

DOSSIER

CONTAMINACIÓN CON METALES Y SU SANEAMIENTO MICROALGAS Y BIORREMEDIACIÓN

*En búsqueda de microalgas autóctonas para la remoción de metales.
Experiencias en la Patagonia.*

Gisela Ferraro

Durante las últimas décadas la contaminación ambiental ha aumentado considerablemente. La minería, la industria metalúrgica y el uso extensivo de fertilizantes minerales son las principales fuentes de contaminación por metales. Asimismo, el desecho inadecuado de artefactos de uso doméstico como pilas, artículos electrónicos, termómetros y cierto tipo de pinturas puede también contaminar el ambiente.

Los metales son elementos inorgánicos y son componentes naturales de la corteza de la tierra. Algunos de ellos, como cobre, zinc, hierro y manganeso, en bajas concentraciones, son esenciales para la vida. Sin embargo, en concentraciones más altas, entre 0,1 a 10 miligramos por mililitro (mg/mL), pueden resultar tóxicos. Mientras que otros metales, como uranio, cadmio, y plomo son considerados no esenciales porque no tienen una función biológica conocida, pero sí ejercen efectos negativos en los seres vivos incluso en concentraciones hasta cien veces menores, del orden de 0,001 a 0,1 mg/mL.

Tradicionalmente se clasificaba a los metales de acuerdo a su densidad, definiendo como metales pesados a aquellos cuya densidad es, por lo menos, cinco veces mayor que la del agua 5 g/mL. Sin embargo, la densidad específica no es un factor que permita definir la toxicidad de un elemento por lo que, actualmente, se está dejando de lado el uso de este término. Los metales de mayor preocupación, según

la Organización Mundial de la Salud (OMS), son el cadmio, el cromo, el cobalto, el cobre, el plomo, el níquel, el mercurio y el zinc. Los efectos que provocan estos metales sobre los seres vivos dependen de su concentración y de su biodisponibilidad (ver Glosario).

La contaminación por metales es altamente preocupante ya que no son biodegradables, es decir no pueden ser degradados y convertidos en sustancias inocuas o menos tóxicas. Además, otro problema asociado a la presencia de metales en el ambiente es la biomagnificación, esto es, la acumulación a lo largo de la cadena trófica lo que hace que cada organismo acumule en su interior una concentración superior a la que contiene alimento.

Los metales pueden causar daño en todos los seres vivos. A nivel molecular la toxicidad se da porque pueden desplazar cationes (ver Glosario) indispensables para el funcionamiento de enzimas, que son las proteínas que regulan y aceleran las reacciones en el interior celular. Además, los metales favorecen la formación de moléculas como las especies reactivas del oxígeno, que son muy dañinas para todos los componentes celulares. En humanos se ha visto que los principales órganos dañados por la presencia de metales son los riñones, el hígado, el estómago, los intestinos, los pulmones y el cerebro. Los metales podrían ingresar al organismo por inhalación o por ingestión de agua o de alimentos contaminados.

Metales en el agua

Los cuerpos de agua -como ríos, lagos y mares- son contaminados ya sea por el vertido de efluentes tratados inadecuadamente o por la incorporación de aguas contaminadas provenientes de zonas cercanas (Ver el artículo Sistemas Bioelectroquímicos en este mismo dossier). Cabe resaltar que el agua es el principal recurso natural indispensable para la vida y también lo es para el desarrollo, por lo que es fundamental encontrar una solución sostenible para su descontaminación.

Los métodos convencionales para la eliminación de metales del agua, emplean diferentes tecnologías fi-

Palabras clave: algas, ambiente, contaminación, cosecha, tecnología.

Gisela Ferraro¹

Dra. en Ciencias Biológicas
gisela.ferraro@cab.cnea.gov.ar

¹Centro Atómico Bariloche (CAB), Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA). Instituto de Energía y Desarrollo Sustentable (IEDS)

Recibido: 08/04/2022. Aceptado: 24/05/2022.

