

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERA EN
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:
ANÁLISIS DE REMOCIÓN DE CROMO POR ACCIÓN DE LA MICROALGA
Chlorella sp. INMOVILIZADA EN PERLAS DE ALGINATO.

AUTORA:
ANDREA MISHHELL ARIAS VINUEZA

TUTORA:
ING. MARÍA FERNANDA GUEVARA

Quito, febrero de 2017

Cesión de derechos de autor

Yo, Andrea Mishell Arias Vinueza con documento de identificación N° 1715513808, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación titulado: Análisis de remoción de cromo por acción de la microalga *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

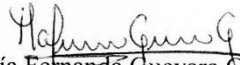


Nombre: Andrea Mishell Arias Vinueza
Cédula: 1715513808
Fecha: 06 de febrero de 2017

Declaratoria de coautoría del docente tutor/a

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación “Análisis de remoción de cromo por acción de la microalga *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato” realizado por Andrea Mishell Arias Vinueza, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, febrero 2017



María Fernanda Guevara Granja

Cédula de identidad: 1002454948

AGRADECIMIENTO

A un paso más de lograr otra meta en mi vida me siento totalmente agradecida con mi familia: mis hermanitos y mis padres; Patricio Alvear por ser mi apoyo incondicional y creer en mí; a mi madre Jenny Vinueza por ser mi mayor motivo para convertirme en una mejor persona cada día y superarme en cada aspecto de mi vida como es el ámbito laboral; así también agradezco a mis tíos y tías porque cada uno de ellos han sido un ejemplo de vida y superación, y agradezco a una persona esencial en mi vida, mi angelito de la guarda, mi abuelita por ser mi fuerza desde el cielo bendiciéndome en cada momento de mi etapa universitaria.

Finalmente agradezco el apoyo de mi tutora María Fernanda Guevara Granja por brindarme sus conocimientos y por darme la guía necesaria durante la realización del proyecto, a Marco Ibarra y Édison Osorio por su ayuda y disponibilidad de tiempo en el laboratorio en el transcurso del proyecto; y a Christian Larenas por su contribución en el análisis de los resultados obtenidos.

Es una aspiración y una meta para la mayoría de las personas obtener un título profesional para poder ejercer laboralmente, una etapa muy importante en nuestras vidas, y haber llegado hasta este punto de mi vida me llena de orgullo y felicidad.

ÍNDICE GENERAL

ABSTRACT	12
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	5
1. MARCO CONCEPTUAL	5
1.2. Contaminación por metales pesados.	5
1.3. Cromo.....	8
1.3.1. Características físicas y químicas.....	8
1.3.2. Toxicidad de cromo.....	9
1.3.3. Fuentes y aplicaciones de cromo.....	11
1.4. Fitorremediación.....	14
1.4.1. Microalgas.....	15
1.4.2. <i>Chlorella</i> sp.....	17
1.5. Remoción de cromo con <i>Chlorella</i> sp.....	18
1.6. Perlas de alginato.....	19
1.6.1. Aplicaciones.....	20
1.7. Ventajas y desventajas de la inmovilización de biomasa.....	21
CAPÍTULO II	23
2. METODOLOGÍA.....	23
2.1. Producción de la biomasa de <i>Chlorella</i> sp.....	23
2.2. Obtención de perlas de alginato	24

2.3.	Inmovilización de <i>Chlorella</i> sp. en perlas de alginato.	26
2.4.	Remoción de Cromo.....	27
2.5.	Cuantificación de la concentración de cromo en el sobrenadante.....	28
CAPITULO III.....		29
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
3.1.	Conteo de células de <i>Chlorella</i> sp. con cámara de Neubauer	29
3.2.	Inmovilización de <i>Chlorella</i> sp. en perlas de alginato	29
3.3.	Remoción de Cromo.....	29
3.3.1.	Concentración de cromo con respecto al tiempo de exposición del metal. 30	
3.3.2.	Cinética de remoción de cromo con microalga <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada.....	37
3.3.3.	Cinética de remoción de cromo en el tratamiento control (perlas de alginato de calcio sin <i>Chlorella</i>).....	39
4.	CONCLUSIONES	43
5.	RECOMENDACIONES.....	45
BIBLIOGRAFÍA		46
ANEXOS		50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Bioaumentación de microalgas <i>Chlorella</i> sp. en botellones de 6 L de capacidad.....	24
Figura 2. Perlas de alginato en agua desionizada.....	25
Figura 3. Goteo de las alginato de sodio en una solución de cloruro de calcio 1% (p/v) sometida a agitación.....	25
Figura 4. Microalga <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato de calcio.....	27
Figura 5. Ensayo de remoción de cromo con <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato.....	28
Figura 6. Resultados de la remoción de cromo en soluciones acuosas por acción de <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato y tratamiento control (perlas de alginato sin <i>Chlorella</i>), con una concentración inicial de 10 ppm.....	31
Figura 7. Comparación de los tratamiento control y tratamiento con <i>Chlorella</i> sp., respecto a la efectividad de remoción de cromo de las medias obtenidas a una concentración inicial de 10 ppm.	34
Figura 8. Resultados de la remoción de cromo en soluciones acuosas por acción de <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato y tratamiento control (perlas de alginato sin <i>Chlorella</i>), con una concentración inicial de 50 ppm.....	35
Figura 9. Resultados de la remoción de cromo en soluciones acuosas por acción de <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato y tratamiento control (perlas de alginato sin <i>Chlorella</i>), con una concentración inicial de 100 ppm.....	36
Figura 10. Porcentajes de remoción de cromo a los 80 minutos con tratamiento sin <i>Chlorella</i> sp. y tratamiento con <i>Chlorella</i> sp. a partir de 10 ppm, 50 ppm y 100 ppm.	37

Figura 11. Variación de la concentración de cromo con respecto al tiempo de exposición perla-metal en el tratamiento con microalga <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato a partir de 10, 50 y 100 ppm.	38
Figura 12. Concentración de Cr removida con microalga <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato por intervalo de tiempo de 10 min.	39
Figura 13. Variación de la concentración de cromo con respecto al tiempo de exposición perla-metal en el tratamiento control a partir de 10, 50 y 100 ppm.....	40
Figura 14. Concentración de Cr removida en el tratamiento control (perlas de alginato sin microalga <i>Chlorella</i> sp.) por intervalo de tiempo de 10 min a partir de una concentración inicial de 10 ppm, 50 ppm y 100 ppm.	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis de varianza de los resultados obtenidos en las muestras de 10ppm de concentración inicial. Fuente: InfoStat, 2017.....	32
Tabla 2. Análisis de varianza con el test de Tukey de los resultados obtenidos en las muestras de 10ppm de concentración inicial. Fuente: InfoStat, 2017.....	33
Tabla 3. Análisis de varianza con el test de Tukey de los resultados obtenidos en las muestras de 50 y 100 ppm como concentraciones iniciales. Fuente: Arias, 2017.....	36

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica a partir de una concentración inicial de 100 ppm con <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato.....	50
Anexo 2. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica a partir de una concentración inicial de 50 ppm con <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato.....	50
Anexo 3. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica a partir de una concentración inicial de 10 ppm con <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato.....	51
Anexo 4. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica a partir de una concentración inicial de 0 ppm con <i>Chlorella</i> sp. inmovilizada en perlas de alginato.....	51
Anexo 5. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica en el tratamiento control (perlas de alginato sin <i>Chlorella</i> sp.) a partir de una concentración inicial de 100 ppm.....	52
Anexo 6. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica en el tratamiento control (perlas de alginato sin <i>Chlorella</i> sp.) a partir de una concentración inicial de 10 ppm.....	52
Anexo 7. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica en el tratamiento control (perlas de alginato sin <i>Chlorella</i> sp.) a partir de una concentración inicial de 50 ppm.....	52
Anexo 8. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica en el tratamiento control (perlas de alginato sin <i>Chlorella</i> sp.) a partir de una concentración inicial de 0 ppm.....	53

RESUMEN

En el presente proyecto se realizó un análisis de remoción de cromo por acción de la microalga *Chlorella* sp. Inmovilizada en perlas de alginato. La remoción de cromo con la aplicación de microalgas disminuye la concentración de este metal del medio ambiente y así, evita los efectos colaterales que se generan por la acumulación del mismo.

El análisis del proceso de adsorción de cromo se realizó sometiendo perlas de alginato de calcio sin *Chlorella* sp como tratamiento control; y perlas de alginato de calcio con *Chlorella* sp (25×10^6) en una solución de dicromato de potasio con aireación durante 80 minutos con tres concentraciones diferentes (mg/L): 0, 10, 50 y 100; y estableciendo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones, de los cuales se obtuvo muestras de una solución acuosa cada 10 min mismas que fueron medidas en el espectrofotómetro de absorción atómica de aspiración directa usando flama de aire-acetileno con lámpara de cromo.

En el tratamiento de perlas de alginato con *Chlorella* sp. con una concentración inicial 10 ppm de Cr se dio una remoción de cromo del 61 % siendo un porcentaje mayor que el tratamiento control. En los ensayos con una concentración inicial de 50 ppm se removió 51% de cromo obteniendo un mayor porcentaje de remoción en el tratamiento control y con una concentración inicial de 100 ppm una remoción de cromo del 60% tanto en el tratamiento control como en el tratamiento con *Chlorella* sp.

Palabras clave: microalgas, *Chlorella*, cromo, inmovilización, metal pesado

ABSTRACT

In this project was made an analysis of chromium removal by action of the microalga *Chlorella* sp. immobilized on alginate beads. The removal of chromium with the application of microalgae reduces the concentration of this metal of the environment and therefore avoids the side effects that are generated by the accumulation of this element (Flathman, 1998).

For the analysis of the chromium absorption process is performed by subjecting sodium alginate beads without *Chlorella* sp, as control treatment, and sodium alginate beads with *Chlorella* sp. (25×10^6) in a dichromate solution, with aeration for 80 minutes with three different concentrations (mg/L): 0, 10, 50 and 100, and in turn a randomized complete block design, three replicates was established, from which samples were obtained of an aqueous solution every 10 minutes that were measured in the atomic absorption spectrophotometer with direct aspiration using air-acetylene flame with chrome lamp.

In the treatment of alginate beads with *Chlorella* sp. with an initial concentration of 10 ppm of Cr a removal of chromium from 61% was given being a higher percentage than the control treatment. In the tests with an initial concentration of 50 ppm, 51% of chromium was removed obtaining a greater percentage of removal in the control treatment and with an initial concentration of 100 ppm a removal of chromium of 60% in both the treatment treatment and in the treatment with *Chlorella* sp.

Key words: microalgae, *Chlorella*, chromium, immobilization, heavy metal

INTRODUCCIÓN

Los ambientes contaminados por consecuencia de las actividades humanas especialmente de las grandes industrias cada vez aumentan más. Los efectos adversos por ambientes contaminados de metales pesados, tanto en la salud del hombre como en el entorno natural han sido reportados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA), la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Khasim, Kumar, & Hussain, 1989; Sherameti & Varma, 2011).

Los metales pesados tales como cromo (Cr), cadmio (Cd), plomo (Pb) entre otros; son depositados en la atmósfera, ambientes acuáticos y ambientes terrestres, mayormente como solutos, y en distintas concentraciones de toxicidad. Los lugares donde la toxicidad aumenta son los cercanos al sitio de descarga, lo que provoca el deterioro del medio ambiente y a su vez afecta a los seres vivos ya sean animales u hombres que habiten cerca (Khasim, Kumar, & Hussain, 1989; Domy, 2001).

El cromo consta como un elemento de la tabla periódica que pertenece a los metales pesados. En concentraciones normales es un nutriente esencial para los seres humanos y la naturaleza, se lo encuentra en rocas, plantas, suelos animales, humus y gases volcánicos; sin embargo, en concentraciones elevadas que puede provocar efectos adversos a la salud (Sherameti & Varma, 2011). Este metal es altamente utilizado en procesos industriales como en la metalurgia, en la limpieza de material de vidrio de laboratorio, como agente valorante en análisis volumétricos, en la producción de acero inoxidable, para preservar la madera, en el curtido del cuero, entre otros (Khasim, Kumar, & Hussain, 1989; Fernández & Guzman, 2000; Alloway, 2013).

El presente trabajo tiene como objetivo general evaluar la capacidad de remoción del metal cromo, por acción de *Chlorella* sp., inmovilizada en perlas de alginato; y a su vez como objetivos específicos inmovilizar *Chlorella* sp. en perlas de alginato y analizar la cinética de remoción de cromo en soluciones acuosas por acción de la microalga.

Las técnicas para remoción de metales pesados como es el cromo de ambientes naturales, son de gran utilidad para el hombre y su salud; como también para la comunidad científica en la preservación y conservación del medio ambiente (Echarri, 1998). Se ve la necesidad de buscar alternativas que sean de bajo costo, eficientes y amigables con el ambiente debido a que los métodos comunes para remoción de metales de ambientes contaminados especialmente de aguas como: oxidación, reducción, tratamiento electroquímico, precipitación, tecnologías de membrana, filtración y recuperación por evaporación (Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001; Cañizares, 2000), generan un gasto elevado de dinero y resultan ineficientes, cuando la concentración de los metales es muy baja; (Cañizares, 2000; Cuizano & Navarro, 2008).

