



Remoción de metales pesados en efluentes ganaderos mediante el uso de microalgas inmovilizadas

Evelin Carlier ^{1*}, Sofía Bruno ¹, Gina F. Vezzosi Zoto ^{1,2}, Natalia A. Sacks ^{1,2},
Melina A. Urbani ^{1,2}, Cecilia Cabrera ¹, Luz M. Zapata ^{1,2}

1. Facultad de Ciencias de la Alimentación-UNER.
2. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de Entre Ríos (ICTAER).

*E-mail: evelin.carlier@uner.edu.ar

PALABRAS CLAVES

Biosorción
Efluente ganadero
Alginato de calcio
Contaminación metálica
Tecnologías sostenibles

RESUMEN

La contaminación por metales pesados en efluentes agroindustriales representa una amenaza ambiental significativa. Este estudio evaluó la eficiencia de remoción de metales pesados (Zn, Cd, Cr, Pb, Mn, Cu, Ni y As) utilizando microalgas inmovilizadas en esferas de alginato de calcio. Se emplearon tres especies de microalgas: *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana* y *Tetrademus obliquus*, aplicadas sobre un efluente ganadero simulado con niveles críticos de metales. Los tratamientos se evaluaron a 30, 50 y 80 minutos de contacto. Los resultados mostraron eficiencias de remoción superiores al 90 % para plomo y cobre, destacándose *C. vulgaris* y *C. sorokiniana*. El tiempo de contacto fue determinante, con mayores remociones a 80 minutos. La encapsulación en alginato mejoró la estabilidad del sistema y facilitó la manipulación de la biomasa. Las concentraciones finales de Pb y As se ubicaron por debajo de los límites legales de la Provincia de Entre Ríos (Argentina), evidenciando el potencial de esta tecnología para tratamientos de efluentes. Se concluye que la fitorremediación con microalgas inmovilizadas es una estrategia prometedora, eficiente y sostenible para la remediación de efluentes industriales con múltiples metales.

Heavy metal removal from livestock effluents using immobilized microalgae

KEYWORDS

Biosorption
Livestock effluent
Calcium alginate
Metal pollution
Sustainable technologies

ABSTRACT

Heavy metal pollution in agro-industrial effluents is a major environmental threat. This study assessed the removal efficiency of heavy metals (Zn, Cd, Cr, Pb, Mn, Cu, Ni, and As) using microalgae immobilized in calcium alginate. Three species, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana*, and *Tetrademus obliquus*, were applied to a simulated livestock effluent enriched with critical metal concentrations. The treatments were tested at 30, 50, and 80 min. The results showed over 90% removal of lead and copper, with *C. vulgaris* and *C. sorokiniana* being the most effective. Contact time significantly influenced the removal rates, particularly at 80 min. Immobilization improved biosorbent handling and system stability. The final concentrations of Pb and As were below the legal discharge limits in Entre Ríos province (Argentina), confirming the feasibility of this technique for effluent treatment. These findings support the use of immobilized microalgae in phycoremediation as a promising, efficient, and sustainable solution for treating industrial wastewater containing multiple heavy metals.

1. Introducción

La contaminación por metales pesados en efluentes agroindustriales representa una amenaza persistente para los ecosistemas acuáticos y la salud humana, debido a su carácter no biodegradable, su capacidad de bioacumulación y su toxicidad incluso a bajas concentraciones (Acharya, 2024; Davis et al., 2000; Mitra et al., 2022). Entre las principales fuentes de metales pesados en ambientes rurales se encuentran los efluentes generados por frigoríficos e instalaciones ganaderas, los cuales pueden contener Pb, Cd, As, Cu y Zn. Estos provienen del uso de aditivos veterinarios, agentes desinfectantes y residuos orgánicos de faena. Cuando no son tratados adecuadamente, tales descargas deterioran la calidad del agua y del suelo, generando riesgos ambientales y sanitarios por bioacumulación y biomagnificación (Wu et al., 2024).

En la provincia de Entre Ríos (Argentina), los límites regulatorios para la descarga de efluentes en cuerpos de agua superficiales están establecidos por la Ley 6260/91 y su decreto reglamentario (Decreto 4977/09), los cuales estipulan concentraciones máximas permitidas para metales pesados, tales como: 0,2 mg/L para Cr, 0,1 mg/L para Cd, 0,5 mg/L para Pb, 0,005 mg/L para Hg y 0,5 mg/L para As (Gobierno de Entre Ríos, 1991, 2009). No obstante, el Cu no se encuentra claramente especificado en esta normativa provincial. En la provincia de Buenos Aires, el marco regulatorio está definido por el Decreto 674/89, posteriormente modificado por el Decreto 846/2001, el cual permite concentraciones más elevadas para algunos metales, tales como 0,5 mg/L para Cr, 0,01 mg/L para Hg y 2,0 mg/L para Cu, mientras que establece un límite más estricto para el As (0,2 mg/L) (Gobierno de la Provincia de Buenos Aires, 1989, 2001). Ante las limitaciones técnicas y ambientales de tecnologías convencionales como la ósmosis inversa o la precipitación química, la biosorción mediante microalgas surge como una alternativa ecológica y rentable. La fitorremediación, es decir, el uso de microalgas para remover contaminantes, ha demostrado gran eficacia en la remoción de metales pesados gracias a la presencia de grupos funcionales en sus paredes celulares (Agoun y Avci, 2025; Sarma et al., 2024).

