

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 011 - 2017/UCSS/FIA

Siendo las 02:00pm horas, del día 02 de diciembre de 2017, en el aula G1-201 en el Campus Universitario de la Universidad Católica Sedes Sapientiae – Sede Lima, los miembros del Jurado de Tesis, integrado por:

- |  |                 |
|--|-----------------|
| 1. Ing. Roger Manuel Mestas Valero     | Presidente      |
| 2. Blgo. Sergio Ángel Huatuco Trinidad | Primer Miembro  |
| 3. Blga. Mónica Velásquez Espinoza     | Segundo Miembro |
| 4. Blga. Heidi Isabel Sánchez Torres   | Asesora         |

Se reunieron para la sustentación de la tesis titulada: **“EFECTO BIORREMEDIADOR DE LAS CLOROFITAS FILAMENTOSAS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS CONTAMINADAS POR METALES PESADOS PROVENIENTES DEL RÍO CHILLÓN-CALLAO”**; que presenta el bachiller en Ciencias Ambientales, el Sr. **Yahir Alexis Pérez Rojas**, cumpliendo así con los requerimientos exigidos en el reglamento para la modalidad de titulación; la presentación y sustentación de un trabajo de investigación original, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Ambiental**.

Terminada la sustentación, el Jurado luego de deliberar, acuerda:

APROBAR

DESAPROBAR

La tesis, con el calificativo de **Muy buena** y eleva la presente Acta al Decanato de la Facultad de Ingeniería Agraria, a fin de que se declare EXPEDITA para conferirle el TÍTULO de INGENIERO AMBIENTAL.

Firmado en Lima, 02 de diciembre de 2017.

  
Ing. Roger Manuel Mestas Valero  
PRESIDENTE

  
Blgo. Sergio Ángel Huatuco Trinidad  
1° MIEMBRO

  
Blga. Mónica Velásquez Espinoza  
2° MIEMBRO

  
Blga. Heidi Isabel Sánchez Torres  
ASESORA



**UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**TESIS DE INVESTIGACIÓN**

**“EFECTO BIORREMEDIADOR DE LAS CLOROFITAS  
FILAMENTOSAS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS  
CONTAMINADAS POR METALES PESADOS  
PROVENIENTES DEL RÍO CHILLÓN-CALLAO”**

**ASESORA:**

**HEIDI ISABEL SÁNCHEZ TORRES**

**EJECUTOR:**

**YAHIR ALEXIS PÉREZ ROJAS**

**LIMA – PERÚ**

**2017**

## **DEDICATORIA**

A mis padres Walter Pérez y Nancy Rojas, y mi hermana Daniela Vanessa Pérez Rojas porque gracias a ellos permitieron que sea un profesional con su apoyo constante para lograr mis aspiraciones guiándome por el buen camino.

A mi segunda madre, Mary Elena Rojas Pacheco (Tía Mery), por ser aquella persona que estuvo y fue fundamental su presencia en el momento más importante de mi vida, que fue inculcarme la importancia del estudio en la vida de una persona para poder cumplir mis metas sin ser detenido por ninguna adversidad en el camino.

A mi abuela Teresa Flores, mi ángel de la guarda, que sé que se siente muy orgullosa por haber logrado culminar mi carrera profesional y día a día demostrar a todos que soy capaz de lograr todo lo que me propongo para sentirme orgulloso de mí mismo. Por ser un ejemplo de lucha y terquedad para alcanzar lo que nos hace feliz. Te amo Mamá Teresa.

## AGRADECIMIENTOS

- A mis Asesores, Heidi Isabel Sánchez Torres y Armando Chiclla Salazar, por su apoyo mediante consejos, sugerencias, dedicación y motivación en la elaboración, ejecución y sustentación en mi tesis de investigación.
- A las personas que Dios puso en mi camino para poder formar parte de este logro en mi vida personal y profesional, siendo un gran equipo de trabajo que sin ellos no lo hubiese podido lograr fácilmente, dentro de ellos:
  - A mi novia, Erika Virginia Fretel Montoya, que llegó en el momento preciso de mi vida para acompañarme en mi crecimiento personal y profesional inculcándome que nunca hay que darnos por vencidos ante obstáculos que se puede presentar en el camino, por su amor inmenso que día a día me demuestra, preocupándose siempre por mi bienestar personal y profesional y su apoyo permanente e incondicional en mis proyectos y decisiones conduciéndonos a un futuro mucho mejor para los dos.
  - A mi amigo de la Universidad, Pedro Moisés Martínez Robles, que desde el primer momento que ingresamos a esta etapa llamada “Vida Universitaria” día a día siempre estuvo a mi lado apoyándome en lo personal y profesional. Mi compañero de trabajos, de relajos y de viajes alrededor del Perú y que siempre tendremos grandes recuerdos y anécdotas para contar y hasta el día de hoy me sigue aconsejando y brindando su apoyo. Siempre podré contar con él como el contará conmigo cuando más lo necesite.
  - A mis primos hermanos, Daniel Ángel Vivar Rojas, Patricia Vivar Rojas, Ibar Manuel Aréstegui Valdez, Roberto Tucto y mi tío Iván Pérez Mejía por ser unos ejemplos de lucha, dedicación y perseverancia para lograr nuestras metas que trazamos teniendo que hacer muchas veces sacrificios en la vida.
  - A mis abuelos Juan Rojas, María Jesús Pacheco y Roberto Pérez, por el aliento moral que constantemente me brindaron durante mi crecimiento personal y profesional.
  - A mi Tía Maribel Pérez, por siempre preocuparse por mi desarrollo personal y profesional desde que inicie la etapa colegial, y hasta el día de hoy sigue haciéndolo.

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
CARÁTULA	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE APÉNDICES	xii
<b>RESUMEN</b>	xiii
<b>ABSTRACT</b>	xiv
<b>INTRODUCCIÓN</b>	xv
<b>CAPÍTULO I: REVISIÓN DE LITERATURA</b>	1
1. ANTECEDENTES	1
2. BASES TEÓRICAS ESPECIALIZADAS	5
2.1 Clorofitas filamentosas	5
2.2 Biología de la <i>Rhizoclonium</i>	8
2.3 Biorremediación	10
2.4 Metal Pesado	12
2.4.1 Plomo	13
2.4.2 Fuentes de Plomo	13
2.5 Mecanismos Implicados en el Proceso de Remoción de metales por Tratamiento Biológico	14
2.5.1 Intercambio Iónico	14
2.5.2 Biosorción	15
2.5.3 Adsorción	15
a) pH	16
b) Naturaleza del absorbato	16
c) Concentración inicial del metal	17
d) Temperatura	17

2.6 Cuenca del rio Chillón	17
<b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS</b>	19
<b>1. DISEÑO DE LA INVESTIGACION</b>	19
1.1 Área de Estudio.	19
1.2 Descripción del Experimento	19
1.2.1 Obtención del material biológico	19
1.2.2 Determinación taxonómica del alga filamentosa y caracterización	20
1.2.3 Obtención de las muestras de aguas del rio Chillón	20
1.2.4 Caracterización físico-química de los efluentes	21
1.2.5 Tratamientos Experimentales	21
1.2.6 Condiciones experimentales de la investigación	21
1.2.7 Pesaje e incorporación del alga filamentosa a cada muestra	23
1.2.8 Toma de muestra para análisis de laboratorio	23
1.2.9 Análisis de los parámetros físico-químicos	24
1.2.9.1 Evaluación del potencial H <sup>+</sup> (pH) en los tratamientos.	24
1.2.9.2 Evaluación de la temperatura en los tratamientos.	25
1.2.9.3 Evaluación del nitrógeno total (NT) en los tratamientos.	26
1.2.9.4 Evaluación del fósforo total (PT) en los tratamientos.	26
1.2.9.5 Cálculo del ratio NT/PT en los tratamientos.	26
1.3 Análisis Estadístico de Datos	26
<b>2. MATERIALES</b>	27
2.1 Material Biológico	27
2.2 Otros Materiales	28
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	29
<b>1. RESULTADOS</b>	29
1.1 Caracterización del Alga Filamentosa	29
1.2 Variación de la Concentración de Plomo	30
1.3 Remoción de Plomo por Parte del Alga <i>Rhizoclonium</i> sp.	32
1.4 Variación de la Concentración de Nitrógeno Total por Parte del Alga Filamentosa <i>Rhizoclonium</i> sp.	34
1.5 Variación de la Concentración de Fósforo Total por parte del Alga Filamentosa <i>Rhizoclonium</i> sp.	36
1.6 Resultados del Ratio NT/PT	38
1.7 Resultados de la Variación de la Biomasa y el pH	40

2. DISCUSIÓN	41
<b>CONCLUSIONES</b>	44
<b>RECOMENDACIONES</b>	45
<b>REFERENCIAS</b>	46
<b>TERMINOLOGÍA</b>	53
<b>APÉNDICES</b>	55

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> <i>Clasificación taxonómica de las Clorofitas Filamentosas</i>	6
<b>Tabla 2.</b> <i>Composición del tratamiento y del control para la remoción de plomo por el alga filamentosa</i>	21
<b>Tabla 3.</b> <i>Condiciones experimentales para los ensayos de remoción de plomo</i>	22
<b>Tabla 4.</b> <i>Clasificación taxonómica de la especie Rhizoclonium sp.</i>	30
<b>Tabla 5.</b> <i>Características geométricas de Rhizoclonium sp.</i>	30
<b>Tabla 6.</b> <i>Registro semanal promedio de las concentraciones de plomo (mg/L) con las desviaciones estándares (<math>\pm</math> DS) del Tratamiento 1 y el control.</i>	31
<b>Tabla 7.</b> <i>Análisis de la varianza de la remoción de plomo (%) evaluados durante siete semanas.</i>	33
<b>Tabla 8.</b> <i>Registro semanal promedio de las concentraciones de nitrógeno total (mg/L) con las desviaciones estándares (<math>\pm</math> DS) del Tratamiento 1 y el control.</i>	34
<b>Tabla 9.</b> <i>Análisis de la varianza de la variación de nitrógeno total (mg/L) según la disminución entre las semanas.</i>	35
<b>Tabla 10.</b> <i>Registro semanal promedio de las concentraciones de fósforo total (mg/L) con las desviaciones estándares (<math>\pm</math> DS) del Tratamiento 1 y el control.</i>	36
<b>Tabla 11.</b> <i>Análisis de la varianza de la variación de fósforo total (mg/L) según la disminución entre las semanas.</i>	37
<b>Tabla 12.</b> <i>Valores promedio del ratio NT/PT durante las semanas</i>	38
<b>Tabla 13.</b> <i>Análisis de la varianza del ratio NT/PT según la variación entre las semanas.</i>	39

