado por De Schamphelaere *et al.*, 2014; Flouty & Estephane, 2012, Slaveykova & Wilkinson, 2002, como el pH óptimo para la

remoción de dichos contaminantes por microalgas. Para mantener el pH estable se utilizó el amortiguador MES [ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico] 10 mM.

5.5. Isotermas de sorción

Para llevar a cabo los experimentos de sorción se preparó el medio con agua residual y diferentes volúmenes de soluciones patrón de Cd (II) o Pb (II) para obtener diferentes concentraciones de dichos metales, descritos en las tablas 9 y 10. El medio preparado se inoculó con el concentrado de biomasa microalgal para obtener una concentración de 400 mg biomasa·L⁻¹. El volumen total de cada cultivo fue de 120 mL.

Para la elaboración de las soluciones patrón se diluyó Cd(NO₃)₂·4H₂O y Pb(NO₃)₂, respectivamente, en agua desionizada y se añadió 1 mL de ácido nítrico concentrado por litro de solución para evitar la precipitación de los metales. Las sales utilizadas fueron adquiridas en Sigma-Aldrich con pureza ≥99.0%.

Los cultivos se mantuvieron en agitación constante a 150 rpm, iluminación de 100 μmol m⁻²s⁻¹ en fotoperiodos luz:oscuridad de 12:12 h y a temperatura ambiente, como se observa en la figura 8.



Figura 8. Cultivos de microalgas en condiciones de luz y agitación constantes durante experimento de isotermas de sorción.

La determinación de la capacidad de sorción se realizó para cada metal por separado, las concentraciones de los iones metálicos que se analizaron son:

- Cd (II): 0.00, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 3.00, 6.00, 9.00 y 12.00 mg·L⁻¹
- Pb (II): 0.00, 0.50, 1.00, 4.65, 6.00, 8.68, 12.00 y 27.10 mg·L⁻¹

En las tablas 9 y 10 se indica cómo fueron preparados los medios de cultivos con diferentes concentraciones de Cd (II) y Pb (II).

Tabla 9. Composición de soluciones de cada concentración para la isoterma de sorción de Cd (II). Se realizaron dos réplicas, $n = 2$, para cada concentración.

Concentración de Cd (II), mg/L	0.00	0.1	0.25	0.50	1.00	1.50	3.00	6.00	9.00	12.00
Concentración de solución patrón utilizada, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	-	10	10	10	100	100	100	100	100	100
Volumen de solución patrón de Cd (II), mL	0	1.2	3	6	1.2	1.8	3.6	7.2	10.8	14.4
Volumen de agua desionizada, mL	14.4	13.2	11.4	8.4	13.2	12.6	10.8	7.2	3.6	0
Volumen de agua residual a pH 6; mL	95.6	95.6	95.6	95.6	95.6	95.6	95.6	95.6	95.6	95.6
Volumen de suspensión de biomasa, mL	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Tabla 10. Composición de soluciones de cada concentración para la isoterma de sorción de Pb (II). Se realizaron dos réplicas, $n = 2$, para cada concentración.

Concentración de Pb (II), $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.00	0.50	1.00	4.65	6.00	8.68	12.00	27.10
Concentración de solución stock utilizada, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	-	10	100	100	100	100	1000	1000
Volumen de solución stock de Pb (II), mL	0	5.5	1.1	5.115	6.6	9.548	1.32	2.981
Volumen de agua desionizada, mL	10.5	5	9.4	5.385	3.9	0.952	9.18	7.519
Volumen de agua residual a pH 6, mL	99.5	99.5	99.5	99.5	99.5	99.5	99.5	99.5
Volumen de suspensión de biomasa, mL	10	10	10	10	10	10	10	10

Para evaluar el crecimiento de los cultivos, cada 24 horas se tomó muestra de 10 mL de cada uno para determinar la absorbancia a la longitud de onda de 680 nm y concentración de Clorofila, la cual se describen en el puntos 5.5.1.

Una vez concluido el tiempo de experimentación, 4 días, el cultivo se centrifugó durante 25 minutos a 3500 rpm y 4°C. El sobrenadante se filtró al vacío utilizando filtro Millipore con tamaño de poro de 0.45 µm. El sobrenadante filtrado se utilizó para realizar las determinaciones fisicoquímicas descritas en tabla 8.

5.5.1. Determinación de Clorofila

La Clorofila es el pigmento principal en los organismos fotosintéticos, por lo que se consideró como indicador de crecimiento de microalgas. Para su determinación, se llevó a cabo el siguiente procedimiento con base en la metodología descrita por Toledo-Cervantes, *et al.*, 2013.

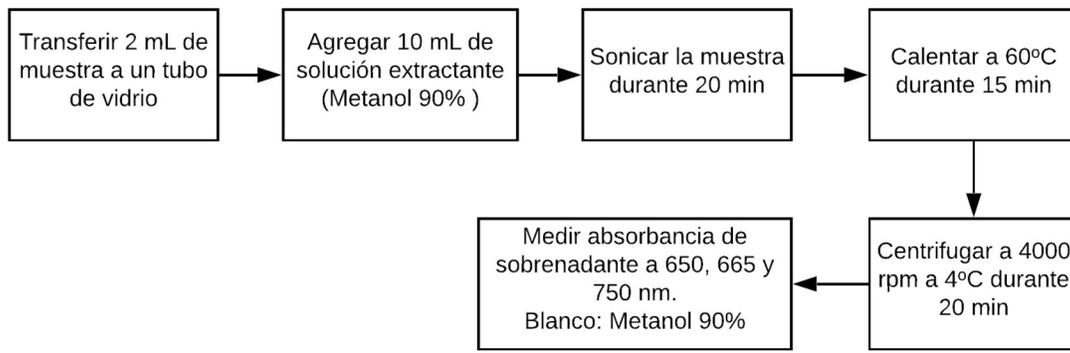


Figura 9. Diagrama de la metodología para la Determinación de Clorofila.

La concentración de Clorofila a y b se calcula utilizando las ecuaciones de Becker, 1994 (Ec. 23, 24 y 25).

$$\text{Clorofila } a = \frac{(16.5 A_{665} - 8.3 A_{650}) \times \text{mL extracto}}{\text{mL muestra}} \quad (\text{Ec. 23})$$

$$\text{Clorofila } b = \frac{(33.8 A_{650} - 12.5 A_{665}) \times \text{mL extracto}}{\text{mL muestra}} \quad (\text{Ec. 24})$$

$$\text{Clorofila } a + b = \frac{(4.0 A_{665} + 25.5 A_{650}) \times \text{mL extracto}}{\text{mL muestra}} \quad (\text{Ec. 25})$$

Los resultados se expresan en µg Clorofila/mL de cultivo.

5.6. Cinética de sorción

Las pruebas de cinética de sorción se llevaron a cabo en matraces de 500 mL bajo las mismas condiciones, agitación constante a 150 rpm, iluminación de 100 µmol m⁻²s⁻¹ en fotoperiodos luz:oscuridad de 12:12 h y a temperatura ambiente.

La concentración de Cd (II) y Pb (II) que se eligió para realizar el experimento de cinética se determinó con base en los resultados de las isothermas de sorción, las concentraciones seleccionadas fueron 3.00 y 20.0 ppm, respectivamente.

El medio se preparó con agua residual a pH 6 y se añadió solución patrón de Cd (II) o Pb (II) para obtener las concentraciones deseadas, en la tabla 11 se indican los volúmenes utilizados. Una vez que se preparó el medio de cultivo, se inoculó con el concentrado de biomasa microalgal para obtener una concentración de 400 mg biomasa·L⁻¹. El volumen total de cada cultivo fue de 250 mL.

Tabla 11. Composición de medio de cultivo de experimentos de Cinética de sorción. Se realizaron cuatro réplicas, n = 4.

	Volumen AR mL	Volumen solución Cd (II) 100 ppm mL	Volumen solución Pb 1000 ppm mL	Concentrado biomasa mL
Cultivo Cd	218.25	6.75	-	25.0
Cultivo Pb	220.0	-	5.0	25.0

Se tomó una muestra en diferentes tiempos de exposición, 2, 5, 24, 48, 72, 96, 168, 192, 216, 240 y 264 horas. Únicamente a las 24, 96, 168 y 264 horas se tomó muestra de 30 mL del cultivo para realizar los experimentos de desorción y digestión; en los demás tiempos, se tomó muestra de 5 mL para la determinación de la concentración de Cd (II) o Pb (II).

El tratamiento que se le dio a la muestra constó de centrifugación a 3500 rpm durante 25 minutos a 4°C, posteriormente el sobrenadante se filtró al vacío utilizando filtros Millipore con tamaño de poro de 0.45µm. Se determinó la concentración de los contaminantes en estudio en el sobrenadante por métodos colorimétricos utilizando un espectrofotómetro HATCH 3900 y los kits de análisis 109717 y 101745.

Una vez concluido el tiempo de experimentación, 11 días, se determinó la concentración de nitratos, nitrógeno amoniacal y ortofosfatos con base en los métodos descritos en la tabla 8.

La cinética de sorción se realizó para cada metal por separado por cuadruplicado (n=4) y un blanco.

5.7. Desorción

Con base en la metodología descrita por [Gupta & Rastogi, 2008](#); [Monteiro et al., 2010](#); [Singh & Gaur, 2007](#) se realizaron los ensayos de desorción. La primera parte constó de probar la

eficiencia de tres soluciones desorbentes, agua desionizada, solución HCl 0.02 M y solución EDTA 0.02 M; una vez que se eligió la solución desorbente, se trataron las muestras correspondientes a los tiempos de 24, 96, 168 y 264 horas del experimento de cinética de sorción.

Con el propósito de evaluar la eficiencia de las soluciones desorbentes se montaron dos cultivos bajo las condiciones ya mencionadas, las concentraciones de Cd (II) y Pb (II) utilizadas fue de 3.00 y 20.0 ppm, respectivamente.

Una vez que trascurrieron 48 horas, para asegurar la sorción de los metales en estudio, se tomó muestra de 30 mL de cada cultivo por duplicado, la cual fue centrifugada a 3500 rpm a 4°C durante 25 min. El sobrenadante fue filtrado al vacío para determinar la concentración de Cd(II) o Pb(II).

Por otro lado, se midió el volumen de biomasa y se transfirió a un tubo de polipropileno, donde se agregó 10 mL de la solución desorbente (agua destilada, solución 0.02M de HCl o solución 0.02 M EDTA), la solución se agitó durante 20 minutos. Posteriormente, la suspensión fue centrifugada y el sobrenadante se filtró al vacío con filtro de tamaño de poro de 0.45 µm para determinar la concentración de Cd(II) o Pb(II) en solución.

El porcentaje de desorción se determinó con la ecuación (Ec. 26) descrita por [Deng et al., 2007](#); el cual se determina a partir de la cantidad de metal sorbida en la biomasa (mg) y la cantidad del ion metálico desorbida (mg).

$$\% \text{ desorción} = \frac{\text{Cantidad de ion metálico desorbido}}{\text{Cantidad de ion metálico sorbido}} \times 100 \quad (\text{Ec. 26})$$

Con el objeto de evaluar la viabilidad de la biomasa después del tratamiento de desorción, se montaron dos cultivos con biomasa de cada tratamiento y un cultivo control. Se monitoreó su crecimiento diariamente a través de la medición de la absorbancia a 680 nm durante 10 días.

5.8. Digestión de biomasa

El proceso de digestión se realizó con base en la metodología descrita en EPA 3051A (2007) y [Pantoja Munoz et al., 2016](#).

Los pellets tratados con la solución desorbente se transfirieron a tubos de teflón donde se añadió 3 mL de ácido nítrico concentrado y 3 mL de agua desionizada. La muestra se digirió en un equipo de digestión por microondas MARS XPRESS, alcanzando una temperatura de 175 ± 5°C en aproximadamente 5.5 ± 0.25 min y permaneció a dicha temperatura durante 4.5 minutos.



Figura 10. Equipo de digestión por microondas MARS XPRESS (izquierda) y tubos de teflón (derecha) donde se llevó a cabo la digestión de la biomasa microalgal.

La muestra digerida se aforó a 25 mL con agua desionizada y se filtró al vacío utilizando filtros Millipore con tamaño de poro de 0.45 μm . La determinación de la concentración de Cd (II) y Pb (II) se realizó con base en el método EPA 6010D (2018).

En la figura 11 se describe la metodología de los puntos 5.6, 5.7 y 5.8

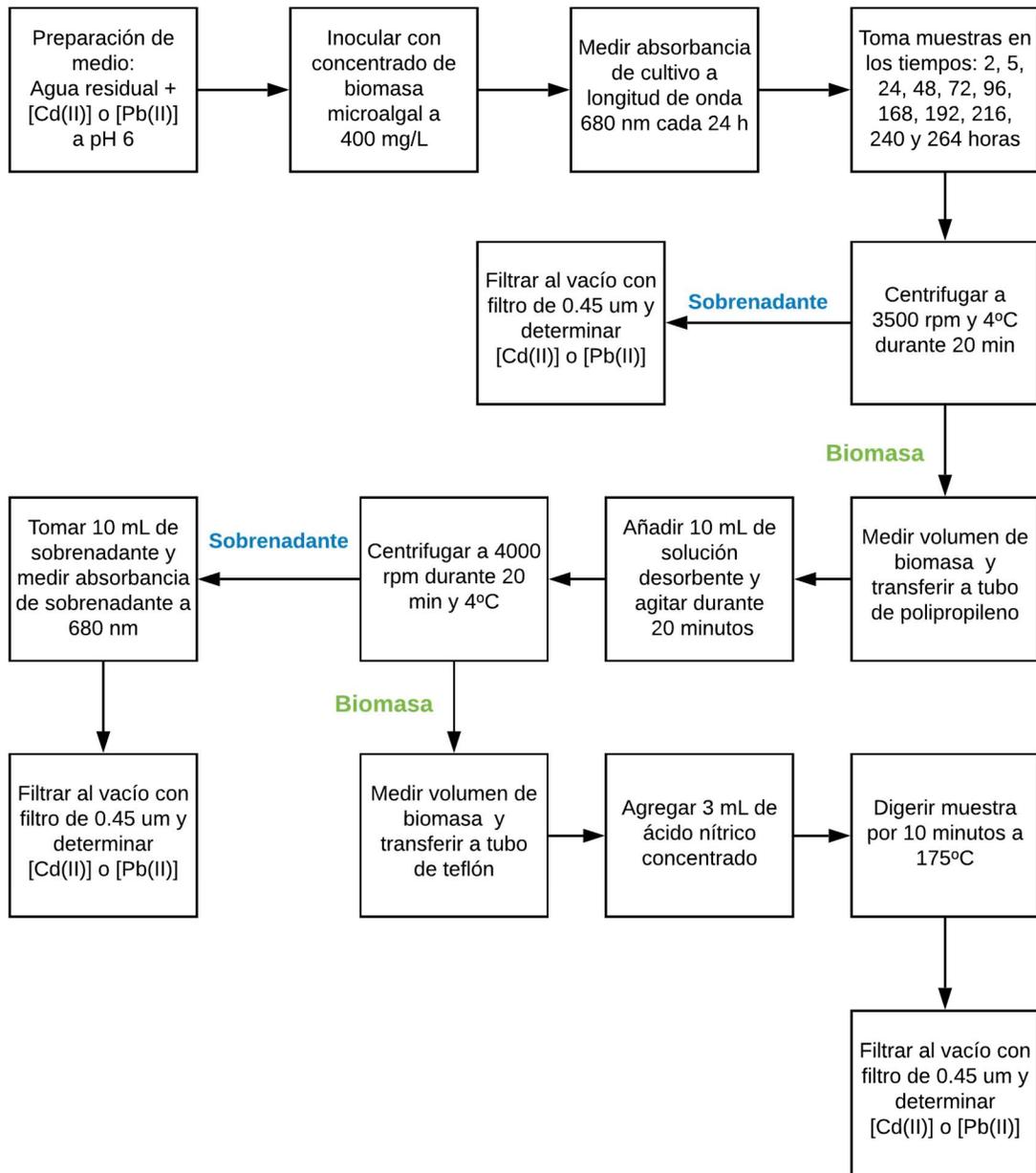


Figura 11. Diagrama de la metodología de cinética de sorción, desorción y digestión de biomasa microalgal.

5.9. Diseño de experimentos: elección de solución desorbente

Para determinar la solución desorbente con mejor eficiencia de desorción de los iones metálicos sorbidos por la biomasa microalgal, se realizó un experimento unifactorial completamente al azar, donde el factor corresponde a las soluciones desorbentes considerando tres niveles que son, agua desionizada, ácido clorhídrico 0.02 M y solución de

EDTA 0.02 M, cada uno se realizó por triplicado. La variable de respuesta es el % de desorción de los iones metálicos.

Tabla 12. Diseño de experimento para la elección de solución desorbente.

Factor	Nivel
Soluciones desorbentes	Agua desionizada
	Solución HCl 0.02 M
	Solución EDTA 0.02 M

Los resultados obtenidos se analizaron a través de un análisis de varianza (ANOVA) y, posteriormente, una prueba de comparación de medias, prueba de Tukey, considerando un intervalo de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$). La hipótesis nula es que no hay diferencia entre los tratamientos, mientras que la hipótesis alternativa es que por lo menos uno de los tratamientos es diferente.

5.10. Balance de masa

Para realizar el balance de masa de cada metal que se aplicó al sistema, se consideró que la porción que no fue removido, se encuentra en fase acuosa, mientras que la remoción de Cd (II) y Pb (II) por las microalgas, como se vio anteriormente, se lleva a cabo por dos mecanismos, adsorción y absorción.

Con base en lo anterior, el balance de masa en cada tiempo se expresa con la siguiente ecuación (Ec. 27), donde MM_{acuoso} , es la masa de metal en la fase acuosa, $MM_{adsorbida}$ es la masa de metal que se adsorbe en la superficie de las células y $MM_{intracelular}$ es la masa de metal que es absorbida por las microalgas.

$$MM_{Total} = MM_{acuoso} + MM_{adsorbida} + MM_{intracelular} \quad (Ec. 27)$$

La Determinación de $MM_{adsorbida}$ se llevó a cabo con base en los resultados de la desorción (punto 5.7), mientras que la determinación de $MM_{absorbida}$ se determinó con los resultados de la digestión de la biomasa (punto 5.8).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Agua residual tratada

En la tabla 13 se presenta la caracterización fisicoquímica de la muestra de agua residual tratada que se utilizó como medio de cultivo en los experimentos de Isotermas y cinética de sorción.

Tabla 13. Características fisicoquímicas de la muestra de Agua Residual Tratada.

Parámetro	Agua residual de PTAR FCPyS – UNAM
Volumen (L)	20
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	168.0 ± 2.8
DQO (mg/L)	172.92 ± 10.37
Nitratos (mg/L)	45.0 ± 0.0
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	73.7 ± 4.3
Ortofosfatos (mg/L)	85.5 ± 7.7
Cd (II) (mg/L)	0.027 ± 0.007
Pb (II) (mg/L)	0.42 ± 0.10
pH	8.3
N*:P (molar)	4.7

*En el cálculo de la relación molar N:P se consideró la cantidad de nitrógeno en forma de nitratos y amoniacal.

Para asegurar el crecimiento óptimo de las microalgas en el medio cultivo, en este caso, el agua residual, es importante considerar la relación molar N:P. De acuerdo a Redfiel et al. (1963) mencionado por [Hernández-García et al., 2019](#), la composición de las microalgas es C₁₀₆H₂₆₃O₁₁₀N₁₆P, con una relación óptima N:P de 16. Dicha relación dependerá de las especies en estudio, aunque de forma general, se recomienda un rango de 5-30. Como se observa en la tabla 13, se obtuvo una relación de 4.7, el cual es menor al valor recomendado, esto puede restringir el crecimiento debido a la limitación de nitrógeno; aunque cabe mencionar que para la determinación de la relación N:P no se consideró la concentración de NO₂⁻ y nitrógeno orgánico como lo recomienda [Monfet & Unc, 2017](#).

La concentración de Cd²⁺ y Pb²⁺ en el agua residual fue de 0.027 y 0.42 mg·L⁻¹, respectivamente. Con base en las normas [NOM-001-SEMARNAT-1996](#) y [NOM-002-SEMARNAT-1996](#), los límites máximos permisibles para su uso en riego y para descarga a sistemas de alcantarillado son 0.4 y 0.75 para Cadmio y en el caso de Plomo, 1.0 y 1.5 mg L⁻¹ (promedio diario), respectivamente. Por lo que dichos parámetros se encuentran dentro de lo que establece la norma mexicana.