La aplicación de microorganismos como microalgas permite disminuir altas y bajas concentraciones de metales pesados existentes en ambientes contaminados, principalmente ecosistemas acuáticos (Flathman, 1998; Torres Rodríguez, 2003). Los microorganismos tales como bacterias, hongos o microalgas, mantienen una interacción con los metales pesados que beneficia al medio ambiente; visto que poseen mecanismos físico-químicos, como la adsorción o el intercambio iónico, que provocan la disminución de las elevadas concentraciones de metales pesados inmersos en el medio ambiente (Torres Rodríguez, 2003; Villabona, Garces, & Tejada, 2014; Vullo, 2003).

En el caso de las microalgas presentan una capacidad de remoción de metales pesados en aguas, gracias a los componentes que conforman la estructura de su pared celular y sus polisacáridos; como también, a la presencia de fucanoides, alginatos, proteínas fosfatadas, entre otros., que permiten la adsorción de ciertos metales entre estos el cromo (Morris, Quintana, & Arceo, 1999; Cuizano & Navarro, 2008); como se evidencia en diversos estudios realizados, tanto con microalgas libres como inmovilizada o encapsuladas.

Chlorella es un género de microalga unicelular, al que se le atribuye propiedades especialmente de depuración y desintoxicación de metales pesados en el cuerpo, y que ha demostrado ser de alta utilidad en el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de compuestos nitrogenados y fosforados, así también de metales pesados como es el caso del cromo (Forero, Montenegro, & Ponilla, 2015; Posten & Feng Chen, 2016).

La inmovilización en perlas de alginato de *Chlorella* sp. Pretende aumentar la resistencia de la microalga a metales pesados de manera que sea posible utilizar este tratamiento en efluentes con altas concentraciones de metales, procurando que el microorganismo se mantengan vivo y funcional (Ardila, 2012; Cuizano & Navarro, 2008), ya que este tipo de efluentes son altamente tóxicos y provocan la muerte del cultivo de la microalga (Avendaño, Romero, López, & Palo, 2013; Forero, Montenegro, & Ponilla, 2015).

La aplicación de *Chlorella* sp. libre en el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados, ha sido efectiva tanto en proyectos de remoción de cromo de aguas de curtiembre como en la adsorción de otros metales, entre los que tenemos Ni (II) y

Zn (II) (Sanchez, Garza, & Almaguer, 2008), e incluso en la reducción de uranio proyecto realizado por Singhal, Joshi, Tirumalesh, & Gurg en el 2004.

Este proyecto pretende ampliar la información científica acerca de la remoción de metales con el uso de microalgas como *Chlorella* sp. que podrían servir para futuros tratamientos de efluentes contaminados con cromo aplicando la inmovilización de *Chlorella* sp. en perlas de alginato como técnica de biorremediación, lo que otorga ventajas en esta técnica como la facilidad de reusar la biomasa y de separarla del agua (Garzón Jiménez, 2008).

CAPÍTULO I

1. MARCO CONCEPTUAL

1.2. Contaminación por metales pesados.

El término contaminación hace referencia principalmente a la introducción y/o incremento descontrolado de agentes tóxicos, que en concentraciones elevadas pueden ejercer un efecto perjudicial sobre las propiedades físicas, químicas o biológicas tanto del aire, tierra o agua, que afecta directamente a la vida del hombre o la de especies necesarias para la conservación del ambiente (Atilio, 2013; Echarri, 1998). “La contaminación puede ser de origen natural sin embargo en la mayoría de los casos está relacionada con las actividades del hombre especialmente de las grandes industrias que cada vez aumentan más y más” (Puga, Sosa, & Quintana, 2006); con el afán de progresar y sobrevivir, el hombre no se preocupa por el deterioro del medio ambiente por las sustancias tóxicas y agresivas generadas y derramadas en estos procesos industriales. Algunos compuestos tóxicos pueden ser biodegradados por los organismos vivos, mientras que otros por el contrario, son persistentes en el medio ambiente, es decir no son biodegradables (Bautista, 1999; Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001).

Los metales pesados conforman un grupo de alrededor 40 elementos que presentan una densidad de entre 4 g/cm³ hasta 7 g/cm³ y pertenecen al grupo de contaminantes que no pueden ser biodegradados por los organismos vivos; y a su vez tienden a bioacumularse y biomagnificarse, es decir que perduran en el ambiente dada su resistencia a la degradación química o biológica (Alloway, 2013; Domy, 2001). Este grupo de elementos es prioritario en tratamientos de contaminación ambiental

debido a su alta toxicidad, en concentraciones inadecuadas sobre la mayoría de organismos vivos, a su ubicuidad tanto en agua, tierra y por ende en los productos alimenticios provenientes de la agricultura, ya que se bioacumula en las cadenas tróficas de ecosistemas acuáticos y terrestres (Domy, 2001; Puga, Sosa, & Quintana, 2006).

Aunque algunos metales pesados a bajas concentraciones son necesarios en el metabolismo de los seres vivos como: cobre, hierro, manganeso, vanadio, estroncio, zinc, entre otros; en concentraciones elevadas son demasiado agresivos y pueden ocasionar efectos irreversibles en la naturaleza así como también en el hombre y su salud (Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001). Existen también elementos del grupo de metales pesados como el cadmio y el mercurio que son tóxicos incluso en concentraciones bajas (Puga, Sosa, & Quintana, 2006).

Los contaminantes como los metales pesados, pueden introducirse tanto en el agua, tierra y aire; y pasar fácilmente de un ecosistema a otro, ingresando a los sistemas vivos en donde ocasionan daños a través de las cadenas tróficas (Bautista, 1999; Villabona, Garces, & Tejada, 2014). En el agua los contaminantes como el cromo pueden llegar fácilmente al medio ambiente y a los seres vivos, ya sean plantas, animales o al hombre (Echarri, 1998; ONU, 2014), principalmente a través de la alimentación, provocando daños irremediables en los mismos (Puga, Sosa, & Quintana, 2006).

El aumento de actividades industriales por parte del hombre, está provocando que la contaminación en aguas superficiales y marinas se convierta en una gran amenaza; debido a, la existencia de concentraciones altas de metales pesados como es el plomo, cadmio, cromo, níquel entre otros. Y debido a esto, la contaminación en este

recurso es una de las más importantes principalmente por el alto índice de dispersión que esta posee (Domy, 2001; Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001). El agua por su fácil dispersión puede contener y transportar metales pesados de un lugar a otro de manera rápida, lo que resulta muy perjudicial si estos elementos se encuentran las concentraciones elevadas (Villabona, Garces, & Tejada, 2014).

En cuanto a los metales pesados de mayor impacto en el ambiente, se consideran a los que provienen fundamentalmente de las actividades industriales (Puga, Sosa, & Quintana, 2006). El desarrollo industrial es resultado, en muchos de los casos, de la ambición del hombre con respecto a su economía y el poder, sin poner atención a los daños colaterales al medio ambiente y a la salud que estas industrias conllevan (Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001).

Las industrias de manera general han provocado la presencia descontrolada de varios elementos que son tóxicos, y por ende peligrosos, difíciles de eliminar para el medio ambiente y para los organismos como por ejemplo, los suelos que quedan tras una explotación minera contienen todo tipo de materiales residuales, escombros estériles, entre otros (Puga, Sosa, & Quintana, 2006).

Los metales pesados procedentes de actividades industriales han sido señalados como las causantes principales de contaminación. Estos elementos altamente agresivos y tóxicos, provienen de orígenes muy diversos entre las cuales tenemos las operaciones industriales como en fundiciones, robótica, petroquímicas, automovilística, aeroespacial, textil, fábricas de acero, la metalurgia, plantas mineras, entre otras (Khasim, Kumar, & Hussain, 1989).

Entre las industrias que provocan, durante sus procesos, aguas residuales con metales pesados y otros contaminantes están: las azucareras, celulosa y papel, acabados

metálicos, petrolera, cervecera, cobre y sus aleaciones, alimenticias, hierro y curtiduría (Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001; Fernández & Guzman, 2000).

Fuentes de importancia en la contaminación por metales pesados en los lugares urbanos pueden ser: canalones y bajantes, tuberías metálicas oxidadas, los tejados metálicos, tuberías de plomo viejas, vertederos de basura, depósitos de automóviles y desechos sólidos (Domy, 2001; Bautista, 1999).

Las fuentes antrópicas de metales pesados son clasificadas como actividades altamente contaminantes debido a que generan aguas residuales con concentraciones muy elevadas de metales (Fernández & Guzman, 2000).

1.3.Cromo

1.3.1. Características físicas y químicas.

El cromo, con el símbolo Cr, es un elemento de la tabla periódica que pertenece al grupo de los metales pesados ubicado en la parte central específicamente en el grupo 6 periodo 4 bloque d (López, 2011). Se considera que está ocupando el puesto 21 en abundancia de los elementos encontrados en la corteza terrestre (López, 2011).

El cromo presenta un número atómico de 24, densidad de 7140 kg/m³, masa atómica de 51,9961 u, estados de oxidación 6 - 3- 2, forma parte del grupo de metales con alta dureza, así también su punto de ebullición de 2945 K y punto fusión de 2130 K son considerados elevados con respecto a otros elementos y es un buen conductor de la electricidad y el calor (López, 2011; Alloway, 2013; Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001).

El estado en el cual normalmente se encuentra el cromo es en forma sólida y, de un aspecto más o menos plateado metálico (Sundaram & Raghavan, 2011).

Existen diversos compuestos formados en distintos estados de oxidación del cromo, pero los más conocidos y aplicados son los estados de valencia: II (cromosos) el cual es denominado como básico, III (crómicos) es anfótero y VI (cromatos) considerado como ácido. Los compuestos hexavalentes de cromo son los de mayor impacto ambiental debido a su alta toxicidad como se explica a continuación y entre los más importantes están: el dicromato sódico ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), el dicromato potásico ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) y el trióxido de cromo (CrO_3) (Khasim, Kumar, & Hussain, 1989; López, 2011).

1.3.2. Toxicidad de cromo

La toxicidad del cromo es el grado en el que este elemento causa daño la cual está altamente relacionada a los tres estados de valencia que posee siendo el más tóxico el de valencia 6, le sigue el de valencia 3 y finalmente está el de valencia 2 que no va a generar mucho daño (Sundaram & Raghavan, 2011).

El cromo con estado de oxidación 6 (CrVI), es el más tóxico para el ambiente y dañino para el hombre en concentraciones elevadas (Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001; Flores, 2010). Los compuestos de cromo 6 más importantes en las industrias son: dicromato sódico, trióxido de cromo y dicromato potásico (López, 2011). Los efectos contraproducentes a salud de tipo alérgico o ulceraciones de la piel, irritación cutánea y corrosión cutáneo-mucosa se dan de manera inmediata después de la absorción de compuestos hexavalentes de cromo (Flores, 2010).

Tras varios estudios realizados en distintos países como el Reino Unido, Estados Unidos, Italia, Noruega, Alemania, Japón y Francia durante estos últimos años se ha

obtenido como resultado un aumento muy notorio de cáncer de pulmón en trabajadores o empleados que elaboran productos con este metal y usan compuestos de cromo con valencia 6; entre lo compuestos más cancerígenos están los cromatos de zinc y calcio (Dr. Flores, 2010; Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001).

Los compuestos de cromo 3, tales como el óxido de cromo y sulfato crómico básico, se obtienen de la reducción con carbón o con azufre de dicromato de sodio, usualmente se utiliza azufre cuando el óxido crómico se va a utilizar como pigmento y carbohidratos en presencia de ácido sulfúrico para fines metalúrgicos (Sundaram & Raghavan, 2011; Khasim, Kumar, & Hussain, 1989).

Estos compuestos de valencia 6 y 3 producidos en altas concentraciones entran en el organismo del hombre mediante las vías respiratorias, cutánea y/o digestiva y pueden provocar varias afecciones a la salud como: úlceras, dermatitis, irritación de la mucosa de las vías respiratorias, enrojecimiento de la garganta, crisis asmáticas leves, necrosis renal, necrosis hepática difusa, anemia, fallo renal, niveles bajos de trombocitos en sangre, hemólisis o ruptura de glóbulos rojos y problemas hepáticos (Sherameti & Varma, 2011). Este metal de alta toxicidad perjudica primordialmente a la piel y al aparato respiratorio.

Los riesgos industriales, asociados a la exposición de la persona a este elemento, son principalmente atribuidos a la inhalación de polvo durante actividades industriales y, al humo originado de la elaboración de dicromato a partir de cromita y de la elaboración de cromatos de zinc y calcio; como también, a la inhalación de nieblas de ácido crómico procedentes del revestimiento de las superficies metálicas y, al contacto

cutáneo con compuestos hexavalentes de Cromo tras su fabricación (Fernández & Guzman, 2000).

