

Efecto de metales pesados (cadmio, plomo y níquel) sobre el crecimiento de *Spirulina maxima* (*Arthrospira*)

Daniel Hernández Villagrán¹
Jorge Antonio Torres Muñoz²
Ricardo Aguilar López²
Ignacio García Martínez¹
Alma Rosa Domínguez Bocanegra^{2*}

Resumen

La *Spirulina maxima* (*Arthrospira*) era consumida por nuestros antepasados, los aztecas, dado que crecía de forma natural en el ex-lago de Texcoco, además, es un microorganismo que presenta en su composición química un alto contenido de vitaminas, carbohidratos, lípidos y proteínas principalmente. Actualmente tiene diferentes aplicaciones en la industria farmacéutica, alimentaria y en acuicultura, ya que es utilizado como complemento alimenticio para bajar de peso y para controlar enfermedades, como la diabetes, presión alta, etcétera, por ello es de suma importancia saber que la producción de este microorganismo se lleve a cabo de manera correcta y adecuada.

El objetivo principal del presente estudio fue determinar el efecto que presentan los metales pesados cadmio, plomo y níquel sobre el crecimiento de *Spirulina maxima* (*Arthrospira*).

Acerca de los autores...

1. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.
2. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

* Autor de correspondencia.

Introducción

La *Spirulina maxima* (*Arthrospira*) es una cianobacteria filamentososa verde azulada; es procariota, autótrofa, captura la luz mediante pigmentos específicos; se parece a las plantas, ya que contiene clorofila; su reproducción es asexual y se realiza por división de filamentos (Figura 1). Crece en lagos y lagunas con medio alcalino y en climas cálidos.

Se conoce que desde tiempos precolombinos este microorganismo fue utilizado como alimento por pueblos mexicanas (Aztecas) y actualmente por pueblos africanos (Kanembu). (Sánchez 2003:) (Figura 2). Ya que además tiene la capacidad de crecer tanto autotróficamente (lleva a cabo fotosíntesis), como heterotróficamente (toma a los compuestos orgánicos como fuente de energía) o mixotróficamente (Vonshak, 1997:); su pared celular esta compuesta por: peptidoglicanos, ácido teicuronico, ácido teicoico, polisacáridos y proteínas, los cuales juegan un papel crucial en la biosorción de metales (Ting *et al.*, 1991; Gadd & White, 1993; Roy *et al.*, 1993; Scheirewer & Wong, 2000).

De acuerdo con numerosas investigaciones, se tiene conocimiento que la *S. maxima* presenta diferentes aplicaciones, lo mismo en la industria alimentaria, como farmacéutica. Es utilizada en acuicultura como alimento para peces y en la dieta humana por presentar un alto contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas, principalmente (Figura 3). Se sabe además que remueve altas concentraciones de nutrientes, como nitratos, nitritos, fosfatos, nitrógeno amoniacal presentes en las aguas residuales porcinas e industriales (Domínguez- Bocanegra., 1991, 2009)

Los metales pesados son normalmente clasificados en las siguientes tres categorías: metales tóxicos (Hg, Cr, Pb, Zn, Cu, Ni, Cd, As, Co y Sn), metales preciosos (Pd, Pt, Ag y Ru) y radioactivos (U, Th, Ra



Figura 1

Spirulina maxima, vista al microscopio.

y Am). (Volesky, 1990; Bishop, 2002). El rasgo distintivo de los metales pesados, es que aún cuando muchos de ellos son esenciales para el crecimiento de los seres vivos como el Na, K, Mg, Ca, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn y Mo, se han reportado efectos tóxicos, principalmente como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas. Los efectos de los metales sobre el funcionamiento de los ecosistemas son diversos, de gran importancia económica y de salud pública.

Se debe tener presente que los metales son materias naturales. El problema surge cuando prolifera su uso industrial y su empleo creciente en la vida cotidiana termina por afectar a la salud humana.

Las variedades de metales pesados que son movilizadas y puestas en libertad en el medio ambiente por las actividades tecnológicas humanas, tienden a persistir indefinidamente, distribuirse y finalmente acumularse en toda la cadena alimenticia, lo que plantea una grave amenaza para el medio ambiente, los animales y los humanos (Volesky & Holant, 1995).