El pH del agua residual fue de 8.3, por lo que se añade 1.952 gramos de la sal sódica de ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico (MES) por litro de agua residual con el fin de mantener el valor de pH en 6.

6.2. Isotermas de sorción

A partir de los datos obtenidos de la concentración al equilibrio de Cd^{2+} y Pb^{2+} y de la cantidad sorbida de dichos metales por unidad de masa de sorbente, q_e (ec. 12), se trazaron las isotermas de sorción, figura 12.

De acuerdo a la clasificación de [Essington, 2005](#), las isotermas obtenidas se ajustan a la isoterma tipo S, la cual sugiere que la afinidad de las microalgas por los iones metálicos es menor que de la solución acuosa cuando la concentración de Cd^{2+} y Pb^{2+} es baja. Esto se puede observar cuando al aumentar la concentración inicial de cadmio de 0.5 a 1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, la capacidad de sorción aumentó de 0.15 a 0.93 $\text{mg Cd (II)}/\text{g biomasa}$, es decir, la capacidad de sorción aumentó 6 veces al duplicar la concentración inicial.

En el caso de la sorción de plomo, al aumentar la concentración inicial de 6.00 a 8.68 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, la capacidad de sorción aumentó de 2.99 a 10.70 $\text{mg Pb (II)}/\text{g biomasa}$, es decir al aumentar la concentración inicial en un 44%, la capacidad de sorción aumentó 3.6 veces. De acuerdo a la tabla 13, el agua residual contiene 85.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de ortofosfatos, por lo que la forma de la isoterma se puede deber a la formación de precipitados insolubles de plomo con fósforo.

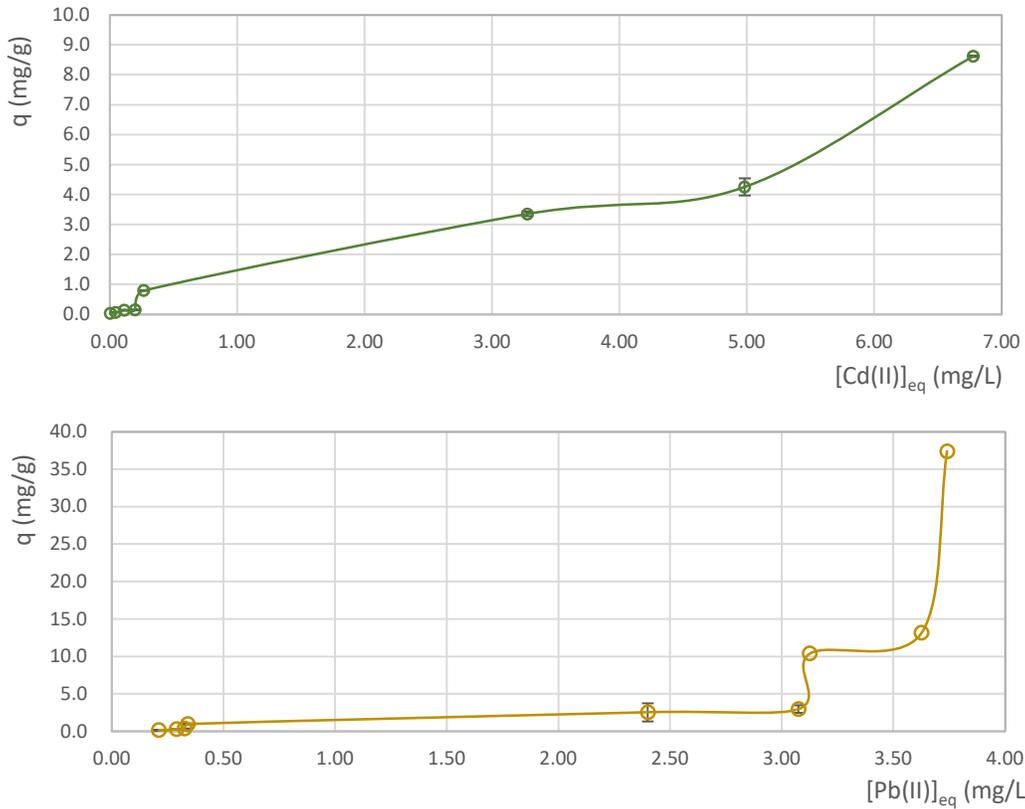


Figura 12. Isotermas de sorción de Cadmio (II) (arriba) y Plomo (II) (abajo) por biomasa microalgal.

Essington, 2005 indica que las isotermas tipo S pueden presentarse cuando el ion metálico se compleja con otros compuestos en el medio, por lo que los iones de Cd^{2+} y Pb^{2+} no están disponibles para participar en las reacciones de sorción. Sin embargo, al aumentar la concentración inicial de los iones metálicos, la formación de compuestos coordinados llega a un límite y comienza a aumentar la concentración de cadmio y plomo disponible en solución, para dar pie a la sorción por la biomasa microalgal.

Los datos se ajustaron a los modelos de Freundlich, Langmuir y Temkin. Con base en el valor del coeficiente de determinación (R^2) de la ecuación de la regresión lineal, se eligió el modelo que mejor se ajustó a los datos. En la tabla 14 se encuentran los parámetros de los tres modelos de las isotermas de cadmio y plomo.

Tabla 14. Parámetros de los modelos de Freundlich, Langmuir y Temkin de las isotermas de cadmio y plomo en biomasa microalgal.

Metal	Modelo de Freundlich			Modelo de Langmuir			Modelo de Temkin		
	K_F ($mg\ g^{-1}$)	$1/n$	R^2	K_L ($L\ mg^{-1}$)	N_{max} ($mg\ g^{-1}$)	R^2	b_T	A_T ($L\ g^{-1}$)	R^2
Cd (II)	1.33	0.887	0.914	0.25	6.08	0.914	1862.1	8.60	0.733
Pb (II)	1.86	1.36	0.827	0.121	9.00	0.989	425.1	3.32	0.342

La isoterma de cadmio se ajustó a los modelos de Langmuir y Freundlich. [Aksu & Dönmez, 2006](#) reportaron que la sorción de cadmio por biomasa inactiva de *Chlorella vulgaris* se ajusta a ambos modelos y sugiere que la aplicabilidad de ambos modelos implica la coexistencia de la formación de una monocapa y de la superficie homogénea del sorbente.

A partir de la ecuación de la regresión lineal de la isoterma de Freundlich (figura 13) se obtuvieron los parámetros del modelo (tabla 14), los valores de la constante de Freundlich y $1/n$ obtenidas son, $1.33 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ y 0.887 . De acuerdo a [Sari & Tuzen, 2008](#) si el valor de $1/n$ se encuentra entre 0 y 1, es un indicativo que la sorción de Cd(II) por las microalgas es favorable bajo las condiciones en estudio, mientras que la constante K_F es un indicativo de la capacidad de sorción ([Aksu & Dönmez, 2006](#)).

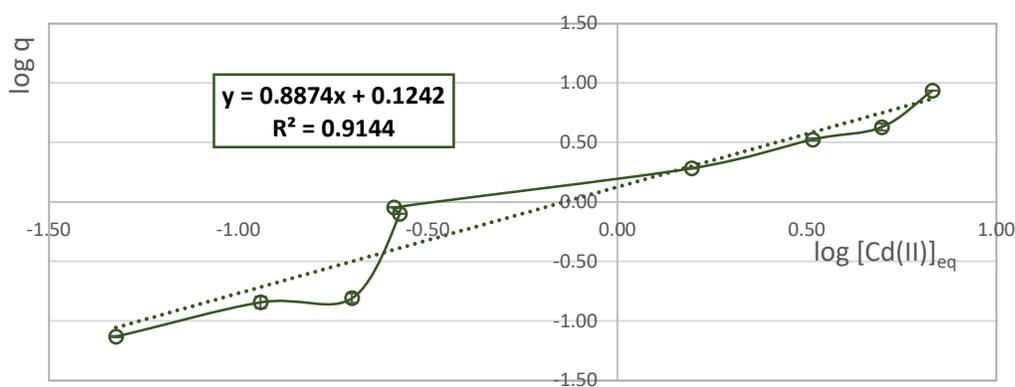


Figura 13. Isoterma de Freundlich de la sorción de Cd (II) por biomasa microalgal.

[Mirghaffari et al., 2014](#) obtuvo una K_F de $10.06 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ para la sorción de Cd(II) por biomasa inactiva de *Scenedesmus quadricauda*, mientras que [Yang et al., 2015](#) reportó una K_F de 2.88 utilizando células vivas de *Chlorella minutissima* en agua residual sintética y [Cheng et al., 2017](#) de 4.76 utilizando biomasa activa de *Chlorella vulgaris* en medio BG-11. El valor de K_F obtenido experimentalmente, $1.33 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, es menor al reportado en la literatura utilizando biomasa muerta, sin embargo, al utilizar biomasa activa, el valor de la constante de Freundlich obtenido se asimilan a lo reportado por [Yang et al., 2015](#) y [Cheng et al., 2017](#).

En la figura 14 se presenta la ecuación de la isoterma de Langmuir de cadmio, a partir de la cual se obtuvieron los parámetros de dicho modelo (tabla 14). Los valores obtenidos de la constante de Langmuir, K_L y N_{max} son $0.25 \text{ L}\cdot\text{mg}^{-1}$ y $6.08 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente.

Diferentes estudios, como [Edris et al., 2014](#); [Mirghaffari et al., 2014](#); [Sari & Tuzen, 2008](#); [Yang et al., 2015](#) indican que la sorción de cadmio en biomasa microalgal se ajusta al modelo de Langmuir, indicando que la sorción del ion metálico se lleva a cabo en los grupos funcionales o sitios de unión específicos en la superficie de la microalga, formando una monocapa.

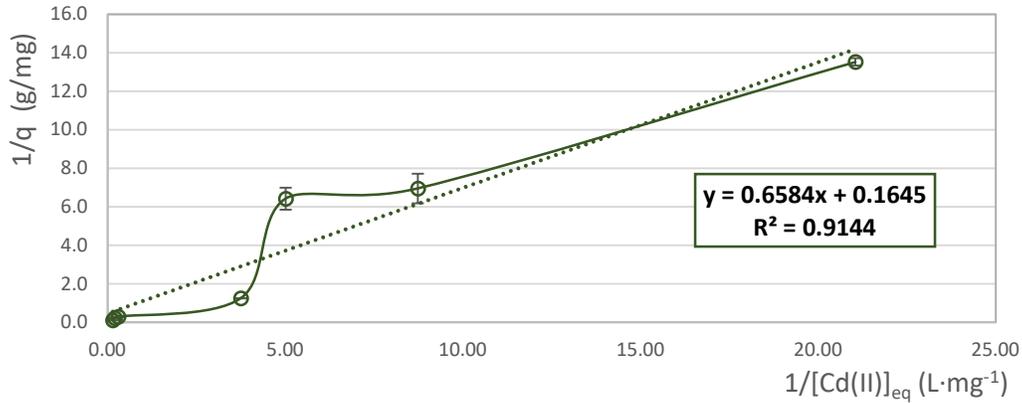


Figura 14. Isoterma de Langmuir de la sorción de Cd (II) por biomasa microalgal.

Uno de los valores más importantes de este modelo es la capacidad de sorción máxima, con el modelo se obtuvo una q_{max} o N_{max} de $6.08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, mientras que experimentalmente, la capacidad de sorción máxima fue de 8.62 mg/g con la concentración inicial de cadmio de 12 ppm . En la literatura se encontró que [Yang et al., 2015](#) obtuvo una q_{max} de $303 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ utilizando células vivas de *Chlorella minutissima*, [Chojnacka et al., 2005](#) reportó una capacidad de sorción máxima de $159 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para biomasa activa de *Spirulina sp.* y [Rangsayatorn et al., 2002](#) reporta una q_{max} de $98.04 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ utilizando como sorbente *Scenedesmus platensis*.

A pesar que los artículos mencionados utilizaron biomasa activa, los medios de cultivo que utilizaron fueron agua residual sintética y medio Zarrouk. [Chojnacka et al., 2005](#) indica que aun cuando el sorbente sea la misma especie de microalga, pero cultivada bajo diferentes condiciones de nutrientes y luz, poseerán diferentes características de biosorción, por lo que ésta podría ser la razón por la que la q_{max} obtenida es menor a la reportada en la literatura.

Otro de los parámetros relevantes del modelo de Langmuir es el parámetro de equilibrio R_L (ec. 15), el cual representa la naturaleza del proceso de sorción. El valor de R_L que se obtuvo con la concentración inicial de cadmio de 3 ppm , es de $0.618 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, lo cual indica que la sorción de Cd (II) en biomasa microalgal es favorable ([Rangabhashiyam & Balasubramanian, 2019](#)).

En la figura 15 se presenta la isoterma de Temkin para la sorción de cadmio por el consorcio de microalgas; se observa que los puntos extremos, correspondientes a las concentraciones iniciales de cadmio de 0.1 , 0.25 y $12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ no se ajustaron al modelo, lo cual se confirma al obtener un valor bajo del coeficiente de correlación.

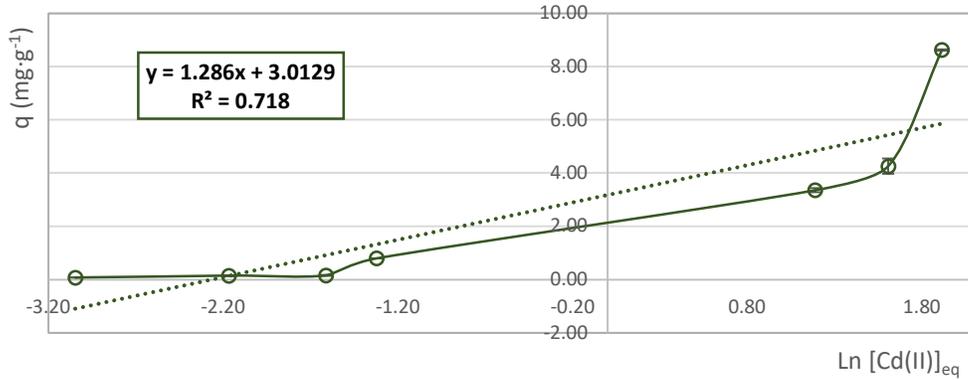


Figura 15. Isoterma de Temkin de la sorción de Cd (II) por biomasa microalgal.

Los datos de la sorción de plomo en las microalgas se ajustaron al modelo de Langmuir, diferentes investigaciones han reportado el uso de dicho modelo para describir el sistema, como [Edris et al., 2014](#); [Li et al., 2019](#); [Ma et al., 2021](#); [Mirghaffari et al., 2014](#); [Sari & Tuzen, 2008](#), entre otros.

En la figura 16 se presenta la isoterma de Langmuir para la sorción de Pb (II) por el cultivo de microalgas, a partir de la ecuación se obtuvieron los parámetros del modelo (tabla 14); el valor que se obtuvo de la q_{max} fue de $9.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, mientras que el valor de K_L fue de 0.121. [Kratochvil & Volesky, 1998](#) proponen que valores bajos de K_L , *i.e.*, 0.06 y valores altos de q_{max} son un indicativo de que el sorbente tiene una alta capacidad de remoción de metales. Con base en lo anterior, la biomasa microalgal con predominancia en los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp.* es un buen sorbente para la remoción de Pb^{2+} en solución acuosa.

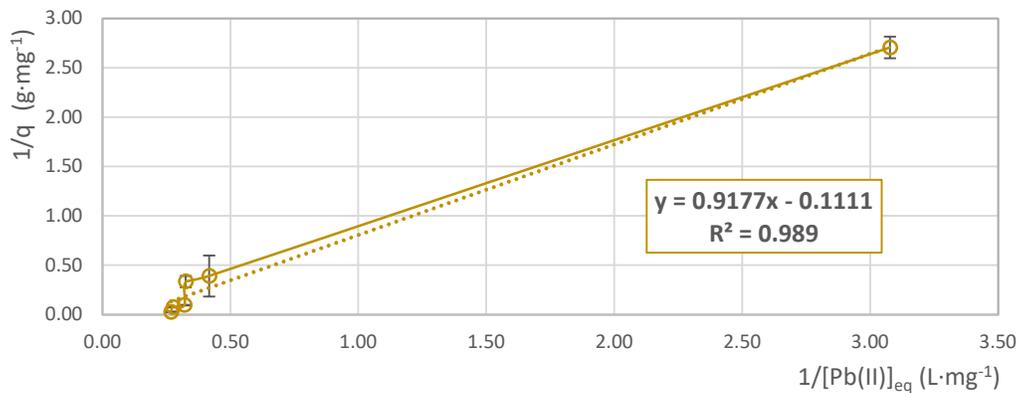


Figura 16. Isoterma de Langmuir de la sorción de Pb (II) por biomasa microalgal.

La q_{max} obtenida por el modelo fue de $9.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, mientras que experimentalmente la sorción máxima fue de $37.39 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ con la concentración inicial de plomo de $27.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, lo cual indica que los datos no se ajustan del todo a dicho modelo. En las referencias se encontró que la capacidad de sorción oscila de 1.13 a $333.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ considerando biomasa viva y principalmente, inactiva. Los estudios en los que se utilizó biomasa viva fue [Ma et al.](#),

2021 reportando una q_{\max} de $19.83 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ con *Scenedesmus obliquus* en medio BG-11, Miranda *et al.*, 2012 obtuvo una q_{\max} de $20.36 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ utilizando la cianobacteria *Oscillatoria laete-virens* en el mismo medio y Raungsomboon *et al.*, 2008, obteniendo una q_{\max} de $3.42 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ con la cianobacteria *Calothrix marchica* en medio 18. Los valores de q_{\max} utilizando biomasa activa reportadas en la literatura, son similares al valor que se obtuvo en el presente trabajo, utilizando como medio agua residual real.

Li *et al.*, 2019 estudió la remoción de plomo con biomasa inactiva de la microalga *Chlorella sp.* cultivada en diferentes concentraciones de fósforo ($0 - 580 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), encontrando que la mejor capacidad de sorción (635.8 mg g^{-1}) se obtuvo con biomasa cultivada con una alta concentración de fósforo ($280 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en medio BG-11), esto debido a que la sorción de plomo relacionada con los grupos funcionales es dominada por el grupo fosforil. La concentración de ortofosfatos en el agua residual utilizada es de $85.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($27.9 \text{ mg P}\cdot\text{L}^{-1}$), mientras que la concentración de fósforo en el medio BG-11 y medio 18 es de $7.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $21.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente, por lo que la concentración de fosforo en el agua residual, es similar a la concentración de P en los medios empleados en las referencias.

Por otro lado, el valor de R_L que se obtuvo con las concentraciones iniciales de plomo de 12 y 27.1 ppm , es de 0.459 y $0.278 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente, lo cual indica que la sorción de Pb (II) en biomasa microalgal es favorable (Rangabhashiyam & Balasubramanian, 2019).

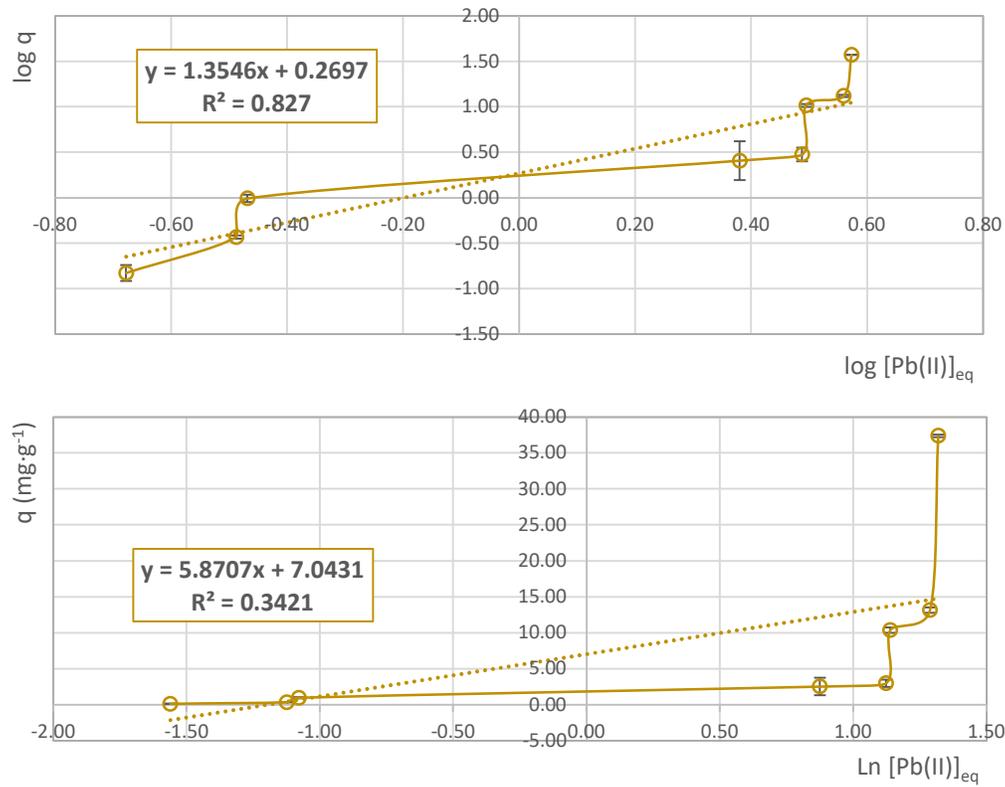


Figura 17. Isotherma de Freundlich (arriba) y Tamkin (abajo) de la sorción de Pb (II) por biomasa microalgal.