DOSSIER

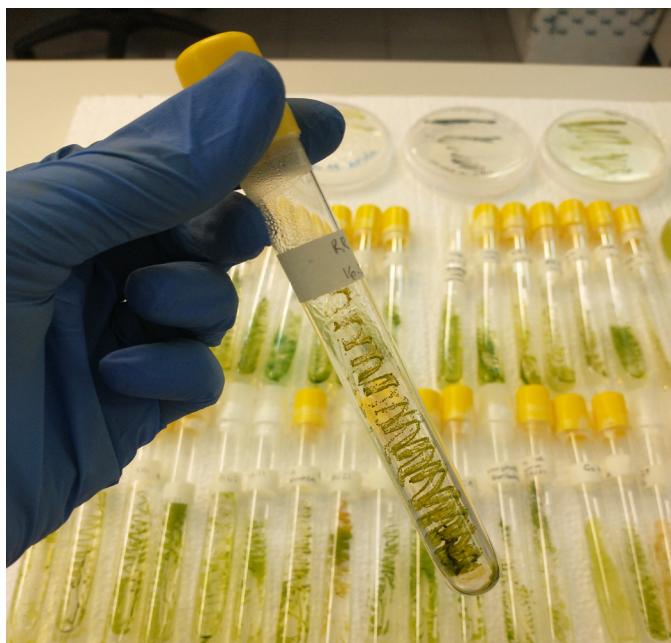


Imagen: gentileza de la autora.

Figura 1. Imagen del cepario de algas. La mayoría de las cepas se conserva en tubos de ensayo con medio de cultivo sólido. El color verde característico de los cultivos y las colonias de microalgas se debe a la presencia de clorofila. La clorofila es un grupo de pigmentos de color verde que se encuentra presente en los cloroplastos y que es esencial para el proceso de fotosíntesis.

sicoquímicas. Sin embargo, estas aplicaciones tienen limitaciones tecnológicas, un gran requerimiento energético y utilizan gran cantidad de reactivos químicos lo que puede provocar una contaminación secundaria. Además, son ineficientes para tratar soluciones con bajas concentraciones de metales (entre 0,1 y 100 mg/L). Teniendo en cuenta estas limitaciones y que las normas de descarga de aguas contaminadas son cada vez más estrictas, es indispensable el desarrollo de nuevas tecnologías que sean eficientes, de bajo costo y respetuosas con el ambiente. Entre estas nuevas alternativas se encuentra las tecnologías basadas en el empleo de microorganismos y plantas que actúan removiendo y eliminando los contaminantes del suelo y agua.

Biorremediación por microalgas

La biorremediación es la utilización de organismos vivos como bacterias, hongos, algas y plantas para degradar, transformar y/o remover compuestos tóxicos contaminantes presentes en el agua, el suelo y el aire, convirtiéndolos en productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Dentro del conjunto de estos seres vivos, las microalgas (nombre con el que se conoce a las algas unicelulares) han mostrado muy buenas capacidades de remoción de metales. El uso de microal-

gas para la remediación presenta numerosas ventajas. Entre ellas se encuentran la facilidad y los bajos costos de cultivo. Sumado a esto, han demostrado ser particularmente eficientes para la remoción de metales en efluentes con bajas concentraciones (hasta 100 mg/L), situación en la cual los métodos tradicionales se tornan ineficientes. En este sentido, son una alternativa ideal para tratar grandes volúmenes de aguas industriales complejas (que contienen generalmente diferentes metales, sales y compuestos orgánicos) con baja concentración de metales, pero lo suficientemente alta para superar los límites de toxicidad. Se han identificado varias algas con alto potencial para remover varios tipos de contaminantes como, metales herbicidas y pesticidas. Los tratamientos de remediación con microalgas idealmente deberían ser utilizados para tratar los efluentes industriales o mineros previos al vuelco de los mismos. Pero además podrían emplearse para remediar cuerpos de agua ya contaminados.