La exposición a metales pesados en determinadas circunstancias es la causa de la degradación y muerte de ríos, animales, vegetación, e incluso daños directos al hombre, como son:

- Degradación de tejidos (Hg inorgánico).
- Trastornos neurológicos (Hg y Pb orgánicos).
- Inhibición de síntesis de hemoglobina (Pb).
- Porosidad en los huesos (Cd, Pb).
- Carcinomas bronquiogénicos (Cr).
- Alteración del contenido de minerales y funcionamiento de enzimas (Zn).

Existen otras causas de la presencia de cadmio en agua, aire y suelo, por ejemplo, el proceso gradual de erosión y abrasión de las rocas, de los incendios forestales y los procesos de actividad volcánica, siendo esta última, la mayor fuente natural de contaminación (Dorroso y García, 2005).

Su existencia en los ecosistemas acuáticos plantea riesgos, no sólo para los organismos que ahí habitan, sino también para el ser humano, ya que el cadmio es un xenobiótico y, por tanto, un metal tóxico no esencial para el desarrollo normal de los organismos (Rodríguez y Rivera, 1995), que se acumula en los seres vivos y en los tejidos del ser humano, especialmente en el riñón y el pulmón. En exposición ambiental, sus principales efectos tóxicos son: neumonitis química, disfunción renal con proteinuria y microproteinuria y enfisema.

Cadmio (Cd^{2+})

Es uno de los agentes tóxicos asociados a la contaminación ambiental, ya que reúne cuatro de las características más temidas: 1) efectos adversos para el hombre y el medio ambiente, 2) bioacumulación, 3) persistencia en el medio ambiente, 4) viaja grandes distancias con el viento y los cauces de agua.

Los principales usos y aplicaciones del cadmio o sus compuestos son: a) como pigmento de pinturas, esmalte, plásticos, textiles, vidrios, tintas de impresión, caucho, lacas, etcétera; b) en la producción de pilas cadmio-níquel; c) como estabilizador de termoplásticos, como el PVC, y d) en fotografía, litografía y procesos de grabado.

La contaminación por cadmio es provocada por las descargas o emisiones derivadas de su empleo que conducen a una amplia distribución del metal, produciendo una carga creciente en suelos ríos y mares.

Plomo (Pb^{2+})

Es un metal no esencial para el funcionamiento de los organismos vivos; es uno de los cuatro metales que tienen un mayor efecto dañino sobre la salud humana y forma parte del 10% de los metales más peligrosos para la salud humana (Yarto y Díaz, 2004).

Por término medio, se calcula que la presencia del plomo en el agua potable es entre 10 al 20%. En los últimos años, los controles por parte de los gobiernos de los países, con respecto al plomo en la gasolina han reducido significativamente la exposición de las personas a este metal. El nivel de daño depende de la cantidad a la que se esté expuesto (considerando todas las fuentes). Los efectos conocidos varían de cambios bioquímicos leves, si el grado de exposición es bajo, hasta problemas neurológicos graves e intoxicación (o incluso la muerte), si el contacto es extremadamente alto (EPA, 2000).

Su acumulación en el organismo hace que la exposición en dosis bajas a largo plazo, tanto

Figura 2

Recolección de *Spirulina maxima* (Techuitlatl)



Figura 3

Usos y aplicaciones de *Spirulina*.

en el medio laboral o a través del aire, el agua o los alimentos, dé lugar a la expresión de una toxicidad crónica. Partiendo de que la exposición a una cierta dosis de plomo es inevitable, se considera que la concentración sanguínea de plomo normal en la población no especialmente expuesta, es de 10 µg/dl como máximo, y que el nivel a partir del cual se deben tomar medidas en los niños es de 10-14 µg/dl (Ferrer A., 2003).

El Pb penetra en el organismo por todas las vías. En los pulmones se absorbe bien en forma de humos o partículas finas que son fagocitadas por los macrófagos alveolares. La absorción gastrointestinal depende de la solubilidad del tipo de sal y del tamaño de las partículas. Los adultos no absorben por esta vía más de 20-30% de la dosis ingerida, pero en los niños se alcanza hasta 50% (ATSDR, 1988). La absorción cutánea tiene escasa importancia aunque pueden absorberse las formas orgánicas. Además, el plomo de los proyectiles termina solubilizándose y distribuyéndose desde los tejidos donde han quedado alojados.