En la figura 17 se muestran las isotermas de Freundlich y Temkin de la sorción de plomo por el consorcio de microalgas. Los coeficientes de determinación obtenidos con dichos modelos fueron 0.827 y 0.342, respectivamente, lo que nos indica que los datos experimentales no se ajustaron a dichos modelos. En ambas gráficas se observa el aumento drástico en la sorción al aumentar la concentración inicial de plomo, el cual es característico de las isotermas tipo S.

6.2.1. Crecimiento durante isotermas de sorción

Se determinó el crecimiento del cultivo durante el tiempo que duró el experimento de isoterma de sorción, a través de la determinación de clorofila (5.5.1) y medición de absorbancia a la longitud de onda de 680 nm, para determinar los sólidos suspendidos totales (SST) a través de la curva de calibración (A2).

En la curva de crecimiento (figura 18) de la biomasa microalgal utilizando como referencia los sólidos suspendidos totales, se observa que los cultivos con una concentración de cadmio igual o menor a $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, crecen a una mayor tasa de crecimiento, μ , dicho comportamiento también fue descrito por [Yang et al., 2015](#) para concentraciones de cadmio menores a $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ utilizando la especie de microalga *Chlorella minutissima* en agua residual sintética. A partir de la concentración inicial de Cd (II) de 3 ppm, se observa una disminución en el crecimiento de la biomasa microalgal, haciéndose más evidente del día 3 al 6.

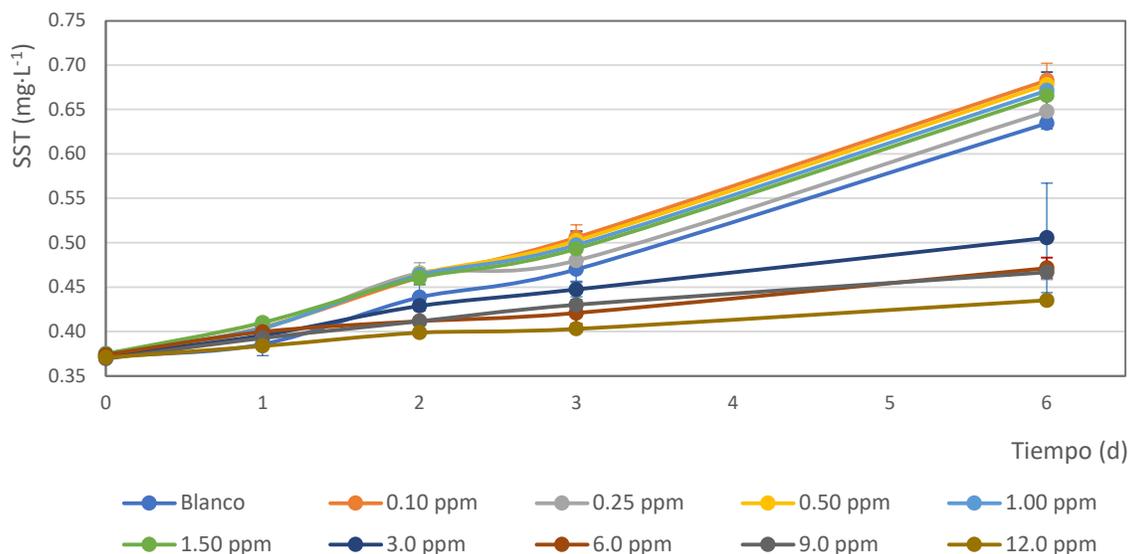


Figura 18. Crecimiento de biomasa microalgal (SST) durante el experimento de sorción de cadmio.

En la figura 19 se muestra la curva de crecimiento de la biomasa durante el experimento de sorción de cadmio considerando como referencia la concentración de clorofila, donde se

observa que el cultivo con mayor crecimiento es el cultivo blanco, a diferencia de la figura 18, lo cual indica que la presencia de cadmio afectó la producción de las clorofilas a+b en las microalgas. [Piotrowska-Niczyporuk et al., 2012](#) reportan una disminución del 15 y 30% de clorofila a añadiendo concentraciones de cadmio y plomo de 100 μM indica, al igual que [Dao & Beardall, 2016; Gan et al., 2019](#), que los metales pesados pueden inhibir la síntesis o fomentar daño de la clorofila debido a la inhibición de la actividad de enzimas como ácido aminolevulinico deshidratasa o protoclorofilida reductasa. Además, de estimular la degradación de clorofila al aumentar la actividad de la enzima clorofilasa.

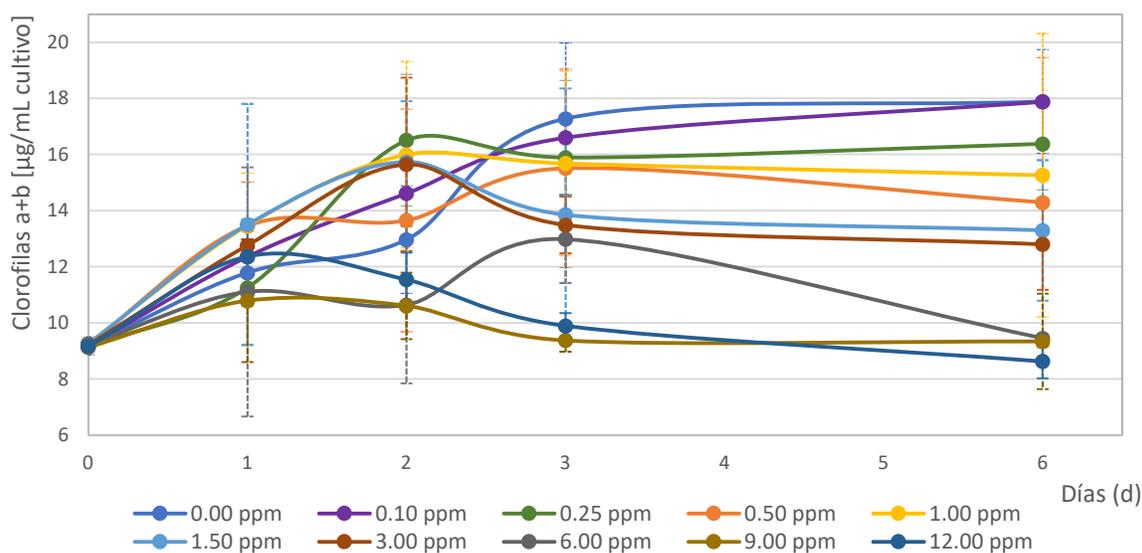


Figura 19. Crecimiento de biomasa microalgal (Clorofilas a+b) durante experimento de sorción de cadmio.

Uno de los factores a considerar al realizar la sorción de iones metálicos con biomasa viva es la concentración inicial del sorbato, ya que para evitar causar efectos tóxicos a la célula y por ende, una disminución en la eficiencia de sorción, se recomienda utilizar concentraciones menores a 10 mg L^{-1} o bien, no exceder la dosis letal media ([Lin et al., 2020; Salam, 2019](#)).

En la tabla 15 se encuentra la tasa de crecimiento y % de inhibición promedio de cada concentración inicial de cadmio que se utilizó para los experimentos de isoterma de sorción. En concentraciones menores o igual a $1.5 \text{ mg Cd} \cdot \text{L}^{-1}$, el porcentaje de inhibición es negativo debido que los cultivos mostraron mayor crecimiento que el cultivo control, dicho comportamiento ha sido descrito por [Yang, et al., 2015](#). Por otro lado, los cultivos con concentraciones mayores a $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, el crecimiento de las microalgas se inhibió, alcanzando hasta el 70% de inhibición del crecimiento con la concentración más alta, 12 ppm.

Tabla 15. Parámetros de tasa de crecimiento y porcentaje de inhibición durante la sorción de cadmio por microalgas

[Cd] ₀ (mg·g ⁻¹)	0.00	0.10	0.25	0.25	0.50	1.00	1.50	3.00	6.00	9.00	12.00
μ ₆ (d ⁻¹)	0.089	0.102	0.093	0.093	0.099	0.097	0.096	0.051	0.039	0.039	0.027
% I		-14%	-4%	-4%	-11%	-9%	-7%	43%	57%	56%	70%

Para determinar la EC₅₀, se graficó el logaritmo de la concentración inicial de cadmio y el % I, figura 20, donde se trazó una línea vertical que interceptó en el eje x en el valor de 0.57, lo que corresponde a la concentración de cadmio de 3.71 mg·L⁻¹.

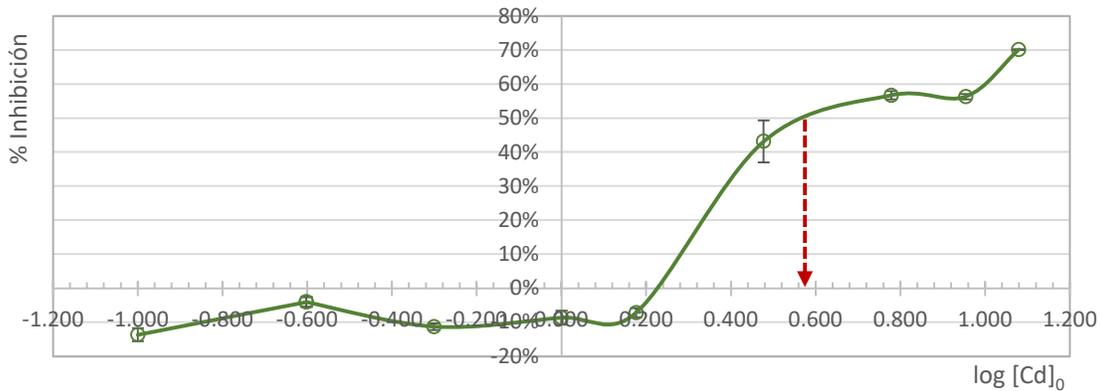


Figura 20. Determinación de Dosis Letal Media (EC₅₀) de cadmio en biomasa microalgal por método gráfico.

Monteiro, *et al.*, 2011 encontraron que la EC₅₀ para las especies *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus pleiomorphus* fue de 0.058 y 1.92 mg·L⁻¹, mientras que Stokes, 1981 reportó que la dosis letal media para la especie *Scenedesmus acutiformis f. Alternans* es de 0.0125 mg·L⁻¹. El valor obtenido experimentalmente es mayor que el reportado en la literatura para especies que conforman la biomasa microalgal utilizada.

La EC₅₀ de la biomasa microalgal con predominancia en los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp.* obtenida bajo las condiciones de estudio (agitación constante a 150 rpm, iluminación de 100 μmol m⁻²s⁻¹ en fotoperiodos luz:oscuridad de 12:12 h, concentración de biomasa 400 mg·L⁻¹ y a 6 días) es de 3.71 ppm, lo que nos permite utilizar el consorcio de microalgas para tratar aguas residuales con concentraciones de Cadmio hasta 3.71 mg·L⁻¹. Con base en este resultado, se eligió la concentración inicial de cadmio de 3 ppm para realizar el experimento de cinética de sorción.

En el caso de la sorción de plomo, bajo las condiciones de estudio y las concentraciones estudiadas (0.5 a 27.1 mg·L⁻¹ de Pb²⁺) no se observó disminución en el crecimiento de los cultivos, esto se puede observar en la curva de crecimiento (figura 21), así como en el cálculo de la tasa de crecimiento y porcentaje de inhibición (tabla 16).

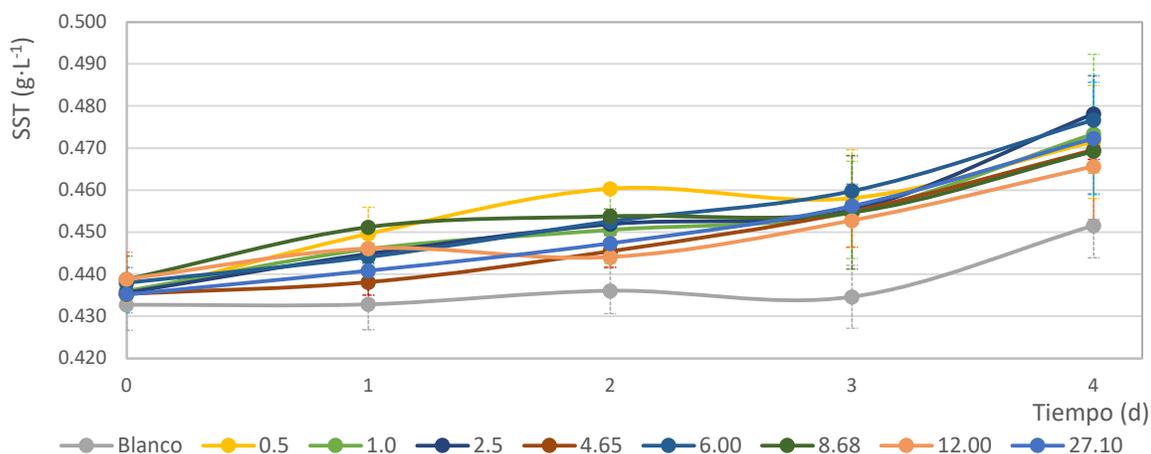


Figura 21. Crecimiento de biomasa microalgal (SST) durante experimento de sorción de plomo.

En la curva de crecimiento de los cultivos con plomo, se observa que la curva del cultivo control, está por debajo de las curvas de los cultivos con tratamiento. Esto se puede corroborar con el porcentaje de inhibición (tabla 16), ya que, para todos los tratamientos, en excepción de la concentración de 12 ppm, se obtuvieron datos negativos debido a que el crecimiento de los cultivos con el tratamiento con plomo fue mayor que en el cultivo control. Este comportamiento también fue visto en la sorción de cadmio en concentraciones igual o menores a 1.5 ppm.

Tabla 16. Parámetros de tasa de crecimiento y porcentaje de inhibición de la sorción de plomo por microalgas

[Pb] ₀ (mg·g ⁻¹)	0	0.50	1.00	2.50	4.65	6.00	8.68	12.00	27.10
μ ₆ (d ⁻¹)	0.011	0.020	0.021	0.023	0.021	0.019	0.021	0.009	0.020
% I		-0.885	-0.925	-1.183	-0.988	-0.782	-0.925	0.143	-0.919

La concentración más alta añadida de plomo fue de 27.1 mg·L⁻¹, sin embargo, cuando se preparó el medio de cultivo con diferentes concentraciones de Pb (II), el medio se enturbió indicando presencia de precipitado, por lo que los medios fueron filtrados al vacío utilizando filtro Millipore con tamaño de poro de 0.45 μm. En consecuencia, la concentración de Pb (II) más alta fue de 21.4 mg·L⁻¹. Se concluye que la EC₅₀ de plomo para el cultivo de microalgas con predominancia de los géneros *Scenedesmus obliquus*. y *Desmodesmus sp.* y bajo las condiciones de estudio, es superior a 21.4 mg·L⁻¹.

Una de las EC₅₀ más altas reportadas en literatura fue de 21.4 mg·L⁻¹ por [Sato et al., 2005](#) utilizando la microalga *Chlorococcum sp.*, mientras que a tal concentración en el presente estudio, no se observó inhibición en el crecimiento del cultivo. Esto se puede deber a que la concentración de biomasa en el presente trabajo es mayor, la concentración inicial fue

de $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ o bien, $4.79 \pm 0.05 \text{ }\mu\text{g}$ clorofila $\text{a}\cdot\text{mL}^{-1}$, mientras que en el estudio la concentración de clorofila es de $0.1\text{-}0.25 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

6.2.2. Remoción de cadmio y plomo

Los porcentajes de remoción obtenidos durante la sorción de cadmio por la biomasa microalgal se muestran en la figura 22. Las remociones más altas, 67 y 71%, fueron obtenidas con las concentraciones iniciales de cadmio de 1.0 y 1.5 ppm, respectivamente. En concentraciones superiores a $3.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, el porcentaje de remoción disminuyó hasta 29%. Sin embargo, aunque el porcentaje de remoción y la tasa de crecimiento disminuyeran, la cantidad de cadmio removida del medio acuoso aumentó conforme aumentaba la concentración inicial del ion metálico, ya que la q_e más alta, 8.62 mg Cd/g biomasa, se obtuvo con la concentración inicial de $12.00 \text{ mg Cd}\cdot\text{L}^{-1}$.

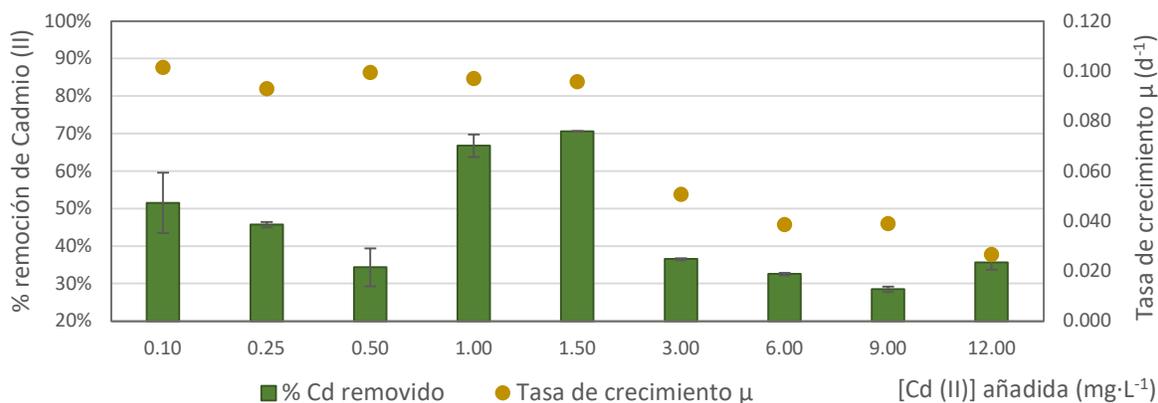


Figura 22. Remoción de Cd (II) durante experimento de sorción.

En la sorción de plomo, el mejor porcentaje de remoción, 82.5%, se obtuvo con la concentración inicial de Pb^{2+} de 24.1 mg/L (figura 23). A diferencia de la remoción de cadmio, en la remoción de plomo se observa bajos % de remoción en las concentraciones de 0.5 y 1.0 ppm. Esto lo podría explicar con base en las observaciones de la isoterma de dicho metal, ya que se sugiere que a bajas concentraciones el ion metálico no está disponible para participar en la sorción por microalgas.

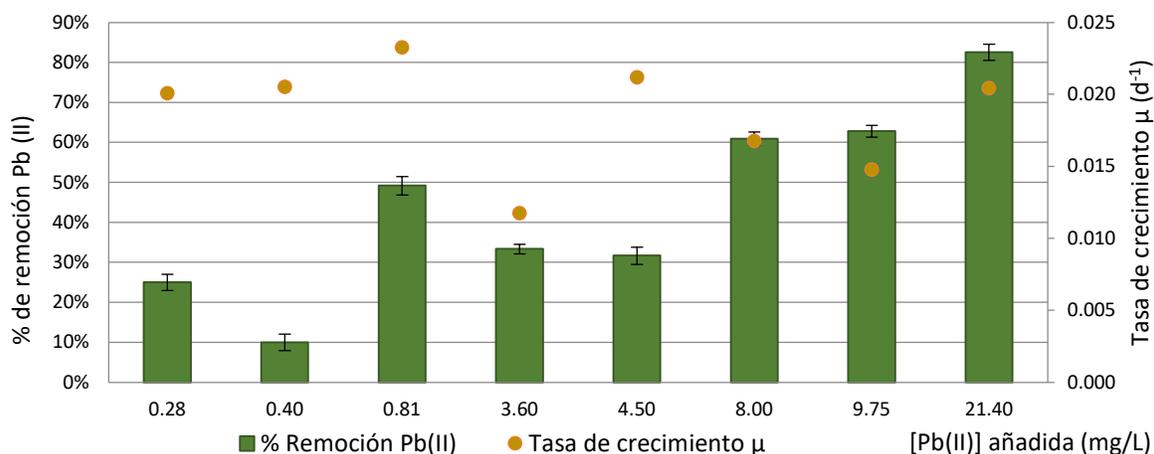


Figura 23. Remoción de Pb (II) durante experimento de sorción.