**Tabla 14.** *Valores promedio de la variación de la biomasa algal (gr) y el pH durante las semanas.*

40

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Ciclo Biológico de las Clorofitas Filamentosas (FUENTE: Garcia (2013)).	6
<b>Figura 2.</b> Ciclo Reproductivo de la Clorofita Filamentosa (FUENTE: Garcia (2013)).	7
<b>Figura 3.</b> Diferentes especies y estructuras de <i>Rhizoclonium</i> – A. <i>Rhizoclonium implexum</i> , B.C. <i>Rhizoclonium tortuosum</i> , B. Filamento con ramificación rizoidal, C. Filamento, D. <i>Rhizoclonium riparium</i> , E.F. <i>Rhizoclonium curvatum</i> , F. Filamento arqueado con rizoides, F. Parte del filamento con rizoide. (FUENTE: Harvey (1849)).	9
<b>Figura 4.</b> Mapa de la cuenca del rio Rimac (Fuente: SENAMHI 2016).	18
<b>Figura 5.</b> Ubicación de la toma de muestra en el cruce de la Av. Néstor Gambeta y el rio Chillón en Ventanilla, Callao. (Fuente: Google Earth, 2016).	20
<b>Figura 6.</b> Aspecto del rio Chillón en la estación de colecta.	22
<b>Figura 7.</b> Diagrama de flujo para la obtención del porcentaje de remoción de plomo.	25
<b>Figura 8.</b> Biomasa de algas filamentosas colectadas del rio Chillón.	27
<b>Figura 9.</b> <i>Rhizoclonium</i> sp (40X). Microfotografías 1 y 2 se observa células basales y células cilíndricas.	29
<b>Figura 10.</b> Diagrama de bigotes de las concentraciones de plomo presentes durante las semanas de evaluación.	32
<b>Figura 11.</b> Curvas de remoción de plomo tratada con <i>Rhizoclonium</i> sp. en un período de siete semanas. Barras de error = media±D.E	33
<b>Figura 12.</b> Curvas de la variación de nitrógeno total tratadas con <i>Rhizoclonium</i> sp. en un período de 7 semanas. Barras de error = media ± D.E.	35

**Figura 13.** Curvas de la variación de fósforo total en un período de 7 semanas. Barras de error = media  $\pm$  D.E. 37

**Figura 14.** Curvas de los ratios NT/PT en un período de 7 semanas. Barras de error = media  $\pm$  D.E. 39

**Figura 15.** Curvas de la variación de la Biomasa en un período de siete semanas. Barras de error = media  $\pm$  D.E. 41

## ÍNDICE DE APÉNDICES

	<b>Pág.</b>
<b>APÉNDICE 1:</b> REGISTRO SEMANAL DE LAS CONCENTRACIONES (mg/L) DE PLOMO CON LAS DESVIACIONES ESTANDARES DEL TRATAMIENTO Y EL CONTROL.	55
<b>APÉNDICE 2:</b> ESTÁNDAR NACIONAL DE CALIDAD AMBIENTAL PARA AGUA D.S 015-2015-MINAM.	56
<b>APÉNDICE 3:</b> REGISTRO SEMANAL DE LAS REMOCIONES (%) DE PLOMO CON LAS DESVIACIONES ESTANDARES DE LAS RÉPLICAS.	57
<b>APÉNDICE 4:</b> PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE PLOMO.	57
<b>APÉNDICE 5:</b> PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL.	58
<b>APÉNDICE 6:</b> PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DEL FÓSFORO TOTAL.	58
<b>APÉNDICE 7:</b> PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DEL RATIO NT/PT.	59
<b>APÉNDICE 8:</b> COEFICIENTES DE CORRELACIÓN LINEAL DE PEARSON ( $r$ ) ENTRE LOS VALORES DE PORCENTAJE DE REMOCIÓN, BIOMASA, PH Y TEMPERATURA. SIGNIFICANCIA DE $P < 0,05$ .	59
<b>APÉNDICE 9:</b> REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA INVESTIGACIÓN.	60

## RESUMEN

La presente investigación evalúa la aplicación de la biomasa de algas filamentosas aisladas de un estanque de las instalaciones del Centro de Investigación Biológica-CIB de la Universidad Católica Sedes Sapientiae en el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados provenientes del río Chillón como alternativa para la depuración de cuerpos de agua. La evaluación se realizó durante un periodo de 56 días, durante los meses de junio y julio del 2016, en el laboratorio de ciencias de la Universidad Católica Sedes Sapientiae. La especie de alga filamentosa se identificó como *Rhizoclonium* sp. cuya biomasa fue aplicada directamente a los efluentes y se evaluó la remoción de plomo cada 7 días; así como, las variaciones del pH, temperatura, nitrógeno total (NT), fósforo Total (PT), ratio NT/PT y biomasa algal. El alga *Rhizoclonium* sp. generó valores altos de porcentajes de remoción de  $91,8 \pm 0,11$  por ciento ( $p < 0,01$ ) para plomo y reducción en NT y PT cuyos valores fueron  $98,1 \pm 1,1$  por ciento y  $9,9 \pm 0,9$  por ciento respectivamente. El valor del ratio NT/PT obtenido varió de  $8,0 \pm 0,5$  a  $2,45 \pm 0,11$ . La biomasa algal mostró un incremento significativo del orden del  $65,98 \pm 1,02$  por ciento ( $p < 0,01$ ). Con respecto a los valores de temperatura se encontró una alta correlación respecto a la remoción de plomo ( $r = 0,89$ ;  $P = 0,01$ ). Se determinó una fuerte influencia del pH relacionado con el porcentaje de remoción ( $r = -0,87$ ;  $P = 0,02$ ). Se concluyó que *Rhizoclonium* sp. fue efectivo en la biorremediación de aguas contaminados con nutrientes y el metal pesado plomo.

**Palabras clave:** *Rhizoclonium* sp., remoción, biorremediación, río Chillón, plomo.

## ABSTRACT

The present research evaluates the application of the filamentous algae biomass isolated from a pond of the Centro de Investigación Biológica-CIB of the Universidad Católica Sedes Sapientiae in the treatment of water contaminated with heavy metals from the river Chillón as an alternative for purification of bodies of water. The evaluation was carried out during a period of 56 days, during the months of June and July of 2016, in the science laboratory of the Universidad Católica Sedes Sapientiae. The isolated strain was identified as *Rhizoclonium* sp., whose biomass was applied directly to the effluents. Lead removal was evaluated every 7 days; As well as variations in pH, temperature, total nitrogen (NT), total phosphorus (PT), ratio NT/PT and algal biomass. The strain of *Rhizoclonium* sp. generated high values of remotion percentages of  $91,8 \pm 0,11$  percent ( $p < 0,01$ ) for lead and reduction in NT and PT, whose values are  $98,1 \pm 1,1$  percent and  $9,9 \pm 0,9$  percent, respectively. The value of the NT / PT ratio obtained varied from  $8,0 \pm 0,5$  to  $2,45 \pm 0,11$ . The algal biomass showed a significant increase of the order of  $65,98 \pm 1,02$  percent ( $p < 0,01$ ). Regarding temperature values, a high correlation was found regarding lead remotion ( $r = 0,89$ ;  $P = 0,01$ ). It was determined a strong influence of the pH related to the percentage of remotion ( $r = -0,87$ ;  $P = 0,02$ ). It is concluded that *Rhizoclonium* sp. was effective in biorremediation of water contaminated with nutrients and heavy metal lead.

**Key words:** *Rhizoclonium* sp., remotion, biorremediation, Chillón river, lead.

## INTRODUCCIÓN

La contaminación causada por metales pesados en aguas superficiales, como los ríos, han sido siempre un problema muy grave, puesto que estos elementos no son biodegradables y se acumulan en los tejidos vivos provenientes de la actividad industrial y de los residuos domésticos, los cuales por razones de salud pública no pueden ser vertidos a ecosistemas acuáticos. A pesar de las recomendaciones y ordenanzas en los últimos años los ambientes naturales han recibido un creciente aporte de efluentes industriales que han llevado al deterioro de muchos cursos de agua haciéndolos incompatibles con la vida (Heinke & Henry, 1999).

En el Perú, la zona costera cuenta con 53 ríos entre los cuales uno de los más importantes y a la vez de alto impacto es el río Chillón ubicado en la Región de Lima y Callao y que a lo largo de toda su extensión se desarrollan actividades contaminantes como la minería, producción de pinturas y papeles entre otros. Existen reportes de la concentración de plomo en efluentes de la industria papelería y pinturas, los cuales sobrepasan los valores máximos permisibles (Ampuero, 1994). En las últimas décadas, se vienen empleando estudios de bioensayos como técnica y herramienta básica para evaluar el tratamiento y disposición final de aguas contaminadas con metales pesados, como, por ejemplo: cobre, zinc, plomo, hierro, mercurio, entre otros que reaccionan en el medio acuático y con frecuencia se acumulan en los tejidos de los organismos. Frente a esta problemática ambiental se menciona el uso de la biorremediación como técnica amigable con el ambiente para el tratamiento de metales pesados en ambientes acuáticos (Schmidt, 2000).

Las comunidades de algas responden, por lo general, a impactos antropogénicos, como el exceso de nutrientes y sustancias tóxicas, perfilándose como los principales organismos para el tratamiento de aguas contaminadas por metales pesados. Las algas filamentosas pertenecientes al grupo de las clorofitas son importantes organismos biorremediadores. Debido a que poseen capacidad de soportar contaminantes de un medio acuático y mostrar un rápido crecimiento en biomasa (Ospina, Peña y Benítez, 2006).

El objetivo de la presente investigación es evaluar la actividad biorremediadora de algas filamentosas aisladas de un estanque del Centro de Investigación Biológica-Ancón (UCSS) en el tratamiento de aguas contaminadas por metales pesados provenientes del río Chillón-Callao.

**Objetivos específicos:**

- Aislar e identificar las algas filamentosas provenientes de los tanques de almacenamiento de agua del Centro de Investigación Biológica-Ancón (UCSS).
- Caracterizar fisicoquímicamente la muestra de agua del río Chillón-Callao.
- Determinar la actividad biorremediadora de las algas filamentosas a partir de la variación de los parámetros físico- químicos (Plomo, Nitrógeno Total, Fósforo Total y pH).
- Identificar la variación de la biomasa algal en la actividad biorremediadora.

# CAPÍTULO I: REVISIÓN DE LA LITERATURA

## 1. ANTECEDENTES

En los últimos años se han realizado investigaciones sobre metales pesados presentes en todo tipo de ecosistemas. Su concentración en algas bénticas ha sido estudiada por Seeliger y Edwards (1977); se investigaron en cuatro especies de algas como: *Blidingia minima*, *Enteromorpha*, *Fucus* y *Ulva* colectadas de zonas de alta polución de New York. Estas algas fueron lavadas y congeladas para después ser analizadas por espectroscopia de Absorción atómica para determinar las concentraciones de metales pesados. Los resultados mostraron una alta concentración de plomo y cobre presentes en la biomasa algal en todos los lugares muestreados. Se reportó que *Blidingia minima* presentó las concentraciones mayores de metales de cobre ( $1,8 \times 10^4 \mu\text{gr/L}$ ) y plomo ( $8,2 \times 10^4 \mu\text{gr/L}$ ) en todas las estaciones. Todas las especies presentaron una alta correlación con respecto a la concentración de iones metálicos. Esta investigación demuestra que las algas bénticas son capaces de tolerar altas concentraciones de metales pesados como el plomo y cobre especialmente. A su vez, demostraron el uso de estas algas como agentes de control de contaminación urbana.