En la sangre, la mayor parte del plomo absorbido se encuentra en el interior de los glóbulos rojos. Desde aquí se

distribuye a los tejidos, alcanzándose una mayor concentración en huesos, dientes, hígado, pulmón, riñón, cerebro y bazo. En los dos primeros territorios, se acumula 95% de la carga orgánica total de plomo. El hueso es el territorio preferente de depósito, sustituyendo al calcio y, aunque no causa allí ningún problema, puede ser origen de reaparición de toxicidad crónica por movilización (Silbergeld, 1988). Así, la vida media del plomo en la sangre es de 25 días en el adulto (experimentos a corto plazo), 10 meses en el niño (exposición natural), 90 días en el hueso trabecular y 10-20 años en el cortical.

Los problemas relacionados con una marcada sobreexposición al plomo en adultos, son los siguientes (Yarto y Díaz, 2004; Higuera y Oyrzun, 2006).

- Daños en los riñones.
- Daño en el tracto gastrointestinal.
- Daño en el sistema reproductor.
- Afecta la síntesis de hemoglobina.
- Daños neurológicos.
- Puede causar debilitamiento de dedos muñecas o tobillos.
- Daños durante el desarrollo de los

órganos del feto.

Daños en el sistema nervioso central.

Daños en la absorción del calcio.

La contaminación del agua con el plomo se origina por sus sales solubles en agua, que son generadas por las fabricas de pinturas, baterías, municiones, productos metálicos, por alfarerías con esmaltado, fototermografía, pirotecnia, coloración de vidrios, así como industrias productoras de tetraetil de plomo y por algunas actividades mineras. (Lomelí, 2005; Vásquez, 2005)

Cuando se libera en el aire, puede ser trasportado a largas distancias antes de sedimentar en el suelo. Una vez que cae en la tierra, generalmente se adhiere a partículas en el suelo. El movimiento del plomo desde el suelo hasta aguas subterráneas, dependerá del tipo de compuesto de plomo y de las características del suelo. La mayor parte de la contaminación por plomo se debe a las descargas directas de aguas residuales. (Vásquez, 2005)

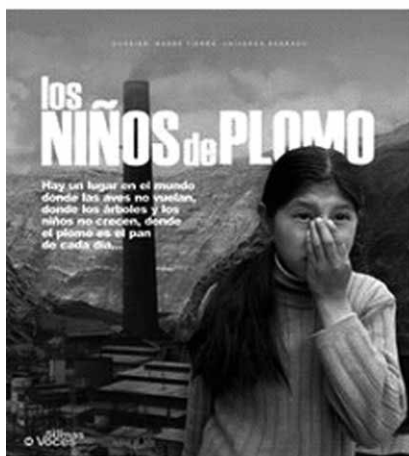
Níquel (Ni²⁺)

El níquel es empleado en el electroplatinado de instrumentos dentales, elaboración de cerámica y vidrio de color, utensilios domésticos, joyería, hidrogenación catalítica de aceites y grasas, en reacciones químicas y como intermediario en la síntesis de esteres acrílicos para la elaboración de plásticos. También, interviene en la elaboración de amalgamas con cobre, manganeso, zinc, cromo, fierro, molibdeno y para la producción de acero inoxidable; se emplea en la aleación de níquel-cobre (66% y 32%, respectivamente para la elaboración de monedas).

La exposición ambiental al níquel ocurre por la inhalación, la ingestión y el contacto con la piel. La población en general se expone a niveles bajos de níquel, al estar presente en el agua, aire, alimentos y productos de consumo. Generalmente, la mayor parte de este metal es consumido a través de los alimentos, con un promedio de ingesta diaria (en los Estados Unidos) estimado de 150–168 µg. Mientras que por agua potable y aire, las cantidades son 2 µgy 0.1–1 µg, respectivamente. (Rodríguez L., 2009). La Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso en 1995 un valor guía basado en criterios sanitarios de 0.02 mg/l, que debería ofrecer protección suficiente para las personas sensibles al níquel.