Con la finalidad de evaluar si hubo daño estructural en las células de microalga, se observaron los cultivos al microscopio óptico Carl-Zeiss a 100x al inicio y final del tiempo de cultivo.

En la figura 24 se observan las fotografías tomadas al microscopio de los cultivos con cadmio añadido en las concentraciones de 0.1 a 12 ppm. En las fotografías a y b, no se observa daño celular y se confirma la presencia de los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp.* Sin embargo, en las fotografías c, d, e y f, correspondientes a las concentraciones 3.0, 6.0, 9.0 y 12.0 mg Cd·L⁻¹, se observan daños celulares, principalmente lisis celular. [Geng et al., 2021](#) indica que la microalga *Chlorella vulgaris* al estar expuesta a 5 mg Cd/L durante 6 días presentó vacuolización citoplasmática y algunos orgánulos destruidos.

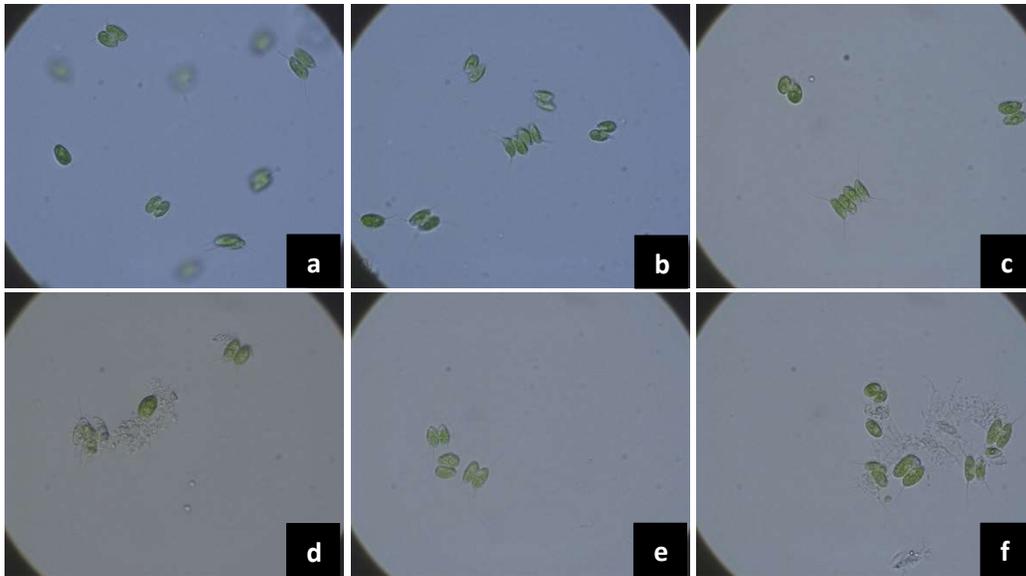


Figura 24. Fotografías tomadas al microscopio óptico Zeiss (x100) de los cultivos con cadmio al término del tiempo de cultivo. a) 0.10 mg Cd·L⁻¹, b) 1.0 mg Cd·L⁻¹, c) 3.0 mg Cd·L⁻¹, d) 6.0 mg Cd·L⁻¹, e) 9.0 mg Cd·L⁻¹ y e) 12.0 mg Cd·L⁻¹.

En la figura 25 se observan las fotografías tomadas al microscopio de los cultivos con plomo en las concentraciones de 0.5 a 27.1 ppm. En las fotografías se confirma la predominancia de los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp.* en todos los cultivos. No se observa lisis celular como fue en el caso de los cultivos con cadmio, aunque en las fotografías e y f se observan flagelos de las microalgas. Peña-Salamanca *et al.*, 2011 indica que uno de los efectos al exponer a microalgas a metales pesados es el deterioro de la motilidad y pérdida de flagelos, como se observa en los cultivos con altas concentraciones de plomo.

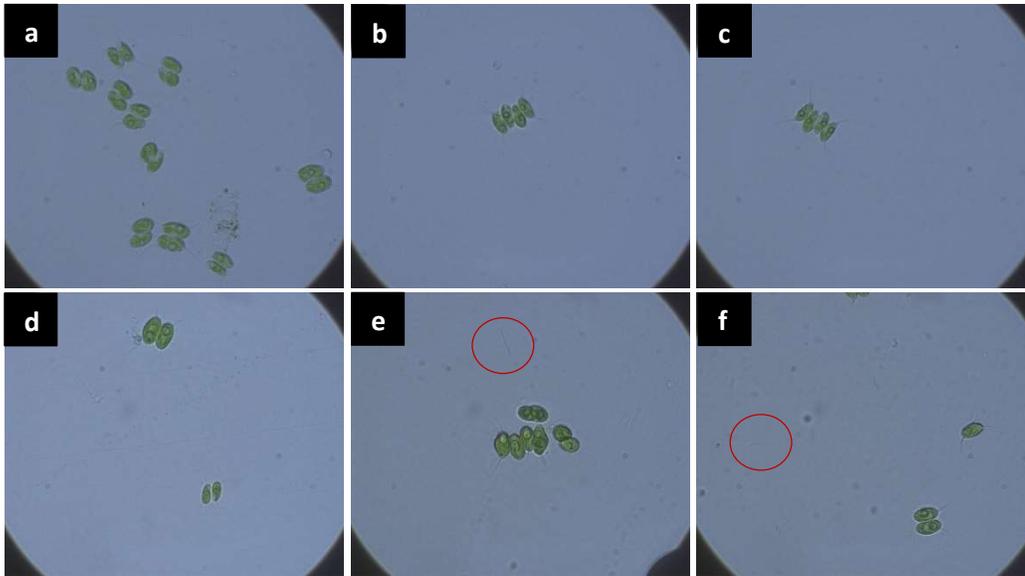


Figura 25. Fotografías tomadas al microscopio óptico Zeiss ($\times 100$) de los cultivos con plomo al término del tiempo de cultivo. a) $0.5 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$, b) $1.0 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$, c) $6.0 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$, d) $8.68 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$, e) $12.0 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$ y e) $27.1 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$.

6.3. Cinética de sorción

Con base en los resultados del experimento de isotermas de sorción, las concentraciones que se eligieron para llevar a cabo la cinética de sorción fueron 3.0 y 20.0 ppm de Cd (II) y Pb (II) , respectivamente, aunque debido a la precipitación de los metales en estudio, las concentraciones iniciales de Cd^{2+} y Pb^{2+} en los cultivos fueron 2.49 y $4.90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente.

He & Chen, 2014 indican que generalmente la sorción de iones metálicos en biomasa algal, llega al equilibrio entre 2 y 6 horas, no obstante en el presente estudio se realizó la cinética de sorción a los 11 días para evaluar de forma integral la remoción de los iones metálicos y nutrientes (nitrógeno y fósforo), ya que se ha reportado que el tratamiento de agua residual para la remoción de nutrientes con microalgas oscila de 4 a 28 días (Gonçalves *et al.*, 2017; Hernández-García *et al.*, 2019; Young *et al.*, 2017).

En la figura 26 se observa que a las 24 horas ambos metales llegaron al equilibrio, aunque a diferencia de la cinética de plomo, la sorción de cadmio en las microalgas fluctúa a partir del séptimo día (168 horas), con los resultados de los experimentos de desorción y digestión se determina si la fluctuación en la sorción se debe al transporte activo del ion metálico al interior de la célula de la microalga.

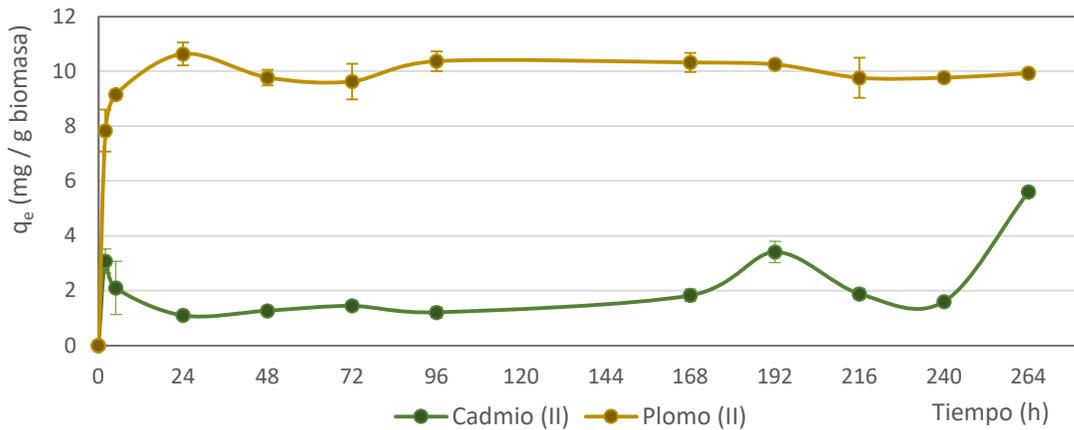


Figura 26. Cinética de sorción de Cd (II) y Pb (II) en microalgas durante 11 días, n=4.

Los datos experimentales de la cinética de sorción fueron ajustados a los modelos cinéticos de pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden (figura 27) y modelo de Elovich. En el caso de la cinética de sorción de cadmio, únicamente se utilizaron los datos hasta el día 4 (96h) debido a las fluctuaciones que tuvo a partir del día 7. Los parámetros de cada modelo se presentan en la tabla 17.

Tabla 17. Parámetros de modelos de pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden y Elovich de la cinética de sorción de Cd (II) y Pb (II) por microalgas.

	Pseudo 1er orden			Pseudo 2do orden				Elovich		
	k_1 min^{-1}	$q_{e\text{-cal}}$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	R^2	k_2 $\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	$q_{e\text{-cal}}$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	v_2 $\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	R^2	α $\text{mg}/\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	β $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	R^2
Cd (II)	0.0002	1.82	0.004	1.38	1.27	2.24	0.986	445.46	2.28	0.798
Pb (II)	-0.006	1.80	0.316	0.19	9.93	18.25	0.998	105.25	0.93	0.525

La sorción de ambos iones metálicos se ajustó al modelo de pseudo-segundo orden, el coeficiente de correlación en ambos casos es mayor a 0.98 (figura 27), lo que indica que la etapa determinante del proceso de biosorción son las interacciones químicas entre los grupos funcionales de la superficie de las microalgas y los iones metálicos, este comportamiento ha sido reportado por diferentes estudios (Bulgariu & Bulgariu, 2012; Li et al., 2019; Mata et al., 2008; Molazadeh et al., 2015; Sulaymon et al., 2013).

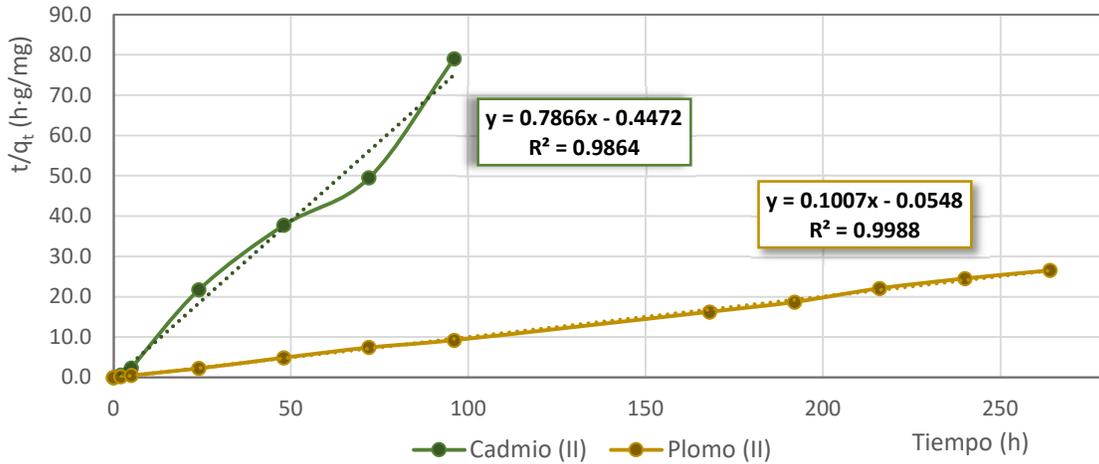


Figura 27. Aplicación del modelo cinético de pseudo-segundo orden de la sorción de Cd (II) y Pb (II) en biomasa microalgal.

Los valores de q_e obtenidos con el modelo fueron 1.27 y $9.93 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (0.01 y $0.05 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) para cadmio y plomo, respectivamente, los cuales son similares a los que se obtuvieron experimentalmente (1.26 y 10.05 mg/L), lo que confirma que los datos experimentales se ajustan al modelo de PSO.

A través de la siguiente ecuación (Ec. 28) se determinó la velocidad inicial de sorción (J. Wang & Chen, 2009):

$$v_2 = k_2 q_e^2 \quad (\text{Ec. 28})$$

Las velocidades de sorción de cadmio y plomo, v_2 , que se obtuvieron fueron 0.02 y $0.09 \text{ g}\cdot\text{mmol}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. Los valores obtenidos de v_2 y q_e de la sorción de plomo, son 4.5 y 5 veces más altos que la sorción de cadmio, lo que indica que se remueve mayor cantidad de plomo y que la sorción de dicho metal, es más rápida, bajo las condiciones de estudio.

6.3.1. Crecimiento y remociones de cadmio, plomo y nutrientes durante cinética de sorción

Durante el experimento de cinética de sorción se midió la absorbancia de los cultivos a la longitud de onda de 680 nm para determinar los sólidos suspendidos totales a partir de la curva de calibración (A2). En la figura 28 se presentan las curvas de crecimiento de los cultivos control, así como de los cultivos con tratamiento de cadmio y plomo.

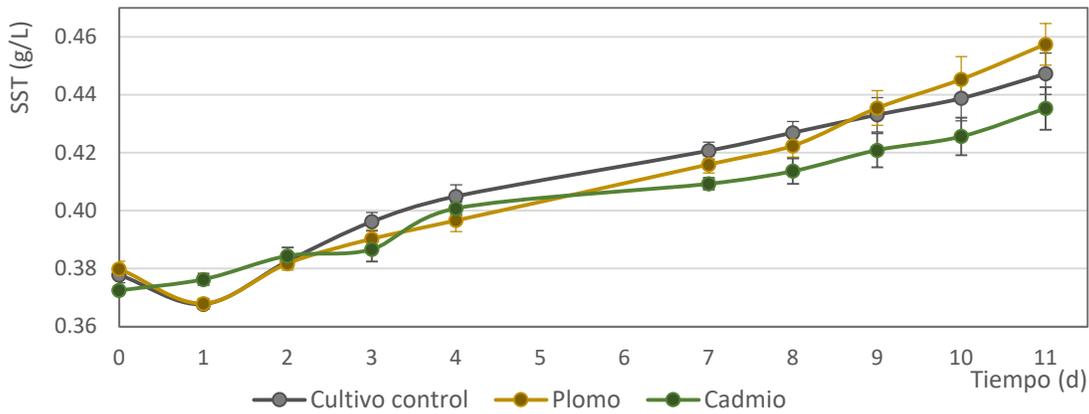


Figura 28. Curva de crecimiento de biomasa microalgal (SST) durante experimento de cinética de sorción de cadmio, plomo y del cultivo control, n=4.

Los cultivos con mayor crecimiento fueron los cultivos con plomo, esto se puede corroborar con las tasas de crecimiento, 0.017, 0.015 y 0.014 d⁻¹ para los cultivos con plomo, control y cadmio, respectivamente. De acuerdo con los resultados, se verifica que, el crecimiento de la biomasa microalgal no se vio afectada por la presencia de los iones metálicos en las concentraciones utilizadas, 2.49 y 4.90 mg·L⁻¹, respectivamente.

Por otro lado, en la tabla 18 se indican las concentraciones iniciales, finales, así como el porcentaje de remoción para ambos iones metálicos.

Tabla 18. Concentración inicial y final y % de remoción de cadmio y plomo en el experimento de cinética de sorción, n=4

	Concentración inicial mg·L ⁻¹	Concentración final mg·L ⁻¹	% Remoción
Cadmio	2.49 ± 0.16	0.007 ± 0.003	99.7%
Plomo	4.90 ± 0.07	0.44 ± 0.07	90.9%

Las remociones de cadmio y plomo obtenidas en el tratamiento con biomasa microalgal durante 11 días fueron de 99.7 y 90.9%, respectivamente. Las concentraciones al final del tratamiento del agua residual fueron de 0.007 y 0.44 mg·L⁻¹, por lo que el efluente cumple con los límites máximos permisibles para su uso en riego agrícola (0.4 y 1.0 mg L⁻¹) y para descarga de agua residual a sistemas de alcantarillado (0.75 y 1.5 mg L⁻¹) establecidos en las normas mexicanas [NOM-001-SEMARNAT-1996](#) y [NOM-002-SEMARNAT-1996](#).

Dado que el pH es un parámetro importante para evitar la precipitación de los iones metálicos, dicho parámetro se midió diariamente, en la figura 29 se presentan las mediciones de los 3 cultivos, control, con cadmio y con plomo. El pH del cultivo control

osciló de 5.9 a 6.15, el cultivo con cadmio de 5.9 a 6.0 y el cultivo con plomo, de 5.9 a 6.2. Los cultivos control y con plomo, tuvieron el pH más elevado los días 3 y 2, respectivamente. Con base en [Salam, 2019](#) la precipitación de cadmio inicia a pH > 8, mientras que para plomo mayores a 6.7, por lo que se descarta la precipitación por pH.

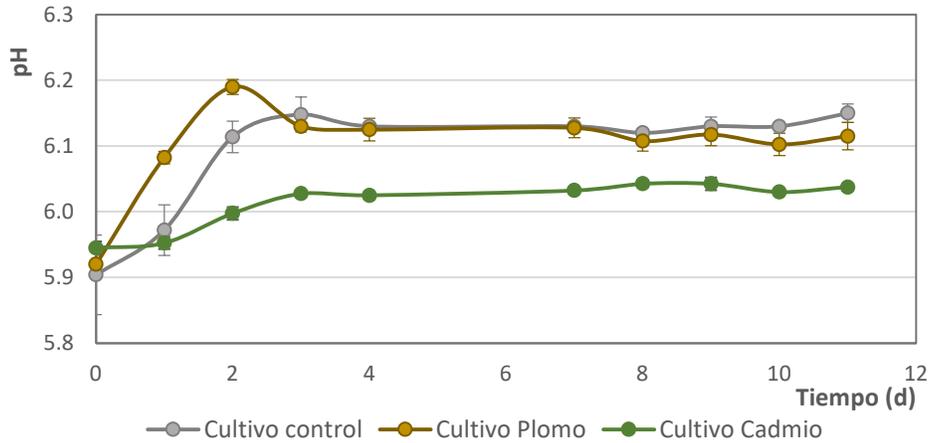


Figura 29. Curva de pH de los cultivos control, con cadmio y con plomo durante el tiempo de cultivo, n=4.

Al final del experimento se determinó la concentración de nitrógeno en forma de NO_3^- y NH_4^+ , así como de ortofosfatos para determinar la remoción de éstos después del tratamiento del agua residual con microalgas. En la figura 30 se muestran los porcentajes de remoción obtenidos para el cultivo control, así como de los cultivos con cadmio y plomo.