El potencial biorremediador de *Rhizoclonium riparium* y *Bostrichia calliptera* fue estudiado por Ospina et al. (2006), en dicho estudio se evidencio la presencia de metales pesados incorporados a su biomasa algal. El estudio consistió en extraer muestras de agua superficial y biomasa algal de tres estaciones de la bahía de Buena ventura, Colombia. Las muestras fueron procesadas por espectroscopia de Absorción Atómica para determinar el contenido de metales pesados y poderlos comparar con el peso en masa algal. Los resultados mostraron altos valores de concentración de plomo y cobre principalmente en aguas superficiales de la bahía,

sobrepasando los límites establecidos. Las dos especies de algas estudiadas presentaron una gran capacidad de acumulación de metales en el medio natural, especialmente, el alga roja *B. calliptera* mostró una tendencia a acumular altas concentraciones de cobre, muy por encima de la acumulación alcanzada por el alga verde filamentosa *R. riparium*. Los autores concluyen que *B. calliptera* y *R. riparium*, así como otras algas, al tener la característica de acumular los metales pesados presentes en el agua, se deben de considerar potenciales organismos remediadores en procesos de descontaminación.

La capacidad de acumulación de plomo en el alga filamentosa *Rizoclonium riparium* en condiciones de laboratorio ha sido evaluado por Ospina et al. (2006). Esta investigación consistió en exponer al alga a concentraciones de 0,1; 1,0; 10 y 15  $\mu\text{m}/\text{ml}$  en periodos de 2, 12, 24 y 144 horas a diferentes concentraciones de salinidades (0, 5, 15, 30 y 60 por ciento). Las concentraciones del metal fueron determinadas por espectrometría de Absorción Atómica. Se encontraron las mayores tasas de acumulación del metal en concentraciones del 15 por ciento y a las 144 horas. Estas concentraciones del metal mostraron un patrón lineal que se incrementó con la exposición en el tiempo. Los resultados de la relación porcentual de la acumulación del metal en el tejido algal con respecto a la concentración inicial de exposición revelaron en general que a menores concentraciones del metal se lograron mayores porcentajes de acumulación del alga. A su vez, los resultados de los efectos de la salinidad en la capacidad de acumulación de indican que este factor influencia de manera directa los procesos de absorción del alga.

Doshi, Ray, Kothari y Gami (2006), demostraron que otras algas filamentosas de los géneros *Cladophora* y la *Spyrogyra* presentan alto poder de absorción y desorción de metales como el cromo y el cobre. Para la investigación se colectaron las muestras de ambientes de la localidad de Guajarat, India. Estas después de ser caracterizadas fueron cultivadas y sometidas a distintas concentraciones de sales de cromo y cobre, posteriormente se realizó una evaluación de la desorción para cada ión metálico para lo cual se usaron dos eluyentes diferentes, ácido acético y una solución de EDTA ambos a concentraciones de 0,1 M. Los resultados demostraron un alto poder de sorción para los metales en especial el ión cobre al género *Cladophora* sobre la

*Spyrogyra*, esta alga pudo absorber hasta el 95 por ciento de los metales a los que fue sometido.

Lee y Chang (2011), realizaron una investigación que tuvo como objetivo comparar la actividad de absorción de las algas *Spyrogyra* y *Cladophora* con la finalidad de poder ser usadas en el tratamiento de aguas residuales. El experimento consistió inicialmente en la evaluación de su capacidad de absorción de estas algas, para lo cual se aplicaron metales pesados a las biomásas algales colectadas del reservorio Tseng-wen, Taiwan. Las soluciones stocks (1000 mgr/L) de los metales pesados fueron en la forma de  $Pb(NO_3)_2$  y  $Cu(NO_3)_2$ . También se evaluó el efecto del pH en las soluciones, el efecto de tiempo en el experimento a 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 y 60 minutos y el efecto comparativo de la concentración inicial del metal en el experimento. Los resultados muestran una alta actividad de absorción de las dos algas especialmente en los 30 primeros minutos en donde se absorbió casi el 96 por ciento del total. En este estudio se observa la presencia de tres fases, la fase inicial donde se evidencia una alta absorción de los iones de los metales pesados, la segunda fase con una menor intensidad de la absorción y una fase de equilibrio sin aumento en la tasa de eliminación de los iones metálicos. Se pudo constatar que las muestras sometidas a el pH 5,0 generaban una actividad mayor de absorción mientras que a valores menores o mayores a este valor era poca la absorción de los iones metálicos. Los resultados finalmente muestran que el poder de absorción del alga *Spyrogyra* fue mayor que la de *Cladophora* para los iones de plomo y cobre y que estos mostraron una rápida absorción para posteriormente disminuir por una posible saturación de las áreas superficiales que permiten la captación de los metales

Kidgell, Nys, Hu, Paul y Roberts (2014), señalaron que la biosorción con algas filamentosas es una tecnología prometedora para la biorremediación de efluentes industriales. Sin embargo, la mayoría de la investigación son realizadas en simples ensayos de efluentes, de las cuales se dispone de pocos datos sobre el rendimiento de algas biosorbentes en efluentes complejos. En esta investigación se pudo evaluar la eficacia de la biomasa seca y Biochar para solucionar 21 contaminantes de un efluente industrial de una central eléctrica de carbón. La investigación se realizó con efluentes industriales captados de la zona de Dam, Australia. El alga filamentosa usada fue *Oedogonium* sp. (clorofita) que es nativa de la zona industrial, y que ha

sido cultivada intensamente para generar biomasa algal y la Biochar para poder biosorber los contaminantes del cuerpo de agua. El efecto del pH y el tiempo de exposición en la biosorción también fueron evaluados. Los resultados muestran la alta capacidad de absorción del Biochar removiendo muchos de los contaminantes presentes en el efluente (Mn, Cu, Pb, Al, Zn, Ni y Cd). Se demuestra que la biomasa de *Oedogonium* es un sustrato eficaz para la producción de biosorbentes para remediar metales y metaloides de un complejo efluente industrial. La conversión de biomasa en biochar mediante pirólisis lenta, y el tratamiento con Fe de este biochar, produce biosorbentes que se unen efectivamente a metales y metaloides, respectivamente. La afinidad de cada biosorbente para diferentes constituyentes de un efluente de aguas residuales extremadamente complejos se demuestra claramente cuando el biochar se une a los metales de la solución a una velocidad que es afectada por el pH, mientras que el Fe-biochar se une constantemente a los metaloides de la solución de una manera que no es afectada por el pH. Estos resultados muestran resaltar las complejidades de la biosorción que sólo son evidentes en experimentos realizados en el mundo real los efluentes industriales.

Para conocer la actividad y la variación de los nutrientes durante el proceso de absorción, Liu y Vyverman (2014), realizaron experimentos con el nitrógeno y fósforo (N/P) en las aguas residuales, señalando que pueden variar enormemente y afectar directamente el crecimiento de algas y el proceso de eliminación de nutrientes para su respectiva descontaminación. La investigación se realizó usando tres especies de algas filamentosas bentónicas: *Cladofora* sp., *Klebsormidium* sp. y *Pseudanabaena* sp., estas algas fueron aisladas de un biorreactor de perifiton y cultivadas bajo condiciones de laboratorio en diferentes proporciones de N/P para determinar su capacidad de absorción y desorción del nitrógeno en forma de nitrato y el fósforo. Los resultados mostraron que la relación entre N/P influyó significativamente en el crecimiento de algas y el proceso de captación de fósforo. Las concentraciones adecuadas para la eliminación de nitrógeno y fósforo fueron 5-15 mg/L\* $\text{dia}^{-1}$ , 7-10 mg/L\* $\text{dia}^{-1}$  y 7-20 mg/L\* $\text{dia}^{-1}$  para la *Cladofora* sp., *Klebsormidium* sp. y *Pseudanabaena* sp., respectivamente. Dentro de estas concentraciones, la *Cladophora* sp. tuvo la mayor producción de biomasa, mientras *Pseudanabaena* sp. tuvo la mayor capacidad de absorción de contenido de nitrógeno y fósforo. Este estudio permitió indicar que la *Cladofora* sp. tenía una alta capacidad

de extracción de fósforo de aguas residuales el cual permitió una alta producción de biomasa y la *Pseudanabaena* sp. fue muy adecuada para eliminar el nitrógeno de las aguas residuales

Suganya, Kayalvizhi, Senthil, Saravanan y Vinoth (2016), buscaron absorbentes de bajo costo para la eliminación efectiva de iones metálicos de soluciones acuosas. El experimento se basó en la selección de la biomasa del alga filamentosa *Rhizoclonium tortuosum* proveniente de pozas, estanque y piscinas cerca de Dharmapuri, India. El material fue lavado y sometido a un tratamiento con HCl 0,1 N para lograr deshidratarlo. Posteriormente fue secado a 60 °C logrando el material bioabsorbente al que se sometieron las muestras acuosas conteniendo iones metálicos de Pb(II), Ni(II) y Cr(VI). Los resultados mostraron que la *Rhizoclonium tortuosum* puede utilizarse como mejor biosorbente debido a que los iones metálicos disminuyeron con el aumento de la dosificación. La razón del aumento en el porcentaje de eliminación se atribuyó al incremento de sitios activos disponibles del material bioabsorbente llegando a una saturación. Se determinó a 1,0 gr/L como la dosis óptima de biomasa para la eliminación efectiva de iones metálicos.

## **2. BASES TEÓRICAS ESPECIALIZADAS**

### **2.1. Clorofitas filamentosas**

Burrows (1991), indicó que las Clorofitas Filamentosas son una división de algas verdes que incluye alrededor de 8200 especies de organismos eucariotas en su mayoría acuáticos fotosintéticos. Todos los grupos de las clorofitas contienen clorofilas a y b, y almacenan las sustancias de reserva como almidón en su plasto. La división contiene tanto especies unicelulares como pluricelulares. La reproducción sexual está también presente y es de tipo oogamia o isogamia. Sin embargo, algunas especies pueden reproducirse asexualmente, mediante la división celular o la formación de esporas. Sus ciclos de vida difieren mucho entre especies, el más común es el que comprende una fase haploide y otra diploide, donde las dos fases pueden ser iguales o diferentes. Se dividen en tres grupos de acuerdo con su organización

celular: las algas sifonales, las algas de colonias móviles y las algas no móviles y filamentosas.

Lewis y McCourt (2004), clasificaron la taxonomía de las Clorofitas Filamentosas que es mostrada a partir de la siguiente tabla:

Tabla 1

*Clasificación taxonómica de las Clorofitas Filamentosas*

CARACTERÍSTICA	DESCRIPCIÓN
Reino:	Plantae
Sub-reino:	Viridiplantae
División:	Chlorophyta

Fuente: Kützing (1843)

García (2013), identificó a las Clorofitas Filamentosas como algas verdes el cual, a partir de las siguientes figuras (Figura 1 y Figura 2), muestra su ciclo biológico y ciclo de reproducción respectivamente.