1.3.3. Fuentes y aplicaciones de cromo

El cromo se lo encuentra en forma natural en rocas, plantas, suelos, animales, en humos y gases volcánicos, a niveles que no generan daño a la salud, ni al ambiente; sin embargo, industrialmente los compuestos de cromo se los obtiene tras varios procesos químicos a concentraciones elevadas, según la necesidad de las industrias (Fernández & Guzman, 2000).

La cromita (FeCr_2O_4) es la fuente principal para la extracción de cromo en grandes cantidades para su comercialización, el proceso consiste en someter la cromita a calor, durante un tiempo determinado, en una cromadora en la cual se va a realizar un proceso de reducción exponiendo a la cromita en aluminio o silicio (Sherameti & Varma, 2011; Sundaram & Raghavan, 2011).

Los países como Rusia, Turquía, India y Filipinas poseen grandes depósitos de cromo; sin embargo, es de Sudáfrica de donde se obtiene aproximadamente la mitad de este metal y el resto se extrae de los países antes mencionados (Fernández & Guzman, 2000). No obstante, estos países no son los mayores consumidores de cromitas, ya que esta, es industrialmente utilizada en Estados Unidos, Alemania, Reino Unido, Francia y Japón. Los depósitos no explotados de este metal son todavía abundantes y, se localizan principalmente en Kazajistán y el sur de África (Fernández & Guzman, 2000).

En el siglo XIX, ya se aplicaba el cromo principalmente en pinturas en donde se procedía a colocar una capa de cromo directo sobre la base de pintura para un mejor

acabado; y como aditivo en aceros (Sherameti & Varma, 2011). Desde ese entonces no se conocía otro uso de este metal sino hasta inicios del siglo XX donde el hombre comenzó a darle más utilidad industrialmente a este elemento aprovechando sus propiedades físico-químicas (Sherameti & Varma, 2011; Fernández & Guzman, 2000).

En la actualidad, una gran cantidad de cromo es utilizado en diversas actividades industriales como en aleaciones metálicas entre otras que se mencionaran más adelante (Puga, Sosa, & Quintana, 2006; Alloway, 2013). Las aplicaciones de cromo y sus compuestos, son numerosas dentro de las distintas industrias creadas por el hombre y debido a esto ha llegado a ser de gran importancia comercial.

En primer lugar, el cromo puro presenta diversas aplicaciones a nivel industrial, como es el cromado de una gran cantidad de equipos, tales como los aros de llantas, motores, alternadores, piezas de autos y en equipos eléctricos (Fernández & Guzman, 2000; López, 2011). También, este metal es muy utilizado en aleaciones con titanio, níquel, cobalto, niobio, cobre y otros elementos metálicos; para así, formar aleaciones específicas con fines comerciales, como el acero inoxidable que proviene de las aleaciones con hierro y níquel (Sherameti & Varma, 2011; Sundaram & Raghavan, 2011).

Más del 50% del total de cromita obtenida en los distintos depósitos de este metal, es destinada a las aleaciones inoxidables de metales; ya que, los aceros inoxidables que dependen principalmente de cromo, como por ejemplo, para la obtención de ferrocromo se obtiene tras la aleación de cromo, hierro y un poco de carbono (Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001). La otra parte de cromita, está destinada básicamente a usarse como material refractario y, en diversos procesos

químicos para obtener una gran variedad de compuestos de cromo que se aplicaran dentro de distintas actividades industriales (Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001).

Así los compuestos que contienen cromo, con estado de oxidación 3 y 6, considerados como los más tóxicos por los daños mencionados anteriormente que ocasionan en el hombre, estos se los utiliza en varios procesos industriales, entre los más importantes están: la fabricación de pigmentos inorgánicos entre los cuales tenemos los cromatos de plomo utilizados a su vez para obtener verdes de cromo, el cromato de zinc, los naranjas de molibdato y el verde de óxido crómico; la elaboración de anticorrosivos; la preservación y conservación de la madera; y la elaboración de esmaltes y vidrios de color (Fernández & Guzman, 2000).

Otras actividades industriales conocidas que utilizan el cromo y los compuestos químicos que deriven de este, pero en concentraciones menores a las ya mencionadas, son: la preparación de catalizadores muy importantes que contienen óxido crómico, el estampado de telas, y la elaboración de coloides dicromados que son sensibles a la luz y son utilizados en litografías (Alloway, 2013; López, 2011).

Los sulfatos crómicos se aplican en los procesos de curtido, y el ácido crómico utilizado para el cromado de forma decorativa también es usado para otorgar dureza con la aplicación de varias capas gruesas y, poder obtener una superficie altamente resistente (Alloway, 2013; Fernández & Guzman, 2000).

El óxido de cromo es un compuesto usado en la producción de cromo metálico puro, el cual es destinado directamente para aleaciones de metales; como fue mencionado anteriormente, en donde se utilizan temperaturas muy elevadas y resistentes al arrastre y, también como óxido refractario formando parte de diversas mezclas refractarias

como las de magnesita-cromita y magnesita (Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001).

Finalmente, debido a la fuerte acción oxidante que poseen los cromatos en soluciones acidulada, resultan varias aplicaciones industriales principalmente con materiales orgánicos que vale la pena resaltar, como es la oxidación de la picolina para poder obtener ácido nicotínico y, la oxidación del compuesto trinitrotolueno (TNT) para elaborar fluoroglucinol (Sundaram & Raghavan, 2011; Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo, 2001).

1.4.Ficorremediación

El termino ficorremediación se define fundamentalmente, como el uso de algas ya sean macroalgas o microalga aplicadas en la remoción mediante la absorción y/o biotransformación de contaminantes como metales pesados, xenobióticos y también nutrientes de las aguas residuales que contengan altas concentraciones de materia orgánica; al igual que CO₂ de los residuos encontrados en el aire (Flathman, 1998; Vullo, 2003).

El uso de microalgas para tratamiento en aguas residuales es una técnica de remoción de contaminantes muy beneficiosa, tanto para el hombre como para el medio ambiente, ya que es menos costosa en relación a otros métodos porque no requiere de grades infraestructuras y la biomasa de las microalgas se genera sin dificultad en la condiciones ambientados necesarias; y a su vez es un métodos amigable con el ambiente (Cuizano & Navarro, 2008).

La ficorremediación utiliza consorcio de microorganismos y, entre los más importantes están las cianobacterias y microalgas, los cuales son procariotas y eucariotas fotosintéticos respectivamente, lo que se considera como la base de la fusión

microbiana con respecto al proceso de bioacumulación y/o biotransformación de compuestos exitosamente de estos microorganismos (Flathman, 1998).

Una de las causas más importantes que impulsaron el aprovechamiento de los beneficios de estos microorganismos en la biotecnología ambiental, fue el aumento considerable de ambientes contaminados por acciones del hombre, principalmente de las industrias (Khasim, Kumar, & Hussain, 1989; Villabona, Garces, & Tejada, 2014). La contaminación del agua es uno de los factores más importantes para promover la prevención y conservación del medio ambiente, usando métodos naturales que incluyan microorganismos, tales como las microalgas (Torres Rodríguez, 2003).

1.4.1. Microalgas

Las microalgas son organismos microscópicos, unicelulares y realizan fotosíntesis razón por la cual son similares a las plantas (Posten & Feng Chen, 2016). Esta a su vez, pertenece al grupo de los productores acuáticos primarios en la cadena alimenticia y, no solo se reproducen en ambientes naturales, sino que también, estos microorganismos tienen la capacidad de resistir y por ende crecer en medios contaminados (Posten & Feng Chen, 2016; Morris, Quintana, & Arceo, 1999; Villabona, Garces, & Tejada, 2014).

Los beneficios hasta ahora atribuidos a las microalgas son sin duda numerosos, entre los principales podemos mencionar, que presentan una fuente importante de proteínas con un buen balance de aminoácidos y niveles bajos de ácidos nucleicos, como también, varias vitaminas y minerales, que resulta beneficioso dentro de la dieta del hombre (Posten & Feng Chen, 2016); pero principalmente, las microalgas tienen propiedades remediadoras dentro del campo de la biotecnología ambiental, capacidad muy valiosa cuando se trata de la contaminación del ambiente (Morris, Quintana, &

Arceo, 1999). Además, se ha demostrado que estos organismos durante su acción remediadora, no generan ninguna clase de contaminantes consecuencia de este proceso; ya que, la biomasa obtenida después del proceso de remediación, permite un reciclaje de los nutrientes (Singhal, Joshi, Tirumalesh, & Gurg, 2004; Sanchez, Garza, & Almaguer, 2008; Garzón Jiménez, 2008).

El tratamiento de aguas residuales con microalgas, es uno de los principales objetivos de la ficorremediación, para remediar ambientes contaminados debido a la inconciencia del hombre en los procesos industriales (Cuizano & Navarro, 2008; Posten & Feng Chen, 2016). Las microalgas tienen grandes ventajas dentro de este tipo de tratamientos, ya que, han mostrado alta capacidad de remoción de metales pesados en aguas residuales gracias a los componentes que conforman la estructura de su pared celular y sus polisacáridos; como también, la presencia de fucanoides, alginato, proteínas fosfatadas entre otros que permiten la adsorción de ciertos metales (Cuizano & Navarro, 2008). Asimismo la adaptabilidad de las microalgas a condiciones extremas y su elevada tasa de crecimiento facilitan enormemente su aplicación en tratamientos de remediación (Cuizano & Navarro, 2008).

Los factores más influyentes para una eficiente acción de las microalgas son: la exposición a la luz, que provoca cambios notorios en la productividad y la temperatura que varía según la especie que se utilice, el medio de cultivo, entre otros factores; sin embargo, los rangos considerados como óptimos están aproximadamente entre 20 y 24 °C, pero también se ha visto, que pueden resistir temperaturas de entre 16 y 27 °C (Posten & Feng Chen, 2016; Cuizano & Navarro, 2008). Para un buen desarrollo de la microalga es necesario también, que el pH se encuentre en los rangos de 7 a 9 en la mayoría de cultivos, no obstante se considera que un rango ideal esta entre 8.2 a 8.7 (Cuizano & Navarro, 2008).

Las microalgas que presentan una alta capacidad de remoción de metales pesados, en aguas residuales, por poseer una área superficial grande y una elevada afinidad de unión de estos elementos son principalmente: *Chlorella miniata*, *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus quadricuada* (Posten & Feng Chen, 2016; Maznah, AlFawwaz, & Surif, 2012).

Estas especies de microalgas varían básicamente por su forma, tamaño y pared celular, sin embargo, durante el proceso de remoción de metales pesados de aguas residuales, la densidad de la biomasa influye significativamente en el rendimiento de la microalga durante este proceso (Posten & Feng Chen, 2016). Por último, es importante tomar en cuenta que en muchos de los casos, las microalgas que han sobrevivido en ecosistemas contaminados con metales pesados van a tener un mayor grado de eficiencia en relación a microalga que se desarrollaron en un ecosistema sin contaminación (Cuizano & Navarro, 2008).

1.4.2. *Chlorella* sp.

La *Chlorella* sp., es una especie de microalga unicelular, de agua dulce, descubierta por el microbiólogo Martinus Willem Beijerinck y, pertenece al grupo de microalgas que tienen una alta capacidad de remoción de metales pesados (Thirumagal & Panneerselvam, 2014; Singhal, Joshi, Tirumalesh, & Gurg, 2004). Se las puede localizar en lagos, ríos y/o mares; como también en el suelo, ambientes extremos ya que se adaptan a diversas condiciones ambientales. Son considerados ubicuos es decir que su rango de distribución es sumamente amplio (Forero, Montenegro, & Ponilla, 2015).

Morfológicamente, esta microalga presenta una forma esférica y es de color verde debido a los cloroplastos, que son los encargados del proceso de fotosíntesis; y

taxonómicamente, *Chlorella* sp. está ubicada en la división Chlorophyta, clase Chlorophyceae. Es considerada como una de las formas más primitivas de vida en la tierra (Sanchez, Garza, & Almaguer, 2008; Posten & Feng Chen, 2016; Morris, Quintana, & Arceo, 1999).

Está conformada en su mayoría por una fuente importante de proteínas, 19 aminoácidos de los cuales 9 pertenecen al grupo de aminoácidos esenciales (isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, valina, triptófano e histidina), vitaminas A, C, B, E y K, minerales (fósforo, magnesio, manganeso, potasio, hierro, zinc, yodo, calcio, y cobre) ácido pantoténico, betacaroteno, fólico, biotina, niacina entre otros componentes beneficiosos para el hombre (Morris, Quintana, & Arceo, 1999).