Informes aislados indican que los compuestos de níquel pueden provocar reacciones alérgicas mediante exposiciones dérmicas y orales. El níquel ingerido como sales solubles (el ion Ni²⁺, es insoluble) causa náusea, vómito y diarrea, por lo que ciertos compuestos han sido listados como carcinógenos por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, 2009) (Jiménez, 1997).

A pesar de que el níquel es un elemento esencial en algunos organismos, incluyendo las algas, a elevadas concentraciones se vuelve tóxico para algunos procesos



fisiológicos (Jiménez, 2006).

Por todo lo antes mencionado, se planteó observar el efecto que tiene los metales sobre el crecimiento de la *S. maxima*, por tratarse de un complemento alimenticio que consumen algunos seres humanos, ya que se pudiera dar el caso de que la producción de este microorganismo no cumpla con los estándares de calidad para su adecuada venta al consumidor.

Materiales y métodos

Microorganismo. *Spirulina maxima* (*Arthrospira*) aislada del Río de Los Remedios, en el Laboratorio de Biorremediación del Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

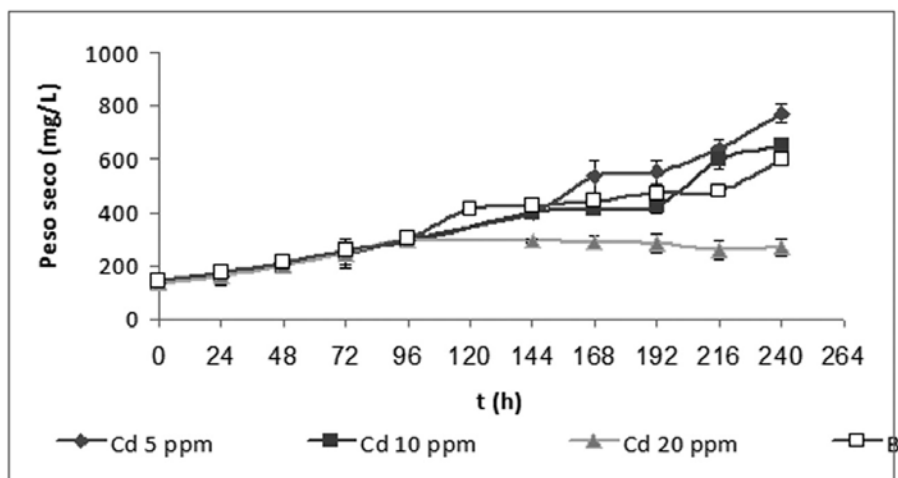
Cinéticas de crecimiento

Los experimentos se llevaron a cabo en matraces Erlenmeyer de 1 000 ml de capacidad total, con 800 ml de medio de cultivo Zarrouk modificado y 10% de inóculo v/v en fase exponencial de crecimiento a las 96 horas; posteriormente, se adicionó simultáneamente y de manera paralela en cultivos independientes, los metales cadmio, plomo y níquel en concentraciones de 5, 10 y 20 ppm, respectivamente, a partir de soluciones de acetato de cadmio (CH_3COO)₂ Cd 2H₂O, carbonato de plomo PbCO₃ y cloruro de níquel NiCl₂. Los cultivos fueron incubados a temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$), aireación 0.5 vvm, agitación 100 rpm, fotoperiodo natural (luz solar). Cabe señalar que los experimentos son independientes y se realizaron por triplicado.

Métodos analíticos.

El crecimiento celular se determinó por cuantificación de clorofila "a", de acuerdo con la metodología de APHA (1997), por densidad óptica a 560 nm y peso seco en g/l.