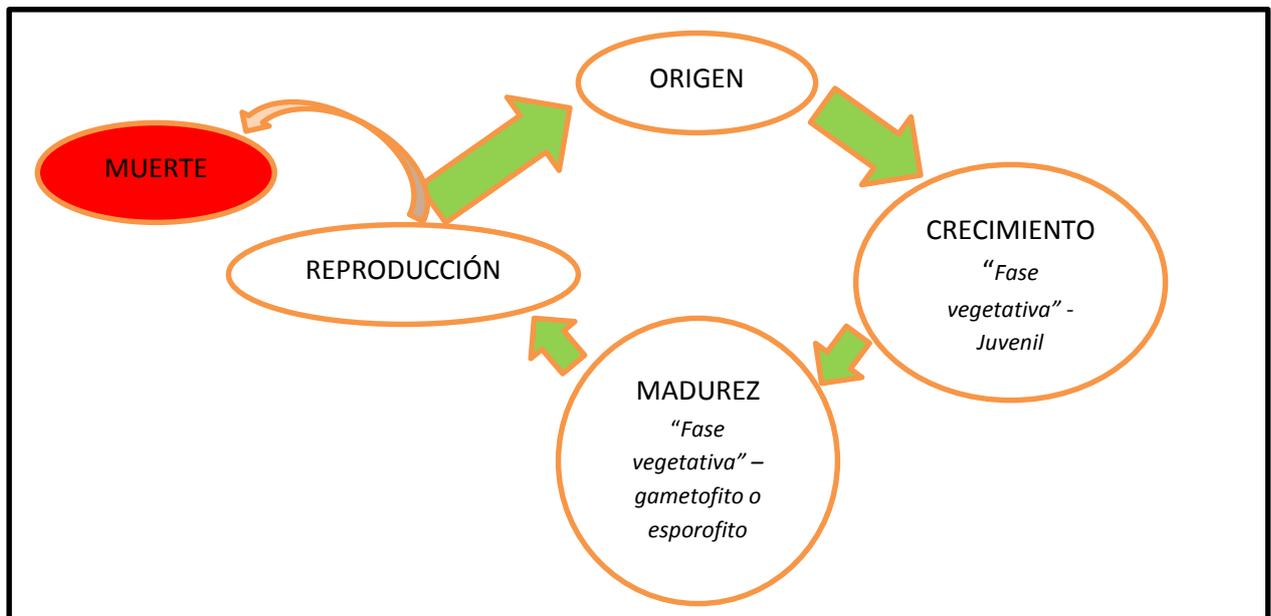


Figura 1. Ciclo Biológico de la Clorofita Filamentosa. (FUENTE: García (2013))

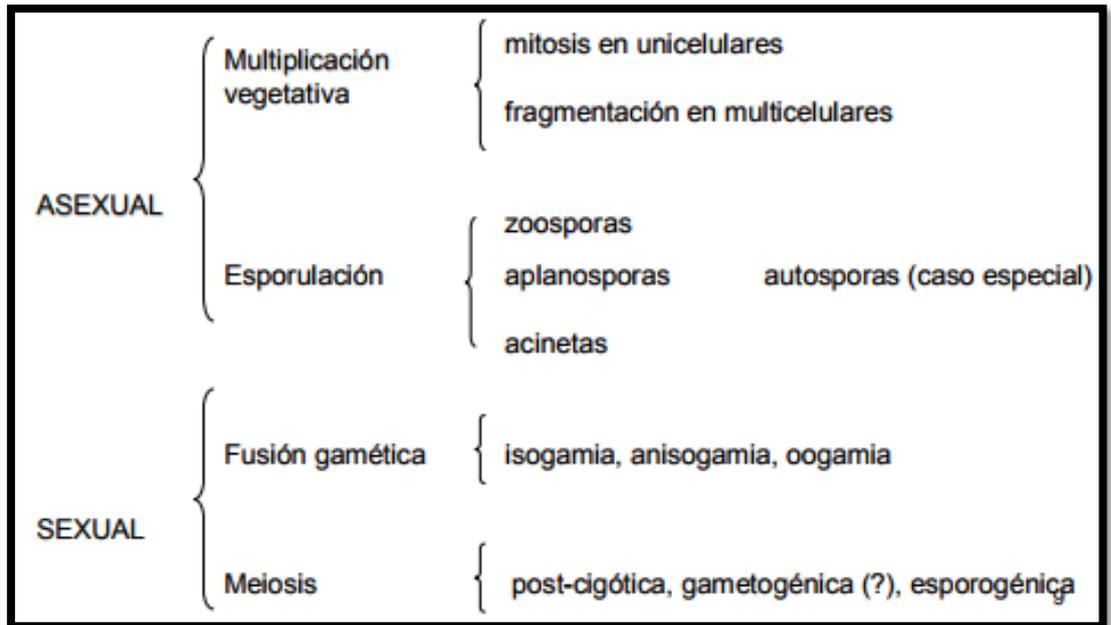


Figura 2. Ciclo Reproductivo de la Clorofita Filamentosa. (FUENTE: Garcia (2013))

Bourelly (1972), considero los siguientes ordenes dentro de las Clorofitas:

- a. Volvocales: móviles. Unicelulares o coloniales.
- b. Tetrasporales: unicelulares o coloniales. Inmóviles con vacuola contráctil.
- c. Chlorococcales: unicelulares o coloniales. Inmóviles
- d. Ulothricales: Filamentosas no ramificadas.
- e. Ulvales: talo foliáceo o tubular.
- f. Chaetophorales: filamentosas ramificadas.
- g. Trentepohliales: Con hematocromos, sin almidón.
- h. Oedogoniales: Filamentos con anillos de crecimiento.
- i. Siphonocladales: Talo filamentoso. Plasto reticulado.
- j. Siphonales: talo globoso, plurinucleadas.
- k. Zygnematales: unicelulares o filamentosas simples.
- l. Charales: de gran talla, muy diferenciadas.

A la vez, Bourelly (1972), clasificó a las Clorofitas como:

- a. Euchlorophyceae: Solitarias o coloniales no filamentosas, con órdenes volvocales, tetrasporales y chlorococcales.

b. Ulothricophyceae: Agrupa todas las formas filamentosas de los siguientes órdenes:

- Ulothricales: Formas filamentosas no ramificadas.
- Ulvales: Talo foliáceo o tubular.
- Chaetophorales: Formas filamentosas ramificadas o en talos constituidos por paquetes de células.
- Trentepholiales: Formas filamentosas o en discos, ricas en hemocromos rojo-naranja, sin almidón.
- Oedogoniales: Formas filamentosas con un anillo de crecimiento.
- Sphaeropleales: Formas filamentosas no ramificadas con cloroplasto anillado.
- Siphonocladales: Forma filamentosas con un plasto reticulado.
- Siphonales: Talo globoso, plurinucleadas.
- Dichotomosiphonales: Formas filamentosas ramificadas.

c. Zygothryxaceae: Filamentosas o unicelulares exclusivas de agua dulce con un tipo de orden Zygnematales.

Arcos, Ávila, Estupiñan y Gómez (2005), mencionaron que las clorofitas son de las algas más abundantes en todo el mundo y su importancia es a partir de sus características biológicas, debido a que tiene la capacidad de soportar contaminantes de un medio acuático y tener un rápido crecimiento en biomasa.

## 2.2. Biología de la *Rhizoclonium*

El género *Rhizoclonium* fue creado por Kützting (1843) que segregó del género *Conferva* Agardh a aquellas especies con ramificaciones rizoideas. *Rhizoclonium* consiste en individuos filamentosos no ramificados. (Parodi & Cáceres, 1993).

Este género de algas filamentosas no ramificadas, crecen unidas o flotando en hábitats marinos, estuarinos y de agua dulce, considerándose de distribución cosmopolita. Los rizoides unicelulares o multicelulares cortos surgen (a menudo

o con muy poca frecuencia) ambos desde la base en posiciones intercaladas o como extensiones de células visiblemente dobladas ("rodillas"). El diámetro de la célula no excede los 70  $\mu\text{m}$ , y el número o núcleos por célula es usualmente <10, siendo estos los caracteres que distinguen a *Rhizoclonium* del género marino *Chaetomorpha*, en el cual los rizoides están ausentes, los núcleos suelen ser muchos más de 10 por célula y la única célula modificada en el filamento (en las especies relacionadas) es la celda basal de retención (Skinner & Entwisle, 2004). Además, está compuesto por múltiples cloroplastos que forman un retículo con varios pirenoides y los filamentos forman matas delgadas o hebras filamentosas entrelazadas que pueden alcanzar 5 cm de largo (Ichihara, Shimada y Miyaji, 2013). Su reproducción es por isogametos biflagelados y zoosporas cuadriflageladas o biflageladas (Nienhuis, 1974).

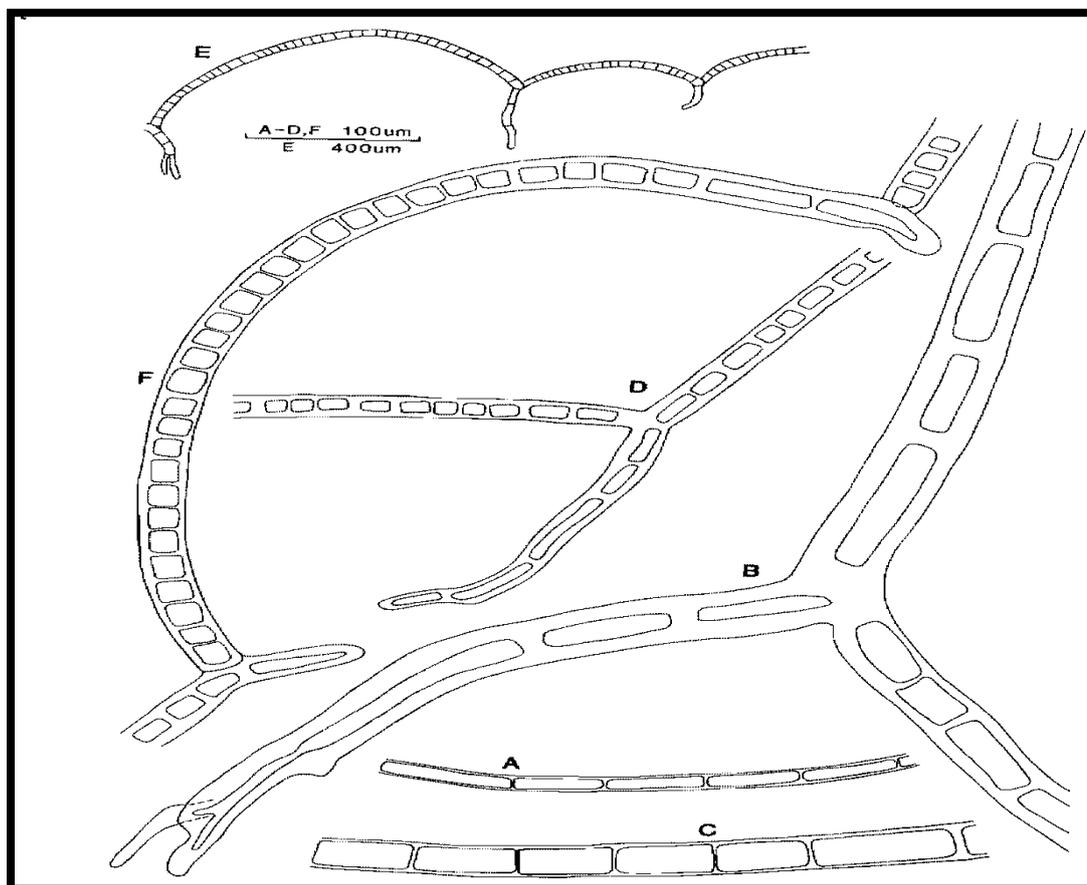


Figura 3. Diferentes especies y estructuras de *Rhizoclonium* - A. *Rhizoclonium implexum*, B.C. *Rhizoclonium tortuosum*, B. Filamento con ramificación rizoidal, C. Filamento, D. *Rhizoclonium riparium*, E.F. *Rhizoclonium curvatum*, F. Filamento arqueado con rizoides, F. Parte del filamento con rizoide. (FUENTE: Harvey (1849)).