Se le atribuye propiedades que ayudan en la depuración y desintoxicación del cuerpo de toxinas (Morris, Quintana, & Arceo, 1999), y que ha demostrado ser de alta utilidad en el tratamiento de aguas residuales que contengan compuestos de nitrógeno y/o fósforo; como también de metales pesados como es el caso del cromo (Forero, Montenegro, & Ponilla, 2015; Thirumagal & Panneerselvam, 2014) Esta especie de microalga, por su aplicación en tratamientos de biorremediación, es de gran utilidad en el campo de la biotecnología ambiental.

1.5. Remoción de cromo con *Chlorella* sp.

La remoción de cromo por acción de microalgas puede presentar beneficios significativos en comparación a procesos físico químicos ya existentes (Maznah, AlFawwaz, & Surif, 2012) debido a que, esta técnica es amigable con el medio ambiente y de bajo costo.

Específicamente la microalga *Chlorella* sp., objeto de la presente investigación, ha presentado alta capacidad de remoción de metales pesados en aguas contaminadas por cromo, obteniendo resultados favorables en diversos estudios realizados, tanto con biomasa libre como inmovilizada (Garzón Jiménez, 2008).

La ficorremediación, de ambientes contaminados por elementos tóxicos como el cromo y sus compuestos con *Chlorella* sp., inmovilizada, ha sido estudiada durante los últimos años como parte de la solución y el mejoramiento de sistemas de tratamiento de aguas residuales, ya que, proporciona varias ventajas en la manipulación de la biomasa (Flathman, 1998; Cuizano & Navarro, 2008).

La retención de estos microorganismos, en perlas de alginato, ha conseguido resultados altamente beneficiosos en varias investigaciones; como es el caso de la remoción de cromo, mediante el uso de un biorreactor, utilizando *Scenedesmus obliquus* con un 92,4% de efectividad en la remoción del metal (Pellón, Rodríguez, González y Frades, 2011), como también, en la reducción de uranio (Singhal, Joshi, Tirumalesh, & Gurg, 2004).

1.6. Perlas de alginato

Los alginatos son sales que provienen del ácido algínico, compuesto químico localizado en las células de las algas marinas específicamente en la pared celular (Avendaño, Romero, López, & Palo, 2013).

El químico británico E. C. Stanford, realizó las primeras investigaciones con alginato extraído de algas pardas; mediante la digestión de estas, con carbonato sódico obteniendo una sustancia similar a la gelatina y la denominó “algina” ya que provenía de algas (Avendaño, Romero, López, & Palo, 2013).

Este ácido alginico en su forma salina pertenece al grupo de polímero biodegradable y biocompatible, por esta razón el alginato se combina fácilmente con Na, K, Mg, Ca, entre otros, formando sales con distintos grados de solubilidad y diferentes grados de viscosidad. Debido a estas características este compuesto se lo utiliza en diferentes industrias como un agente gelificante, espesante, aglutinante o para formar delgadas películas (Avendaño, Romero, López, & Palo, 2013).

Las propiedades de estos compuestos de alginato son principalmente la habilidad de espesarse al ser disueltos en agua, lo que resulta en el aumento del grado de viscosidad de la solución; la capacidad de retención de agua; la propiedad de formar un gel tras una serie de reacciones químicas de intercambio iónico; y la capacidad de formar delgadas películas (Garzón Jiménez, 2008; Avendaño, Romero, López, & Palo, 2013).

1.6.1. Aplicaciones

Los compuestos de alginato tienen innumerables aplicaciones en las industrias como alimenticias, farmacéuticas, textiles, madereras entre otras. Se los encuentra por ejemplo: inmersos en distintos alimentos que ingerimos normalmente, los usamos en varios productos cosméticos, forman parte de diversos productos farmacéuticos como excipientes para una absorción lenta del medicamento; todo esto debido a sus propiedades coloidales y no tóxicas (Oliveira Medina, 2003). Dentro de la industria cosmetológica los alginatos están presentes en labiales, esmaltes de uñas, cremas para afeitar, productos de baño como shampoo y en cremas para el cuerpo. Así también son utilizados en los procesos para estabilizar el látex, fabricación de papel y elaboración de ceras pulidoras; o como emulsionantes en el barnizado de cerina, pinturas y vidriado del barro (Oliveira Medina, 2003).

Con respecto al campo biotecnológico en el tratamiento de ambientes contaminados, los alginatos han sido de gran utilidad ya que presentan una capacidad elevada de retención de metales pesados y a su vez resultan fáciles de separar de dichos metales retenidos. Los alginatos también son utilizados para encapsular o inmovilizar biomasa de microorganismo, enzimas, en el tratamiento de aguas contaminadas como agente coagulante y recientemente está en estudios sus propiedades de intercambio iónico con metales divalentes (Oliveira Medina, 2003). El intercambio iónico se refiere al intercambio que existe entre iones presentes en una solución con contra-iones que se encuentran inestables en el material sólido (Álvarez, 2015). En el caso del alginato en solución de sales de cationes monovalentes se contraen ya que incrementa la fuerza iónica de la solución disminuyendo la viscosidad de este polímero, esto sucede en concentraciones salinas que se encuentran cercanas a 0.1 N; sin embargo al colocar iones de metal polivalentes a una solución de alginato la viscosidad va a incrementarse conforme aumente la concentración de estos elementos propiedad que resulta beneficiosa en el tratamiento de aguas con metales pesados (Oliveira Medina, 2003).

1.7. Ventajas y desventajas de la inmovilización de biomasa

Al trabajar con biomasa libre, la desventaja principal radica en que se trata de microorganismos con un tamaño de partícula muy pequeño lo que dificulta su recuperación es decir se genera un problema considerable al tratar de separar la biomasa de microalga del efluente en el que fue vertida, y su resistencia limitada a concentraciones elevadas de metales pesados que puede provocar la muerte de la microalga (Garzón Jiménez, 2008).

El uso de biomasa inmovilizada evita las desventajas antes mencionada ya que mantiene vivas a las microalgas, resulta sumamente fácil la manipulación del

microorganismo como la separación del efluente y conserva la capacidad de multiplicación de la microalga (Garzón Jiménez, 2008).

Sin embargo existen también inconvenientes que puede provocar el proceso de inmovilización de las microalgas como: dificultades en la difusión a causa de la elevada densidad celular y a su vez la poca solubilidad de oxígeno que existe en el agua; y se puede dar cambios en la fisiología de la célula que afecten la productividad de la microalga (Hernández, 2011).

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Producción de la biomasa de *Chlorella* sp.

Se procedió a inocular *Chlorella* sp. aislada en botellas de 500 mL de capacidad con 3 mL/L de fertilizante foliar Nitrofoska (fertilizante complejo 10N-4P-7K-0,2MgO) y a temperatura ambiente durante periodos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad durante ocho semanas aproximadamente.

Tras este lapso de tiempo se procedió a bioaumentar la concentración de *Chlorella* sp. con el traspaso de alrededor de 50 % del volumen en recipientes cada vez más grandes hasta llegar a obtener botellones de 6 litros de capacidad con igual concentración de Nitrofoska correspondiente para así incrementar paulatinamente el volumen de la solución realizando a su vez un control microscópico continuo de las células de *Chlorella* sp. para verificar pureza y medir concentración celular.

A su vez durante el proceso de bioaumentación se mantuvo una intensidad lumínica 204 luxer; se añadió periódicamente Nitrofoska como nutriente y se mantenía un sistema de aireación con bombas de pecera para cada botellón (Figura 1).



Figura 1. Bioaumentación de microalgas *Chlorella* sp. en botellones de 6 L de capacidad.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

2.2. Obtención de perlas de alginato

En esta etapa del proyecto se realizó una disolución de alginato de sodio grado alimenticio en agua destilada atendiendo a la relación 2 g en 50 ml respectivamente, y se mezcla hasta obtener una solución homogénea evitando en su totalidad la presencia de grumos.

Una vez homogénea la solución de alginato de sodio se procede a ajustar la mezcla en un pH de entre 7,8 – 8,0 colocando gotas de solución HCl 1M o NaOH 1M según corresponda.

Después de obtener el pH adecuado colocar la solución de alginato de sodio en una jeringuilla de 20 ml y gotear suavemente en una solución de cloruro de calcio 1% (p/v) sometida a una agitación leve pero constante por medio de un imán (Figura 2).

Se obtuvieron alrededor de 200 perlas de alginato de una jeringuilla de 20 mL, una vez terminado el goteo de la solución, se filtraron y lavaron las perlas de alginato para eliminar el cloruro de calcio; y conservarlas hidratadas en un recipiente con agua destilada desionizada (Figura 3).



Figura 3. Goteo de las alginato de sodio en una solución de cloruro de calcio 1% (p/v) sometida a agitación.

Fuente: Realizado por el autor, 2017



Figura 2. Perlas de alginato en agua desionizada.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

2.3. Inmovilización de *Chlorella* sp. en perlas de alginato.

Este procedimiento es bastante similar al de obtención de perlas de alginato, sin embargo se requiere de la cuantificación previa de la concentración de los cultivos de *Chlorella* sp. mediante cámara de Neubauer para determinar la cantidad de células por mL que existen. Se realiza una disolución de alginato de sodio en agua destilada atendiendo a la relación 2 g en 50 mL respectivamente, y se mezcla hasta obtener una solución homogénea evitando en su totalidad presencia de grumos. Una vez homogénea la solución de alginato se ajusta la mezcla en un pH de entre 7,8 – 8,0.

Una vez lista la solución de alginato se le añade el volumen necesario dependiendo de la concentración celular de *Chlorella* sp., en el cultivo, para alcanzar una concentración final de 25×10^6 células de *Chlorella* sp. por mL de solución de alginato, se mezcla hasta homogenizar la solución.

Colocar la solución homogénea de alginato de sodio con *Chlorella* sp., en una jeringuilla de 20 mL y gotear suavemente en una solución de cloruro de calcio 1% (p/v) sometida a una agitación leve pero constante. Una vez terminado el goteo de la solución de alginato con *Chlorella* sp., se procedió a lavar para eliminar el cloruro por completo de las perlas; y dejar en un recipiente con agua desionizada (Figura 4).



Figura 4. Microalga *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato de calcio.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

2.4. Remoción de Cromo

Se destinaron 12 matraces balón con capacidad de 500 mL como birreactores en los que se colocaron 50 g de perlas de alginato con una solución de dicromato de potasio (K_2CrO_4) con Cr (VI), a tres diferentes concentraciones con 10 ppm, 50 ppm y 100 ppm en un volumen total de 200 mL por cada balón con ensayos por triplicado lo que quiere decir que se aplica un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones; adicionalmente se colocan ensayos como testigos sin metal.

Se mantienen las perlas de alginato en la solución de dicromato de potasio con aeración constante de 3 L/minutos proporcionada por una bomba de pecera (JAD SE – 314) durante 80 minutos, se tomaron muestras cada 10 min (Figura 5).

Se trabaja de la misma manera con las perlas de alginato de sodio con la microalga *Chlorella* sp., inmovilizada.

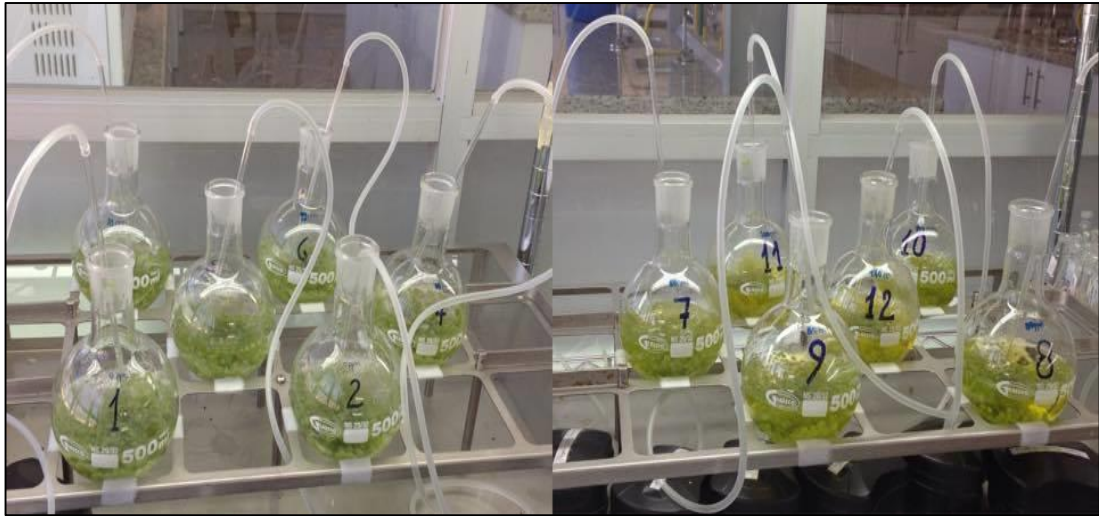


Figura 5. Ensayo de remoción de cromo con *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

2.5. Cuantificación de la concentración de cromo en el sobrenadante.

Para la determinación de la concentración de cromo final en las muestras de solución acuosa tomadas cada 10 min, se analizó la cinética de remoción del cromo con un espectrofotómetro de absorción atómica de aspiración directa marca VARIAN usando flama de aire-acetileno con lámpara de cromo.