Las microalgas interactúan con el metal de diferentes maneras. La captación de metales es un proceso complejo que combina mecanismos activos y pasivos. Primero ocurre una unión del metal a la pared celular. Ese proceso se llama adsorción, es rápido y sucede tanto en células vivas como muertas. Además, puede ocurrir una absorción, que es el ingreso del metal al interior celular. Este proceso es más lento y ocurre solo en células vivas. Se ha demostrado que la principal forma por la cual las microalgas capturan los metales es por la unión de los mismos a diferentes moléculas presentes en la pared celular. Las paredes de las microalgas están compuestas por moléculas como hidratos de carbono, proteínas y lípidos que contienen grupos funcionales tales como carboxilo, hidroxilo, fosfato y amino que son los que, por una interacción fisicoquímica, se unen a los metales. La composición de la pared celular es específica para cada especie y además puede variar de acuerdo al estadio de crecimiento y a las condiciones del entorno en donde crecen. Entonces, las posibilidades de remover metal varían de acuerdo a la especie, a las condiciones del ambiente y al tipo de metal. Todas esas variables pueden ser ajustadas en el laboratorio para poder mejorar el proceso de descontaminación.

Debido a su adaptabilidad inherente, las algas nativas de ambientes contaminados poseen una mayor resistencia a la toxicidad del metal y muestran, además, una mejor eficiencia para capturar los metales. Entonces, resulta muy atractivo trabajar con este tipo de algas en los procesos de biorremediación. Es por esto que el primer paso que realizamos para desarrollar

DOSSIER

la tecnología de remoción de metales por cultivos de microalgas es el aislamiento de algas desde ambientes contaminados. En este sentido, la selección adecuada de la cepa algal es un paso necesario para desarrollar un proceso de biorremediación exitoso.

¿Quiénes son las microalgas?

Entre los organismos que habitan los ambientes acuáticos se encuentran las algas unicelulares que, como vimos, también son conocidas como microalgas. Son organismos fotosintéticos, es decir, producen su propio alimento (compuestos orgánicos) con la luz como fuente de energía y con el dióxido de carbono (CO_2) como fuente de carbono. Las microalgas son las responsables de la mayor parte de la materia orgánica de los ecosistemas acuáticos, realizando el 40% de la fotosíntesis total del planeta.

Existe una amplia diversidad de especies, más de 30.000, que se encuentran tanto en ambientes de agua dulce como salada. Son un grupo polifilético, en otras palabras, son especies que no tienen un antepasado en común, sino que comparten ciertos caracteres que fueron adquiridos de manera independiente como consecuencia de fenómenos evolutivos. Esto hace que exista una gran variedad de microalgas con características y particularidades fisiológicas diversas. Ade-

más, estos microorganismos suelen estar sometidos a cambios en su entorno (por ejemplo, cambios de salinidad, irradiación) por lo que han adquirido herramientas para adaptarse rápidamente a las nuevas circunstancias ambientales. Desde el punto de vista biotecnológico, esta plasticidad metabólica, cobra gran importancia para su aplicación en diferentes procesos industriales. Entre las ventajas que tienen estos microorganismos se encuentran: su capacidad de convertir energía solar en compuestos orgánicos, un ciclo de vida corto, la rápida duplicación de su biomasa, la capacidad de crecer en diferentes tipos de ambientes y de absorber y fijar CO_2 , ayudando a reducir los niveles del gas de efecto invernadero. Asimismo, debido a algunas de estas características, es posible usar de tierras no cultivables para su crecimiento. A partir de la biomasa de microalgas se pueden extraer productos tales como carotenoides, vitaminas o ácidos grasos insaturados, que se utilizan en la fabricación de cosméticos, productos farmacéuticos, fertilizantes y suplementos nutritivos. Además, la biomasa de algas se puede aplicar industrialmente como fuente de energía para la producción de biocombustibles (biodiesel, bioetanol y biohidrógeno) y en el tratamiento de efluentes

Buscando microalgas en ambientes contaminados

Las microalgas representan un recurso con gran potencial. Todavía existen sitios y especies por explorar. Tal es así que, de todas las especies que existen, solo unas 200 han sido estudiadas y aproximadamente 20 se explotan comercialmente. Por lo que el campo de las aplicaciones de las microalgas en diferentes procesos industriales tiene aún mucho por desarrollar.