### 2.3. Biorremediación

European Federation of Biotechnology [EFB] (1999), mencionaron que la biorremediación es el proceso que utiliza organismos vivos (plantas, algas, hongos y bacterias) para absorber, degradar o transformar los contaminantes y retirarlos, inactivarlos o atenuar su efecto en el agua. El término biorremediación fue incorporado a principios de la década de los '80. Los científicos observaron que era posible aplicar estrategias de remediación que fuesen biológicas, basadas en la capacidad de los microorganismos de realizar procesos degradativos. La biorremediación surge como una rama de la biotecnología que busca resolver los problemas de contaminación mediante el diseño de microorganismos capaces de degradar compuestos que provocan desequilibrios en el medio ambiente.

Su ámbito de aplicabilidad es muy amplio, pudiendo considerarse como objeto cada uno de los estados de la materia (Atlas & Unterman, 1999):

- Sólido: con aplicaciones sobre medios contaminados como suelos o sedimentos, o bien directamente en lodos, residuos, etc.
- Líquido: aguas superficiales y subterráneas, aguas residuales.
- Gases: emisiones industriales, así como productos derivados del tratamiento de aguas o suelos.

También se puede realizar una clasificación en función de los contaminantes con los que se puede trabajar (Alexander, 1999):

- Hidrocarburos de todo tipo (alifáticos, aromáticos, BTEX, PAHs).
- Hidrocarburos clorados (PCBs, TCE, PCE, pesticidas, herbicidas).
- Compuestos nitroaromáticos (TNT y otros).
- Metales pesados: Estos no se metabolizan por los microorganismos de manera apreciable, pero pueden ser inmovilizados o precipitados.
- Otros contaminantes: Compuestos organofosforados, cianuros, fenoles, etc.

Las ventajas técnicas de la biorremediación: Poseen una amplia aplicabilidad en cuanto a compuestos orgánicos, como ya se ha mencionado arriba, además pueden sumarse las siguientes (Alexander, 1999):

- Mientras que los tratamientos físicos y buena parte de los químicos están basados en transferir la contaminación entre medios gaseoso, líquido y sólido, en la biorremediación se transfiere poca contaminación de un medio a otro.
- Es una tecnología poco intrusiva en el medio y generalmente no requiere componentes estructurales o mecánicos dignos de destacar.

La biorremediación tiene también inconvenientes y limitaciones. Por ejemplo, la biodegradación incompleta puede generar intermediarios metabólicos inaceptables, con un poder contaminante similar o incluso superior al producto de partida. Por otra parte, algunos compuestos, como veremos, son resistentes o inhiben la biorremediación. El tiempo requerido para un tratamiento adecuado puede ser difícil de predecir y el seguimiento y control de la velocidad y/o extensión del proceso es laborioso. La aplicabilidad de esta técnica depende de varios factores:

- Propiedades del contaminante (biodegradabilidad). En general, los hidrocarburos alifáticos se degradan rápidamente. Las estructuras más ramificadas son más difíciles de degradar que las cadenas lineales, al producir impedimentos estéricos. Las cadenas ramificadas de sulfonatos de alquilo o arilo a menudo se degradan muy lentamente. Los dobles enlaces hacen la molécula más resistente, así como un incremento del número de anillos bencénicos. Las sustituciones químicas (ácidos dicarboxílicos, nitrilos, metilaciones, halogenaciones) también hacen la molécula más resistente. Por otra parte, la biodegradación de compuestos que contienen Nitrógeno y Azufre está ligada frecuentemente a su utilización como nutrientes.
- Presencia de comunidades microbianas adecuadas, con capacidad enzimática para metabolizar el compuesto(-s). Los microorganismos pueden ser autóctonos

(biorremediación intrínseca o atenuación) o añadidos al sistema para mejorar la degradación (bioaumentación).

- Disponibilidad del contaminante. Es un factor crítico, más importante que la propia presencia de comunidades microbianas. Para que la degradación de un contaminante pueda producirse, es necesario que interactúe con la célula en medio acuoso. Inicialmente lo hará con la parte exterior de su pared para posteriormente ser transportado al interior de la misma. La forma más común de transporte es la complejación con enzimas extracelulares producidos por los microorganismos. Muchos contaminantes orgánicos, como los derivados del petróleo, PCBs, hidrocarburos aromáticos policíclicos (naftaleno, pireno, fluoreno), solventes halogenados, etc., son hidrofóbicos y tienden a adsorberse en el suelo, concretamente a la fracción orgánica (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y humina). Esta es una de las causas, por ejemplo, de la persistencia de muchos pesticidas. La producción de surfactantes por los microorganismos es un factor determinante, como veremos, que atenúa este problema y facilita la degradación.

- Condiciones del medio contaminado: Propiedades que permiten o limitan el crecimiento microbiano y el metabolismo del compuesto. A veces es necesario modificar las condiciones, por ejemplo, añadiendo nutrientes o aireando (bioestimulación)

#### **2.4. Metal Pesado**

Según Spain (2003), el término de metal pesado refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico o venenoso en concentraciones incluso muy bajas. Los ejemplos de metales pesados o algunos metaloides, incluyen el mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cromo (Cr), talio (Tl), y plomo (Pb), entre otros. Junto a ellos hay otros elementos que, aunque son metales ligeros o no metales, se suelen englobar con ellos por orígenes y comportamientos asociados; es este el caso del As, B, Ba y Se. Los metales pesados se clasifican en dos grupos:

- Oligoelementos o micronutrientes. Necesarios en pequeñas cantidades para los organismos, pero tóxicos una vez pasado cierto umbral. Incluyen As, B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn.
- Sin función biológica conocida. Son altamente tóxicos, e incluyen Ba, Cd, Hg, Pb, Sb, Bi.

Se consideran entre los metales pesados elementos como el plomo, el cadmio, el cromo, el mercurio, el zinc, el cobre, la plata, entre otros, los que constituyen un grupo de gran importancia, ya que algunos de ellos son esenciales para las células, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, organismos del suelo, plantas y animales, incluido el hombre (Spain, 2003).

#### 2.4.1 Plomo

Elemento químico, Pb, número atómico 82 y peso atómico 207,19, las valencias químicas normales son 2 y 4. Es un metal pesado (densidad relativa, o gravedad específica, de 11,4 a 16 °C (61 °F)), de color azulado, que se empaña para adquirir un color gris mate. Es flexible, inelástico, se funde con facilidad, se funde a 327,4°C (621,3 °F) y hierve a 1725 °C (3164 °F). Relativamente resistente al ataque de los ácidos sulfúrico y clorhídrico. Pero se disuelve con lentitud en ácido nítrico. El plomo es anfótero, ya que forma sales de plomo de los ácidos, así como sales metálicas del ácido plúmbico. El plomo se encuentra en la naturaleza formando una gran variedad de minerales, entre los que se encuentran principalmente la galena (PbS), la anglesita (PbSO<sub>4</sub>) y la cerusita (PbCO<sub>3</sub>) (Morales, Ruíz, Martínez, Soto, Falcony, Rodríguez & Pedroza, 2010).

#### 2.4.2 Fuentes del plomo

Industrialmente los compuestos más importantes del plomo son los óxidos de plomo y el tetraetilo de plomo. El plomo forma aleaciones con muchos metales y, en general, se emplea en esta forma en la mayor parte de sus aplicaciones. Todas las aleaciones formadas con estaño, cobre, arsénico, antimonio, bismuto, cadmio y sodio tienen importancia industrial. Se emplea en baterías, añadidos de

la gasolina, productos rodados y sacados, aleaciones, pigmentos y compuestos, cable que forra, tiro y munición. Su utilización como cubierta para cables de teléfono y de televisión sigue siendo una forma de empleo adecuada para el plomo, en especial por su ductilidad. Su uso en pigmentos ha sido muy importante, aunque se ha reducido; el pigmento que se utiliza más, en que interviene este elemento, es el blanco de plomo  $\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb(OH)}_2$ ; otros pigmentos importantes son el sulfato básico de plomo y los cromatos de plomo (Rivas, Vicuña & Wong, 2000).

## **2.5. Mecanismos Físico – Químicos Implicados en el Proceso de Remoción de Metales por Tratamiento Biológico.**

La pared celular realiza la retención del metal mediante una interacción fisicoquímica del metal con grupos amino e hidroxilo propios de la quitina presentes en la pared, al igual que grupos fosfato, sulfihidrido y carboxilo. Esta interacción se traduce en la formación de un enlace covalente coordinado pues el ion metálico actúa como un átomo central que dispone de orbitales vacíos capaces de aceptar pares de electrones. Estos pares de electrones son precisamente donados por los grupos funcionales nombrados (Navarro, Ramos, Campos & Maldonado, 2006). La formación de este enlace puede estar acompañada por la dislocación de protones y dependiente en parte del grado de protonación de la pared que es determinado por el pH (Gupta, Bhushan & Hoondal, 2000).

### **2.5.1 Intercambio Iónico**

El intercambio iónico se expresa como una reacción en equilibrio en donde los reactivos que actúan, están en cantidades químicamente equivalentes y se desarrolla hasta que se ha agotado la capacidad estequiométrica (Castro, 1998). En otras palabras, implica que al captar iones metálicos por parte de la pared va acompañado de la liberación al medio de cationes tales como  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{K}^{+1}$ ,  $\text{Na}^{+2}$  y  $\text{H}^{+1}$  hasta alcanzar el equilibrio de la reacción. En procesos convencionales, este tratamiento permite reducir concentraciones de metales, del orden de mg/L, y se utiliza como tratamiento secundario después de la

precipitación en sistemas de potabilización, cuando las concentraciones iniciales de metal no son excesivamente altas, porque su costo de inversión y de operación es elevado (Hidalgo & Martínez, 2004).

### 2.5.2 Biosorción

Hoy en día, los procesos biotecnológicos han llamado la atención de la comunidad científica por la variedad de métodos detoxificantes de metales pesados. Dentro de este contexto, la biotecnología ha separado dos grandes áreas dentro del mismo objetivo; bioacumulación y biosorción. Entendida la primera como un proceso activo de eliminación de metales pesados mediante mecanismos metabólicos involucrando biomasa viviente y biosorción como un proceso pasivo con un mecanismo netamente fisicoquímico, por medio de biomasa no viviente. Por ende, la biosorción es un área de investigación con muchos aportes a la comunidad industrial, por brindar una alternativa técnica y económicamente viable y por ser considerada una tecnología "limpia" en la eliminación de metales tóxicos desde aguas residuales o de desecho de actividades productivas.

En la biosorción se usan una variedad de biomásas, entre ellas: algas, hongos, levaduras, quitosano, etc (Navarro, Blanco, Llanos, Flores & Maldonado, 2004).