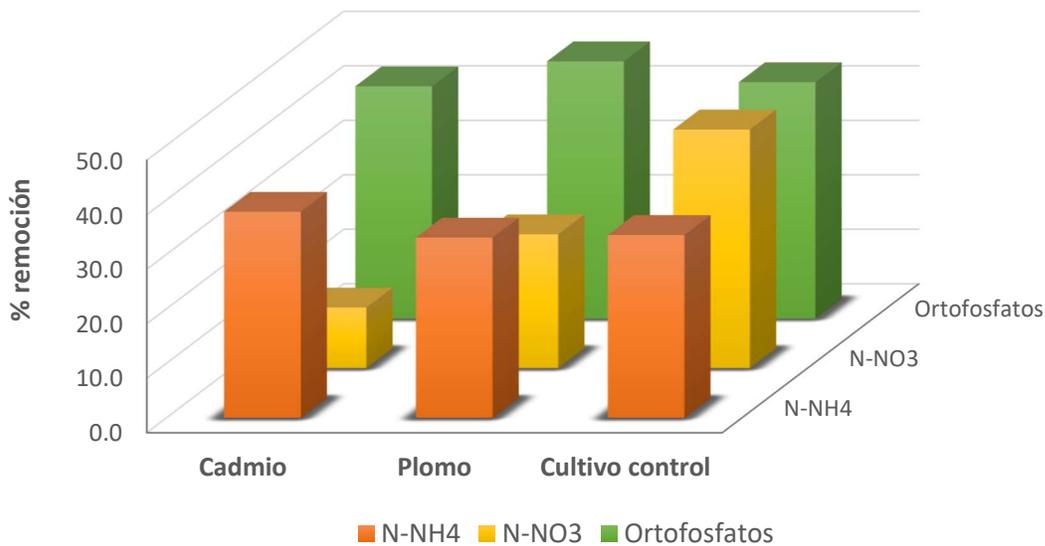


Figura 30. Remoción de nitrógeno amoniacal, nitratos y ortofosfatos en agua residual después de tratamiento con microalgas.

Los porcentajes de remoción de ortofostatos que se obtuvieron fueron 42.6 ± 1.1 , 47.2 ± 0.6 y $43.4 \pm 2.9\%$ de los cultivos con cadmio, plomo y control, respectivamente. La mejor remoción de ortofostatos se obtuvo en los cultivos con plomo, aunque considerando las desviaciones estándar del % de remoción de los cultivos control y plomo, los valores son muy similares. [Rugnini et al., 2018](#) reporta el mismo comportamiento con microalgas *Desmodesmus sp* en medio BG-11, puesto que indica que la adición de Cu y Ni no afectó en la remoción de fósforo.

La remoción de nitrógeno se determinó a través de las especies NH_4^+ y NO_3^- . Las remociones obtenidas de N-NH_4^+ fueron 37.8 ± 2.1 , 33.1 ± 1.4 y $33.54 \pm 2.0\%$ para los cultivos con cadmio, plomo y control, respectivamente. La mejor remoción de nitrógeno amoniacal se obtuvo en los cultivos con cadmio, donde se removió $3.3 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ o bien, $0.20 \text{ mmol de N} \cdot \text{L}^{-1}$ más comparado con los cultivos con plomo y control.

Respecto al NO_3^- , las remociones obtenidas fueron 11.1 ± 2.5 , 24.6 ± 1.3 y $43.8 \pm 3.4\%$. La menor remoción se obtuvo en los cultivos con cadmio, sin embargo, considerando que dicho cultivo removió $0.20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ de nitrógeno en forma de amoníaco más, correspondería a $12.1 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ y se obtendría una remoción de 28%, similar a la remoción de los cultivos con plomo. Aunado a dicha consideración, la remoción de nitrato fue mayor en el cultivo control, 43.8%, por lo que se tuvo una inhibición de 32.7% en los cultivos con cadmio y 19.2% con plomo.

Diferentes estudios han reportado inhibición en la asimilación de NO_3^- por las microalgas en presencia de metales pesados a pesar de no presentar inhibición en la tasa de crecimiento ([B. Chen et al., 2015](#); [Miao & Wang, 2006](#); [Mosulén et al., 2003](#); [Santos et al., 2019](#); [S. P. Singh & Yadava, 1983](#)).

[Singh & Yadava, 1983](#) reportan que la cianobacteria *Anacystis nidulans* en presencia de $4 \text{ mg Cd}^{2+} \cdot \text{L}^{-1}$ inhibe en un 50% la asimilación de NO_3^- e indica que la inhibición se puede deber a la competencia entre el Cd^{2+} y el nitrato por los sitios de captación. También plantea que la disminución en el consumo de nitrato se puede atribuir al agotamiento de ATP inducido por el ion metálico para el sistema reductor de NO_3^- . Mientras que Meharg, 1993 y Hernández et al., 1997 mencionados por [Miao & Wang, 2006](#) plantean que la exposición a altas concentraciones de metales pesados puede alterar la permeabilidad de la membrana plasmática de la microalga como consecuencia de la pérdida de funcionalidad de ésta. Por otro lado, [Mosulén et al., 2003](#) reporta la inhibición en un 20% en la asimilación de NO_3^- por la microalga *Chlamydomonas reinhardtii* con $33.7 \text{ mg Cd}^{2+} \cdot \text{L}^{-1}$ y a su vez, un aumento en la síntesis de glutamato.

Con base en el diagrama de la asimilación de nitrato por microalgas (figura 31), el nitrato es reducido a nitrito en el citosol, catalizado por NADH-nitrato reductasa (1), el nitrito entra al

cloroplasto, donde es reducido a amonio, catalizado por el ferredoxin-nitrito reductasa (Fd; 2). El amonio formado es asimilado por el ciclo de glutamina sintetasa (GS; 4)-glutamato sintasa (GOGAT) para la síntesis de glutamato, el cual es utilizado para la síntesis de proteínas.

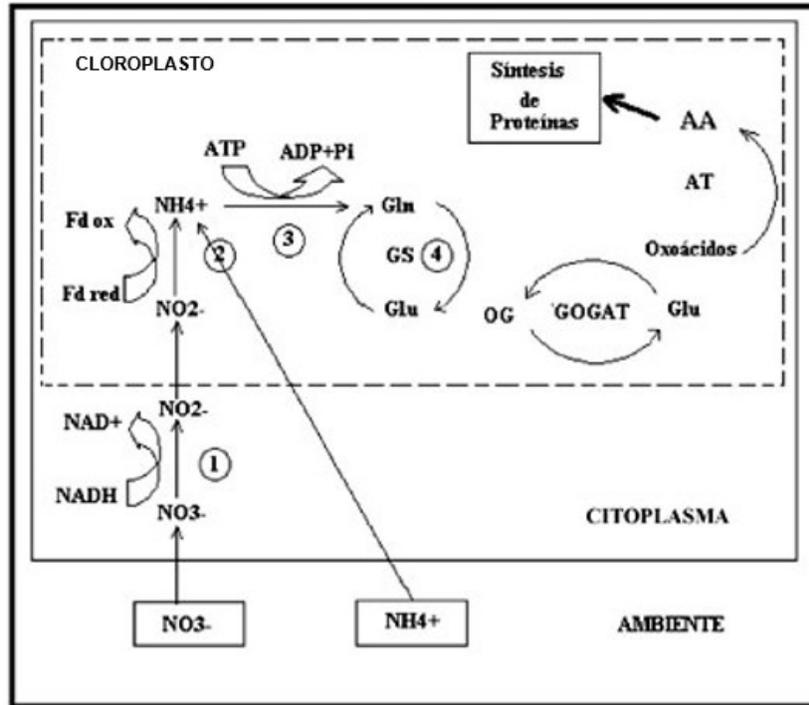


Figura 31. Reacciones para la asimilación de NO_3^- en tejidos vegetales (Iriarte et al., 2007).

El glutamato, requerido para la biosíntesis de fitoquelatinas, puede ser sintetizado la reacción de glutamato deshidrogenasa en lugar del ciclo GS-GO-GAT. Las PC's tienen un rol importante en la detoxificación por cadmio (Cortés Téllez et al., 2018; Nica & Aamonde, 2001).

6.4. Desorción

6.4.1. Pruebas de soluciones desorbentes

Se probó la eficiencia recuperación de cadmio y plomo con tres soluciones desorbentes, agua desionizada, solución de ácido clorhídrico 0.02 M y solución de EDTA 0.02 M. Como se observa en la tabla 19, se obtuvo una mejor eficiencia de recuperación con la solución de EDTA en ambos casos, se recuperó 75.3 y 87.73% de cadmio y plomo sorbido por la biomasa microalgal.

Tabla 19. Porcentaje de eficiencias de recuperación de Cadmio y Plomo de las soluciones desorbentes, n=3.

	Agua Desionizada	HCl 0.02 M	EDTA 0.02M
Cd (II)	2.42 ± 1.19	24.39 ± 2.55	75.30 ± 5.50
Pb (II)	5.57 ± 0.6	72.00 ± 10.82	87.73 ± 4.03

Las eficiencias de recuperación de plomo obtenidas experimentalmente se encuentran dentro de los valores reportados en la literatura, [Singh et al., 2007](#) reporta que obtuvo eficiencias de recuperación de plomo de 78.5% con solución de EDTA 0.1 M, 90% utilizando HCl 0.1M y 6.2% con agua destilada. Mientras que [Deng et al., 2007](#) obtuvo una recuperación de plomo de 82% utilizando EDTA 0.01M y [Gong et al., 2005](#) indica que utilizando soluciones de HCl 1.0 M y EDTA 4.53 M obtuvo eficiencias de 85 y 91%, respectivamente.

Respecto la recuperación de cadmio, experimentalmente se obtuvieron mejores resultados utilizando la solución de EDTA 0.02 M, 75.3%, mientras que [Monteiro et al., 2009](#) indica que utilizando la solución de EDTA a la misma concentración, recuperó prácticamente toda la cantidad de cadmio sorbida utilizando biomasa viva de *Scenedesmus obliquus*, a diferencia de [Yang et al., 2015](#) donde se reporta que con las soluciones de EDTA 0.5 y 1.0 M obtuvo eficiencias de 1.06 y 0.92%.

Por otro lado, [Ghoneim et al., 2014](#) y [Yang et al., 2015](#) reportan que obtuvieron mejores eficiencias de recuperación de cadmio utilizando soluciones de ácido clorhídrico 1.0 y 0.5 M, de 84.1% y 49.98%, respectivamente. La concentración de la solución de HCl utilizada experimentalmente, 0.02M, es menor a la reportada en la literatura, para evitar daños a la biomasa activa.

Para analizar los resultados de eficiencia de recuperación obtenidos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un intervalo de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$), en el que se encontró que existen diferencias significativas entre los tratamientos para ambos iones metálicos. Se realizó una prueba de Tukey a las medias de los tratamientos, con la cual se determinó que el caso del Cadmio, los tres tratamientos fueron significativamente diferentes, mientras que, en el caso del plomo, en los tratamientos con HCl y EDTA 0.02M no existen diferencias significativas, por lo que se podría utilizar como alguna de las dos soluciones desorbentes.

6.4.2. Viabilidad de biomasa

Para evaluar la viabilidad de la biomasa después del tratamiento de desorción, se realizaron cultivos durante 10 días con las condiciones antes mencionadas, agitación constante a 150

rpm, iluminación de $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en fotoperiodos luz:oscuridad de 12:12 h y temperatura ambiente. En la figura 32 se presentan las curvas de crecimiento de los cultivos con biomasa procedente de los tratamientos de desorción con agua desionizada y soluciones de HCl y EDTA 0.02 M, así como un cultivo control, en el que la biomasa utilizada no fue sometida al proceso de desorción.

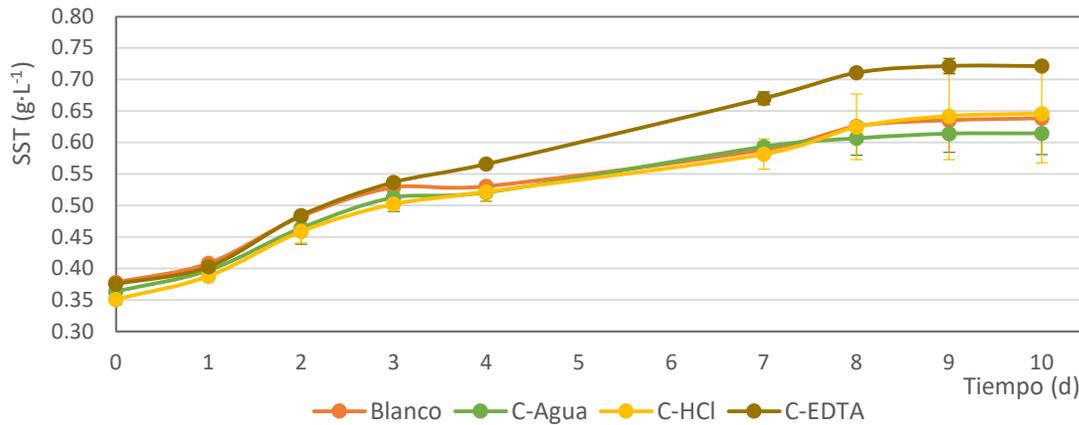


Figura 32. Curvas de crecimiento medida como SST de cultivos con biomasa pre-desorción.

El cultivo de biomasa con tratamiento de EDTA presentó mayor crecimiento microalgal en comparación con el cultivo control y los cultivos con biomasa provenientes del tratamiento de desorción con agua desionizada y ácido clorhídrico, dicho cultivo tuvo una productividad de $0.035 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$, mientras que los cultivos con los tratamientos con HCl, agua desionizada y control fueron 0.030 , 0.025 y $0.026 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$, respectivamente, como se observa en la tabla 20.

La tasa de crecimiento osciló de 0.052 a 0.065 d^{-1} , siendo la mayor tasa de crecimiento el cultivo con el tratamiento de EDTA.

Tabla 20. Productividad y Tasa de crecimiento de cultivos pre-tratamiento de desorción y cultivo control a los 10 días de crecimiento.

	Producción biomasa (g/L·d)	Tasa crecimiento (d ⁻¹)
Control	0.026 ± 0.001	0.052 ± 0.000
C-Agua	0.025 ± 0.005	0.052 ± 0.009
C-HCl	0.030 ± 0.008	0.061 ± 0.011
C-EDTA	0.035 ± 0.001	0.065 ± 0.000

Después del tiempo de cultivo, se determinó la concentración de NH_4^+ , NO_3^- , y ortofosfatos para evaluar la remoción de nutrientes. En la tabla 21 se presentan las remociones obtenidas en los cultivos control y en los cultivos con el tratamiento de desorción.

Tabla 21. Remoción de nutrientes por los cultivos sometidos al tratamiento de desorción y cultivo control.

	NH_4^+	NO_3^-	Ortofosfatos
Control	93% ± 0.00	0.0% ± 0.0%	65% ± 3.4%
C-Agua	91% ± 2.0%	-75.0% ± 8.5%	68% ± 3.2%
C-HCl	93% ± 1.7%	-62.5% ± 17.7%	78% ± 1.8%
C-EDTA	88% ± 2.0%	-50.0% ± 0.0%	87% ± 5.78%

La mayor remoción de nitrógeno amoniacal (N-NH_4^+) se obtuvo en los cultivos control y pre-tratamiento con HCl, 93%, mientras que la menor remoción se obtuvo en el cultivo pre-tratamiento con EDTA. Sin embargo, se observa que hubo un aumento en la concentración de nitratos en el medio, lo que indica que hubo procesos de nitrificación llevados a cabo por bacterias nitrificantes, convirtiendo el amonio en nitritos y posteriormente, a nitratos. Por lo que parte de la remoción de amonio, se debió a dichos procesos. Considerando la remoción como N molar, la remoción en los 4 casos fue de 91.9%, por lo que no hubo diferencias en los tratamientos. Respecto la remoción de ortofosfatos, se observó una mayor remoción en el cultivo con tratamiento de EDTA, seguido de los cultivos con tratamientos de HCl y agua desionizada y, por último, el cultivo control.

Para evaluar el crecimiento microalgal del cultivo control con los cultivos con los diferentes tratamientos de desorción, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un intervalo de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$) considerando como variable de respuesta la producción de biomasa y tasa de crecimiento, en el cual se aceptó la hipótesis nula, es decir, no existen diferencias significativas entre el cultivo control y los cultivos con pre-tratamiento de desorción, o bien, entre éstos. Por lo que, con base en los resultados del análisis estadístico, se determina que el tratamiento de desorción no afectó el crecimiento de la biomasa microalgal.

6.4.3. Desorción de metales durante cinética de sorción

Con base en los resultados de las pruebas de desorción, se eligió la solución de EDTA 0.02 M como solución desorbente para ambos metales. La cantidad de Cadmio o Plomo recuperada durante la desorción se considera como la cantidad de metal que fue sorbido por la superficie de la microalga, es decir, la cantidad de metal adsorbida por la biomasa microalgal.

Como se observa en la figura 33, mientras que el porcentaje de cadmio adsorbido disminuye, la sorción de cadmio aumenta durante el tiempo de cultivo, indicando que el ion metálico se está transportando al interior de la célula de la microalga. El porcentaje de

adsorción de cadmio en los días 1, 4, 7 y 11 fue de 55.8, 53.3, 50.3 y 10.9%, respectivamente, por lo que el transporte activo del ion metálico ocurrió principalmente a partir del día 7.

Monteiro *et al.*, 2009 indica que, la sorción de cadmio (concentración inicial $1.0 \text{ mg Cd}\cdot\text{L}^{-1}$) por la microalga *Scenedesmus obliquus* fue principalmente por adsorción en la superficie de la microalga, durante el tiempo de cultivo estudiado, 5 días, además indica que Cain *et. al.* (1980) describe que la bioacumulación de cadmio por la misma especie de microalga se incrementa al aumentar la concentración de dicho metal en el medio. Experimentalmente la concentración inicial de cadmio fue de 2.49 ppm, por lo que este puede ser uno de los motivos por el que el mecanismo de sorción principal es diferente a lo que se reporta en dicho artículo. Otra de las diferencias fue el tiempo de cultivo, en el presente trabajo fueron 11 días. Nacorda *et al.*, 2007 estudió la sorción de cadmio (concentración inicial $1 \text{ mg Cd}\cdot\text{L}^{-1}$) por la microalga de *Chlorella vulgaris*, encontrando que después de 12 días, el principal mecanismo de remoción fue por absorción y la proporción de metal absorbido frente al metal adsorbido fue de 2:1.

Igualmente Yang *et al.*, 2015 indica que el mecanismo principal de la sorción de cadmio en concentraciones de 0.2, 0.4 y 0.6 mM (22.5, 45 y 67.5 ppm) durante 180 minutos por la microalga *Chlorella minutissima* UTEX2341 fue principalmente por absorción e indica que se han identificado dos familias de proteínas presentes en la pared celular de la microalga *Chlorella reinhardtii* responsables en el transporte de iones metálicos, que son las proteínas ZIP y las proteínas transportadoras de cobre, COPT.

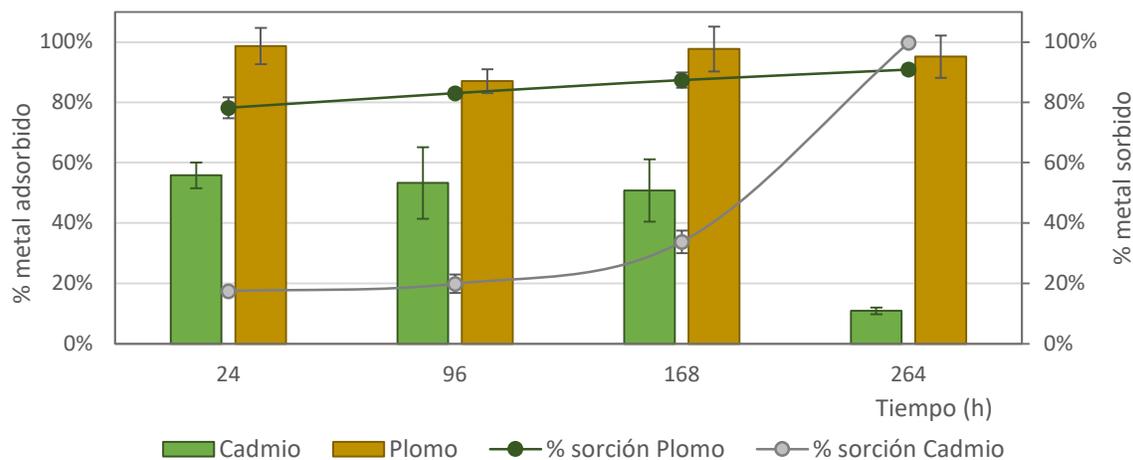


Figura 33. Porcentaje de Cadmio y Plomo recuperado durante la desorción con solución de EDTA 0.02 M, n=4.