Para calibrar el espectrofotómetro de absorción atómica se necesitó el uso de soluciones estándares de 1 a 100 ppm de cromo (25 ppm, 50 ppm, 75 ppm y 100 ppm de cromo) y obtener una curva con un coeficiente de regresión lineal de $r^2=0.9999$ o superior. Al terminar la calibración se pudo realizar las mediciones de las muestras de dicromato de potasio obtenidas.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Conteo de células de *Chlorella* sp. con cámara de Neubauer

Se seleccionaron los botellones con mayor concentración celular de *Chlorella* sp. lo que se refleja en la intensidad del color verde característico de las microalgas, las muestras de microalga tomadas de estos botellones obtuvieron un conteo de aproximadamente 30.000.000 de células/mL de suspensión; cantidad con la que se trabajó para la preparación de las perlas de alginato con *Chlorella* sp. inmovilizada. Finalmente durante todo el proceso fue posible evidenciar la pureza del cultivo

3.2. Inmovilización de *Chlorella* sp. en perlas de alginato

Las perlas de alginato con *Chlorella* sp., inmovilizada son de color verde claro. Y tanto en el tratamiento de remoción de cromo (perlas de alginato con microalga) como en el tratamiento control (perlas de alginato sin microalga) se seleccionaron las perlas con mayor apariencia a una esfera y se descartaron aquellas que presentaron una especie de cola adquirida en el proceso de goteo.

3.3. Remoción de Cromo

La remoción de cromo se realizó en dos tratamientos, el primero corresponde al control donde se expuso el dicromato de sodio durante 80 min con perlas de alginato de calcio en constante aireación para determinar cuanta remoción del metal se obtiene solo con el alginato; y el segundo tratamiento en igualdad de condiciones pero con la variante de que las perlas de alginato contenían *Chlorella* sp. inmovilizada para determinar si la adición de la microalga al alginato aumenta la capacidad de remoción del cromo.

De cada tratamiento se obtuvieron 96 tubos de muestra de los cuales se tomaron 3 lecturas de concentración en el espectrofotómetro resultando un total de 288 datos por cada tratamiento (Anexo 1-8), los tubos corresponden a las muestras tomadas cada 10 min por cada matraz balón. Se aplicó el diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones y a su vez tres concentraciones diferentes de la solución de $K_2Cr_2O_4$ que son (mg/L): 10, 50 y 100 y el control de 0ppm.

3.3.1. Concentración de cromo con respecto al tiempo de exposición del metal.

Tras el análisis correspondiente de los datos, se obtuvieron los resultados esperados en el tratamiento de perlas de alginato con *Chlorella* sp. partiendo de una concentración inicial de Cr de 10 ppm con una remoción de más del 61 % de cromo siendo un porcentaje mayor que el tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella* sp.) con 52 % en este ensayo, a comparación de los tratamientos en los que partió de una concentración inicial de 50 ppm con una remoción de 51 % obteniendo un mayor porcentaje de remoción en el tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella* sp.) con 56,4 % y en el tratamiento con una concentración inicial de 100 ppm de Cr se registró una remoción de 60% tanto en el tratamiento control como en el tratamiento con *Chlorella* sp.

Al igual que en el trabajo de Ardila (2012) donde la remoción de cromo de agua residual con *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato disminuye de una concentración inicial de 10 ppm a una concentración de 4,4 ppm al cabo de 200 min, en los resultados del análisis de varianza la tabla 1 podemos ver que de 10 ppm iniciales se reduce a 4,93 ppm hasta los 80 min disminuyendo cada vez la velocidad de remoción, esto se evidencia claramente en la Figura 6.

REMOCIÓN DE CROMO A PARTIR DE 10 PPM

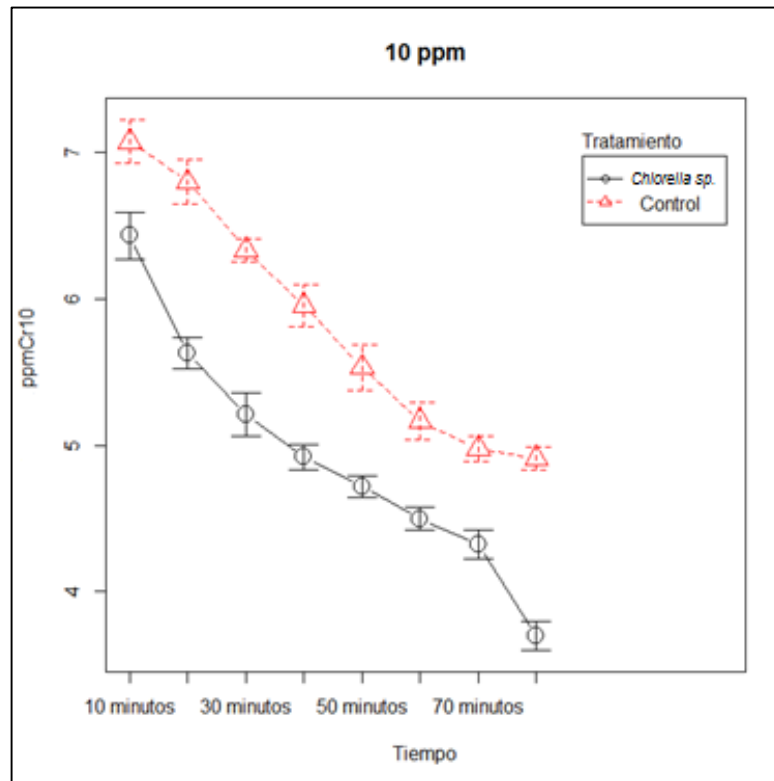


Figura 6. Resultados de la remoción de cromo en soluciones acuosas por acción de *Chlorella sp.* inmovilizada en perlas de alginato y tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella*), con una concentración inicial de 10 ppm de Cr.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

Una de los compuestos que conforman la microalga son los alginatos y estos participan altamente en la remoción de metales pesados por el intercambio iónico que se da en la solución con el metal (Álvarez, 2015; Oliveira Medina, 2003), debido a esto se obtuvo una remoción de cromo tanto en el tratamiento control ya que se utiliza alginato de calcio, como en el tratamiento con microalga inmovilizada.

El fundamento principal por el que se encapsula la microalga en una matriz de alginato de calcio es que resulta fácil de manipular, su biomasa se puede reusar ya que fácilmente se separa del agua; sin embargo es posible también aumentar la capacidad de remoción de cromo, dado que actúa tanto la *Chlorella sp.* con el alginato de calcio conjuntamente. Por lo que se espera que la capacidad absorbente y adsorbente

referente a la captación activa o pasiva de iones metálicos en este caso de cromo que tiene la microalga *Chlorella* sp. se potencialice con la capacidad de remoción del alginato mediante intercambio iónico (Maznah, AlFawwaz, & Surif, 2012).

Existen diferencias significativas entre los valores medios correspondientes a los tratamientos control y con *Chlorella* sp.; con respecto al tiempo de exposición de las perlas con el metal para la concentración de 10 ppm. Al realizar el test de tukey a los resultados obtenidos de las muestras con concentración inicial de 10 ppm se obtuvo un valor p de 0,0001 menor a 0,05 en los parámetros tiempo y tratamiento de las muestras que partieron de una concentración de 10ppm lo que indica que existe una diferencia significativa entre estos dos tratamientos; en donde el tratamiento con *Chlorella* sp. inmovilizada en las perlas de alginato posee un mayor grado de remoción de cromo que el tratamiento control (Tabla 1).

Tabla 1.

Análisis de varianza de los resultados obtenidos en las muestras de 10ppm de concentración inicia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	118,77	15	7,92	62,83	<0,0001
Tiempo	87,91	7	12,56	99,65	<0,0001
Tratamiento	30,08	1	30,08	238,69	<0,0001
Tiempo*Tratamiento	1,86	7	0,27	2,11	0,0473
Error	16,26	129	0,13		
Total	135,03	144			

Nota: Fuente: Realizado por el autor, 2017

A su vez la tabla 1 muestra que la interacción del factor tiempo y el tratamiento tiene un valor de p es menor de 0,05 demostrando que tanto la presencia o ausencia de la microalga como el tiempo de explosión metal-perlas están actuando en conjunto es decir que el tratamiento depende del tiempo o viceversa.

En la tabla 2 el análisis de varianza evidencia las diferencias que se dan a los distintos tiempos (0 a 80 minutos); y tanto en la tabla 2 como en el figura 7 se puede apreciar con claridad las medias obtenidas de cada tratamiento siendo 4,93 ppm de Cr con *Chlorella* sp. y 5,84 ppm de Cr en el control (perlas de alginato sin microalga) y de esta manera se pudo definir que existe mayor eficiencia de remoción con microalga cuando se parte de una concentración de 10 ppm, en comparación con los tratamientos que iniciaron con 50 y 100 ppm de Cr. Los análisis estadísticos se realizaron con los programas infostat y herramienta estadística “R”.

Tabla 2.

Análisis de varianza con el test de Tukey de los resultados obtenidos en las muestras de 10ppm de concentración inicial.

```

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,36038
Error: 0,1267 gl: 128
  Tiempo  Medias n  E.E.
-----
80 minutos  4,31 18 0,08 A
70 minutos  4,65 18 0,08 A B
60 minutos  4,83 18 0,08 B C
50 minutos  5,13 18 0,08 C D
40 minutos  5,44 18 0,08 D E
30 minutos  5,77 18 0,08 E
20 minutos  6,22 18 0,08 F
10 minutos  6,76 18 0,08 G
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,11642
Error: 0,1267 gl: 128
 Tratamiento Medias n  E.E.
-----
Chlorella sp.  4,93 72 0,04 A
Control        5,84 72 0,04 B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

```

Nota: Fuente: Realizado por el autor, 2017

EFFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS A PARTIR DE 10 PPM

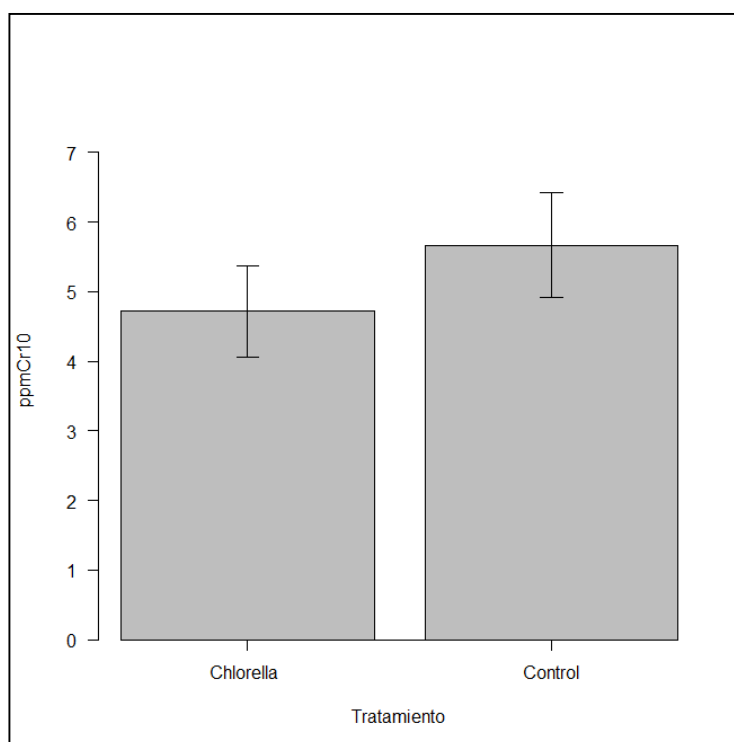


Figura 7. Comparación de los tratamiento control y tratamiento con *Chlorella* sp., respecto a la efectividad de remoción de cromo de las medias obtenidas a una concentración inicial de 10 ppm de Cr.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

En los tratamientos realizados para las concentraciones de 50 ppm (Figura 8) y 100 ppm (Figura 9) no se obtuvieron los mismos resultados. Como se indicó anteriormente en los tratamientos a partir de una concentración inicial de 50 ppm se presentó mayor remoción con el tratamiento control con 56,4 % de remoción que en el tratamiento con microalga con 51,4 % de remoción; y en el tratamiento a partir de una concentración inicial de 100 ppm se dio la misma remoción tanto en el tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella* sp.) como en el tratamiento con *Chlorella* sp con una remoción del metal de 60 %.

En el trabajo de Oliveira Medina, (2003) como en el de Álvarez, (2015) de remoción de cobre con perlas de alginato de calcio este polimero tuvo mayor capacidad de

remoción a elevada concentración del metal, lo que pudo haber sucedido en este proyecto; a su vez Ardila, Liliana (2012) mostró que existe una mayor eficiencia en la remoción de cromo de aguas de curtiembre por parte de la microalga libre con respecto a los resultados obtenidos con la microalgas inmovilizadas en alginato, determinando que la causa principal es la formación de una capa limitante alrededor de la microalga que disminuye notoriamente la capacidad de remoción de metales pesados, ya que resulta un obstáculo para una buena difusividad superficial e intra-particular.