Entre las especies más prometedoras se destacan *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* y *T. obliquus*, reconocidas por su alta tolerancia y afinidad hacia metales como Pb, Cu y Cd (Zeng et al., 2024; Allzrag et al., 2025). No

obstante, el uso de biomasa libre aún presenta desafíos operativos, especialmente en lo que respecta a la recuperación, estabilidad y reutilización del biosorbente.

En este sentido, la inmovilización de microalgas en matrices biopoliméricas, como el alginato de calcio, ha demostrado ser una estrategia eficaz, ya que permite encapsular las células sin comprometer su viabilidad ni su capacidad biosorbente (de-Bashan y Bashan, 2010). A su vez, este sistema facilita la manipulación, permite su reutilización y mejora la eficiencia del tratamiento en matrices complejas, como los efluentes ganaderos.

Estudios recientes han evidenciado que el uso de microalgas inmovilizadas en esferas de alginato puede lograr porcentajes de remoción superiores al 90 % para ciertos metales pesados, incluso en contextos rurales o industriales sin acceso a tecnologías sofisticadas (Agoun y Avci, 2025; Allzrag et al., 2025). Este enfoque resulta especialmente relevante en regiones como el Litoral argentino, donde la actividad ganadera es intensa y la necesidad de soluciones de tratamiento sostenibles constituye una prioridad.

En este contexto, el presente trabajo evalúa la eficiencia de remoción de metales pesados (Zn, Cd, Cr, Pb, Mn, Cu, Ni y As) mediante el uso de *T. obliquus*, *C. vulgaris* y *C. sorokiniana* inmovilizadas en esferas de alginato de calcio, aplicadas sobre un efluente ganadero. El estudio aborda además el potencial de esta estrategia como una alternativa ecoamigable y costo-eficiente para la fitorremediación, comparando la capacidad de remoción frente a controles sin biomasa y analizando el efecto de la especie microalgal y el tiempo de contacto.

2. Materiales y métodos

Cultivo de microalgas

Los ensayos se realizaron con las microalgas *T. obliquus* (To), *C. vulgaris* (Cv) y *C. sorokiniana* (Cs). *T. obliquus* se cultivó en medio Allen & Arnon (Allen y Arnon, 1955), mientras que *C. vulgaris* y *C. sorokiniana* se incubaron en medio BG11 (Berberoğlu et al., 2008). Los cultivos se agitaron en un agitador orbital (BIOMINT) dentro de una cámara de cultivo con temperatura, humedad y fotoperíodos

controlados ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $65 \pm 1\%$ HR; fotoperíodo 16:8 h luz:oscuridad). La incubación continuó hasta alcanzar una densidad celular de 10^6 células/mL, momento en el cual el cultivo se utilizó para la inmovilización en esferas de alginato de calcio.

Inmovilización de las microalgas

Para elaborar las esferas de alginato con microalgas (Ai-E), se preparó una solución de alginato sódico al 4 % p/v en agua destilada estéril. La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y, posteriormente, se calentó en microondas durante 30 s para eliminar los grumos y lograr una solución homogénea. A continuación, la preparación se refrigeró entre 12 y 36 h para favorecer la eliminación de burbujas (de-Bashan y Bashan, 2010; León, 2004).

La mezcla de alginato y microalgas se preparó en condiciones de esterilidad. En un vaso de precipitados estéril se combinaron 50 mL de cultivo algal (10^6 UFC/mL), 50 mL del medio de cultivo

correspondiente (Allen & Arnon o BG11) y 100 mL de solución de alginato sódico al 4 % p/v; la mezcla se homogeneizó manualmente.

La suspensión resultante se cargó en una jeringa estéril y de forma manual, se dispensaron gotas de forma continua por goteo por gravedad sobre una solución de CaCl_2 al 2 % v/v, manteniendo la reacción a $1-3^\circ\text{C}$ (de-Bashan et al., 2002; de-Bashan et al., 2008; León, 2004). Para preparar las esferas de control (Ac-E), sin biomasa, se siguió el mismo protocolo, omitiendo únicamente la adición de las microalgas.

Las Ai-E obtenidas mostraron morfología esférica homogénea y aspecto visual similar entre tratamientos, sin diferencias aparentes atribuibles al tipo de microalga empleada. Las microalgas inmovilizadas se observaron en microscopio óptico en campo claro (40x) (Leica DM2500); se observaron que las células distribuidas dentro de la matriz polimérica, no presentaron pérdida evidente de integridad estructural (Figura 1).

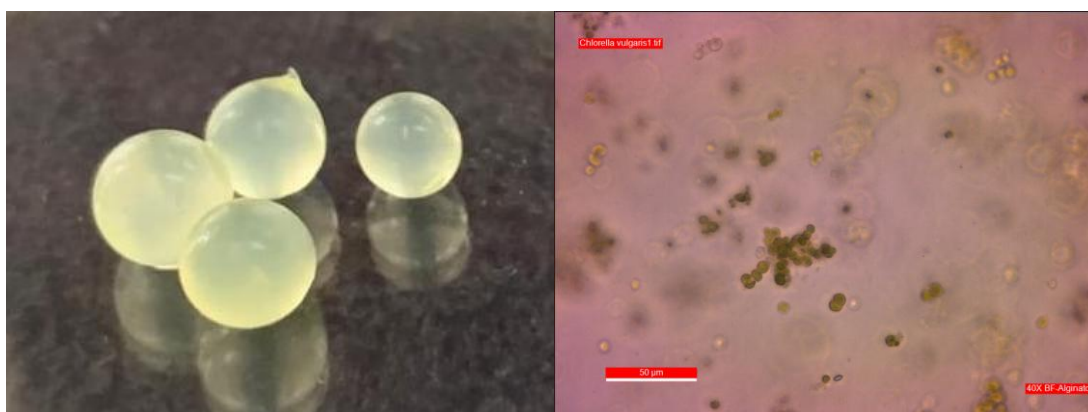


Figura 1. Esferas de alginato de calcio conteniendo *C. vulgaris* (izq.) y observación microscópica en campo claro (40x) de *C. vulgaris* inmovilizada en una esfera de alginato de calcio (der.).