Por otro lado, no se observan variaciones en los porcentajes de sorción y el porcentaje de plomo adsorbido durante el tiempo de cultivo como en el caso del cadmio. El porcentaje de adsorción de plomo en los días 1, 4, 7 y 11 son 98.7, 87.0, 97.7 y 95.2%, respectivamente.

A través del análisis por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier, [Gong et al., 2005](#) sugiere que el mecanismo de sorción predominante del plomo en biomasa de *Spirulina maxima* es intercambio iónico, así mismo reporta eficiencias de desorción > 90%. [Miranda et al., 2012](#) estudió la sorción de plomo en concentraciones de 10 a 100 mg·L⁻¹ por la cianobacteria *Oscillatoria laete-virens* encontrando que, al aumentar la concentración de plomo en el medio (> 80 mg·L⁻¹), aumenta la bioacumulación del metal en la cianobacteria. Utilizando la concentración inicial de plomo de 10 ppm, a los 8 días de cultivo, obtuvo una sorción de 7.06 mg·g⁻¹, de lo cual 6.86 mg·g⁻¹ fue removido por desorción y 0.20 mg·g⁻¹ por absorción, es decir, el 97% del plomo removido fue a través del mecanismo de adsorción. Dichos resultados son similares a lo encontrado experimentalmente.

6.5. Digestión de biomasa microalgal

La cantidad de cadmio o plomo recuperada durante la digestión ácida de la biomasa después del tratamiento de desorción se considera como la cantidad que se transportó al interior de la microalga, es decir, la cantidad de metal absorbida por la biomasa microalgal.

En la figura 34 se presentan los porcentajes de absorción de cadmio y plomo por la biomasa microalgal. Se corrobora que el mecanismo principal de remoción de cadmio varía en función del tiempo, ya que el % de cadmio absorbido aumenta de 33.2 a 63.5 del día 1 al día 11, es decir, la internalización del cadmio aumentó en un 30%. Dicho comportamiento ha sido reportado por [Pérez-Rama et al., 2002](#) e indica que la acumulación de cadmio dentro de la célula aumenta al incrementar la concentración de cadmio en el medio y el tiempo de exposición.

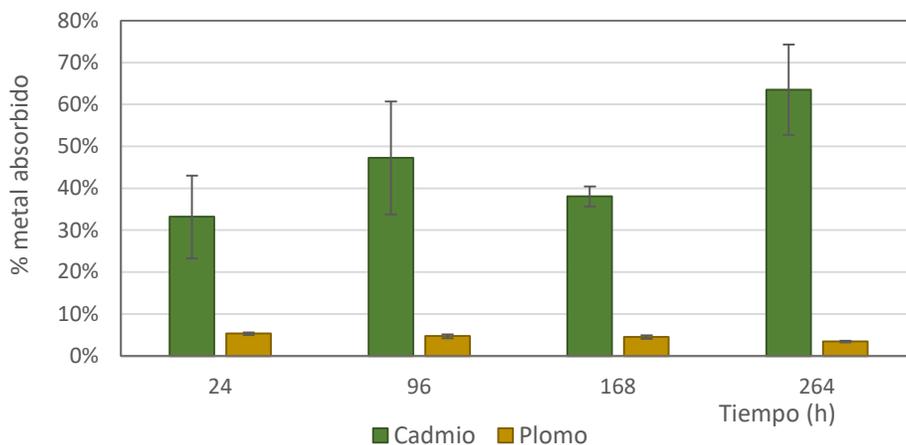


Figura 34. Porcentaje de Cadmio y Plomo recuperado durante la digestión de la biomasa microalgal, n=2.

La absorción de plomo osciló de 5.3% a 3.5% del día 1 al 11. Dicho comportamiento era esperado, ya que la sorción de plomo y el % de remoción por absorción se mantuvo relativamente constante durante el tiempo de cultivo de 11 días. Esto ha sido reportado en la literatura, [Miranda et al., 2012](#) indica que utilizando la cianobacteria *Oscillatoria laetevirens*, concentración de plomo de 10 ppm y a los 8 días, la cantidad absorbida por la biomasa fue de 0.20 mg·g⁻¹ de 6.93 mg·g⁻¹ sorbido, es decir sólo el 2.9% de la sorción de plomo fue por absorción; [Liang et al., 2017](#) encontró que la sorción de plomo por la microalga *Chlorella sorokiniana* se lleva a cabo principalmente por adsorción, ya que al utilizar concentración inicial de plomo de 25.0 mg·L⁻¹, únicamente el 1.8% de plomo fue absorbido por la microalga.

6.6. Balance de masa de Cd y Pb sorbido

El balance de masa se realizó considerando los resultados obtenidos de la muestra de 30 mL que se tomó para realizar la desorción del metal y posteriormente, la digestión de la biomasa durante el experimento de Cinética de sorción. Como se mencionó en los puntos 6.4.3 y 6.5, la sorción de cadmio aumentó durante el tiempo de cultivo (figura 35), obteniendo el mayor porcentaje de remoción a los 11 días, 99.8%. Dicho aumento en la remoción está relacionado principalmente con el transporte del ion metálico al interior de la célula, ya que la cantidad de cadmio removido por absorción en el día 1 y 11 fue de 0.004 y 0.045 mg Cd, es decir, aumentó 11 veces la cantidad al interior de la célula, como se observa en la figura 35.

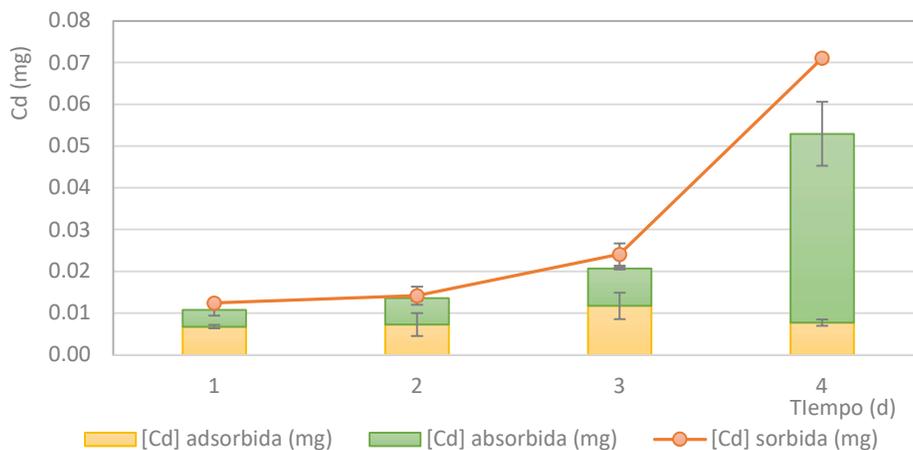


Figura 35. Balance de masa de la sorción de cadmio considerando como mecanismos de sorción adsorción y absorción.

En la tabla 22 se presenta el balance de masa de cadmio (considerando una muestra de 30 mL) en la que se observa que el porcentaje de recuperación considerando la masa de Cd adsorbido y Cd absorbido son de 98, 99 y 102% para los días 1, 4 y 7, respectivamente, lo que nos

indica que los métodos que se llevaron a cabo para realizar la desorción y digestión de la muestra, son confiables. La recuperación que se obtuvo en el último día, 84%, fue baja considerando los demás resultados, lo cual se pudo deber a la pérdida de biomasa durante el centrifugado de las muestras.

Tabla 22. Balance de masa de la sorción de cadmio biomasa microalgal durante 11 días.

Tiempo (d):	1	4	7	11
<i>Cd acuosa (mg)</i>	0.059	0.057	0.052	0.000
<i>Cd sorbido (mg)</i>	0.012	0.014	0.024	0.071
<i>Cd adsorbido (mg)</i>	0.007	0.007	0.012	0.008
<i>Cd absorbido (mg)</i>	0.004	0.006	0.009	0.045
<i>% Recuperación (Cd_{ac} + Cd_{adsorbido} + Cd_{absorbido})</i>	98%	99%	102%	84%
<i>Cd inicial (mg)</i>	0.071			

La sorción de plomo por la biomasa microalgal no tuvo variaciones como en el caso del cadmio, lo cual se puede corroborar con el valor obtenido de q_e , ya que a partir de las 24 h hasta al terminar el experimento fue de $10.05 \pm 0.35 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, aunque el mayor porcentaje de remoción se obtuvo a los 11 días, 90.9%. Dado que no hubo aumento en la bioacumulación del ion metálico (figura 36), el aumento en la sorción se puede deber al crecimiento de la biomasa microalgal, considerando como SST, de 380 a 457 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

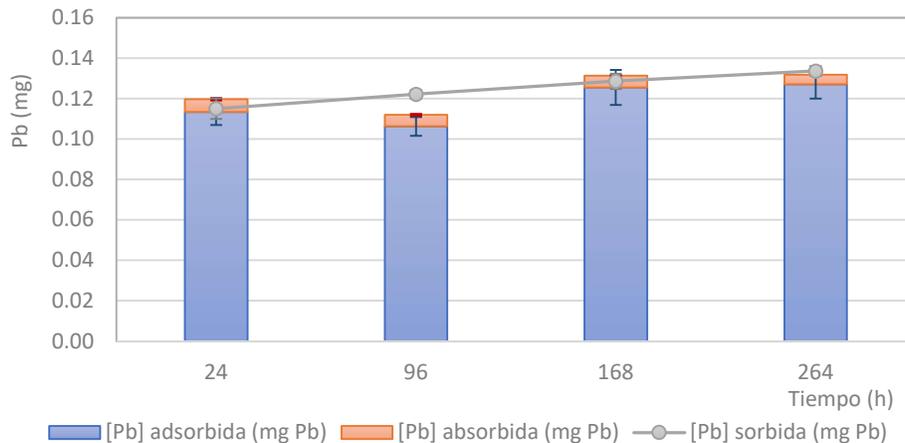


Figura 36. Balance de masa de la sorción de plomo considerando como mecanismos de sorción adsorción y absorción.

En la tabla 23 se presentan los datos del balance de plomo (en muestra de 30 mL), en la que el porcentaje de recuperación considerando la masa de $Cd_{adsorbido}$ y $Cd_{absorbido}$ la recuperación de los días 1 y 7, hubo una sobreestimación de 3 y 2%, respectivamente.

Tabla 23. Balance de masa de la sorción de plomo por biomasa microalgal durante 11 días.

Tiempo (d)	1	4	7	11
<i>Pb acuoso (mg)</i>	0.032	0.025	0.019	0.013
<i>Pb sorbido (mg)</i>	0.115	0.122	0.129	0.134
<i>Pb adsorbido (mg)</i>	0.114	0.106	0.126	0.127
<i>Pb absorbido (mg)</i>	0.006	0.006	0.006	0.005
<i>% Recuperación ($Pb_{ac} + Pb_{adsorbido} + Pb_{absorbido}$)</i>	103%	93%	102%	99%
<i>Pb inicial (mg)</i>	0.147			

Al final del tratamiento del agua residual con $2.49 \text{ mg cadmio}\cdot\text{L}^{-1}$ por biomasa microalgal con predominancia de los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp.*, la concentración de cadmio en el medio acuoso es $0.007 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que la concentración en la biomasa es de $5.7 \text{ mg Cd}\cdot\text{g}^{-1}$ de la cual únicamente $0.62 \text{ mg Cd}\cdot\text{g}^{-1}$ puede ser recuperada sometiendo a la biomasa por el proceso de desorción con solución de EDTA.

Por otro lado, añadiendo $4.90 \text{ mg plomo}\cdot\text{L}^{-1}$ al agua residual, la concentración de plomo en el medio después del tratamiento con el consorcio de microalgas es de $0.44 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que la concentración en la biomasa es de $9.75 \text{ mg Pb/g biomasa}$. Dado que el mecanismo principal de la sorción de plomo es por adsorción, prácticamente todo el metal puede ser recuperado por desorción con solución de EDTA 0.02M.

7. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos, se acepta de forma parcial la hipótesis de investigación, ya que la sorción de cadmio por el consorcio de microalgas con predominancia en los géneros *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus sp.* varía en función del tiempo, en cultivos mayores a 4 días, el mecanismo principal de remoción es por absorción. La sorción de plomo cumple con la hipótesis, ya que el mecanismo principal de sorción bajo las condiciones de estudio es por adsorción.

- i. La isoterma de cadmio se ajustó igualmente a los dos modelos de Freundlich y Langmuir, mientras que los datos de la isoterma de plomo se ajustaron mejor al modelo de Langmuir. Con base en dichos modelos la capacidad de sorción máxima fue de 6.08 y 9.23 mg·g⁻¹ para cadmio y plomo, respectivamente.
- ii. Las EC₅₀ que se determinaron para cadmio y plomo, bajo las condiciones de estudio son de 3.70 y > 21.40 mg·L⁻¹, respectivamente.
- iii. La sorción de ambos iones metálicos se ajustó al modelo cinético de pseudo-segundo orden. Las velocidades de sorción de cadmio y plomo, v_2 , que se obtuvieron fueron 0.02 y 0.09 g·mmol⁻¹·min⁻¹, lo que indica que la sorción de plomo es 4.5 veces más rápida que la sorción de cadmio.
- iv. El mecanismo de remoción de cadmio está determinado en función del tiempo, se encontró que el 55% del cadmio removido al día 1 ocurrió mediante adsorción y 33% por absorción. En el día 11, se determinó un aumento en la absorción de hasta 63.5%. Es decir, al aumentar el tiempo de cultivo, el mecanismo principal de remoción será por absorción, mientras que, en tiempos cortos de cultivo, el mecanismo principal será por adsorción.

El principal mecanismo de remoción de plomo es por adsorción, durante el periodo de tratamiento, 11 días, el 94.7 ± 5% fue removido por dicho mecanismo, mientras que únicamente el 4.5 ± 1.0% de plomo se removió por absorción.

Al finalizar el tratamiento del agua residual, los porcentajes de remoción de cadmio y plomo fueron 99.7 y 90.9%, respectivamente. Las concentraciones en el medio al final del tratamiento del agua residual fueron de 0.007 y 0.44 mg·L⁻¹, por lo que el efluente cumple con los límites máximos permisibles para su uso en riego agrícola (0.4 y 1.0 mg L⁻¹) y para descarga de agua residual a sistemas de alcantarillado (0.75 y 1.5 mg L⁻¹) establecidos en las normas mexicanas [NOM-001-SEMARNAT-1996](#) y [NOM-002-SEMARNAT-1996](#).

- v. La presencia de cadmio y plomo no afectó la remoción de ortofosfatos, los porcentajes de remoción obtenidos fueron 42.6 ± 1.1 y $47.2 \pm 0.6\%$ de los cultivos con cadmio y plomo, respectivamente. Sin embargo, la asimilación de nitrógeno en forma de nitratos se vio afectada por la presencia de metales, se inhibió 28% en los cultivos con cadmio y 19.2% en los cultivos con plomo. Las remociones de nitrógeno en forma de NH_4^+ y NO_3^- al final del tratamiento fueron 37.8 y 33.1%, 11.1 y 24.6%, respectivamente.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abdulkareem, P. M., & Anwer, S. S. (2020). Biosorption of cadmium and lead using microalgae spirulina sp. Isolated from Koya City (Iraq). *Applied Ecology and Environmental Research*, 18(2), 2657–2668. https://doi.org/10.15666/aeer/1802_26572668
- Abdel-Raouf, N. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(3), 257–275. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>
- Ajayan, K. V., Selvaraju, M., Unnikannan, P., & Sruthi, P. (2015). Phycoremediation of Tannery Wastewater Using Microalgae Scenedesmus Species. *International Journal of Phytoremediation*, 17(10), 907–916. <https://doi.org/10.1080/15226514.2014.989313>
- Alcántara, C., Posadas, E., Guieysse, B., & Muñoz, R. (2015). Microalgae-based Wastewater Treatment. *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*, 439–455. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00029-7>
- Amábilis Sosa, L. E. (2015). *Remoción de metales pesados en humedales artificiales inoculados con cepas tolerantes (tesis doctoral)*. Facultad de Química, UNAM, México.
- Apiratikul, R., & Pavasant, P. (2008). Batch and column studies of biosorption of heavy metals by *Caulerpa lentillifera*. *Bioresource Technology*, 99(8), 2766–2777. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.036>
- Arredondo-vega, B. O., & Voltolina, D. (2007). *Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento*. En Arredondo y Voltolina (eds.), *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal*. México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S., pp. 22-29.
- Aksu, Z. (2001). Equilibrium and kinetic modelling of cadmium (II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system : effect of temperature. *Separation and Purification Technology*, 21, 285–294.
- Aksu, Z., & Dönmez, G. (2006). Binary biosorption of cadmium(II) and nickel(II) onto dried *Chlorella vulgaris*: Co-ion effect on mono-component isotherm parameters. *Process Biochemistry*, 41(4), 860–868. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.10.025>
- Alyüz, B., & Veli, S. (2009). Kinetics and equilibrium studies for the removal of nickel and zinc from aqueous solutions by ion exchange resins. *Journal of Hazardous Materials*, 167(1–3), 482–488. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.006>
- Barakat, M. A. (2011). New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*, 4(4), 361–377. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.07.019>
- Bonilla-y-Fernández, M.-N. (2014). Concentraciones de metales pesados totales en aguas residuales vertidas a ecosistemas acuáticos por dos parques industriales en Puebla , México. *Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa*, 02.
- Bdulkareem, A., & Nwer, P. M. A. (2020). Biosorption Of Cadmium And Lead Using

- Microalgae *Spirulina* Sp. Isolated From Koya City (Iraq). *Applied Ecology And Environmental Research*, 18(2), 2657–2668.
- Bulgariu, D., & Bulgariu, L. (2012). Equilibrium and kinetics studies of heavy metal ions biosorption on green algae waste biomass. *Bioresource Technology*, 103(1), 489–493. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.10.016>
- Bulgariu, L., & Gavrilescu, M. (2015). Bioremediation of Heavy Metals by Microalgae. In *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00030-3>
- Calva B., Laura Georgina; Torres A., M. del R. (2004). Metales pesados y sus efectos en organismos. *ContactoS*, 51, 33–42.
- Campos, O. F. S. (2019). Estudio termodinámico de la precipitación de Cadmio en soluciones contaminadas. *17th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology: "Industry, Innovation, And Infrastructure for Sustainable Cities and Communities,"* (July 2019), 24–26.
- Cañizares-Villanueva, R. O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42(3), 131–143.
- Castañé, P. M., Topalián, M. L., Cordero, R. R., & Salibián, A. (2003). Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad. *Revista de Toxicología*, 20(1), 13–18.
- Caviedes Rubio, D. I., Muñoz Calderón, R. A., Perdomo Gualtero, A., Rodríguez Acosta, D., & Sandoval Rojas, I. J. (2015). Tratamientos para la Remoción de Metales Pesados Comúnmente Presentes en Aguas Residuales Industriales. Una Revisión. *Ingeniería y Región*, 13(1), 73. <https://doi.org/10.25054/22161325.710>
- Chen, B., Li, F., Liu, N., Ge, F., Xiao, H., & Yang, Y. (2015). Bioresource Technology Role of extracellular polymeric substances from *Chlorella vulgaris* in the removal of ammonium and orthophosphate under the stress of cadmium. *BIORESOURCE TECHNOLOGY*, 190, 299–306. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.080>
- Chen, Q., Luo, Z., Hills, C., Xue, G., & Tyrer, M. (2009). Precipitation of heavy metals from wastewater using simulated flue gas: Sequent additions of fly ash, lime and carbon dioxide. *Water Research*, 43(10), 2605–2614. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.007>
- Cheng, J., Yin, W., Chang, Z., Lundholm, N., & Jiang, Z. (2017). Biosorption capacity and kinetics of cadmium(II) on live and dead *Chlorella vulgaris*. *Journal of Applied Phycology*, 29(1), 211–221. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0916-2>
- Chojnacka, K., Chojnacki, A., & Górecka, H. (2005). Biosorption of Cr³⁺, Cd²⁺ and Cu²⁺ ions by blue-green algae *Spirulina* sp.: Kinetics, equilibrium and the mechanism of the process. *Chemosphere*, 59(1), 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.005>
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2007). Manual de agua potable, alcantarillado y