Imágenes: gentileza de la autora.

52



Figura 2. Imágenes de dos sitios muestreados. A la izquierda, humedal de la región de Pilcaniyeu. A la derecha, lago Nahuel Huapi.

DOSSIER

Imágenes: gentileza de la autora.

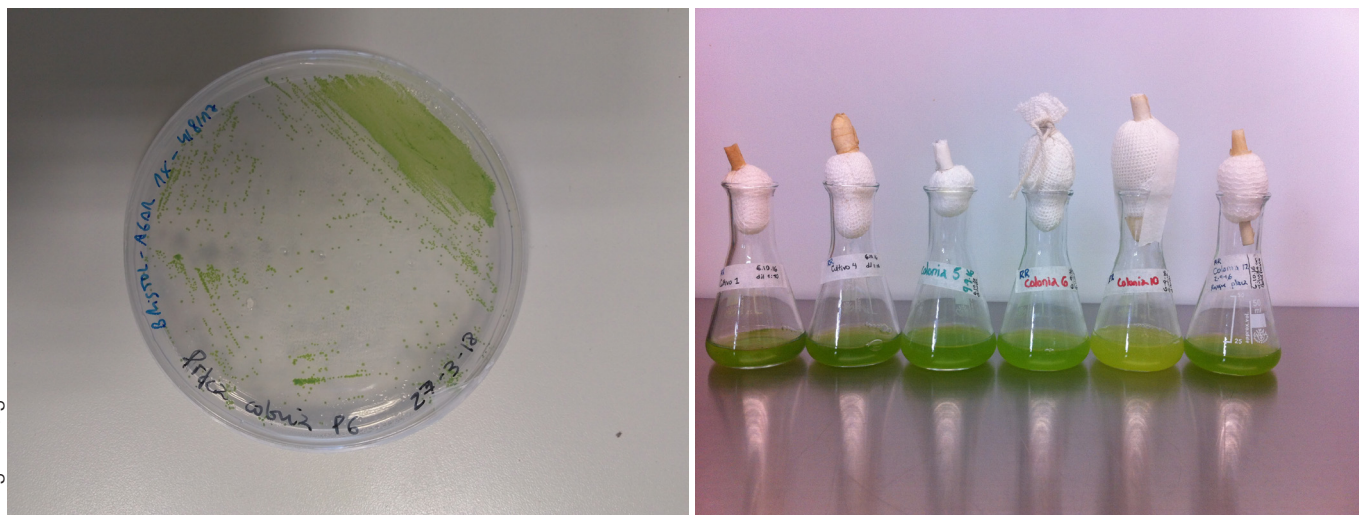


Figura 3. Imágenes de formas de cultivar microalgas. A: cultivos en una placa que muestran colonias individuales. B: cultivos en un medio líquido.

Uno de los objetivos del proyecto de investigación que llevo adelante es el aislamiento, identificación, caracterización y conservación de microalgas. Así, el Laboratorio de Bioenergía y Procesos de Biorremediación del Instituto de Energía y Desarrollo Sustentable ubicado en el Centro Atómico Bariloche posee una colección de más de 35 cepas de algas, entre las que se han identificado variedades de interés biotecnológico (ver Figura 1). Nos resulta muy importante contar con una gran diversidad de cepas y conocer sus principales características ya que, para las aplicaciones biotecnológicas se necesita contar con especies que sean altamente productivas, en este caso es que tengan altas capacidades de remoción de metal y que, a su vez, tengan altas tasas de crecimiento en diferentes condiciones. Por lo que la selección de las cepas adecuadas constituye la primera fase que se debe tener en cuenta en cualquier desarrollo tecnológico.