Caracterización de efluente industrial

Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas del efluente final proveniente de un frigorífico de la industria ganadera en Entre Ríos (Argentina). Las muestras se obtuvieron directamente del punto de descarga final, asegurando que representaran fielmente el agua residual tratada. Se determinaron los siguientes parámetros: pH; conductividad eléctrica (CE); demanda bioquímica de oxígeno (DBO); demanda química de oxígeno (DQO); carbono total (CT); materia orgánica (MO); nitrógeno total

(NT); sólidos disueltos totales (SST); fósforo reactivo disuelto (PRD); fósforo total (PT); y metales pesados (ver sección 2.6. Técnicas analíticas).

Simulación de efluente ganadero contaminado

Con base en los resultados de la caracterización inicial, el efluente se contaminó deliberadamente con los mismos metales pesados analizados (Zn, Cd, Cr, Pb, Mn, Cu, Ni y As). Las concentraciones objetivo se establecieron según los límites máximos de la Ley 6260/91 y su Decreto 4977/09 del Gobierno de Entre

Ríos (1991, 2009). Para ello, se emplearon soluciones estándar certificadas (Plasma Standard CAL – SCP15AES), garantizando precisión en la adición de metales y simulando condiciones controladas adecuadas para evaluar la eficacia de las microalgas inmovilizadas en perlas de alginato de calcio.

Remoción de metales pesados con microalgas inmovilizadas en alginato de calcio

Se evaluó la remoción de metales del efluente ganadero simulado mediante el uso de microalgas inmovilizadas en alginato de calcio. Así se evaluaron los siguientes tratamientos producto de la combinación de las 3 microalgas y 3 tiempos de contacto efluente-esfera con microalga: Cv-30, Cv-50, Cv-80; Cs-30, Cs-50, Cs-80; y To-30, To-50, To-80; donde los números hacen referencia al tiempo de contacto de cada microalga inmovilizada con el efluente contaminado.

Para lograr este objetivo de remoción, se colocaron 50 g de Ai-E en 200 mL del efluente simulado con las concentraciones de metales pesados establecidas. Tanto las muestras como el control se incubaron en un agitador orbital modelo BIOMINT a 150 rpm y temperatura controlada de 28 ± 1 °C, durante el tiempo de contacto correspondiente a cada tratamiento.

A los tiempos 30, 50 y 80 min, de cada uno de los erlenmeyer se tomaron 1 g de esferas y se colocaron en un vaso de precipitado; se adicionaron 9 mL de solución de bicarbonato de sodio al 4% p/v, se dejó reposar la muestra durante 4 h, con la finalidad de extraer los metales pesados inmovilizados (Chen et al., 2023). La biomasa fue separada por centrifugación a 4000 rpm durante 5 min, y los metales presentes en el sobrenadante fueron cuantificados mediante espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado por microondas (MP-AES).

Los tratamientos control (Ac-E) fueron sometidos al mismo procedimiento.

El porcentaje de cada metal pesado removido se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Remoción (\%)} = \frac{C_f - C_i}{C_i} \times 100 \quad (1)$$

Donde:

C_i = concentración inicial del metal pesado

C_f = concentración final del metal pesado luego del tratamiento

Técnicas analíticas

El pH se determinó mediante el método potenciométrico (pHmetro AD1030, Adwa®, China) y la conductividad eléctrica (CE) se midió por el método conductimétrico (conductímetro GLP31, Crison®, España). La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) se determinó mediante el método de incubación de 5 días (APHA 5210 B), y la demanda química de oxígeno (DQO) mediante el método de reflujo cerrado con dicromato (APHA 5220 D). El fósforo reactivo disuelto (PRD) se cuantificó por espectrofotometría UV-Vis utilizando el método del ácido ascórbico con digestión nítrico-sulfúrica (APHA 4500-P E, 2017), empleando un espectrofotómetro UV-Vis (DR 6000, Hach®, Alemania). El nitrógeno total (NT) (método de digestión con persulfato, Método 10072 para agua y aguas residuales), la demanda química de oxígeno (DQO) (Método Estándar 5220 D). El carbono total (CT) y la materia orgánica (MO) se determinaron mediante el método de combustión (analizador LECO CHN 628). Para cuantificar el perfil mineral, se digirieron 5 mL de cada muestra en un sistema de reacción por microondas (Multiwave PRO, Anton Paar, Austria) utilizando HNO₃ al 70 % (Merck). Tras la digestión, las muestras se diluyeron con agua ultrapura, y se determinaron P total, Zn, Pb, Cd, Ni, Cu, Pb, Mn y As mediante espectrometría de emisión atómica por plasma de microondas (Serie 4210 MP-AES, Agilent Technologies, EE.UU.; APHA-SM 3120 B). Los minerales se midieron utilizando el estándar AccuStandard. Las muestras se analizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Los datos experimentales se expresaron como valores medios \pm desviación estándar ($n = 3$). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía, seguido de una prueba de comparaciones múltiples. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$. Los

análisis se llevaron a cabo utilizando el software Statgraphics Centurion.

3. Resultados y Discusión

Caracterización del efluente industrial y simulación de contaminación con metales pesados.

Los resultados de la caracterización del efluente ganadero y su simulación, respecto de los metales pesados, se muestran en la Tabla 1.