- saneamiento. Operación y mantenimiento de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales: Lagunas de estabilización. *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales*, (978-968-5), 36–41. <https://doi.org/978-968-817-880-5>
- Cortés Téllez, A. A., Sánchez-Fortún Rodríguez, S., & Bartolomé Camacho, C. (2018). Mecanismos de resistencia a metales tóxicos (Cd) bajo variaciones abióticas en microalgas. *TIP. Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 21(1), 40–52. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.08.005>
- Cuizano, N., & Navarro, A. (2008). Biosorción de metales pesados por algas marinas: posible solución a la contaminación a bajas concentraciones. *Anales de La Real Sociedad Española de Química*, (2), 120–125.
- Dada, A. ., Olalekan, A. P., Olatunya, A. M., & Dada, O. (2012). Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin–Radushkevich Isotherms Studies of Equilibrium Sorption of Zn 2+ Unto Phosphoric Acid Modified Rice Husk. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 3(1), 38–45. <https://doi.org/10.9790/5736-0313845>
- Dao, L. H. T., & Beardall, J. (2016). Effects of lead on two green microalgae *Chlorella* and *Scenedesmus*: Photosystem II activity and heterogeneity. *Algal Research*, 16, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.006>
- Deng, L., Su, Y., Su, H., Wang, X., & Zhu, X. (2007). Sorption and desorption of lead (II) from wastewater by green algae *Cladophora fascicularis*. *Journal of Hazardous Materials*, 143(1–2), 220–225. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.09.009>
- Dirbaz, M., & Roosta, A. (2018). Adsorption, kinetic and thermodynamic studies for the biosorption of cadmium onto microalgae *Parachlorella* sp. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 2302–2309. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.03.039>
- Edris, G., Alhamed, Y., & Alzahrani, A. (2014). Biosorption of Cadmium and Lead from Aqueous Solutions by *Chlorella vulgaris* Biomass: Equilibrium and Kinetic Study. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 39(1), 87–93. <https://doi.org/10.1007/s13369-013-0820-x>
- Essington, M. E. (2005). Soil and water chemistry: An integrative approach. In *CRC PRESS* (Issue 2003058468).
- Flouty, R., & Estephane, G. (2012). Bioaccumulation and biosorption of copper and lead by a unicellular algae *Chlamydomonas reinhardtii* in single and binary metal systems: A comparative study. *Journal of Environmental Management*, 111, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.06.042>
- Fu, F., & Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *Journal of Environmental Management*, 92(3), 407–418. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.011>
- Gan, T., Zhao, N., Yin, G., Chen, M., Wang, X., Liu, J., & Liu, W. (2019). Optimal chlorophyll fluorescence parameter selection for rapid and sensitive detection of lead toxicity to marine microalgae *Nitzschia closterium* based on chlorophyll fluorescence

- technology. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 197(January), 111551. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111551>
- García, J., Pavía, M., García, T., Chirivella, J., & Serrano, A. (2017). Principios de Biotecnología y Bioingeniería en el cultivo de microalgas. *Nereis*, 9, 115–130. file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Dialnet-PrincipiosDeBiotecnologiaYBioingenieriaEnElCultivo-6041049.pdf
- Gautam, R. K., Mudhoo, A., Lofrano, G., & Chattopadhyaya, M. C. (2014). Biomass-derived biosorbents for metal ions sequestration: Adsorbent modification and activation methods and adsorbent regeneration. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1), 239–259. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.12.019>
- Geng, W., Xiao, X., Zhang, L., Ni, W., Li, N., & Li, Y. (2021). Response and tolerance ability of *Chlorella vulgaris* to cadmium pollution stress. *Environmental Technology (United Kingdom)*. <https://doi.org/10.1080/09593330.2021.1950841>
- Ghoneim, M. M., El-desoky, H. S., El-moselhy, K. M., Amer, A., El-naga, E. H. A., Mohamedein, L. I., & Al-prol, A. E. (2014). Removal of cadmium from aqueous solution using marine green algae, *Ulva lactuca*. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 40(3), 235–242. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2014.08.005>
- Gonçalves, A. L., Pires, J. C. M., & Simões, M. (2017). A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*, 24, 403–415. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>
- Gong, R., Ding, Y., Liu, H., Chen, Q., & Liu, Z. (2005). Lead biosorption and desorption by intact and pretreated spirulina maxima biomass. *Chemosphere*, 58, 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.08.055>
- González Balderas, R. de M. (2020). *Disrupción de microalgas por ultrasonido y ozono para incrementar la recuperación de biocomponentes valorizables*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gupta, V. K., & Rastogi, A. (2008). Sorption and desorption studies of chromium(VI) from nonviable cyanobacterium *Nostoc muscorum* biomass. *Journal of Hazardous Materials*, 154(1–3), 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.10.032>
- Hanikenne, M., Merchant, S. S., & Hamel, P. (2009). Transition Metal Nutrition: A Balance Between Deficiency and Toxicity. *The Chlamydomonas Sourcebook 3-Vol Set*, 2, 333–399. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370873-1.00018-6>
- He, J., & Chen, J. P. (2014). A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass : Materials , performances , chemistry , and modeling simulation tools. *Bioresource Technology*, 160, 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.068>
- Hernández-García, A. (2017). *Efecto de las condiciones de cultivo en la composición bioquímica y producción de biomasa de un consorcio de microalgas cultivadas en agua residual y lixiviado*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hernández-garcía, A., Velásquez-orta, S. B., Novelo, E., Yáñez-noguez, I., Monje-ramírez, I.,

- & Orta, M. T. (2019). Wastewater-leachate treatment by microalgae : Biomass, carbohydrate and lipid production. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174(August 2018), 435–444. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.052>
- Ho, Y. S., & McKay, G. (1998). Kinetic Model for Lead (II) Sorption on to Peat. *Adsorption Science & Technology*, 16(4), 243–255. <https://doi.org/10.1177/026361749801600401>
- Huisman, J. L., Schouten, G., & Schultz, C. (2006). Biologically produced sulphide for purification of process streams, effluent treatment and recovery of metals in the metal and mining industry. *Hydrometallurgy*, 83(1–4), 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.03.017>
- J. Masojidek, G. T. (2014). Mass Cultivation of Freshwater Microalgae. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*, June, 2226–2235. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.09373-8>
- Kabbashi, N. A., Atieh, M. A., Al-mamun, A., Mirghami, M. E. S., Alam, Z., & Yahya, N. (2009). Kinetic adsorption of application of carbon nanotubes for Pb (II) removal from aqueous solution. 21, 539–544. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62305-0](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62305-0)
- Kratochvil, D., & Volesky, B. (1998). *Advances in the biosorption of heavy metals*. 16(July), 291–300.
- Kumar, K. S., Dahms, H., Won, E., Lee, J., & Shin, K. (2015). A promising tool for heavy metal remediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, 329–352. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.019>
- Leong, Y. K., & Chang, J. S. (2020). Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. *Bioresource Technology*, 303(January), 122886. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122886>
- Li, Y., Song, S., Xia, L., Yin, H., Viridiana, J., & Meza, G. (2019). Enhanced Pb (II) removal by algal-based biosorbent cultivated in high- phosphorus cultures. *Chemical Engineering Journal*, 361(December 2018), 167–179. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.12.070>
- Liang, S., Kang, Y., Zeng, L., Qin, Y., Wang, L., Zhang, Q., & Luo, J. (2017). How chlorella sorokiniana and its high tolerance to Pb might be a potential Pb biosorbent. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26(3), 1139–1146. <https://doi.org/10.15244/pjoes/67532>
- Lin, Z., Li, J., Luan, Y., & Dai, W. (2020). Application of algae for heavy metal adsorption: A 20-year meta-analysis.pdf. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190(110089). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110089>
- Ma, X., Guan, Y., Mao, R., Zheng, S., & Wei, Q. (2021). Modeling of lead removal by living *Scenedesmus obliquus* using backpropagation (BP) neural network algorithm. *Environmental Technology and Innovation*, 22, 101410. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101410>

- Mata, Y. N., Blázquez, M. L., Ballester, A., González, F., & Muñoz, J. A. (2008). Characterization of the biosorption of cadmium, lead and copper with the brown alga *Fucus vesiculosus*. *Journal of Hazardous Materials*, *158*(2–3), 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.01.084>
- Mera, R., Torres, E., & Abalde, J. (2016). Influence of sulphate on the reduction of cadmium toxicity in the microalga *Chlamydomonas moewusii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *128*, 236–245. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.02.030>
- Miao, A., & Wang, W. (2006). Cadmium toxicity to two marine phytoplankton under different nutrient conditions. *Aquatic Toxicology*, *78*, 114–126. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.02.008>
- Miranda, J., Krishnakumar, G., & D’Silva, A. (2012). Removal of Pb²⁺ from aqueous system by live *Oscillatoria laete-virens* (Crouan and Crouan) Gomont isolated from industrial effluents. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *28*(10), 3053–3065. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1115-1>
- Mirghaffari, N., Moeini, E., & Farhadian, O. (2014). Biosorption of Cd and Pb ions from aqueous solutions by biomass of the green microalga, *Scenedesmus quadricauda*. *Journal of Applied Phycology*, *27*(1), 311–320. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0345-z>
- Molazadeh, P., Khanjani, N., Rahimi, M. R., & Nasiri, A. (2015). Adsorption of lead by Microalgae *Chaetoceros* Sp . and *Chlorella* Sp . from Aqueous Solution. *Journal of Community Health Research*, *4*(2), 114–127.
- Monfet, E., & Unc, A. (2017). De fi ning wastewaters used for cultivation of algae. *Algal Research*, *24*, 520–526. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.008>
- Monteiro, C. M., Castro, P. M. L., & Malcata, F. X. (2010). Cadmium Removal by Two Strains of *Desmodesmus pleiomorphus* Cells. *Water, Air, and Soil Pollution*, *208*(1–4), 17–27. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0146-1>
- Monteiro, C. M., Castro, P. M. L., & Malcata, X. X. (2009). Use of the microalga *scenedesmus obliquus* to remove cadmium cations from aqueous solutions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *25*(9), 1573–1578. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0046-y>
- Mosulén, S., Domínguez, M. J., Vígara, J., Guiraum, A., & Vega, M. J. (2003). Metal toxicity in *Chlamydomonas reinhardtii*. Effect on sulfate and nitrate assimilation. *Biomolecular Engineering*, *20*, 199–203. [https://doi.org/10.1016/S1389-0344\(03\)00053-4](https://doi.org/10.1016/S1389-0344(03)00053-4)
- Nacorda, J. O., Torreta, N. K., & Merca, F. E. (2007). Metal resistance and removal by two strains of the green alga , *Chlorella vulgaris* Beijerinck , isolated from Laguna de Bay , Philippines. *J Appl Phycol*, *19*, 701–710. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9216-1>
- Nica, P. E., & Aamonde, E. N. T. O. V. (2001). CLASS III METALLOTHIONEINS IN RESPONSE TO CADMIUM TOXICITY IN THE MARINE MICROALGA TETRASELMIS SUECICA (KYLIN)

- BUTCH. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(9), 2061–2066.
- Nyström, F., Nordqvist, K., Herrmann, I., Hedström, A., & Viklander, M. (2020). Removal of metals and hydrocarbons from stormwater using coagulation and flocculation. *Water Research*, 182(115919). <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115919>
- OECD. (2011). Test Guideline No. 201: Freshwater Algae and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. *Organization for Economic Cooperation and Development*. <http://dx.doi.org/10.1787/9789264070561-en>
- Pantoja Munoz, L., Purchase, D., Jones, H., Raab, A., Urgast, D., Feldmann, J., & Garelick, H. (2016). The mechanisms of detoxification of As(III), dimethylarsinic acid (DMA) and As(V) in the microalga *Chlorella vulgaris*. *Aquatic Toxicology*, 175, 56–72. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.02.020>
- Peña-Salamanca, E. J., Rengifo-Gallego, A. L., & Benitez-Campo, N. (2011). Detoxification Mechanisms of Heavy Metals by Algal-Bacteria Consortia. *Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*, 441–450. <https://doi.org/10.1002/9781119977087.ch28>
- Pérez-Rama, M., Abalde Alonso, J., Herrero López, C., & Torres Vaamonde, E. (2002). Cadmium removal by living cells of the marine microalga *Tetraselmis suecica*. *Bioresource Technology*, 84, 265–270.
- Piotrowska-Niczyporuk, A., Bajguz, A., Zambrzycka, E., & Godlewska-żytkiewicz, B. (2012). Phytohormones as regulators of heavy metal biosorption and toxicity in green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 52, 52–65. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.11.009>
- Rangabhashiyam, S., & Balasubramanian, P. (2019). Characteristics, performances, equilibrium and kinetic modeling aspects of heavy metal removal using algae. *Bioresource Technology Reports*, 5(June 2018), 261–279. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.07.009>
- Rangsayatorn, N., Upatham, E. S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., & Lanza, G. R. (2002). Phytoremediation potential of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*: Biosorption and toxicity studies of cadmium. *Environmental Pollution*, 119(1), 45–53. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00324-4](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00324-4)
- Raungsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D., & Harvey, N. W. (2008). Removal of lead (Pb 2+) by the Cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. *Bioresource Technology*, 99, 5650–5658. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.056>
- Rugnini, L., Costa, G., Congestri, R., Antonaroli, S., Sanità di Toppi, L., & Bruno, L. (2018). Phosphorus and metal removal combined with lipid production by the green microalga *Desmodesmus* sp.: An integrated approach. *Plant Physiology and Biochemistry*, 125(January), 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.01.032>
- Salam, K. A. (2019). Towards sustainable development of microalgal biosorption for treating effluents containing heavy metals. *Biofuels/fuel Research Journal*, 22, 948–

961. <https://doi.org/10.18331/BRJ2019.6.2.2>
- Santos, F. M., Mazur, L. P., Mayer, D. A., Vilar, V. J. P., & Pires, J. C. M. (2019). Inhibition effect of zinc, cadmium, and nickel ions in microalgal growth and nutrient uptake from water: An experimental approach. *Chemical Engineering Journal*, 366(February), 358–367. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.080>
- Sari, A., & Tuzen, M. (2008). Biosorption of Pb(II) and Cd(II) from aqueous solution using green alga (*Ulva lactuca*) biomass. *Journal of Hazardous Materials*, 152(1), 302–308. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.06.097>
- Satoh, A., Vudikaria, L. Q., Kurano, N., & Miyachi, S. (2005). Evaluation of the sensitivity of marine microalgal strains to the heavy metals, Cu, As, Sb, Pb and Cd. *Environment International*, 31(5), 713–722. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.01.001>
- Şeker, A., Shahwan, T., Eroğlu, A. E., Yilmaz, S., Demirel, Z., & Dalay, M. C. (2008). Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies for the biosorption of aqueous lead(II), cadmium(II) and nickel(II) ions on *Spirulina platensis*. *Journal of Hazardous Materials*, 154(1–3), 973–980. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.11.007>
- Shanab, S., Essa, A., & Shalaby, E. (2012). Bioremoval capacity of three heavy metals by some microalgae species (Egyptian isolates). *Plant Signaling and Behavior*, 7(3). <https://doi.org/10.4161/psb.19173>
- Shen, Y., Li, H., Zhu, W., Ho, S. H., Yuan, W., Chen, J., & Xie, Y. (2017). Microalgal-biochar immobilized complex: A novel efficient biosorbent for cadmium removal from aqueous solution. *Bioresource Technology*, 244(August), 1031–1038. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.085>
- Singh, A., & Gaur, A. S. K. M. J. P. (2007). Removal of heavy metals from aqueous solution by common freshwater filamentous algae. 1115–1120. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9341-z>
- Singh, A., Kumar, D., & Gaur, J. P. (2007). Copper(II) and lead(II) sorption from aqueous solution by non-living *Spirogyra neglecta*. *Bioresource Technology*, 98(18), 3622–3629. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.041>
- Singh, J., & Saxena, R. C. (2015). An Introduction to Microalgae: Diversity and Significance. Diversity and Significance. *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*, 11–24. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00002-9>
- Singh, S. P., & Yadava, V. (1983). Cadmium induced inhibition of nitrate uptake in *Anacystis Nidulans*: Interaction with other divalent cations. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 304(29), 297–304.
- Slaveykova, V. I., & Wilkinson, K. J. (2002). Physicochemical aspects of lead bioaccumulation by *Chlorella vulgaris*. *Environmental Science and Technology*, 36(5), 969–975. <https://doi.org/10.1021/es0101577>
- Slaveykova, V. I., & Wilkinson, K. J. (2003). Effect of pH on Pb biouptake by the freshwater alga *Chlorella kesslerii*. *Environmental Chemistry Letters*, 1(3), 185–189.

<https://doi.org/10.1007/s10311-003-0041-8>

- Soto Regalado, E., Lozano Ramírez, T., Barbarín Castillo, J., & Alcalá Rodríguez, M. (2004). Remoción de metales pesados en aguas residuales mediante agentes químicos. *Ingenierías*, 7(23), 46–51.
- Spain, O, Plöhn, M, Funk, C. (2021). The cell wall of green microalgae and its role in heavy metal removal. *Physiologia Plantarum*, 1, 1–10. doi: 10.1111/PPL.13405
- Sulaymon, A. H., Mohammed, A. A., & Al-Musawi, T. J. (2013). Competitive biosorption of lead, cadmium, copper, and arsenic ions using algae. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(5), 3011–3023. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1208-2>
- Tejada-Tovar, C., Villabona-Ortiz, Á., & Garcés-Jaraba, L. (2015). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. *Tecnológicas*, 18(34), 109. <https://doi.org/10.22430/22565337.209>
- Vukovic, G. D., Marinkovic, A. D., Colic, M., Ristic, M. Đ., Aleksic, R., Peric-Grujic, A. A., & Uskokovic, P. S. (2010). Removal of cadmium from aqueous solutions by oxidized and ethylenediamine-functionalized multi-walled carbon nanotubes. *Chemical Engineering Journal*, 157, 238–248. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.11.026>
- Wang, H., Zhou, A., Peng, F., Yu, H., & Yang, J. (2007). Mechanism study on adsorption of acidified multiwalled carbon nanotubes to Pb (II). 316, 277–283. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.07.075>
- Wang, J., & Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27(2), 195–226. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.002>
- Yang, J. S., Cao, J., Xing, G. L., & Yuan, H. L. (2015). Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX2341. *Bioresource Technology*, 175, 537–544. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.124>
- Young, P., Taylor, M., & Fallowfield, H. J. (2017). Mini-review: high rate algal ponds, flexible systems for sustainable wastewater treatment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(6), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2282-x>
- Zeraatkar, A. K., Ahmadzadeh, H., Talebi, A. F., Moheimani, N. R., & McHenry, M. P. (2016). Potential use of algae for heavy metal bioremediation, a critical review. *Journal of Environmental Management*, 181, 817–831. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.059>

ANEXO A

TÉCNICAS ANALÍTICAS

A. ANEXO

Las técnicas analíticas mencionadas en el Capítulo 3: Metodología, se detallan a continuación.

A.1. Curva de calibración DQO

La determinación de la Demanda Química de Oxígeno se realizó con el método de reflujo cerrado colorimétrico (Método 5220 D). El análisis colorimétrico es una técnica cuantitativa basada en la comparación de la intensidad de un color entre una muestra problema y un estándar. Para determinar la concentración de una muestra, es necesario realizar una curva de calibración utilizando muestras estándares de concentración conocida [Ramírez-Burgos, et. al, 2008](#).

Reactivos:

- a) Solución de digestión 0.21 N: se disuelven 10.216 g de $K_2Cr_2O_7$ previamente secado a $103^\circ C$ durante 2 horas, 167 mL de ácido sulfúrico concentrado y 33.3 g de $HgSO_4$, aforar a 1 L con agua destilada.
- b) Reactivo con ácido sulfúrico: pesar 10.12 g de Ag_2SO_4 y adicionar 1 L de ácido sulfúrico concentrado.
- c) Hidrógenoftalato de potasio patrón (HFP): Disolver 0.425 g de $C_8H_5KO_4$ en agua destilada, previamente secado a $120^\circ C$ durante una hora y aforar a un litro.
 - a. Nota: El HFP tiene un DQO teórico de 1.176 mg O_2 /mg y esta solución tiene un DQO teórico de 500 mg O_2 /L.

Procedimiento:

- i. Acondicionamiento de la muestra: la muestra se filtra al vacío con papel filtro Whatman GF/A. En un tubo de vidrio se mezcla:
 - a. 2.5 mL de muestra o patrón o blanco
 - b. 1.5 mL de solución de digestión
 - c. 3.5 mL de reactivo con ácido sulfúricoNota: Se utiliza agua desionizada como blanco
- ii. Digestión: cerrar los tubos y homogeneizar la mezcla invirtiéndolos. Las muestras se digieren a $160^\circ C$ durante 2 horas en un termostato HACH modelo DRB 200.