Como primer paso para aislar las microalgas, se toman muestras de suelo y agua en la zona de interés. Hemos realizado estudios en sitios contaminados como el río Reconquista en la provincia de Buenos Aires y un humedal ubicado en la región de Pilcaniyeu, provincia de Río Negro (ver Figura 2) y también en sitios no contaminados con metales como los lagos Gutierrez y Nahuel Huapí (ver Figura 2). Para aislar las microalgas colocamos sedimento y/o agua en un medio de cultivo líquido (solución a base de agua y nutrientes minerales). Luego de unos siete días de incubación en luz, observamos que el medio se va poniendo verde, lo que indica crecimiento de microalgas. Un pequeño volumen de este cultivo líquido es sembrado en placas con un medio de cultivo sólido, de manera de permitir la formación de colonias indi-

viduales de microalgas (ver Figura 3A). Estas colonias son tomadas individualmente y se colocan nuevamente en un medio de cultivo líquido con el fin de obtener cultivos de una sola especie de alga (unialgales) y sin presencia de bacterias u hongos (axénicos) (ver Figura 3B). Esto se corrobora mediante observación al microscopio de los cultivos líquidos. A través de este proceso nuestro laboratorio fue construyendo su cepario de microalgas. Todos estos pasos los realizamos en un equipo (flujo laminar) que nos proporciona aire estéril para no contaminar las muestras con microorganismos ambientales o de nuestra propia piel. El crecimiento de las algas se realiza en incubadores que permiten que elijamos las condiciones de temperatura e intensidad y tiempo de luz. Además, mayormente, hacemos crecer los cultivos en agitación y si es necesario les agregamos aire, lo que hace que tengan una mayor cantidad de dióxido de carbono (CO_2).

¿Qué buscamos en las microalgas?

Una vez que contamos con los cultivos unialgales y axénicos continuamos con la identificación del género y, si es posible, su especie y nombre científico. Esto lo hacemos mediante la observación al microscopio, la utilización de claves de determinación y/ o mediante la utilización de técnicas de biología molecular, que incluyen la secuenciación de pequeñas regiones de ADN.

También realizamos una caracterización del tipo y velocidad de crecimiento, y tomamos nota de todas las particularidades que observamos durante el crecimiento del cultivo. Además, hacemos experimentos de remoción de metales. Para esto, ponemos en contacto a los cultivos de algas con el o los metales que que-