Además de lo antes mencionado la posible muerte de las células inmovilizadas por la toxicidad del metal disminuiría la capacidad de remoción de metales pesados (Morales & Ruiz, 2008) y por el contrario se aumenta la capacidad de absorción de metales en el alginato a medida que aumenta la concentración del metal; esto pudo provocar que en los resultando (Tabla 3) a partir de 50 ppm se da una mayor remoción en el tratamiento control. Mientras que en los ensayos con 100 ppm de Cr se registró una remoción similar en el control y en el tratamiento con la microalga.

REMOCIÓN DE CROMO A PARTIR DE 50 PPM

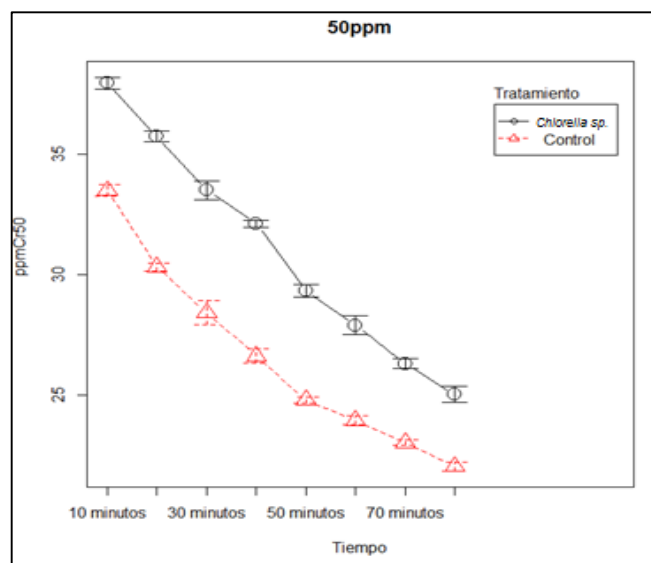


Figura 8. Resultados de la remoción de cromo en soluciones acuosas por acción de *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato y tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella*), con una concentración inicial de 50 ppm de Cr.

Fuente: Realizado por el autor. 2017

REMOCIÓN DE CROMO A PARTIR DE 100 PPM

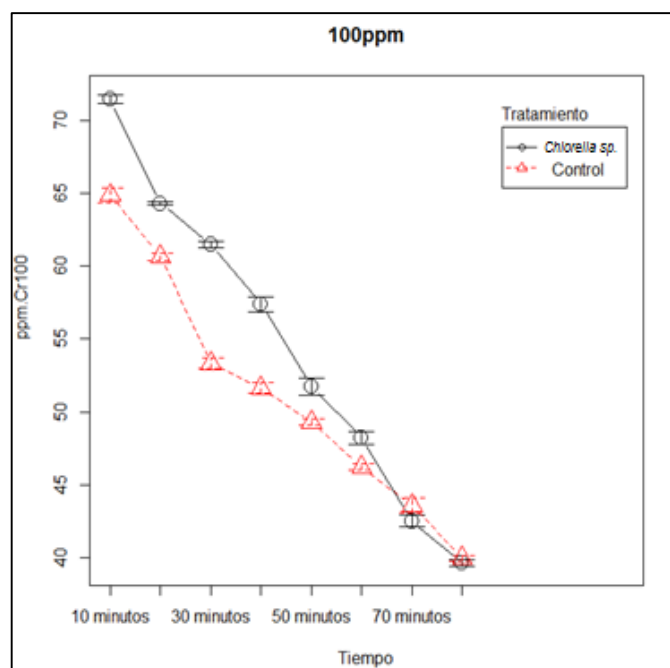


Figura 9. Resultados de la remoción de cromo en soluciones acuosas por acción de *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato y tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella*), con una concentración inicial de 100 ppm de Cr.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

Tabla 3.

Análisis de varianza con el test de Tukey de los resultados obtenidos en las muestras de 50 y 100 ppm como concentraciones iniciales.

ANÁLISIS DE VARIANZA (Test de Tukey)

Tratamiento	Medias (Cr 50ppm)	Medias (Cr 100ppm)	Número de muestras (n)	Diferencia significativa
Control	26,58	51,19	72	A
<i>Chlorella</i> sp.	30,99	54,58	72	B

Nota. Fuente: Realizado por el autor, 2017

Esto confirma que el tratamiento con *Chlorella sp.* es más eficiente a bajas concentraciones de cromo y el tratamiento control empleando solo las perlas de alginato es más eficiente a concentraciones elevadas de metal (Figura 10).

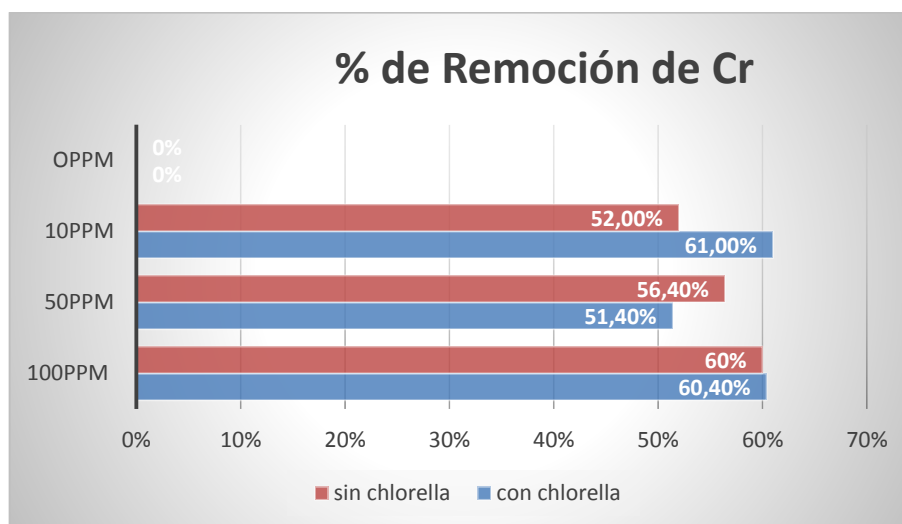


Figura 10. Porcentajes de remoción de cromo a los 80 minutos con tratamiento sin *Chlorella sp.* y tratamiento con *Chlorella sp.* a partir de 10 ppm, 50 ppm y 100 ppm de Cr.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

3.3.2. Cinética de remoción de cromo con microalga *Chlorella sp.*

inmovilizada

Los resultados del presente proyecto tienen concordancia con el trabajo de Sanchez, Garza, & Almaguer (2008) en su estudio cinético e isotermas de adsorción de Ni(II) y Zn(II), se utilizó biomasa del alga *Chlorella sp.* inmovilizada y se observó la remoción de estos metales después de un tiempo de exposición metal-perlas, al igual que en el presente ensayo se observa que la concentración del metal va disminuyendo rápidamente a los primeros minutos hasta llegar a volverse constante conforme el transcurso del tiempo de contacto perlas-metal (figura 11).

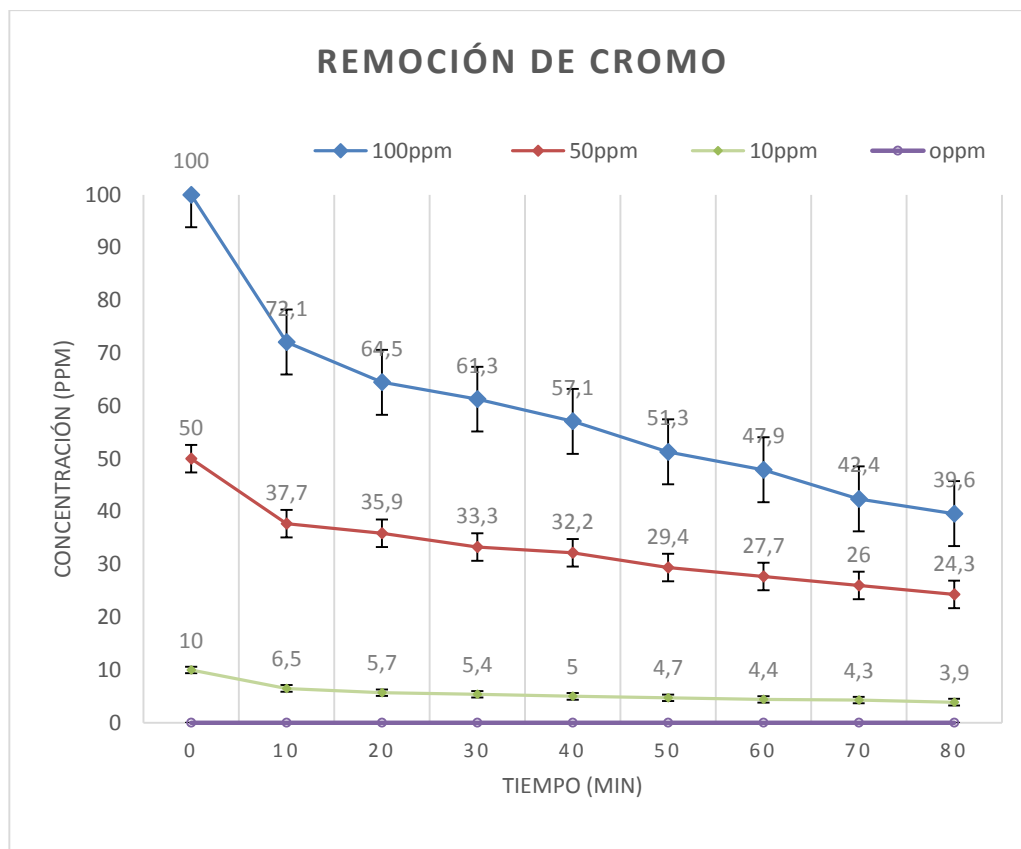


Figura 11. Variación de la concentración de cromo con respecto al tiempo de exposición perla-metal en el tratamiento con microalga *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato a partir de 10, 50 y 100 ppm de Cr.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

Conforme la microalga se va saturando del metal en las tres concentraciones utilizadas, la velocidad de adsorción llega aparentemente a estabilizarse; de la misma manera sucede con *Chlorella* sp. en la remoción de Ni(II) y Zn(II) que se satura en cierto punto llegando a ser constante (Sanchez, Garza, & Almaguer, 2008). Se observa a su vez una mayor variación de concentración de metal removido a los primeros 10 minutos determinándose como una fase inicial con respecto a las muestras obtenidas a partir de los 20 minutos como fase final que se mantiene aparentemente constantes.

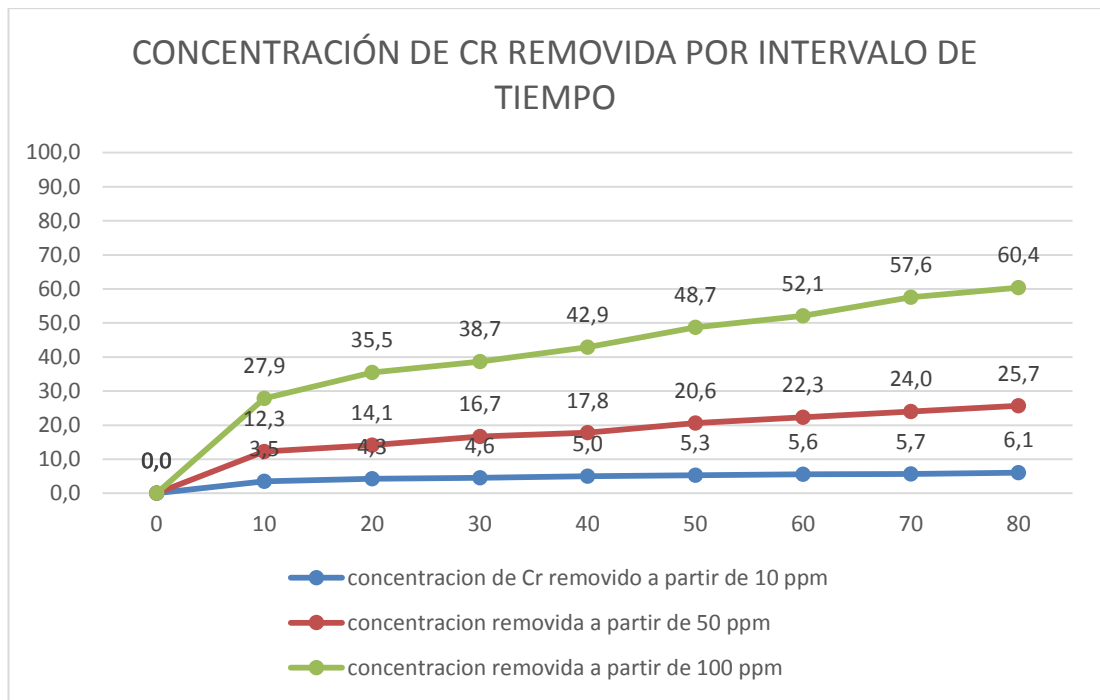


Figura 12. Concentración de Cr removida con microalga *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato por intervalo de tiempo de 10 min.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

En el primer intervalo de tiempo (0 a 10 minutos) se da una remoción en forma exponencial (Figura 12) mientras que en los intervalos de tiempo posteriores la remoción está representada por una línea recta lo que indica estabilidad en la velocidad de remoción.