La contaminación simulada del efluente ganadero con metales pesados incorporó concentraciones elevadas de los elementos a evaluar, las cuales superan significativamente tanto los valores iniciales del efluente como los límites establecidos por normativas ambientales (Tabla 1) (Gobierno de Entre Ríos, 1991, 2009). Estas concentraciones representan un escenario crítico, en el cual metales como Pb, Cd y As, debido a su alta capacidad de bioacumulación y toxicidad incluso a bajas dosis, constituyen un riesgo ambiental significativo. **3.2. Remoción de metales pesados con microalgas inmovilizadas en alginato de calcio**

La Tabla 2 presenta los rangos de eficiencia de remoción (%), integrando los datos correspondientes a todas las especies microalgales y tratamientos evaluados. Esta consolidación permite evaluar comparativamente la capacidad de biosorción para cada metal pesado bajo las condiciones experimentales implementadas.

Tabla 2. Rango de eficiencia de remoción (%) de metales pesados por microalgas inmovilizadas en alginato de calcio, considerando la totalidad de especies y tratamientos evaluados.

Metal	Rango de remoción (%)
Zn	20,27 - 44,45
Mn	20,46 - 33,65
Ni	11,79 - 45,35
Cd	22,92 - 52,92
Cr	31,38 - 58,16
Pb	48,34 - 97,33
Cu	28,78 - 71,96
As	49,91 - 54,59

Los tratamientos evaluados fueron clasificados en tres categorías según su eficacia de remoción, ordenadas de menor a mayor eficiencia: 1. Cv-30, Cs-30 y To-30; 2. Cv-50, Cs-50, To-50 y To-80; y 3. Cv-80 y Cs-80.

El Pb presentó la mayor proporción de remoción, seguido por Cu, As y Cr (Figuras 2, 3 y 4). Sarma et al. (2024) reportaron que la remoción de Cd, Pb y Cu por microalgas inmovilizadas puede superar el 70 % con tiempos de contacto intermedios (60–120 min) bajo condiciones óptimas de pH y temperatura. Este comportamiento sugiere una cinética favorable en el sistema inmovilizado, en el que el alginato de calcio facilita el acceso de los metales a los sitios activos de las células y reduce la saturación temprana (Allzrag et al., 2025). En nuestro estudio, los tratamientos con 30 min de contacto mostraron valores de remoción modestos (Cd: 22,9–52,9 %; Ni: 11,8–45,3 %), mientras que al extender el tiempo a 80 min los porcentajes aumentaron notablemente (Cd hasta 52,9 %; Ni hasta 45,4 %), concordando con la tendencia de que periodos de contacto más largos favorecen la difusión de iones metálicos hacia los sitios activos y aproximan la eficiencia a los niveles reportados en la literatura más reciente (Figuras 2, 3 y 4).

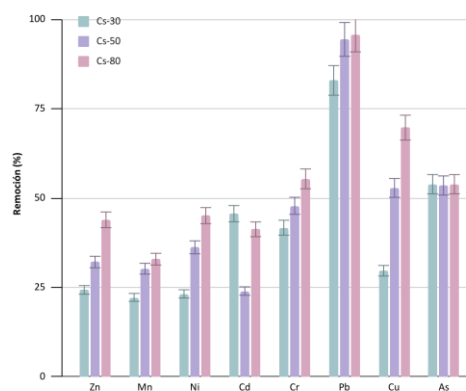


Figura 2. Porcentaje de remoción de *C. sorokiniana* a diferentes tiempos efluente-microalga inmovilizada.

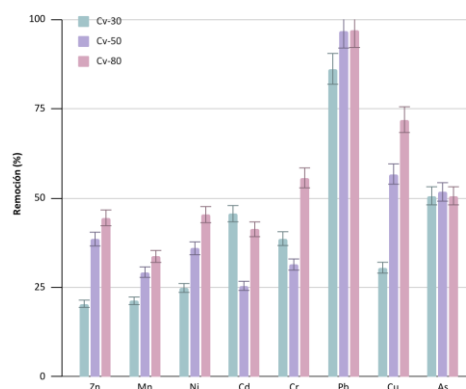


Figura 3. Porcentaje de remoción de *C. vulgaris* a diferentes tiempos efluente-microalga inmovilizada..

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos y metales del efluente industrial y efluente industrial simulado

Parámetro/metal	Efluente industrial	Efluente industrial simulado	Valores límites aceptados*
pH	6,77 ± 0,18	6,85 ± 0,10	5,5 - 10
Conductividad Eléctrica (µS/cm)	1648,00 ± 46,14	1763,01 ± 49,36	ne
Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	317,00 ± 8,56	315,10 ± 8,78	ne
Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/L)	65,00 ± 1,89	69,00 ± 2,03	<250 mg/L
Sólidos Solubles Totales (mg/L)	910,00 ± 22,75	950,00 ± 23,75	ne
Carbono Total (mg/L)	5900,00 ± 159,30	5500,00 ± 160,65	ne
Materia Orgánica (mg/mL)	10100,00 ± 282,80	10201,10 ± 285,61	ne
Nitrógeno Total (mg/L)	78,00 ± 2,03	77,24 ± 2,13	ne
Fósforo Reactivo Disuelto (mg/L)	3,18 ± 0,09	3,30 ± 0,10	ne
Fósforo Total (mg/L)	18,77 ± 0,51	19,50 ± 0,53	<100 mg/L**
Zn (mg/L)	nd	17,96 ± 0,18	ne
Pb (mg/L)	0,02	2,06 ± 0,09	< 0,5
Cd (mg/L)	nd	1,60 ± 0,05	< 0,1
Ni (mg/L)	nd	1,20 ± 0,07	ne
Cu (mg/L)	nd	3,85 ± 0,07	ne
Cr (mg/L)	nd	1,20 ± 0,05	Cr ⁶⁺ : < 0,2 Cr ³⁺ : < 2
Mn (mg/L)	0,41	1,74 ± 0,01	ne
As (mg/L)	nd	0,93 ± 0,01	< 0,5

nd: no detectado. Límites de cuantificación Pb: <2 µg/L; As: <5 µg/L; Zn, Cd, Ni, Cu y Cr: <10 µg/L. ne: no especificado. *Dec 5837/91 Entre Ríos Ley 6260 (Gobierno de Entre Ríos, 1991, 2009) **CARU (2010).