DOSSIER

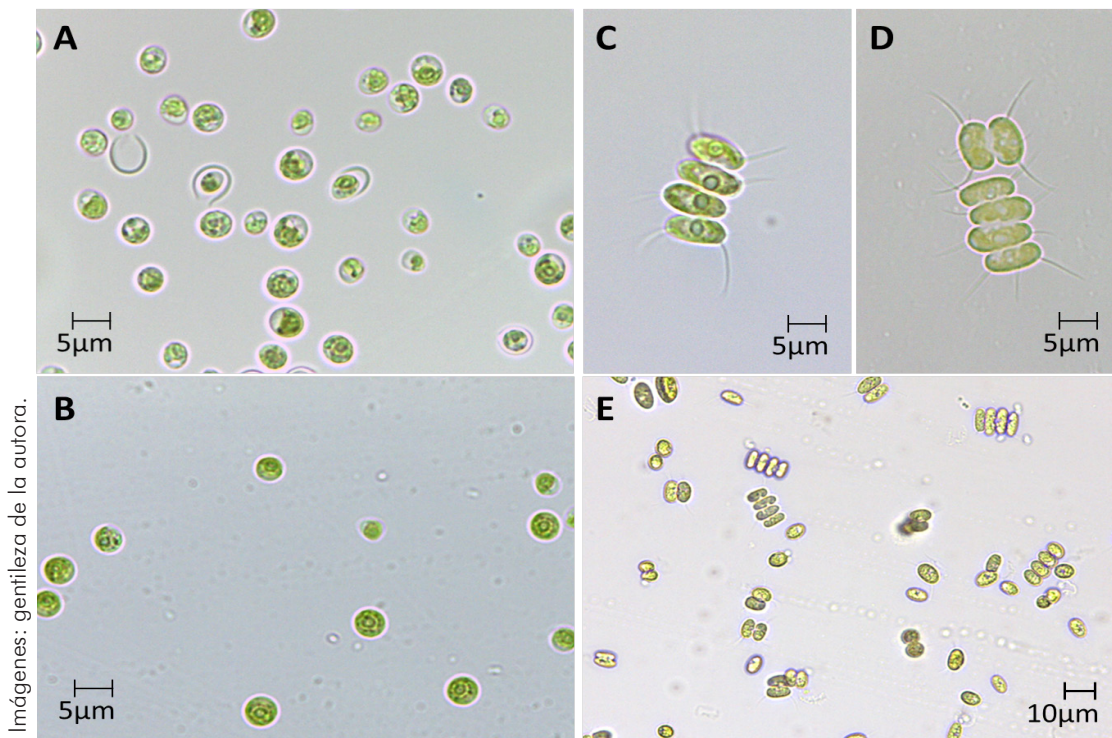


Figura 4. Fotografías representativas de microalgas de los géneros *Chlorella* sp., (A y B) y *Desmodesmus* sp. (C y E). Las imágenes se tomaron en un microscopio de campo claro con un aumento de 1000X para A hasta D y de 400X para E.

Imágenes: gentileza de la autora.

remos estudiar. Hemos trabajado con níquel, cromo, cobre y zinc. Transcurrido un tiempo, que va desde algunos minutos a las 72 horas o más, dependiendo del caso, separamos a la biomasa de algas del medio líquido y determinamos la concentración de metal remanente en este último. Así podemos hacer cálculos que nos permiten determinar la eficiencia y la capacidad de remoción de estas microalgas de cada metal. Estos datos nos permiten filtrar y seleccionar a las cepas con mejores rendimientos para realizar estudios y caracterizaciones más exhaustivas.

De esta manera hemos seleccionado dos cepas con un gran potencial para la biorremediación: una identificada como *Chlorella* sp. y la otra *Desmodesmus* sp. (ver Figura 4). Con estas algas hemos realizado ensayos de remoción de zinc, cobre y cromo, trabajando con cada metal por separado y también con todos juntos. Observamos que ambas cepas tuvieron muy buenas eficiencias de remoción, entre el 50 y el 75%, aun cuando todos los metales estaban presentes en simultáneo. Algo muy interesante fue encontrar que *Chlorella* sp. mostró una preferencia por cobre mientras que *Desmodesmus* sp. tuvo mayor afinidad por zinc. Esto demuestra la importancia de contar con un amplio cepario ya que, como dijimos anteriormente, cada especie tiene una composición particular de la pared celular y una respuesta específica a la presencia de metal. Entonces, de acuerdo a las características del efluente o agua contaminada a tratar, podemos determinar cuál de las cepas de algas conviene uti-

lizar. Nuestros últimos resultados muestran que en ciertos casos es muy útil emplear una combinación de diferentes cepas.

Continuando con el proceso

En pocas líneas, el proceso de biorremediación que proponemos es el siguiente: primero crecer las algas en un medio óptimo; luego usar la biomasa de algas para remover los metales, y por último separar a las algas con el metal unido a su superficie del agua o efluente limpio. Es interesante mencionar que es posible despegar el metal de las microalgas y así recuperarlo (se suele hacer si es un metal de alto costo). Además, también es posible proponer un uso posterior para la biomasa de algas, siempre teniendo en cuenta el confinamiento del metal.

Uno de los proyectos en los que trabajamos actualmente es el saneamiento de un humedal en la región de Pilcaniyeu. Un desafío que estamos abordando es el escalado del proceso, es decir salir de la escala de mesada (es decir, del laboratorio) en donde hacemos las primeras investigaciones y pasar a una etapa piloto que involucra mucho mayor volumen y nuevas variables para analizar y controlar.