### 2.5.3 Adsorción

La adsorción de iones tiene lugar sobre materiales altamente porosos (adsorbente), como: carbón activo, óxidos de hierro y aluminio, arcilla, materiales sintéticos y otros substratos de origen biológico. En este proceso la sustancia adsorbida se une a la superficie del adsorbente mediante fuerzas físicas (fuerzas de Van der Waals) que son enlaces débiles lo que lo hace un proceso reversible por otro tipo de fuerzas químicas o enlaces covalentes. El proceso de adsorción se puede dividir en tres fases que incluyen la transferencia de las moléculas del adsorbato (que se refiere a las especies que van a ser adsorbidas contenidas en un solvente) a través de la capa que rodea el adsorbente (que hace

referencia a la fase sólida capaz de atraer el sorbato), difusión a través de los poros y adsorción de las moléculas del adsorbato por la superficie activa (Cañizares, 2000).

El proceso de adsorción depende fuertemente del pH y cada metal tiene un pH óptimo para ser extraído. La temperatura, el tiempo de equilibrio, la concentración de metal y la presencia de otros iones en disolución son factores que influyen también en el proceso de adsorción (Patterson, 1991), pues en soluciones con más de un metal, se pueden generar tres tipos de comportamiento, sinergismo: el efecto (adsorción) de la mezcla es mayor que cuando los componentes están por individual; antagonismo: el efecto de la mezcla es inferior al de cada uno de los metales; sin interacción: cuando el efecto de la mezcla no es diferente al de los componentes por individual (Quingbiao, Songtao, Gang, Xinkai, Xu, Daohua, Yuelin & Yili, 2004).

Los factores que afectan la adsorción se ven influenciados por el pH, la temperatura, la naturaleza del adsorbente, el tipo y concentración de adsorbato, entre otros (Hidalgo & Martínez, 2004).

a. pH

Los metales son sustancias electropositivas ya que ceden cargas positivas a la superficie del sorbente, el cual va aumentando el número de cargas negativas para lograr la adsorción, lo cual se facilita en soluciones ácidas. En una solución alcalina los metales pesados tienden a formar hidroxocompuestos, los cuales posteriormente se precipitan (Navarro et al. 2006).

b. Naturaleza del adsorbato

El adsorbato es un factor influyente en el equilibrio de adsorción. Existe una regla general para predecir el efecto de la polaridad del soluto sobre la adsorción y consiste en que el soluto polar preferirá la fase que es más polar. En otras palabras, un soluto polar será fuertemente adsorbido por un adsorbente polar, cuando esté en un disolvente no polar (Castro, 1998).

c. Concentración inicial de metal

Para determinar la efectividad de un material sorbente hay que conocer cuál es la cantidad máxima de metal (la capacidad máxima) que puede adsorber. Los materiales establecen diferentes equilibrios de extracción cuando se ponen en contacto con concentraciones distintas de metal. Estos equilibrios dependen en todos los casos de las condiciones experimentales y son diferentes para cada temperatura, son equilibrios isotérmicos. Idealmente los modelos teóricos que se utilizan para describir los resultados experimentales deben ser capaces de predecir los procesos de sorción a bajas y altas concentraciones, además de permitir una interpretación física del mecanismo de sorción (Hidalgo & Martínez, 2004).

d. Temperatura

La adsorción es un proceso exotérmico. De acuerdo con los trabajos de González y Wilderer (1991), el proceso de remoción y adsorción se lleva a cabo de forma exitosa dentro de un amplio intervalo de temperaturas que fluctúan entre 5 y 30°C. Este intervalo favorece tanto a bacterias como a algas.

## **2.6. Cuenca del Rio Chillón**

La cuenca del rio Chillón se ubica en el centro-oeste del país, en el departamento de Lima. El rio Chillón es uno de los tres ríos, junto con el Rímac y Lurín, que soportan la mayor cantidad de población urbana. La cuenca es de gran pendiente y cuenta con los mejores recursos para la producción alimentaria, y es una de las más importantes en cuanto a potencial ecológico y turístico. La cuenca del rio Chillón cuenta con el 27 por ciento de los mejores suelos de la región Lima, que tiene aproximadamente 8619 hectáreas (Olarte, 2007).

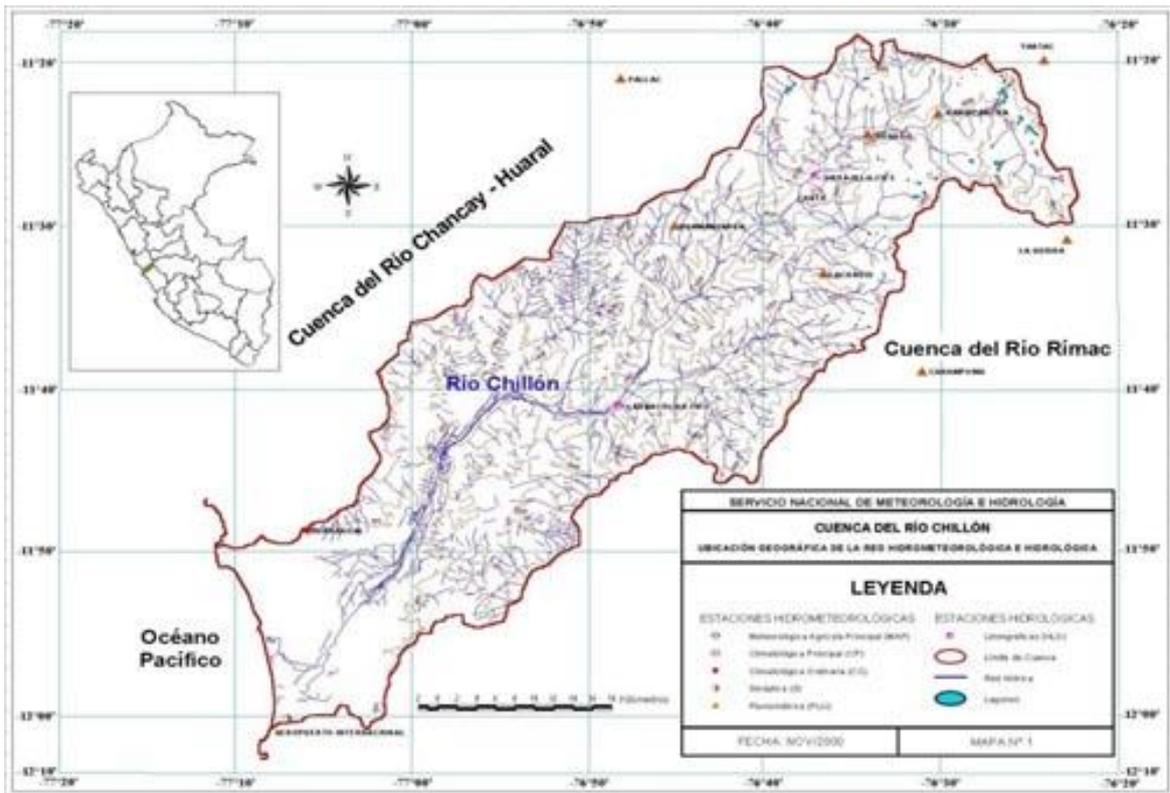


Figura 4. Mapa de la cuenca del río Rímac (Fuente: SENAMHI 2016).

## **CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **1.1. Área de Estudio**

Las muestras obtenidas para los ensayos del presente estudio fueron colectadas en el río Chillón, en la estación Márquez, ubicada en el cruce de las avenidas Néstor Gambeta y la ribera del río en el distrito de Ventanilla, Callao, Perú ( $11^{\circ} 56' 14,76$  S y  $77^{\circ} 7' 52,39$  O y a 13 msnm) tal como se muestra en la Figura 5.

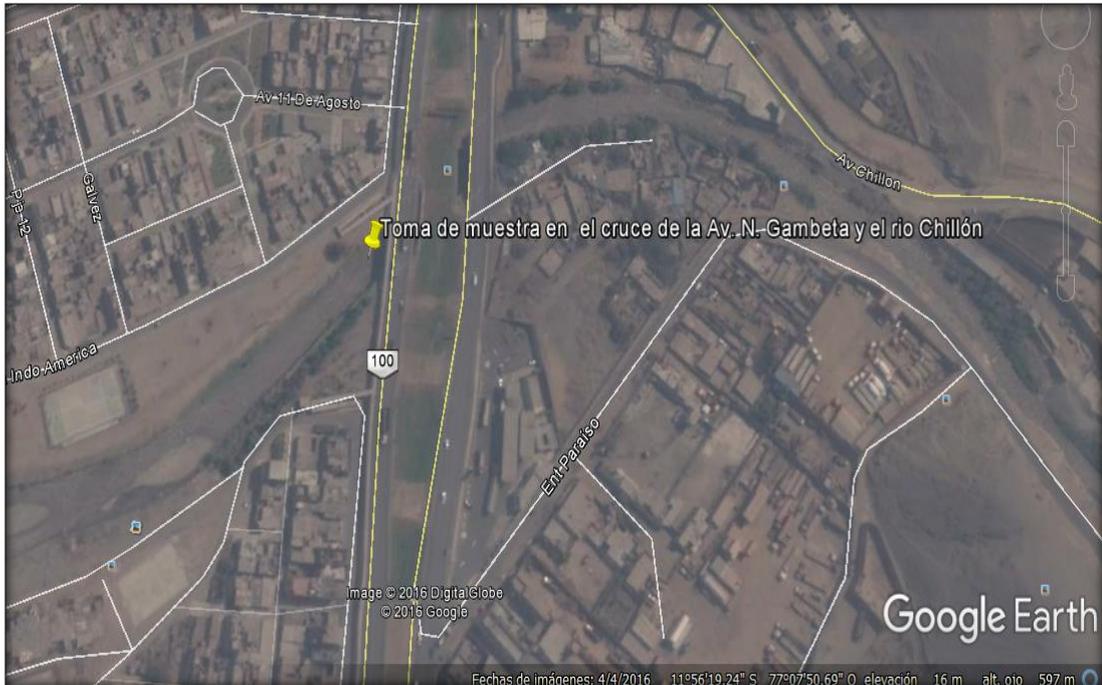
Se eligió dicha estación de muestreo por formar parte de la cuenca del río Chillón que presenta continuos vertimientos de efluentes domésticos e industriales, botaderos informales, contaminación por fertilizantes y plaguicidas a causa de la agricultura principalmente (Figura 6).

#### **1.2. Descripción del Experimento**

##### **1.2.1. Obtención del material biológico**

Las muestras algales filamentosas fueron colectadas de los tanques de agua estancada del Centro de Investigación Biológica CIB- Ancón cuyas fotos se aprecian en el Apéndice 9.2. Posteriormente fueron trasladados al Laboratorio 1 de Ciencias Básicas de la Universidad Católica Sedes Sapientiae Sede Lima.

Las muestras fueron lavadas continuamente con agua destilada con la finalidad de remover impurezas que alteren los resultados. Estas fueron pesadas con una balanza digital para determinar la biomasa inicial de la investigación.



*Figura 5.* Ubicación de la toma de muestra en el cruce de la Av. Néstor Gambeta y el río Chillón en Ventanilla, Callao. (Fuente: Google Earth, 2016)

### 1.2.2. Determinación taxonómica del alga filamentososa y caracterización.

Se realizó la determinación taxonómica del alga por microscopia mediante el uso de un microscopio compuesto Leica equipado con una cámara digital Motic 2000, se empleó claves taxonómicas para identificar el género por medio de características morfológicas cualitativas y cuantitativas; así como la consulta de la especialista y curadora de la colección ficológica del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional de San Marcos Lima-Perú, Haydee Montoya. De la misma forma, se procedió a realizar un análisis de caracteres de un filamento algal para poder conocer sus dimensiones de la clorofita filamentososa.