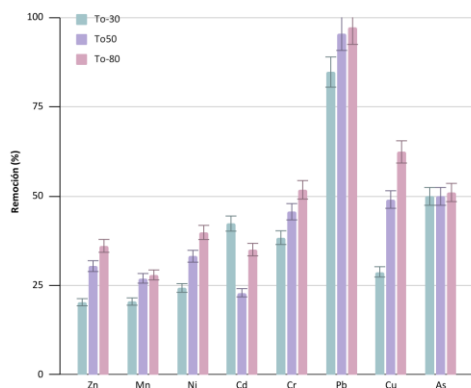


Figura 4. Porcentaje de remoción de *T. obliquus* a diferentes tiempos de contacto efluente-microalga inmovilizada.

Los resultados muestran que las tres especies microalgales evaluadas lograron eliminar eficientemente los metales pesados del efluente ganadero simulado, con rendimientos especialmente altos para Pb y Cu (Tabla 3). Este comportamiento concuerda con estudios recientes que resaltan la afinidad de *Chlorella spp.* por estos contaminantes, atribuida a la elevada densidad de grupos funcionales en sus paredes celulares, los cuales facilitan los procesos de biosorción (Zeng et al., 2024; Joo et al., 2021). La mayor eficiencia se registró en la remoción de Pb, alcanzando un 97,33 % con *T. obliquus*, seguida por *C. vulgaris* (97,01 %) y *C. sorokiniana* (95,72 %) (Tabla 3).

Al compararse con el límite máximo de 0,5 mg/L de Pb permitido para la descarga de efluentes en Entre Ríos, estos resultados adquieren relevancia técnica (Gobierno de Entre Ríos, 1991, 2009). Las concentraciones residuales de Pb tras los tratamientos Cv-80 y Cs-80 fueron de $0,12 \pm 0,02$ mg/L y $0,07 \pm 0,01$ mg/L, respectivamente, demostrando que el sistema inmovilizado reduce las concentraciones de Pb a niveles inferiores al límite reglamentario.

Teniendo en cuenta los porcentajes de remoción a los 80 min, se puede inferir que las tres especies de microalgas analizadas presentaron capacidades de adsorción de metales pesados dependientes tanto del metal como de la especie.

En general, se observa un patrón coincidente con otros estudios recientes donde se ha reportado que metales como Pb y Cu tienden a adsorberse con mayor eficiencia, mientras que metales como Zn, Ni y Cd muestran remociones intermedias, y Mn y As presentan remociones relativamente bajas (Tabla 3).

Fan et al. (2023) obtuvieron la mayor eficiencia de remoción para Pb, seguida por Cu y Cd, al emplear perlas de *T. obliquus* inmovilizado. Saavedra et al. (2018) evaluaron la eliminación de Mn, Zn, Cu, As y Pb con microalgas verdes, alcanzando remociones máximas de 99,4 % para Mn, 91,9 % para Zn, 88 % para Cu, 40,7 % para As y 38,6 % para Pb. Estos hallazgos coinciden parcialmente con nuestros resultados: los metales Pb, Cu y As se destacaron con remociones máximas de 97,3 %, 71,9 % y 53,9 %, respectivamente, superando, en los casos de Cu y As, los valores informados.

En cambio, Zn mostró remociones moderadas (44,5 %). Estos patrones refuerzan que los metales catiónicos interactúan con mayor afinidad con los grupos funcionales de la pared celular, mientras que especies aniónicas como el As presentan menor retención (Wei et al., 2025; Zhao et al., 2023).

Los ensayos multimetálicos evidenciaron competencia iónica por los sitios de adsorción, donde Pb y Cu dominan el proceso, desplazando metales como Ni y Zn, mientras que Cd mantiene alta afinidad aun en presencia de otros iones. Esto concuerda con lo reportado por Kyratzopoulou y Kyzaki (2025), que observaron eficiencias de remoción de Cu por encima del 89 % frente a mezclas complejas, y con lo reportado por Gu y Lan (2023), quienes describieron cómo Pb inhibe significativamente la adsorción de Cd y Zn.

Tabla 3. Porcentaje de remoción de las tres microalgas a los 80 min de contacto con el efluente

Metal	Remoción (%) a los 80 min		
	<i>C. vulgaris</i>	<i>C. sorokiniana</i>	<i>T. obliquus</i>
Zn	44,45 ± 1,56 ^a	43,91 ± 1,54 ^a	36,04 ± 1,26 ^b
Cd	41,25 ± 1,44 ^a	41,25 ± 1,44 ^a	35,00 ± 1,23 ^b
Ni	45,35 ± 1,59 ^a	45,08 ± 1,58 ^a	39,81 ± 1,39 ^b
Pb	97,01 ± 3,40 ^a	95,72 ± 3,35 ^a	97,33 ± 2,99 ^a
Cr	55,65 ± 1,95 ^a	55,37 ± 1,94 ^{ab}	51,74 ± 1,81 ^b
Mn	33,65 ± 1,18 ^a	32,89 ± 1,15 ^a	27,92 ± 0,98 ^b
Cu	71,96 ± 2,52 ^a	69,71 ± 2,44 ^a	62,35 ± 2,18 ^b
As	50,63 ± 1,77 ^a	53,87 ± 1,89 ^a	50,99 ± 1,78 ^a

Nota: Los valores se presentan como media ± desviación estándar (n = 3) Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos según ANOVA de una vía seguido de prueba de comparación múltiple (p < 0,05).