3.3.3. Cinética de remoción de cromo en el tratamiento control (perlas de alginato de calcio sin *Chlorella*).

Al igual que en el tratamiento anterior se observa una disminución del cromo en mayor medida a los primeros 10 minutos de exposición perla-metal y a después va decreciendo la concentración cada vez con menor rapidez esto debido a la saturación en el proceso de intercambio iónico de las perlas de alginato (Álvarez, 2015).

La Figura 13 muestra la velocidad de remoción de cromo hasta volverse aparentemente constante a partir de concentraciones iniciales de 100 ppm, 50ppm y 10 ppm con una mayor variación de concentración a los primeros 10 minutos con respecto a las muestras obtenidas a partir de los 20 minutos, se puede apreciar que aparentemente se mantiene constantes al igual que en el tratamiento anterior.

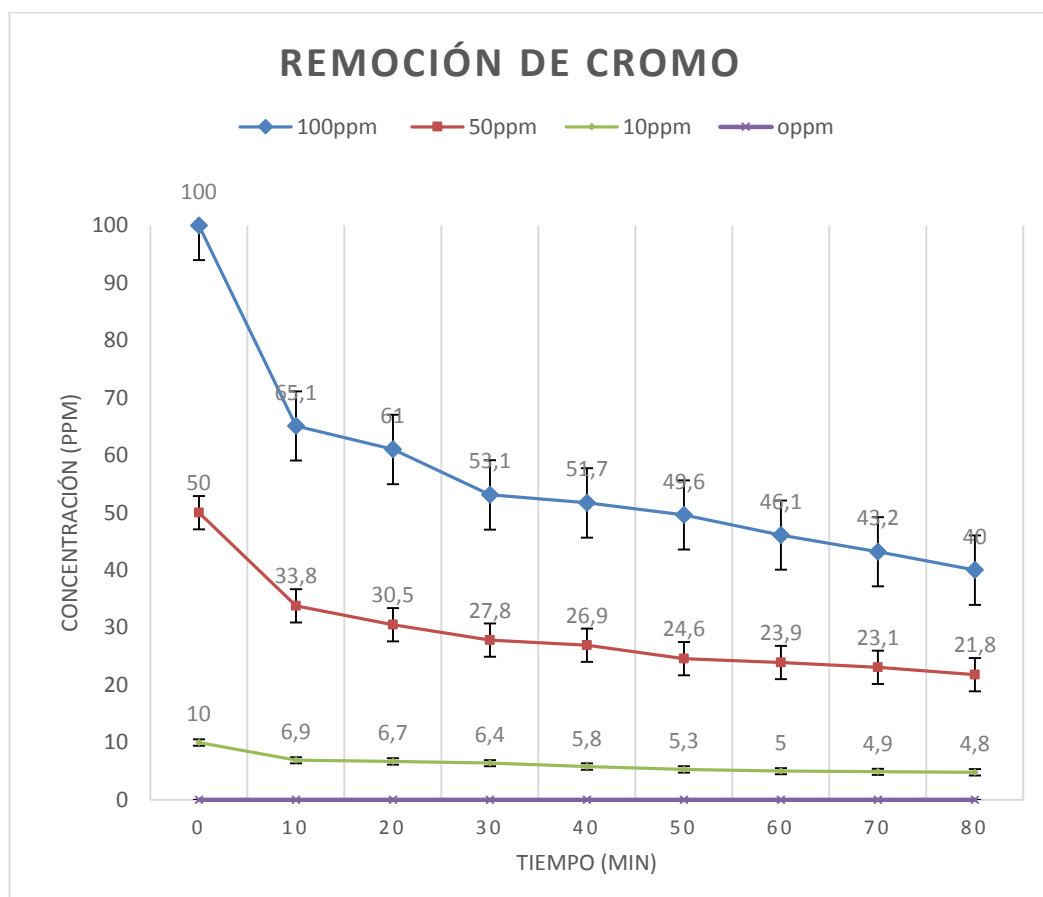


Figura 13. Variación de la concentración de cromo con respecto al tiempo de exposición perla-metal en el tratamiento control a partir de 10, 50 y 100 ppm de Cr.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

Estos resultados nos permiten determinar que tanto el tratamiento control como el tratamiento con *Chlorella* sp. tienen una cinética de remoción en el primer intervalo de tiempo (0 a 10 minutos) de forma exponencial (Figura 14) mientras que los intervalos de tiempo posteriores la remoción está representada por una línea recta lo

que indica estabilidad en la velocidad de remoción, este comportamiento es igual al del tratamiento con *Chlorella sp.*

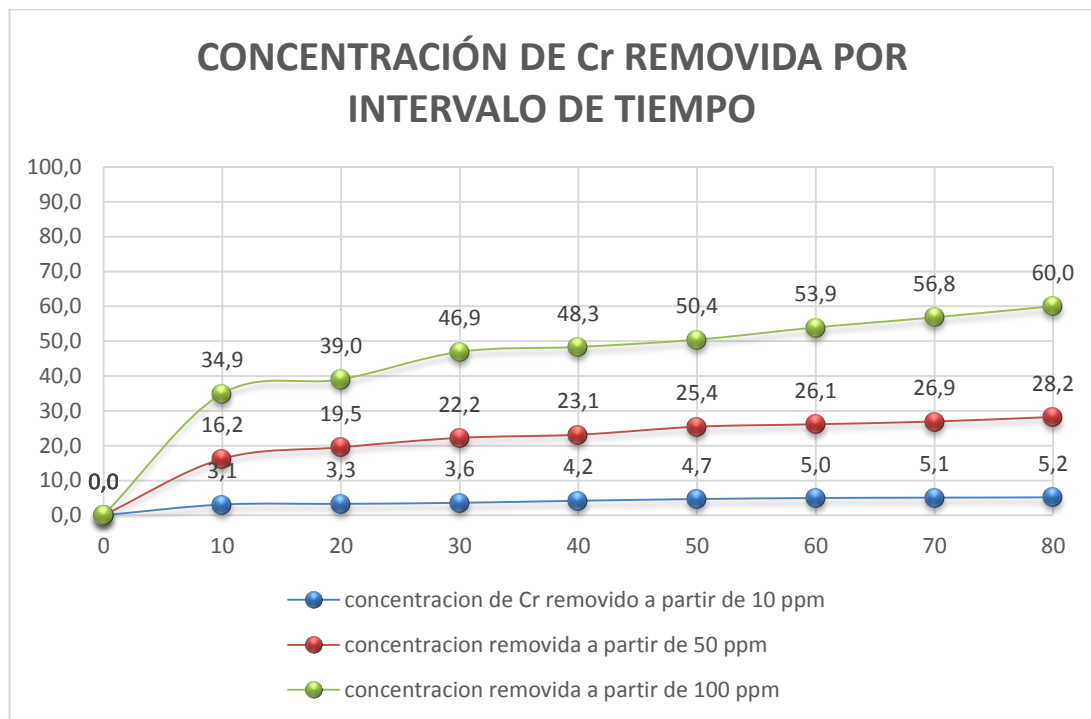


Figura 14. Concentración de Cr removida en el tratamiento control (perlas de alginato sin microalga *Chlorella sp.*) por intervalo de tiempo de 10 min a partir de una concentración inicial de 10 ppm, 50 ppm y 100 ppm.

Fuente: Realizado por el autor, 2017

Los resultados de remoción de Cr en concentraciones de 10 ppm en los que se ve mayor remoción de Cr en el tratamiento con *Chlorella sp.* indican que este tipo de tratamiento con biomasa inmovilizada se podría usar para tratar efluentes que contengan concentraciones similares del metal y que a su vez presenten contaminación con compuestos nitrogenados que podrían servir de nutriente (Vargas, Cárdenas, Hernández, Araujo, & López, 2011) para la biomasa de *Chlorella*, facilitando la remoción celular al final del proceso dado que la biomasa se encontraría inmovilizada en perlas de alginato.

Según algunas investigaciones que trabajaron con muestras de aguas de curtiembre reales mostraron que la concentración de Cr (VI) era relativamente bajas como por ejemplo en el trabajo de Higuera, Oscar (2005) donde se obtuvo una concentración inicial de 0,072 ppm de Cr (VI) mediante una técnica colorimétrica de agua de curtiembre, de manera que se podría aplicar el tratamiento de remoción de Cr con *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato como tratamiento de biorremediación.

4. CONCLUSIONES

- El crecimiento de la *Chlorella* sp. a nivel de laboratorio depende de varios factores ambientales entre los más importantes se hallan: la luz necesaria para el proceso fotosintético, nutrientes necesarios y una aireación adecuada.
- La remoción de cromo para concentraciones de 10 ppm se ve potenciado por acción de la biomasa de *Chlorella* inmovilizada debido a que podría permanecer viable favoreciendo los procesos de remoción por absorción, mientras que en concentraciones de 50 ppm y 100 ppm de cromo se perdería la viabilidad de las células disminuyendo la capacidad de remoción.
- A partir de una concentración inicial de 10 ppm, el porcentaje de remoción fue del 61,00% en el tratamiento con *Chlorella* sp. y un 52,00% en el tratamiento control concluyendo que a concentraciones de 10 ppm hay mayor capacidad de remoción de cromo con *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato.
- La capacidad de remoción a concentración inicial de 50 ppm de cromo es mayor en el tratamientos control (perlas de alginato sin *Chlorella* sp.) con un porcentaje de remoción de 56,40% y 51,40% en el tratamientos con *Chlorella* sp.
- En los tratamientos con concentración inicial de 100 ppm de cromo la remoción es similar del 60 % en los dos tratamientos (con 60,00% de remoción y 60,40% de remoción de cromo en el tratamiento con y sin *Chlorella* sp respectivamente).
- Es probable que en el ensayo de 50 ppm de cromo, el tratamiento control haya arrojado mejores porcentajes de remoción debido a que la biomasa de

Chlorella sp. no sobrevive a concentraciones elevadas del metal, disminuyendo la capacidad de remoción del metal.

5. RECOMENDACIONES

- Utilizar un proceso automatizado para la formación de las perlas, sobre todo si se pretende realizar tratamientos a escala industrial para una obtención rápida y a su vez informe de las perlas.
- Continuar la investigación con concentraciones de Cr (VI) alrededor de 10 ppm ya que como se demostró en el presente trabajo se obtuvieron resultados bastante favorables a esta concentración en el tratamiento con microalga *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato.
- Analizar la cinética de remoción de cromo y de compuestos nitrogenados de forma simultánea que ayuden en la conservación de la viabilidad de la microalga para obtener.
- Evaluar la viabilidad de *Chlorella* a diferentes concentraciones de cromo para comprobar su toxicidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Alloway, B. J. (26 de 10 de 2013). *Heavy Metals in Soils*. Netherlands: Springer Netherlands. Obtenido de Cromo.
- Álvarez, C. (2015). *Estudio de pre-factibilidad técnica de remoción y elución de cobre con esferas de alginato*. Valparaíso, Chile: Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
- Ardila, L. (2012). *Medición de la capacidad de *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus* para la remoción de cromo de aguas de curtiembre*. Bogotá, Colombia : Facultad de ingeniería, Departamento de ingeniería química y ambiental .
- Atilio, E. (2013). *Contaminación*. Catamarca : Editorial Científica Universitaria, Universidad Nacional de Catamarca .
- Avendaño, G. C., Romero, A., López, M., & Palo, E. (2013). *Propiedades del alginato y aplicaciones en alimento*. México : Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla .
- Bautista, F. (1999). *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados*. Yucatán, México : Libros tecnológicos.
- Cañizares, R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 131 - 135.
- Cuizano, N., & Navarro, A. (2008). Biosorción de metales pesados por algas marinas: posible solución a la contaminación a bajas concentraciones. *Química y medio ambiente*, 120 - 130.
- Domy, A. (16 de 10 de 2001). *Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals*. EE.UU, New York: Springer New York. Obtenido de Fuentes naturales y antrópicas de metales y elemento de la lista de contaminantes prioritarios.
- Echarri, L. (1998). *Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente*. Navarra, España: Teide.
- Fernández, G., & Guzman, A. (2000). *Presencia Antropogénica de Cromo (Cr) en el Ambiente y su Impacto en la Salud de los Pobladores de las Toscas*. Santa Fe, Argentina: Ambiente Ecologico .
- Flathman, P. (1998). Fitorremediación: puntos de vista de una tecnología verde emergente. 415-432. Recuperado el 15 de Agosto de 2016
- Flores, F. (2010). Toxicidad del cromo en Ecosistemas Dulceacuícolas. *Investigación y Ciencias*, 17 - 19.