Cosecha de microalgas

Otro desafío al que nos enfrentamos es a la separación de la biomasa. La cosecha de las microalgas requiere la concentración de suspensiones celulares diluidas. Una de las limitaciones para la aplicación in-

DOSSIER

dustrial de las microalgas está asociada a los costos de la cosecha de las mismas. En la actualidad, se necesita que las tecnologías de cosecha sean más eficientes y económicas para mejorar la viabilidad comercial de la biotecnología de microalgas. En este sentido, nuestro grupo de trabajo viene abordando la cosecha magnética utilizando nanopartículas paramagnéticas (ver Glosario) de bajo costo. Nuestro grupo de trabajo fue pionero en analizar y demostrar la compatibilidad de los procesos de biorremediación de metal y cosecha magnética, obteniendo una eficiencia de cosecha mayor al 94%. La implementación de este proceso tiene un doble beneficio porque además de reducir los costos utiliza material de origen natural que no contamina el ambiente.

Los pasos a seguir

Creemos que nuestras tareas de investigación, desarrollo e innovación podrían proporcionar una solución menos costosa y más amigable con el ambiente para la remediación de metales. Sin embargo, a pesar de los resultados satisfactorios que hemos conseguido, todavía debemos enfrentarnos a desafíos como el cambio de escala, el desarrollo de los sistemas de cultivo y la separación de la biomasa. El desarrollo de esta aplicación biotecnológica es uno de nuestros principales objetivos. Consideramos que es muy importante trabajar en procesos que puedan ser transferidos a empresas, cooperativas y organismos gubernamentales con el fin de dar solución a diferentes necesidades de nuestra comunidad.

Resumen

Durante las últimas décadas, la contaminación ambiental con metales ha aumentado considerablemente. Los metales son considerados unos de los contaminantes más peligrosos debido a su alta toxicidad y a que son no biodegradables. La biorremediación de metales por microalgas se vuelve muy competitiva para el tratamiento de grandes volúmenes de efluentes conteniendo baja concentración de metales (1 a 100 mg/mL). Particularmente, las algas autóctonas de sitios contaminados tienen mejores eficiencias para remover los metales del agua. En este trabajo contamos el proyecto de biorremediación que desarrollamos utilizando algas aisladas de sitios contaminados y que aún no han sido estudiadas.

Glosario

Biodisponibilidad: se refiere a la concentración o grado en la que un elemento o compuesto se encuentra disponible para interactuar con los organismos vivos. La biodisponibilidad se encuentra íntimamente relacionada con las condiciones fisicoquímicas del ambiente, que determinan la especiación y por lo tanto la concentración de metal libre.

Catión: Átomo o molécula con carga neta positiva.

Nanopartículas paramagnéticas: partículas de tamaño pequeño, menor a un micrómetro, que responden a variaciones en el campo magnético.

Intercambio iónico: proceso químico en el cual los iones disueltos en el agua se intercambian por otros iones con una carga similar.

Precipitación química: proceso químico en el cual se obtiene un sólido a partir de una solución.

Para ampliar este tema

Hernández-Pérez, A. y Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2): 157-173.

El cultivo de microalgas. En: <https://agrotendencia.tv/agropedia/el-cultivo-de-microalgas/>

Caviedes Rubio, D., Muñoz Calderón, R., Perdomo Gualtero, A., Rodríguez Acosta, D. y Sandoval Rojas J. (2015). Tratamientos para la Remoción de Metales Pesados Comúnmente Presentes en Aguas Residuales Industriales. *Ingeniería y Región*, 13: 73-90.

Ferraro, G., Toranzo, R., Bagnato, C., Gómez Jousse, M., Areco, M., Bohe, A., Bagnarol, D., Pasquevich and D., Curutchet, G. (2021). Native *Desmodesmus* sp. and *Chlorella* sp. isolated from the Reconquista River display different binding preference for Cu(II) and Zn(II). *Journal of Environmental Management*, 293, 112895.

-Ferraro, G., Toranzo, R., Castiglioni, D., Lima Jr, E., Vasquez Mansilla, M., Fellenz, N., Zysler, R. and Pasquevich, D. (2018). Zinc removal by *Chlorella* sp. biomass and harvesting with low cost magnetic particles. *Algal Research*, 33: 266-276.