Las diferencias en la estructura y composición de la pared celular explican la variabilidad en la eficiencia de remoción entre especies. *C. vulgaris* y *C. sorokiniana*, poseen paredes delgadas ricas en polisacáridos portadores de grupos carboxilo y amino, que facilitan la biosorción pasiva y la bioacumulación activa, mejorando la captación de metales esenciales (Ni, Zn) y la secuestación de Cd. En contraste, *T. obliquus*, cuya pared celular es más robusta, muestra menor capacidad de eliminación de Cd pero altas eficiencias para Pb, tal como se ha descrito cuando está inmovilizada (Fan et al., 2023). Las investigaciones con *T. obliquus* evidencian una selectividad máxima para Pb y menores eficiencias para metales con menor afinidad superficial. En cambio, *C. vulgaris* y *C. sorokiniana* muestran altas tasas de remoción para Cu, Ni y Zn, atribuibles a la abundancia de grupos carboxilo y amino accesibles en su pared celular. Kyrtzopoulou y Kyzaki (2025) observaron que, en sistemas monometálicos de Ni, Cu y Zn, las tasas de remoción superan el 85 % debido a la rápida formación de complejos con estos grupos funcionales. Esta diferenciación fisiológica explica las divergencias de patrón entre las dos *Chlorella* y *Tetrademus* reflejadas en la Tabla 3.

Estos comportamientos pueden ser explicados ya que la adsorción pasiva (biosorción) ocurre cuando los metales se ligan a sitios químicos de la pared algal: carboxilos, hidroxilos, amino y fosfato, entre

otros. Por ejemplo, análisis mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) han confirmado la participación de grupos –OH, C=O, C–O, C–N y –COO en la captura de cationes (Li et al., 2024; Fan et al., 2023). En la adsorción por intercambio iónico, metales como Pb o Cd desplazan cationes intracelulares previamente unidos a estos grupos. Adicionalmente, metales como Cu forman quelatos estables con grupos amina y con átomos de oxígeno presentes en los grupos carboxilo de los aminoácidos, lo que refuerza su alta afinidad. En contraste, Zhao (2023) reportaron que sólo al combinar *Chlorella* con bacterias oxidantes de As se alcanzó 76% de remoción en 180 min, lo que sugiere que la inmovilización pura de algas tendría menor efecto sobre As en 80 min; el As (III/V) como anión no se retiene eficazmente en ausencia de óxido de arsénico.

La remoción de Cd en cultivos vivos de *C. vulgaris* se ve reforzada por transporte activo, puesto que los iones metálicos se internalizan y se quelan mediante metalotioneínas y fitoquelatinas. En sistemas multimetálicos, la eliminación de Cd alcanza valores de 95–96 %, atribuible a su incorporación y retención intracelular. Este mecanismo complementa la biosorción superficial y explica la mayor eficacia de biomasa viva frente a algas muertas o inertes (Kyrtzopoulou y Kyzaki, 2025).

En nuestros ensayos, el intervalo de 80 min se seleccionó según trabajos recientes que reportan eficiencias de remoción superiores al 80 % para Pb y Cd con tiempos de contacto de 60–90 min (Faruque et al., 2024; Khan et al., 2016; Kumar et al., 2020). Asimismo, Tenza et al. (2025) alcanzaron remociones completas de Cu y Zn, y 98 % de Pb en 60 min con *Chlorella*. Aunque algunos autores señalan que el equilibrio de adsorción se alcanza entre 180 y 240 min (Li et al., 2024; Simonič, 2024), la mayoría de la remoción ocurre durante las primeras dos horas. De este modo, los 80 min empleados en este estudio resultan representativos del rango óptimo descrito en la literatura, equilibrando eficacia de eliminación y factibilidad operativa.

Otros parámetros operativos también afectan la eficiencia de remoción. La matriz compleja del efluente ganadero, con elevadas concentraciones de Ca^{2+} , Mg^{2+} y Na^+ , compite directamente con los metales objetivo por los sitios de unión en la pared celular algal, lo que puede causar bloqueo de grupos activos o desorción de iones previamente adsorbidos (Kyratzopoulou y Kyzaki, 2025; Gu y Lan, 2023). Además, la elevada carga de materia orgánica, derivada de proteínas, lípidos y restos sanguíneos, puede recubrir la biomasa o formar complejos estables con los metales, reduciendo su biodisponibilidad para la adsorción. Estas interferencias físico-químicas características de efluentes reales resaltan la necesidad de incorporar la composición completa de la matriz residual en el diseño de procesos de remoción con microalgas (Wei et al., 2025; Zhao et al., 2023).