### 1.2.3. Obtención de las muestras de aguas del río Chillón

Las muestras colectadas del río Chillón, el 10 de mayo del 2016, fueron trasladadas herméticamente a los laboratorios de la UCSS para luego ser filtrados dos veces con papel filtro (Rundfilter 125 mm) para asegurar la completa remoción de partículas en suspensión, esterilizados en autoclave en matraces

Erlenmeyer de 300 ml para evitar el crecimiento de algún microorganismo presente y luego guardados a 4°C hasta su uso.

#### 1.2.4. Caracterización físico-química de los efluentes

Las muestras de agua después de ser colectadas se analizaron en el laboratorio para determinar los parámetros fisicoquímicos como: temperatura, pH, nitrógeno total, fósforo total y el metal pesado plomo.

#### 1.2.5. Tratamientos Experimentales

Los tratamientos empleados se detallan en la Tabla 2, el cual mencionará el Tratamiento 0 (T0) y Tratamiento 1 (T1) con su respectiva composición.

Tabla 2

*Composición del tratamiento y del control para evaluar la remoción de plomo por el alga filamentosa.*

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>COMPOSICIÓN</b>
T0	Agua destilada + Biomasa algal (58,3 g)
T1	Agua del rio Chillón + Biomasa algal (58,3 g)

*Fuente:* Elaboración propia

Ambos tratamientos tuvieron una duración de 56 días, la evaluación se realizó cada siete días y se aplicaron tres replicas tanto para el control (T0) como para el tratamiento 1(T1). Para el tratamiento control (T0) se consideró 5 L de agua estéril no contaminada, al cual se le adicionó 58,3 g de biomasa algal. El tratamiento 1 (T1) se consideró 5 L de agua contaminada proveniente del rio Chillón, al cual se adicionó 58,3 g de la biomasa algal. Los recipientes conteniendo a las muestras fueron forrados con tela de nylon para asegurar la ausencia de elementos extraños durante el experimento.

#### 1.2.6. Condiciones experimentales de la investigación

El parte experimental tuvo una duración de ocho semanas y se mantuvo las unidades experimentales a una temperatura de  $21,7 \pm 0,5$  C° en un invernáculo,

con un fotoperiodo de 24 horas y con un suministro generador luminoso proporcionado por dos tubos de fluorescentes de 18 Watts cada uno. Así mismo, el sistema instalado presentó aireación permanente proporcionado por un motor generador de 12V (ver Tabla 3).



*Figura 6.* Aspecto del río Chillón en la estación de colecta del efluente (Ventanilla-Callao).

Tabla 3.

*Condiciones experimentales para los ensayos de remoción de plomo*

<b>Características del experimento</b>	<b>Descripción</b>
Duración del ensayo	Ocho semanas
Temperatura	$21,7 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$
Suministro de Luz	Dos lámparas fluorescentes de 18 W c/u.
Fotoperiodo	24 horas
Aireación	Si

Volumen	5 litros
pH inicial	8,17
Factores	(1) Alga filamentosa
Repeticiones	3

---

*Fuente:* Elaboración Propia

#### 1.2.7. Pesaje e incorporación del alga filamentosa a cada muestra

Al tener identificada el alga filamentosa se procedió a realizar el pesaje total de biomasa algal para posteriormente incorporar en cada recipiente 58,3 g de biomasa de esta alga filamentosa más cinco litros de agua procesada proveniente del río Chillón, ver fotos de Apéndice 9.

#### 1.2.8. Toma de muestra para análisis de laboratorio

Para determinar la variación de la concentración del plomo durante el proceso de biorremediación del alga filamentosa se extrajeron semanalmente una muestra de 30 ml por cada recipiente durante ocho semanas teniendo un total de 48 muestras (una muestra inicial en la primera semana por cada unidad experimental más 42 muestras en 7 semanas restantes), el cual se trabajó con 3 réplicas para finalmente obtener el valor promedio de la concentración de plomo con su respectiva desviación estándar, ver fotos de Apéndice 9. La determinación de dicho valor se realizó en el laboratorio de Universidad Católica Sedes Sapientiae mediante técnicas colorimétricas usando un equipo multi-paramétrico FOTOFLEX WTW®.

Con estos datos, se calculó el porcentaje de remoción para dicho metal según Aslan y Kapdan (2006).

El diagrama de flujo de la Figura 7 muestran las secuencias realizadas para la obtención del porcentaje de remoción.

Fórmula para el cálculo de parámetros de remoción de  $\text{N-NO}_3$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  (Aslan & Kapdan, 2006).

Porcentaje de Remoción:

$$\% R = \left( \frac{C_0 - C}{C_0} \right) \times 100$$

Donde:

%R: Porcentaje de remoción del metal

C<sub>0</sub>: Concentración inicial del metal

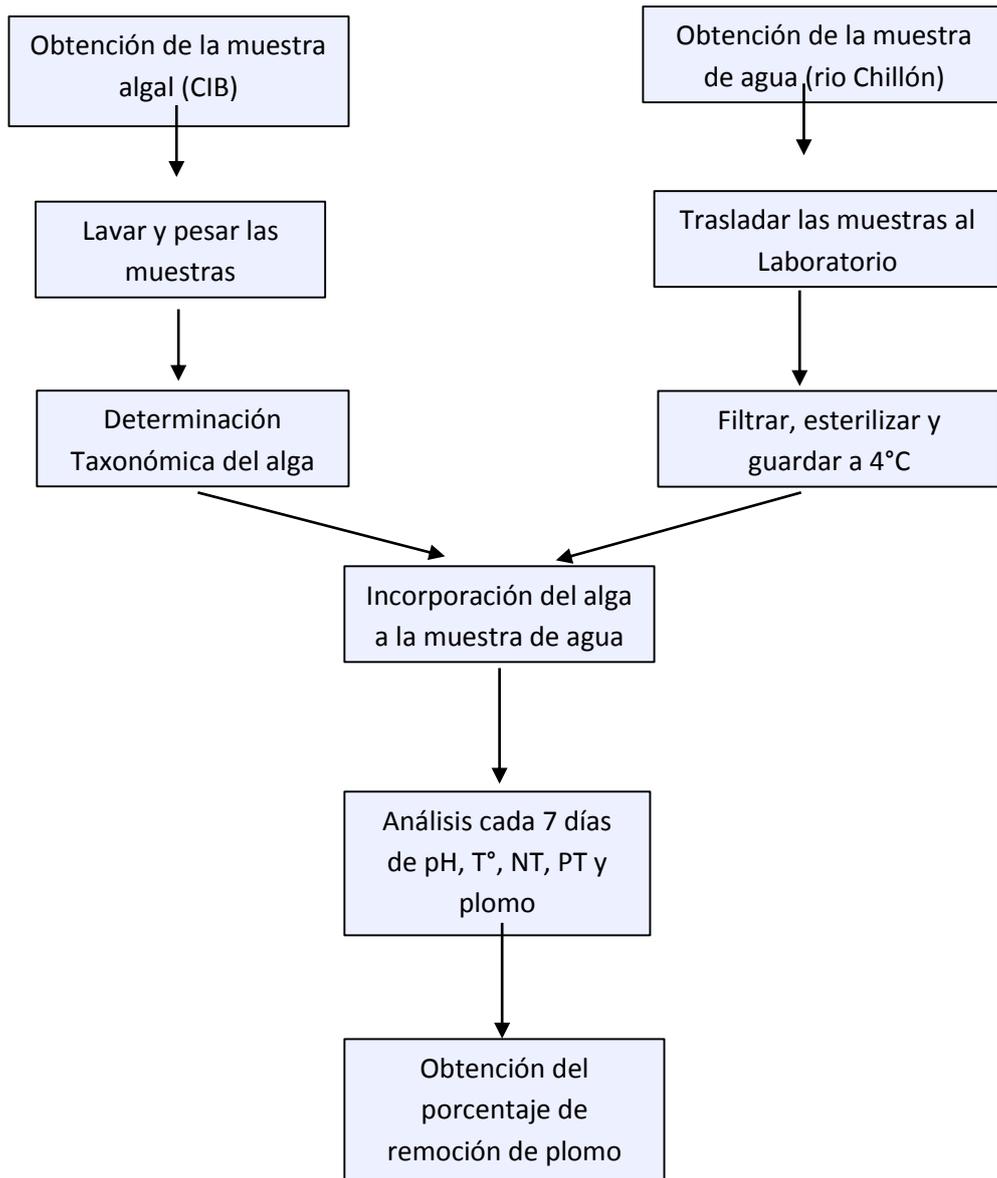
C: Concentración del metal luego del tratamiento

### 1.2.9. Análisis de los parámetros físico-químicos

En el Apéndice 9,3 se observa el procedimiento para el análisis de los parámetros físicoquímicos de la investigación.

#### 1.2.9.1. Evaluación del potencial H<sup>+</sup> (pH) en los tratamientos

Se realizó la evaluación directa del valor del pH en el control como en el tratamiento 1, para lo cual se extrajo una alícuota de 4 ml de la muestra. Se realizó el respectivo lavado del electrodo del instrumento con agua desionizada entre cada medición.



*Figura 7.* Diagrama de flujo para la obtención del porcentaje de remoción de plomo.

#### 1.2.9.2. Evaluación de la temperatura en los tratamientos

Con la ayuda de un termómetro de mercurio se realizó las mediciones de la temperatura de las muestras. Esta medición se realizó de forma directa en cada recipiente para evitar posibles variaciones entre cada una de las tomas. Se realizó el respectivo lavado y secado del instrumento entre cada medición.

#### 1.2.9.3. Evaluación del nitrógeno total (NT) en los tratamientos

Para la evaluación del nitrógeno total se tomaron 10 ml de muestra en un vial vidriado al cual se le adicionó los reactivos para nitrógeno N1K WTW®, paso siguiente se realizó la digestión de la muestra en una estufa a 120 °C por una hora. Se realizó las lecturas, con un equipo Espectrofotométrico Photoflex WTW®, una vez enfriado la muestra y trasvasado a una cubeta de reacción WTW®.

#### 1.2.9.4. Evaluación del fósforo total (PT) en los tratamientos

Para la evaluación del fósforo total se tomaron 5 ml de muestra en una cubeta de reacción al cual se le adicionó los reactivos para fosforo total PO1 y PO2 WTW® respectivamente. Se dejó reposar 5 minutos y se realizó la lectura, con un equipo Espectrofotométrico Photoflex WTW.

#### 1.2.9.5. Cálculo del ratio NT/PT en los tratamientos

Para la relación NT/PT se usaron los datos obtenidos de las evaluaciones previas de los parámetros nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT), esto de acuerdo con Pick y Lean (1987), quien manifiesta que la relación NT/PT puede darnos una indicación útil de la deficiencia de sales nutritivas en las algas filamentosas.

### **1.3. Análisis Estadístico de los Datos**

Los datos obtenidos se pasaron al programa Microsoft Excel 5,0; para realizar las tablas y gráficos, para poder observar la dinámica de los parámetros analizados en el experimento.