Resultados y discusión

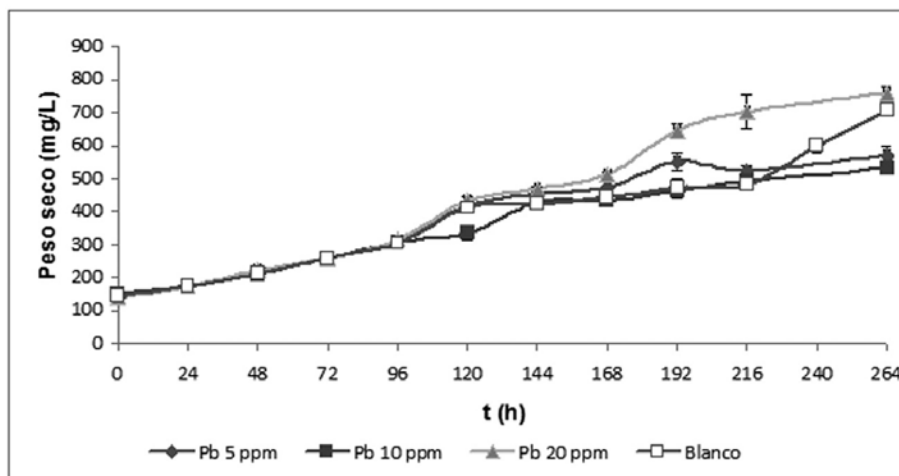


Gráfica 1

Efecto del cadmio sobre el crecimiento de *Spirulina maxima* a temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$), aireación 0.5 vvm, 100 rpm y fotoperiodo natural.

La Gráfica 1 muestra el efecto del metal cadmio sobre el crecimiento de la *S. maxima*, basado en peso seco. Podemos observar que ésta es capaz de crecer en presencia de 5 y 10 ppm de Cd^{2+} , alcanzando un crecimiento máximo de 773 y 649 mg/l y una velocidad específica de 0.17 d^{-1} y 0.158 d^{-1} , respectivamente, a las 240 horas. Cuando a los cultivos de *Spirulina* se adicionaron 20 ppm Cd^{2+} , se presentó una inhibición en el crecimiento, lo que quiere decir que a partir de esta concentración resulta tóxico para el microorganismo. Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Leborans y Novillo (1996), donde explica que la presencia de concentraciones altas de cadmio en los microorganismos provoca una desorganización en los cloroplastos, causando daños en los pigmentos fotosintéticos y como consecuencia de ello, la actividad fotosintética resulta seriamente afectada, causando la inhibición del crecimiento o la muerte celular.

En la Gráfica 2, se puede apreciar el efecto del plomo sobre el crecimiento de la *S. maxima* con base en peso seco.



Gráfica 2

Efecto del plomo sobre el crecimiento de *Spirulina maxima* a temperatura ambiente ($28\pm 2^\circ\text{C}$), aireación 0.5 vvm, 100 rpm y fotoperiodo natural.

De acuerdo con los resultados obtenidos, podemos observar que al adicionar el plomo a las 96 horas de crecimiento de *S. maxima*, no se inhibió el crecimiento, sino que, por el contrario, la presencia de 20 ppm Pb^{2+} estimuló el crecimiento de *S. maxima*, alcanzando un máximo de 759 mg/l superior al blanco donde el crecimiento máximo fue de 701 mg/l a las 264 horas. Cuando se adicionó 5 y 10 ppm Pb^{2+} a los cultivos *S. maxima*, el crecimiento fue menor que con 20 ppm

Pb^{2+} , pero se obtuvo un crecimiento similar al blanco hasta las 216 h.

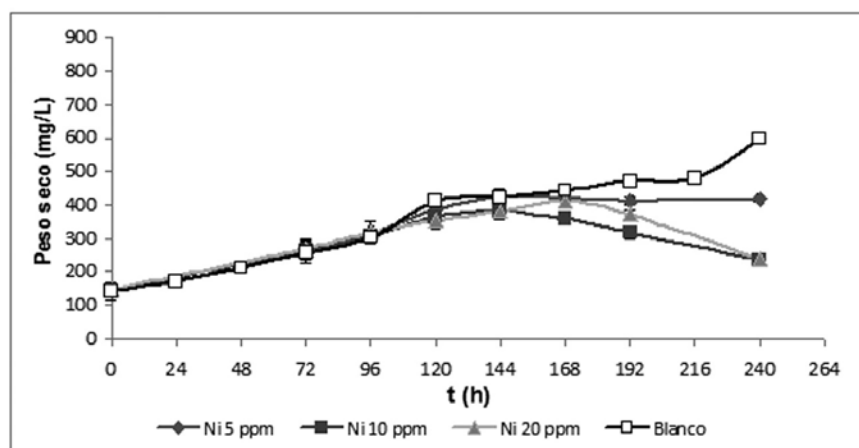
El efecto que tiene este metal, suponemos que se debe a que el Pb^{2+} compite por un sitio activo con el Zi^{+2} , el cual es esencial para la actividad y estabilidad enzimática de las cianobacterias (Erskesine, 1997).