Los resultados de este estudio son coherentes con informes recientes, que registran eficacias elevadas en la remoción de Pb y Cu, moderadas para Zn, Ni y Cd, y bajas para Mn y As. Las discrepancias en magnitud respecto a otros trabajos pueden atribuirse al tiempo de contacto empleado y a la competencia iónica en sistemas multimetálicos. Las diferencias entre especies se relacionan con variaciones fisiológicas y en la composición de la pared celular, así como con parámetros operativos como el pH y la matriz de inmovilización. Estos hallazgos demuestran el gran potencial de las microalgas inmovilizadas en la depuración de efluentes complejos y proporcionan una base sólida para ajustar finamente parámetros operativos (tiempo de contacto, carga algal, pH) que maximicen

aún más su rendimiento según la composición del agua residual.

4. Conclusiones

Los resultados de este estudio demuestran que las microalgas inmovilizadas en matriz de alginato de calcio removieron eficazmente una amplia gama de metales pesados de efluentes ganaderos simulados. La eficiencia de remoción varió en función del metal y de la microalga utilizada.

La mayor eficacia se obtuvo para el Pb, con un 97,33 % de remoción alcanzado por *C. vulgaris* tras 80 min de tratamiento. En el caso del As, las concentraciones finales quedaron por debajo del límite de 0,5 mg/L establecido por la Ley 6260/91 para la descarga de efluentes en Entre Ríos (Gobierno de Entre Ríos, 1991, 2009), lo que respalda la viabilidad de esta estrategia para su remediación.

C. vulgaris y *C. sorokiniana* también mostraron remociones destacadas de varios metales en tiempos de contacto cortos, con un pico de eficacia entre 50 y 80 min.

En conclusión, la combinación de bioadsorción y bioacumulación mediante microalgas inmovilizadas constituye una tecnología prometedora para la eliminación de metales pesados en efluentes industriales. Su rendimiento está determinado por el metal objetivo, la microalga seleccionada, el método de inmovilización y las condiciones experimentales (pH, tiempo de contacto), lo que abre la puerta a futuras optimizaciones según los requisitos de cada matriz residual.

5. Agradecimientos

Este trabajo científico se realizó con el subsidio otorgado por la Universidad Nacional de Entre Ríos en el marco del Proyecto PID UNER 8156.

6. Referencias

- Acharya, S. (2024). Heavy Metal Contamination in Food: Sources, Impact, and Remedy. In Food Safety and Quality in the Global South (pp. 233-261). Singapore: Springer Nature Singapore.
https://doi.org/10.1007/978-981-97-2428-4_8

- Agoun, N.A., Avci, F.G. (2025) Phycoremediation: a path towards heavy metal bioremediation from wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 100, no 1, p. 13-23. <https://doi.org/10.1002/jctb.7745>
- Allen, M.B., Arnon, D.I. (1955). Studies on nitrogen-fixing blue-green algae. I. Growth and nitrogen fixation by *Anabaena cylindrica* Lemm. *Plant Physiology*, 30(4), 366–372.
- Allzrag, M.A., Lalung, J., Hamid, N.K.A.(2025). A comparative phycoremediation study of aquaculture wastewater treatment by *Chlorella* sp. immobilized in different hybrid-alginate matrices. *Environmental Technology & Innovation*, 38, 104158. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2025.104158>
- Berberoglu, H., Jay, J., Pilon, L. (2008). Effect of nutrient media on photobiological hydrogen production by *Anabaena variabilis* ATCC 29413. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(4), 1172–1184. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.12.036>
- CARU (2010). *Digesto sobre el uso y aprovechamiento del río Uruguay. Título II: Prevención de la contaminación. Capítulo 10: Límites de descarga de efluentes líquidos.* Comisión Administradora del Río Uruguay (CARU). Publicado en el Diario Oficial N.º 28.145, Uruguay, 23/08/2010. Disponible en: <https://www.caru.org.uy>
- Chen, Z., Osman, A.I., Rooney, D.W., Oh, W.D., Yap, P.S. (2023). Remediation of Heavy Metals in Polluted Water by Immobilized Algae: Current Applications and Future Perspectives. *Sustainability*, 15(6), 5128. <https://doi.org/10.3390/su15065128>
- Davis Jr., R.A., Welty, A.T., Borrego, J., Morales, J.A., Pendon, J.G., Ryan, J.G., (2000). Rio Tinto estuary (Spain): 5000 years of pollution. *Environmental Geology*, 39 (10), 1107–1116. <https://doi.org/10.1007/s002549900096>
- De-Bashan, L. E., Bashan, Y. (2010). Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. *Bioresource Technology*, 101(6), 1611–1627. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.043>
- De-Bashan, L., Bashan, Y., Moreno, M., Lebsky, V., Bustillos, J. (2002). Increased pigment and lipid content, lipid variety, and cell and population size of the microalgae *Chlorella* spp. when co-immobilized in alginate beads with the microalgae-growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Canadian Journal of Microbiology*, 48:514-521. <https://doi.org/10.1139/w02-051>
- De-Bashan, L., Magallon, P., Antoun, H., Bashan, Y. (2008). Role of glutamate dehydrogenase and glutamine synthetase in *Chlorella vulgaris* during assimilation of ammonium when jointly immobilized with the microalgae-growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Journal of Phycology*, 44(5):1188-1196. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00572.x>
- Fan, J., Xu, X., Zhang, C., Zhang, Y., & Wu, Z. (2023). Removal of heavy metals from freshwater using immobilized microalgae. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 17(5), 566–572. <https://doi.org/10.1166/jbmb.2023.2303>
- Faruque, M.O., Uddin, S., Hossain, M.M., Hossain, S.Z., Razzak, S.A. (2024). A comprehensive review on microalgae-driven heavy metals removal from industrial wastewater using living and nonliving microalgae. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 16, 100492. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2024.100492>
- Gobierno de Entre Ríos. (1991). Ley Provincial N.º 6260/91 Prevención y Control de la Contaminación por parte de las Industrias y Decreto Reglamentario N.º 5837 M.B.S.C. y E. Publicada en el Boletín Oficial el 9 de noviembre de 1978. Decreto N.º 5837 M.B.S.C y E. – Publicado en el Boletín Oficial el 26 de diciembre de 1991. Código de Aguas. Paraná, Argentina. <https://portal.entrerios.gov.ar/desarrolloeconomico/industria/ps/ley/3644>
- Gobierno de Entre Ríos. (2009). Decreto Reglamentario N.º 4977/09 de la Ley 6260. Paraná, Argentina. <https://portal.entrerios.gov.ar/desarrolloeconomico/ambiente/ps/impactoambiental/5334>
- Gobierno de la Provincia de Buenos Aires. (1989). Decreto 674/89: Normas de vertido para efluentes industriales. La Plata, Argentina. <https://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexo/s/15000-19999/16713/texact.htm>
- Gobierno de la Provincia de Buenos Aires. (2001). Decreto 846/2001: Modificación del Decreto 674/89. La Plata, Argentina. <https://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexo/s/15000-19999/16713/texact.htm>
- Gu, S.W., Lan, C.Q. (2023). Effects of culture pH on cell surface properties and biosorption of Pb(II), Cd (II), Zn(II) of green alga. *Chemical Engineering Journal*, 468, 143579. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.143579>
- Joo, G., Lee, W., Choi, Y. (2021). Heavy metal adsorption capacity of powdered *Chlorella vulgaris* biosorbent: effect of chemical modification and growth media. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(19), 25086–25097. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12396-w>
- Khan, T.A., Mukhlif, A.A., Khan, E.A. (2016). Isotherm and kinetics modeling of Pb(II) and Cd(II) adsorptive uptake from aqueous solution by chemically modified green algal biomass. *Modeling Earth Systems and Environment*, 2, 117. <https://doi.org/10.1007/s40808-016-0157-z>
- Kumar, M., Singh, A.K., Sikandar, M. (2020). Biosorption of Hg (II) from aqueous solution using algal biomass: kinetics and isotherm studies. *Heliyon*. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03321>
- Kyrtatzopoulou, E., Kyzaki, N. (2025). The efficiency of *Chlorella vulgaris* in heavy metal removal: A comparative study of mono- and multi-component metal systems. *Clean Technologies and Environmental*