Figura 37. Termostato HACH Modelo DRB 200.

- iii. Determinación de la reducción de dicromato: una vez que las muestras se enfríen, se limpian los tubos con una toalla de papel para realizar la medición de absorbancia a la longitud de onda 600 nm.



Figura 38. Patrones para elaboración de la curva de calibración.

- iv. Preparación de la curva de calibración: se prepararon una serie de patrones con la solución de hidrógenoftalato de potasio con equivalentes que oscilan entre 25 a 500 mg O₂/L como se indica en la tabla 24.

Puntos	mL de patrón	mL agua destilada	DQO teórica (mg/L)
1	0	50	0
2	2.5	47.5	25
3	5	45	50

4	7.5	42.5	75
5	10	40	100
6	12.5	37.5	125
7	15	35	150
8	17.5	32.5	175
9	20	30	200
10	25	25	250
11	30	20	300
12	35	15	350
13	40	10	400
14	45	5	450
15	50	0	500

Tabla 24. Concentraciones utilizadas para la curva de calibración

En la figura 39 se presenta la Curva de Calibración, en la cual se presenta la ecuación para relacionar la absorbancia y concentración.

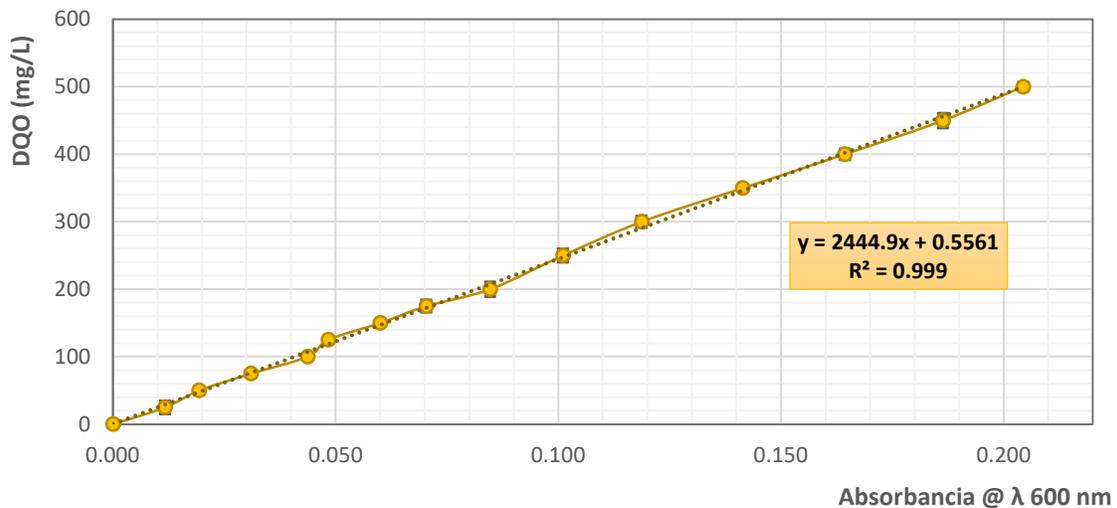


Figura 39. Curva de calibración DQO.

A.2. Curva Sólidos suspendidos totales (SST) vs Absorbancia λ680 nm

La determinación de SST se realizó con base en el método Método 2540 D como se describe a continuación.

Materiales y Equipo

- a) Concentrado de biomasa cultivada en agua residual
- b) Agua residual tratada

- c) Filtros de fibra de vidrio Whatman GF/A
- d) Charola de aluminio
- e) Equipo de filtrado al vacío
- f) Pipeta volumétrica de 10 mL
- g) Estufa y desecador
- h) Espectrofotómetro Hach DR3900

Procedimiento

- i. Preparación de filtros: colocar los filtros en una charola de aluminio y secarlo en la estufa a 103-105°C durante 60 minutos; retirar e introducir al desecador por 30 minutos. Retirar del desecador y pesar (registrar el peso).
- ii. Filtrado de muestra: Colocar el equipo para filtrar al vacío. Acomodar el filtro en el equipo y depositar 10 mL de la muestra de agua con ayuda de una pipeta volumétrica.
- iii. Retirar el filtro del equipo y colocarlo dentro de la charola de aluminio de nuevo. Introducir la charola con el papel filtro dentro de la estufa a 103-105°C durante dos horas.

Enfriar en el desecador, pesar el papel filtro y registrar datos.

Curva de calibración

Para la elaboración de la curva de calibración se prepararon patrones con diferente concentración de biomasa (previamente adaptada al medio) y se utilizó agua residual para diluir los patrones. En la tabla 25 se indica cómo se prepararon los patrones a partir de un cultivo previamente adaptado a agua residual.

Puntos	mL concentrado biomasa	mL AR	Absorbancia λ 680 nm
1 (blanco)	0	50	0
2	0.660	49.34	0.521
3	1.310	48.69	1.021
4	1.970	48.03	1.517
5	2.620	47.38	2.036
6	3.280	46.72	2.474

7	4.19	45.81	3.120
---	------	-------	-------

Tabla 25. Preparación de patrones para curva de calibración de SST.

En la figura 40 se presenta la Curva de Calibración, en la cual se presenta la ecuación para relacionar la absorbancia y los Sólidos Suspendedos Totales.

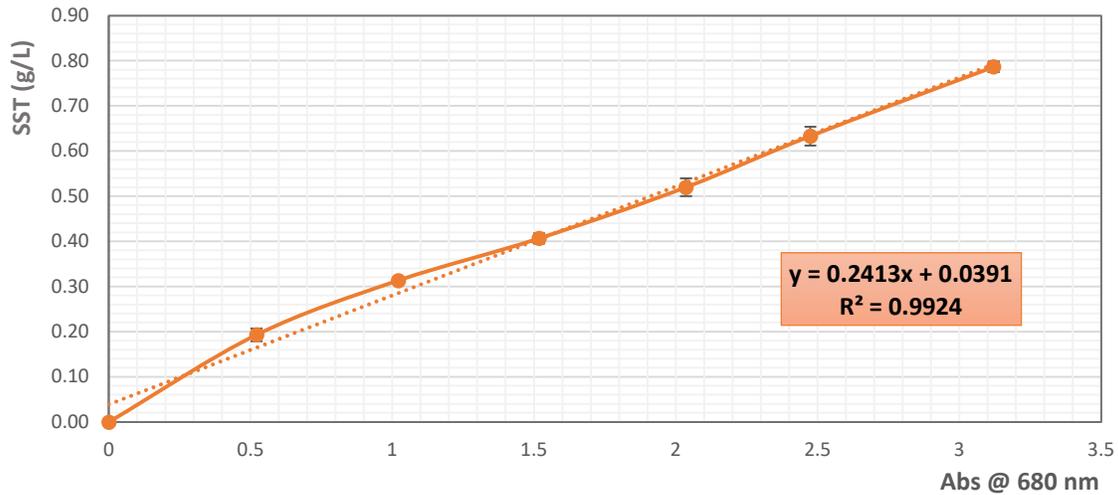


Figura 40. Curva de calibración de Sólidos Totales Suspendedos.

A.3. Curva de concentración de Clorofila vs Absorbancia λ 680 nm

La determinación de las clorofilas a y b se realizó con base en el método descrito por Toledo-Cervantes, *et.al.*, 2013 en el punto 5.5.1. En la tabla 25 se indican los volúmenes del consorcio microalgal (previamente adaptado al medio) y de agua residual que se utilizaron para para la preparación de los patrones, mientras que en la figura 41 se presenta la Curva de Calibración, en la cual se presenta la ecuación para relacionar la absorbancia y la concentración de Clorofilas a, b y a+b.

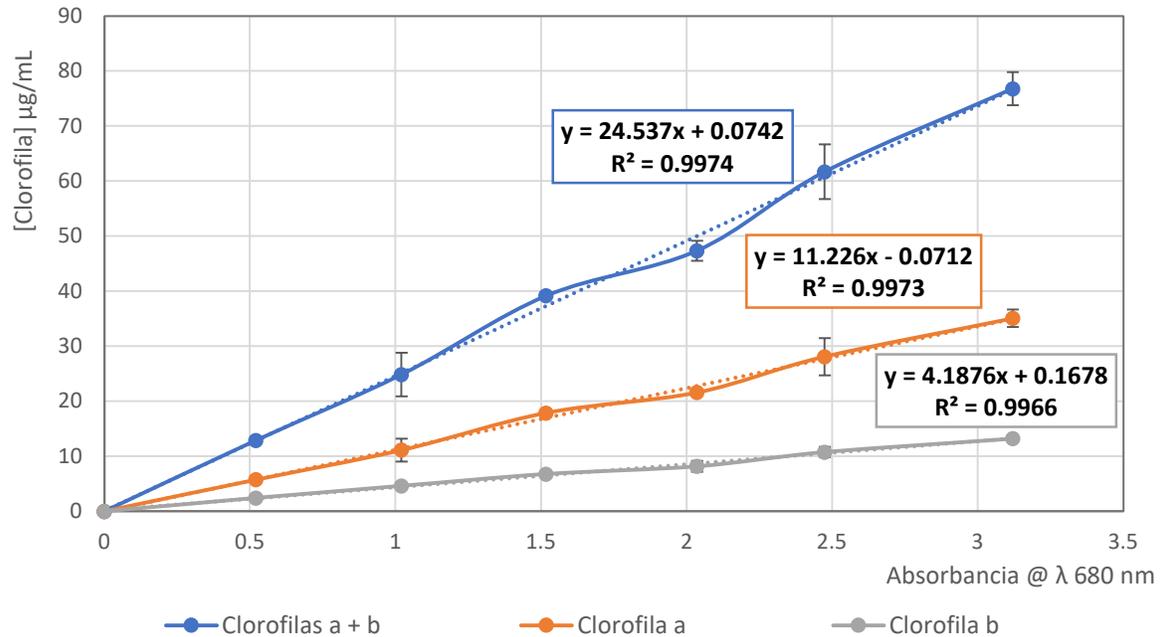


Figura 41. Curva de calibración de Clorofila.

A.4. Determinación de concentración de Cadmio (II) y Plomo (II)

La cuantificación de los metales en solución se realizó con los kits “Test Cadmio. Método fotométrico 0.002 - 0.500 mg/L Cd Spectroquant®” y “Test Plomo Método fotométrico 0.010 - 5.00 mg/L Pb Spectroquant®” con número de catálogo 101745 y 109717, respectivamente.

Ambos métodos se basan en la formación de un complejo de color con el metal, el cual se determina fotométricamente. Dado que los test de análisis únicamente determinan iones Cd (II) o Pb (II), para la determinación de los metales unidos en forma de complejo se realizó una digestión de la muestra con el kit “Crack Set 10” con número de catálogo 114687.

Materiales y Equipo

a) Test Cadmio

- Reactivo Cd-1: Polímero de etilenglicol, 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenol ($\geq 1\%$ - $< 2,5\%$), Tetraborato disódico ($\geq 1\%$ - $< 3\%$)
- Reactivo Cd-2: N, N-Dimetilformamida ($\geq 50\%$ - $< 100\%$)
- Reactivo Cd-3: Tiourea ($\leq 100\%$)

b) Test Plomo

- Reactivo Pb-1: Cianuro de potasio ($\geq 2,5\%$ - $< 7\%$)

- b. Reactivo Pb-2: Cloruro de hidroxilamonio ($\geq 20\%$ - $< 25\%$), Cloruro de amonio ($\geq 3\%$ - $< 10\%$), Amoniacó en solución acuosa ($\geq 2,5\%$ - $< 5\%$)
- c) Crack Set 10
 - a. Reactivo 1: Ácido sulfúrico ($\geq 20\%$ - $< 25\%$), Sulfato de cerio (IV) ($< 0,25\%$)
 - b. Reactivo 2: Nitrato de sodio ($\geq 50\%$ - $\leq 100\%$), Peroxodisulfato de dipotasio ($\geq 25\%$ - $< 50\%$)
 - c. Reactivo 3: Hidróxido de sodio ($\geq 10\%$ - $< 20\%$)
- d) Filtros Millipore de tamaño de poro de $0.45\ \mu\text{m}$
- e) Equipo de filtrado al vacío
- f) Termostato HACH modelo DRB 200
- g) Espectrofotómetro Hach DR3900

Procedimiento digestión de muestra

- i. Preparación de muestra: Filtrar la muestra al vacío utilizando filtro Millipore de tamaño de poro de $0.45\ \mu\text{m}$ y verificar que el pH de la muestra se encuentre dentro del rango de 5 a 8, en caso de que el valor de pH no esté dentro del rango, ajustar con solución de HNO_3 0.1 M o solución NaOH 0.1M.
- ii. Transferir 10 mL de muestra a un tubo de vidrio, añadir una gota de Reactivo-1 y una dosis del Reactivo-2, ambos reactivos del kit.
- iii. Colocar la muestra en el termoreactor, calentar la muestra durante una hora a 120°C . Una vez transcurrido el tiempo, sacar las muestras del equipo y enfriar a temperatura ambiente.
- iv. Después de que se enfríe la muestra, añadir 3 gotas del R-3 y mezclar. Medir pH con ayuda de tiras reactivas para medir pH y ajustar al rango del kit a usar.

Procedimiento determinación de [Cd (II)] o [Pb (II)]

- i. En caso de que no se digiera la muestra, filtrarla al vacío utilizando filtro Millipore de tamaño de poro de $0.45\ \mu\text{m}$ y verificar que el pH de la muestra se encuentre dentro del rango del kit a usar. Para la determinación de Cadmio el rango de pH es de 3 a 11, mientras que para la determinación de Plomo es de 3 a 6.
- ii. Diluir la muestra con agua desionizada para que se ajusten a los rangos de concentración de cada test: 0.002 - 0.500 mg/L para Cd y 0.010 - 5.00 mg/L Pb.
- iii. Para la determinación de Cadmio, en una celda de 16 mm añadir 1.0 mL del reactivo Cd-1, 10 mL de muestra, 0.20 mL de reactivo Cd-2 y mezclar, por último, agregar 1 microcuchara del reactivo Cd-3. Agitar vigorosamente, dejar en reposo 2 minutos y

determinar la absorbancia a la longitud de onda 525 nm. Utilizar como blanco agua desionizada.

- iv. Para la determinación de Plomo, en una celda de 16 mm añadir 0.50 mL del reactivo Pb-1, 0.50 mL del reactivo Pb-2 y 8.0 mL de muestra. Agitar vigorosamente y determinar la absorbancia de la muestra a la longitud de onda 525 nm. Utilizar como blanco agua desionizada.

Curva de calibración

Para la elaboración de la curva de calibración se prepararon soluciones con diferentes concentraciones de Cadmio o Plomo en agua desionizada, la cual se aciduló con 1 mL de ácido nítrico concentrado por un litro de solución para evitar la precipitación de los metales. En la tabla 26 se indican las concentraciones que se utilizaron para la elaboración de la curva de calibración de [Cd (II)] y [Pb (II)] vs absorbancia a 525 nm.

[Cd] mg/L	[Pb] mg/L
0.00	0.00
0.05	0.15
0.10	0.70
0.30	1.70
0.70	2.80
1.00	3.90
	5.00

Tabla 26. Concentraciones de soluciones de Cd (II) y Pb (II) para la elaboración de la curva de calibración.

En las figuras 43 y 44 se muestran las curvas de calibración en las que se relaciona la concentración en solución de Cd (II) y Pb (II) con la medición de absorbancia a 525 nm, así como la ecuación que relaciona dichos parámetros. Así mismo se comparan los datos obtenidos en el presente trabajo y los que reporta el proveedor.

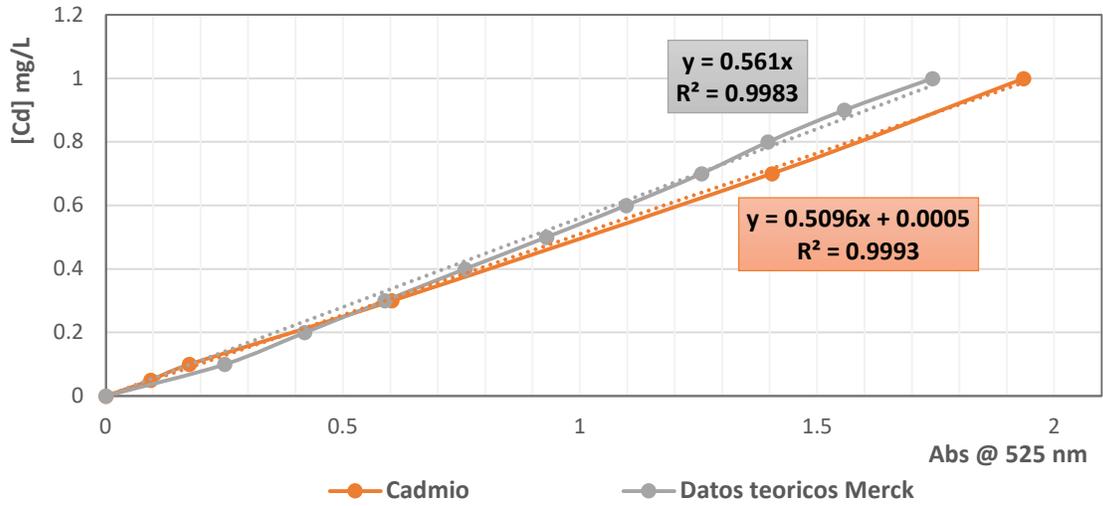


Figura 42. Curva de calibración de [Cd] mg/L vs. Absorbancia.

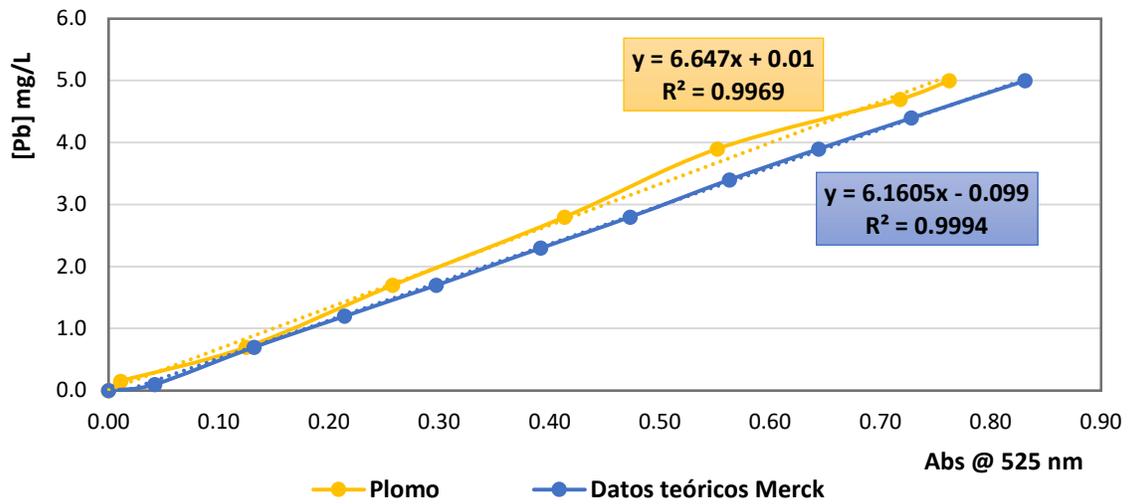


Figura 43. Curva de calibración de [Pb] mg/L vs. Absorbancia.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Posgrado de Ingeniería Ambiental por la formación recibida durante los estudios de Maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios.

A mi tutora principal, Dra María Teresa Orta Ledesma por el apoyo incondicional brindado durante la elaboración de este proyecto.

A los miembros del comité tutor, la Mtra. Gloria Moreno y el Dr. Armando González Sánchez por su asesoramiento, comentarios y sugerencias durante la realización de esta tesis. Así como a los miembros del comité ampliado, el Dr. Mario Villalobos y el Dr. Pandiyan Thangarasu por su incorporación a mi comité tutor y por sus comentarios que me permitieron mejorar y enriquecer mi trabajo.

A los académicos del grupo de investigación, la Mtra. Isaura Yáñez Noguez y el Dr. Ignacio Monje Ramírez por su apoyo a lo largo de mi trabajo de investigación.

A todo el personal del Instituto de Ingeniería, en especial a la Dra. Susana Saval y al Ing. Briones por la ayuda en trámites y apoyo técnico en todo momento.