Lo anterior concuerda con lo reportado por Zaccaro y colaboradores en el 2000, donde también se relacionó la respuesta al efecto tóxico del plomo, no sólo en las cianobacterias, sino también en algunas plantas y otros microorganismos, con la producción de proteína.

En comparación con otras cianobacterias que estudiaron Arif y El Sayed (1998), y Zaccaro et (2000), nuestro microorganismo presentó mayor tolerancia al plomo.

En la Gráfica 3 podemos observar claramente que el níquel es altamente tóxico a concentraciones de 20 ppm, ya que inhibe el crecimiento de *S. maxima* y causa lisis celular. Se obtuvo un crecimiento máximo de 382 mg/l a las 144 horas, en presencia de 20 ppm Ni^{2+} y 412 mg/l a las 168 horas, en presencia de 10 ppm Ni^{2+} . Con 5ppm de Ni^{2+} en los cultivos de *S. maxima*, no afectó de manera significativa el crecimiento durante las primeras horas, alcanzando un máximo de 424mg/l a las 144; después de este tiempo, *S. maxima* entró en estado estacionario.

La toxicidad de este metal se explica porque a pesar de que el níquel es un elemento esencial en algunos organismos, incluyendo las algas, en concentraciones elevadas se vuelve altamente tóxico para algunos procesos fisiológicos. Se sabe que participa en tres enzimas: la hidrogenasa, ureasa y monóxido de carbono deshidrogenada, en las que se encuentra unido a un sitio activo de una histidina o cisteína. En las tres enzimas, el níquel es añadido al polipéptido mediante una reacción complicada que involucra guanidin trifosfatasa (GTPasas) (Maier et al., 1993), lo cual provoca la toxicidad



Gráfica 3

Efecto del níquel sobre el crecimiento de *Spirulina maxima* a temperatura ambiente ($28\pm 2^\circ\text{C}$), aireación 0.5 vvm, 100 rpm y fotoperiodo natural.

del níquel.

Conclusiones

La *S. maxima* puede crecer en presencia de los metales pesados cadmio, plomo y níquel, lo que provoca gran preocupación, ya que es un microorganismo que se emplea en la industria farmacéutica, alimentaria y acuicultura.

Se recomienda verificar estrictamente la composición química de la *Spirulina maxima* a nivel industrial, para cerciorarse de que está libre de metales o que se encuentra dentro de los estándares establecidos.

Referencias

APHA (1997). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 17th ed., American Public Health Association, Washington, DC, USA.

Arif, I.A, El Sabed, y A. M.A. (1998). *Geobios* Jodhpur.

Cañizares-Villanueva, R.O. (2000). "Heavy metals biosorption by using microbial biomasa", *Revista Latinoamericana de Microbiología*.

Domínguez-Bocanegra, A.R., Torres-Muñoz, J.A., Carmona, R. y Aguilar-López, R. (2009) "Theoretical-practical study on the removal of contaminants in Los Remedios River (State of Mexico)", *Ingeniería Hidráulica en México*.

Erskine, P., Senior, N., and Awan, S., (1997). "Shoolingin-Journal", P.M. Wood, S.P. Cooper, J.B. *Nature Struct Biol.*, 4.

Leborans, G. F., Novillo A. (1996). "Toxicity and bioaccumulation of cadmium in *Olishodiscus luteus* (Raphidophyceae)", *Water Res.*

Liu, S. y J. M. Suflita (1993). "Ecology and evolution of microbial populations for bioremediation", *Trends Bio-technol.*

Maier, T., Jacobi, A., Sauter, M., and Bock, A. (1993). "The product of the hyp \square gene, which is required for nickel incorporation into hydrogenases, is a novel guanine nucleotide-binding protein". *J. Bacteriol.*

Vázquez, G.V. (2005). "Biosorción de metales pesados en solución acuosa mediante biomasa bacteriana muerta". Tesis de licenciatura, Depto. de Química y Biología, Universidad de las Américas Puebla, México, Cholula, Puebla.

Zaccaro, M., Salazar, C., and Zulpa de Caire, G. (2000). *Lead Toxicity in Cyanobacterial Porphyrin Metabolism*, John Wiley & Sons.