- Policy, 27(4), 1503–1518.
<https://doi.org/10.3390/cleantechnol7020035>
- León, C. (2004). Técnicas para el uso biotecnológico de las microalgas. Manual de laboratorio. Puntarenas (Costa Rica): Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Biológicas, Laboratorio Biotecnología de Microalgas (LABMA).
- Li, H., Sun, H., Wang, J., Ma, X., Wei, Q. (2024). Process optimization of Cd²⁺ removal with *Tetradismus obliquus*-immobilized Algal Beads. *Biochemical Engineering Journal*. 207. 10.1016/j.bej.2024.109336.
- Mitra, S., Chakraborty, A.J., Tareq, A.M., Emran, T.B., Nainu, F., Khusro, A., Idris, A.M., Khandaker, M.U., Osman, H., Alhumaydhi, F.A., Simal Gandara, J. (2022). Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *Journal of King Saud University Science*, 34(3), 101865.
<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865>
- Saavedra, R.; Muñoz, R.; Taboada, M.E.; Vega, M.; Bolado, S. (2018) Comparative uptake study of arsenic, boron, copper, manganese and zinc from water by different green microalgae. *Bioresource Technology*, 263, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.101>
- Sarma U., Hoque M.E., Thekkangil, A., Venkatarayappa N., Rajagopal S. (2024). Microalgae in removing heavy metals from wastewater—An advanced green technology for urban wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 15, 100444.
<https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2024.100444>
- Simonič, M. (2024). Algae Modified Alginate Beads for Improved Cd(II) Removal from Aqueous Solutions. *Sustainability*, 16(18), 8174.
<https://doi.org/10.3390/su16188174>
- Tenza, N. P., Schmidt, S., Mahlambi, P. N. (2025). Unlocking the potential of *Chlorella* sp. biomass: an effective adsorbent for heavy metals removal from wastewater. *Frontiers in Environmental Chemistry*, 6, 1531726.
<https://doi.org/10.3389/fenvc.2025.1531726>
- Wei, Q., Sun, H., Qi, H., Wang, C., Yang, G., & Ma, X. (2025). Enhancement of *Tetradismus obliquus* adsorption for heavy metals through lysine addition: Optimization and competitive study. *Water*, 17(7), 935.
<https://doi.org/10.3390/w17070935>
- Wu, Y., Xue, R., Li, H. (2024). Pollution characteristics and health risk assessment of heavy metals in livestock and poultry breeding wastewater. *Environmental Science and Pollution Research* 31, 24745–24767
<https://doi.org/10.1007/s11356-024-32853-6>
- Zeng, Y., Chen, X., Zhu, J., Long, D., Jian, Y., Tan, Q., & Wang, H. (2024). Effects of Cu(II) on the growth of *Chlorella vulgaris* and its removal efficiency of pollutants in synthetic piggery digestate. *Toxics*, 12(1), 56.
Available from: <https://doi.org/10.3390/toxics12010056>
- Zhao, M., Zheng, G., Kang, X., Zhang, X., Guo, J., Zhang, M., Chen, Y., & Xue, L. (2023). Arsenic pollution remediation mechanism and preliminary application of arsenic-oxidizing bacteria isolated from industrial wastewater. *Environmental Pollution*, 324, 121384.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121384>