- Forero, M., Montenegro, L., & Ponilla, G. (2015). *Inmovilización de las microalgas Scenedesmus ovalternus (Scenedesmaceae) Y Chlorella vulgaris (Chlorellaceae) en esferas de alginato de calcio*. Bogotá, Colombia: Revistas UN. Recuperado el 19 de 09 de 2016, de BDIGITAL PORTAL DE REVISTAS:
<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/51253/56027>
- Garzón Jiménez, C. (2008). *Inmovilización microbiana; técnicas y usos en el tratamiento de residuos tóxicos*. Bogotá, Colombia: Revista sistemas ambientales .
- Hernández, S. A. (2011). *Inmovilización de microorganismos en esferas de alginato como protección contra condiciones adversas en un tratamiento de aguas residuales*. La Paz Baja California Sur, México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. .
- Higuera, O. (2005). *REDUCCIÓN DEL CROMO CONTENIDO EN EFLUENTES LÍQUIDOS DE LA INDUSTRIA DEL CUERO, MEDIANTE UN PROCESO ADSORCIÓN – DESORCIÓN CON ALGAS MARINAS* . Bucaramanga, Santander, Colombia: Universidad Industrial de Santanderj7.
- Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo. (2001). Metales: Propiedades, Química y Toxicidad. En G. Nordberg, *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo* (págs. 63 - 69). España: Instituto Nacional de Seguridad y Higiene en el trabajo.
- Khasim, I. D., Kumar, N. N., & Hussain, R. (1989). Environmental contamination of chromium in agricultural and animal products near a chromate industry. *Environmental Contamination and Toxicology*, 742-745. Obtenido de Los metales pesados y sus efectos ambientales.
- López, M. (2011). *Cromo elemento químico*. Bogotá, Colombia: Fundación Universitaria Los Libertadores.
- Maznah, W., AlFawwaz, O., & Surif, M. (2012). *Biosorption of copper and zinc by immobilised and free algal biomass, and the effects of metal biosorption on the growth and cellular structure of Chlorella sp. and Chlamydomonas sp. isolated from rivers in Penang, Malaysia*. Penang, Malaysia: ScienceDirect.
- Morales, D., & Ruiz, K. (2008). *Determinación de la capacidad de remoción de cadmio, plomo y níquel por hongos de la podredumbre blanca inmovilizados*. Bogotá, Colombia : Universidad Javeriana, Facultad de Ciencia .
- Morris, J., Quintana, M., & Arceo, Á. (1999). COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA CALIDAD PROTEICA DE LA BIOMASA AUTOTRÓFICA DE CHLORELLA VULGARIS. *Rev Cubana Aliment Nutr* , 125 - 138.

- Oliveira Medina, J. (2003). *Estudio de la biosorción de cobre Cu (II) por perlas de alginato de calcio*. Lima, Perú: Universidad Nacional mayor de San Marcos.
- ONU. (22 de 10 de 2014). *Agua Fuente de vida*. Obtenido de Calidad del Agua: <http://www.un.org/spanish/waterforlifedecade/quality.shtml>
- Posten, C., & Feng Chen, S. (26 de 03 de 2016). *Microalgae Biotechnology*. Suiza, Switzerland: Springer International Publishing. Obtenido de Conteo de microalgas: <http://microalgasmodulo1.blogspot.com/2013/03/conteo-de-microalgas.html>
- Puga, S., Sosa, M., & Quintana, C. (2006). Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. *Scielo Perú*, 28 - 36.
- Sanchez, E., Garza, T., & Almaguer, V. (2008). *Estudio cinético e isothermas de adsorción de Ni(II) y Zn(II) utilizando biomasa del alga Chlorella sp. inmovilizada*. San Nicolás de los Garza, N.L., México: Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Sherameti, I., & Varma, A. (20 de 07 de 2011). *Detoxification of Heavy Metals*. Berlin Heidelberg: Springer . Obtenido de Riesgos de usar el cromo como complemento para adelgazar y rendir más en los entrenamientos: <https://www.vitonica.com/minerales/riesgos-de-usar-el-cromo-como-complemento-para-adelgazar-y-rendir-mas-en-los-entrenamientos>
- Singhal, R. K., Joshi, S., Tirumalesh, K., & Gurg, R. P. (2004). *Reduction of uranium concentration in well water by Chlorella (Chlorella pyrenoidosa) a fresh water algae immobilized in calcium alginate*. Brazil: Radioanalytical and Nuclear Chemistry.
- Sundaram, S., & Raghavan, P. (11 de 11 de 2011). *Chromium -VI Reagents: Synthetic Applications*. Verlag Berlin Heidelberg: Springer. Obtenido de Propiedades del cromoPropiedades del cromo.
- Thirumagal, J., & Panneerselvam, A. (2014). PHYCOREMEDIATION OF MALACHITE GREEN AND REDUCTION OF PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS FROM POLLUTED WATER USING Chlorella pyrenoidosa. *IJRET: International Journal of Research in Engineering and Technology* , 272-277.
- Torres Rodríguez, D. (2003). *El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos*. España : Asociación Española de Ecología Terrestre.
- Vargas, L., Cárdenas, C., Hernández, M., Araujo, I., & López, F. (2011). *Efectos de las microalgas en la remosion de compuestos nitrogenados presentes en la laguna facultativa de una planta de tratamiento de agua*. Venezuela : Centro

de Investigación del Agua, Ciudad Universitaria, Lagunas de Oxidación. Maracaibo.

Villabona, A., Garces, L., & Tejada, C. (26 de Octubre de 2014). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. *Tecnologías Aplicadas*, 18(34), 109-123. Recuperado el 09 de Octubre de 2016

Vullo, D. D. (2003). *MICROORGANISMOS Y METALES PESADOS: UNA INTERACCIÓN EN BENEFICIO DEL MEDIO AMBIENTE*. España: Revista QuímicaViva.

World health organization. (2016). *Inorganic chromium (VI) compounds*. Ginebra, Suiza : International Programme on Chemical Safety.

ANEXOS

Anexo 1. Resultados obtenidos es en espectrofotómetro de absorción atómica a partir de una concentración inicial de 100 ppm con *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato

Con <i>Chlorella</i>		Concentración inicial de Cr: 100 ppm								
		concentración de Cr en ppm								
		0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min
Repeticiones	Balón A	100	72,1	64,5	61,6	57,4	50	47,8	45	40,6
		100	69,9	64,6	60,8	56,5	51,3	49,9	42,4	39,4
		100	72,1	63,9	61,6	56,5	50	49,8	43,2	39,1
	Balón B	100	72,1	64,6	63	61,3	53,9	47,9	41	39,6
		100	70	64,5	61,3	57,1	54	49,8	42,1	38,7
		100	71,3	64,5	60,8	57,1	53,9	46,4	42,4	40,3
	Balón C	100	71,5	64,6	61,3	56,5	50	47,8	41	40,1
		100	72,1	63,9	61,3	57,1	51,3	47,9	42,1	39,1
		100	72,1	63,7	61,6	57,1	51,2	46,4	43,2	39,6

Anexo 2. Resultados obtenidos es en espectrofotómetro de absorción atómica a partir de una concentración inicial de 50 ppm con *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato

Con <i>Chlorella</i>		Concentración inicial de Cr: 50 ppm							
		concentración de Cr en ppm							
Repetición	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min
Balón A	50	37,7	35,9	33,3	32,1	28,8	26,8	25,9	24,2
	50	37,3	35,4	32,4	31,7	30,8	26,7	25,4	24,3
	50	38,1	36,5	32,2	31,7	29,4	27,7	26,7	25,9
Balón B	50	37,5	35,9	34,7	32,2	27,9	26,7	26	25,9
	50	38,8	36,7	32,5	32,6	29,4	28,8	27,3	26,7
	50	37,6	35,9	32,6	32,6	30,1	29,7	26,8	25,8
Balón C	50	37,7	35,4	34,7	32,5	29,4	26,8	25,9	23,9
	50	37,6	34,6	34,2	31,4	29,4	29	26,7	24,2
	50	39,5	35,5	35,1	32,3	28,8	28,9	25,9	24,3

Anexo 3. Resultados obtenidos es en espectrofotómetro de absorción atómica a partir de una concentración inicial de 10 ppm con *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato

Con <i>Chlorella</i>		Concentración inicial de Cr: 10 ppm								
		concentración de Cr en ppm								
Repeticiones	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min	
Balón A	10	6,8	5,7	5,6	4,8	4,7	4,3	4	3,9	
	10	6,9	5,8	5,7	4,7	4,4	4,4	4,3	3,5	
	10	6,8	6	5,6	5,2	4,9	4,5	4,4	4	
Balón B	10	6,9	5,7	5,5	5,1	4,7	4,6	4,5	3,9	
	10	6,5	5,8	5,4	5,1	5,1	5	4,9	3,9	
	10	6,5	6	5,1	5,2	4,8	4,7	4,5	4	
Balón C	10	5,9	5,1	4,7	4,7	4,7	4,3	4	3,3	
	10	5,8	5,3	4,6	5	4,8	4,4	4,3	3,5	
	10	5,8	5,3	4,7	4,5	4,4	4,3	4	3,3	

Anexo 4. Resultados obtenidos es en espectrofotómetro de absorción atómica a partir de una concentración inicial de 0 ppm con *Chlorella* sp. inmovilizada en perlas de alginato

Con <i>Chlorella</i>		Concentración inicial de Cr: 0 ppm								
		concentración de Cr en ppm								
Repeticiones	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min	
Balón A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Balón B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Balón C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Anexo 5. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica en el tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella* sp.) a partir de una concentración inicial de 100 ppm

Sin <i>Chlorella</i>		Concentración inicial de Cr: 100 ppm								
		concentración de Cr en ppm								
Repetición		0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min
Repeticiones	Balón A	100	64,3	60,3	51,7	51,6	50,3	45,6	45	40,6
		100	62,8	61	53,1	49,9	48,4	47,2	44,9	40,1
		100	65,1	59,2	52,4	51,7	48,6	46,1	43,2	39,1
	Balón B	100	66,9	60,3	54,3	52,9	48,7	46	41	39,6
		100	66,7	61	53,4	51,7	49,6	46,6	42,1	39,7
		100	65,5	61,5	54,3	52,8	49,9	45,5	42,4	40,3
	Balón C	100	64,3	60,2	55,1	52,6	48,7	47,2	45,5	40,6
		100	62,8	61,5	53,1	50	49,6	46,1	43,2	39,6
		100	65,5	61	52,4	51,7	50	45,6	44,8	40

Anexo 7. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica en el tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella* sp.) a partir de una concentración inicial de 50 ppm

Sin <i>Chlorella</i>		Concentración inicial de Cr: 50 ppm								
		concentración de Cr en ppm								
Repetición		0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min
Balón A	50	33,8	30,6	30,9	25	24,5	23,2	23,1	22,3	
	50	34,1	30,5	29,9	27,3	24,4	23,9	23,3	21,8	
	50	34,1	30,6	29,7	27,1	24,9	23,5	23	22,6	
Balón B	50	32,8	30,1	28,8	27,6	25	24	22,4	21,6	
	50	33,8	29,5	27,8	26,6	24,6	24,1	23,2	22,7	
	50	33,8	30	27,7	27,6	25	24,5	23	21,1	
Balón C	50	32,2	29,9	27,1	25,5	24,5	23,9	22,5	21,6	
	50	34,1	31,2	26,5	26	25,5	24,9	23,2	22,7	
	50	32,8	30,5	27,3	26,9	24,6	23,5	23,3	21,8	

Anexo 6. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica en el tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella* sp.) a partir de una concentración inicial de 10 ppm

Sin <i>Chlorella</i>		Concentración inicial de Cr: 10 ppm								
		concentración de Cr en ppm								
Repetición		0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min
Balón A	10	7,8	7,2	6,6	6,5	5,7	5,7	5,5	5,3	
	10	7,7	7,5	6,3	6,4	6,2	5,8	5,2	5,2	
	10	7,4	7,3	6,6	6,6	6,4	5,5	5,2	5,1	
Balón B	10	6,9	6,6	6,4	5,8	5,5	5	4,9	4,8	
	10	6,8	6,9	6,4	5,5	5,3	4,9	4,7	4,7	
	10	6,5	6,5	6,5	5,9	5,1	4,9	4,7	4,7	
Balón C	10	6,8	6,3	6,2	5,7	5,1	4,9	4,9	4,8	
	10	6,9	6,7	6	5,4	5,2	5	4,9	4,9	
	10	6,9	6,2	6	5,8	5,3	4,8	4,8	4,7	

Anexo 8. Resultados obtenidos en el espectrofotómetro de absorción atómica en el tratamiento control (perlas de alginato sin *Chlorella* sp.) a partir de una concentración inicial de 0 ppm

Sin <i>Chlorella</i>		Concentración inicial de Cr: 0 ppm							
		concentración de Cr en ppm							
Repeticiones	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min
Balón A	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Balón B	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Balón C	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0