Los datos descargados en el programa se exportaron al paquete estadístico SPSS v, 21 para el cálculo de la media y desviación estándar (DE). Los datos fueron analizados a través de análisis de varianza de una vía, para evaluar la diferencia entre las semanas ( $p \leq 0,05$ ) y los parámetros plomo, nitrógeno, fosforo y ratio NT/PT. En el caso de existir diferencias significativas entre las concentraciones se realizó una Prueba de Significación DVS (Diferencia Verdaderamente Significativa) de Tukey (Daniel, 1993).

El índice de correlación de Pearson se empleó para determinar la relación entre los valores de biomasa, temperatura, pH y el porcentaje de remoción de plomo.

## 2. MATERIALES

### 2.1. Material Biológico

El alga filamentosa usada en la investigación pertenece a la especie *Rhizoclonium* sp. y fue colectada del Centro de Investigación Científica- Ancón (CIB-Ancón). La forma de su almacenamiento en tanques de agua se aprecia en el apéndice 9, mientras que la biomasa usada en la investigación se observa en la Figura 8.



Figura 8. Biomasa de algas filamentosas colectadas del CIB-Ancón.

## **2.2. Otros Materiales**

- Material de vidrio: Pipetas graduadas 2,50 y 10 mL, Frascos de Erlenmeyer de 500mL, matraces de 250 mL.
- Material desechable: Placas petri de 10 cm de diámetro, guantes de látex y mangueras.
- Material propio de laboratorio: Piceta, gradilla, algodón y papel toalla.
- Equipos: Aireadores para pecera, Autoclave, Fotómetro Photo-Flex WTW  
Microscopio binocular con cámara Motic, Balanza analítica Ohaus, pHmetro Hanna, Termómetro digital, Estufa con termostato y Termómetro
- Otros: Kit para determinar nitrógeno total WTW, Kit para determinar plomo WTW, Kit para determinar fósforo total WTW

## CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 1. RESULTADOS

#### 1.1. Caracterización del Alga Filamentosa

Las observaciones microscópicas realizadas a las muestras del alga filamentosa, fueron identificadas y que en su totalidad corresponden a *Rhizoclonium sp.* (ver Tabla 4 y 5), se observó la presencia de talos filamentosos fijos, uniseriados, no ramificados, la célula basal se encuentra sujeta a una estructura digitiforme, no se observaron rizoides secundarios. Las células cilíndricas alargadas presentaron una pared celular gruesa y se observó que el cloroplasto fue reticulado parietal. (Montoya, Peña y Benítez, 2006) (ver Figura 9). La Tabla 5 y el Apéndice 9.1 detallan la forma y dimensiones del alga filamentosa.

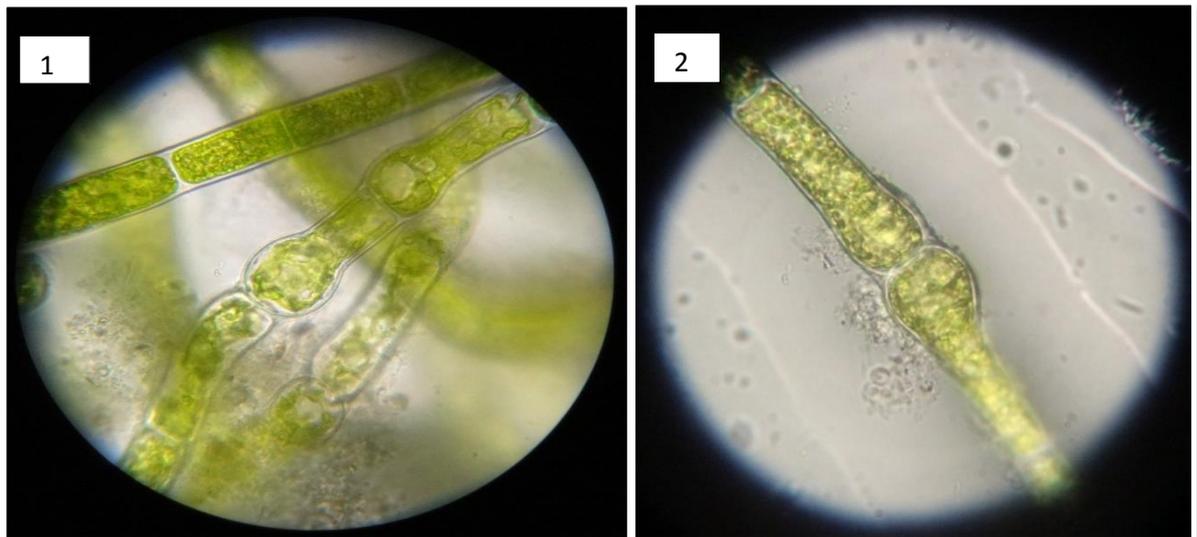


Figura 9. *Rhizoclonium sp.* (40X). Microfotografías 1 y 2, se observa células basales y células cilíndricas.

Tabla 4.

*Clasificación taxonómica de la especie Rhizoclonium sp.*

CARACTERÍSTICA	DESCRIPCIÓN
Reino:	Plantae
Sub-reino:	Viridiplantae
División:	Chlorophyta
Clase:	Ulvophyceae
Orden:	Cladophorales
Familia:	Cladophoraceae
Género:	<i>Rhizoclonium</i>
Especie:	<i>Rhizoclonium sp.</i>

*Fuente:* Kützing (1843)

Tabla 5.

*Características geométricas de Rhizoclonium sp.*

Forma geométrica	Alargada
Diámetro	60 ± 12 µm
Ancho	10-40 µm
Largo	80 – 300 µm

*Fuente:* Kützing (1843)

## 1.2. Variación de la Concentración del Plomo

En la Tabla 6, se muestran los valores promedios de plomo medidos semanalmente en el tratamiento 1 y el control. El registro total de los valores medidos de plomo del control y el tratamiento 1 se detallan en el Apéndice 1.

Se observa que el control tuvo una concentración inicial a 0,001 mg/L para plomo y se mantuvo constante durante todo el experimento con un valor de 0,001 mg/L. Mientras que el tratamiento 1 resultó con un valor inicial de 0,86±0,17 mg/L y presentó un valor mínimo de hasta 0,07 ± 0,03 en la séptima semana de evaluación. La cantidad de plomo presentó una reducción muy marcada hasta la tercera semana (ver Figura 10).

Los valores iniciales para plomo estuvieron por encima del valor máximo permitido según la legislación peruana (<0,05 mg/l) (D.S 015-2015-MINAM) (ver Apéndice 2).

Tabla 6.

*Registro semanal de las concentraciones promedio de plomo (mg/L) con las desviaciones estándares ( $\pm$  DS) del Tratamiento 1 y el control.*

SEMANAS	CONTROL	TRATAMIENTO 1
Semana 0	0,001	0,86 $\pm$ 0,17
Semana 1	0,001	0,59 $\pm$ 0,11
Semana 2	0,001	0,30 $\pm$ 0,03
Semana 3	0,001	0,19 $\pm$ 0,11
Semana 4	0,001	0,14 $\pm$ 0,05
Semana 5	0,001	0,11 $\pm$ 0,08
Semana 6	0,001	0,10 $\pm$ 0,07
Semana 7	0,001	0,07 $\pm$ 0,03

*Fuente:* Elaboración propia

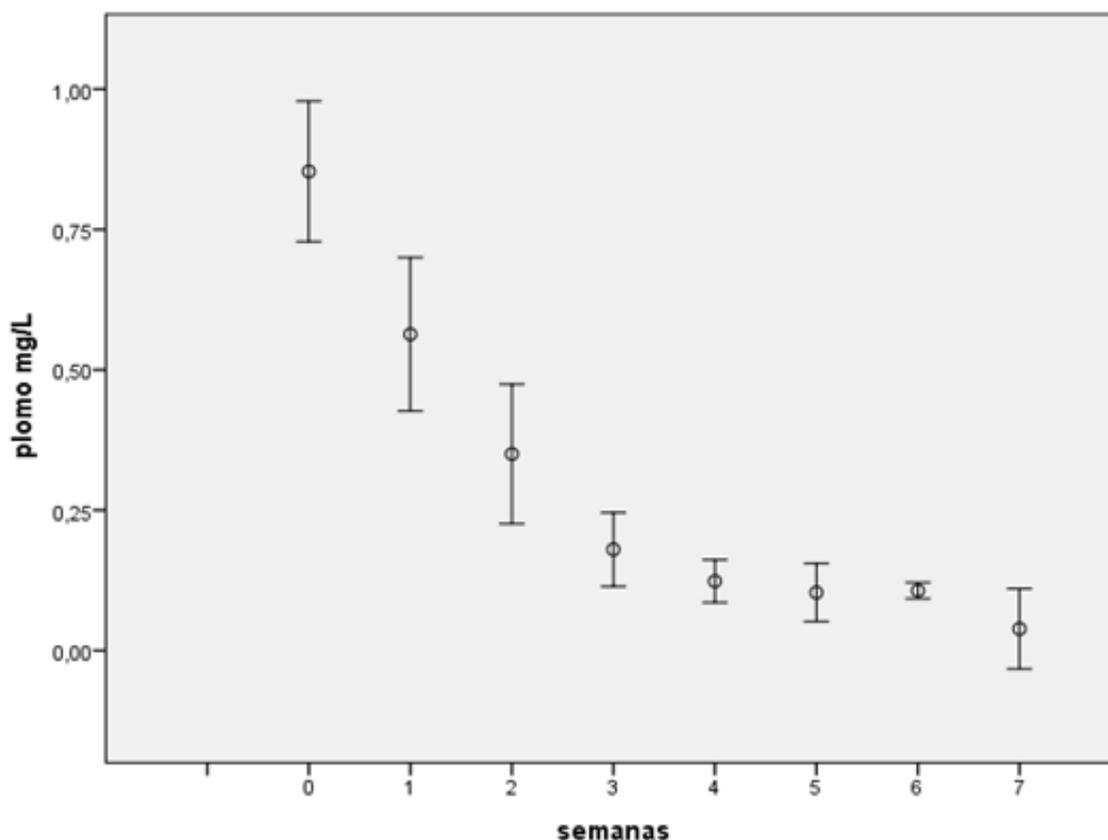


Figura 10. Diagrama de bigotes de las concentraciones de plomo presentes durante las semanas de evaluación.

### 1.3. Remoción de Plomo por Parte del Alga *Rhizoclonium* sp.

El alga filamentosa *Rhizoclonium* sp., alcanzó el máximo porcentaje de remoción de plomo en la última semana con un valor promedio de  $91,8 \pm 0,11$  por ciento (ver Figura 11). En las primeras semanas se observó un marcado aumento de la remoción (semana 1-3); mientras que en la penúltima semana se observó una reducción de 0,33 por ciento de plomo en las unidades experimentales (ver Apéndice 3).

Los resultados del ANOVA de una vía muestran que el alga filamentosa *Rhizoclonium* sp. presenta una influencia significativa para la remoción de plomo ( $p=0,000$ ), véase la Tabla 7. La prueba de Tukey mostró que las primeras semanas presentaron diferencias significativas de la acción del alga a la remoción de plomo ( $p < 0,01$ ). Las semanas 4, 5, 6 y 7 no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) (ver Apéndice 4).

Tabla 7

Análisis de la varianza de la remoción de plomo (%) evaluados durante siete semanas.

Variable dependiente: % de Remoción					
Origen	suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Semanas	19161,198	7	2737,314	862,212	,000
Total	125665,434	24			
Total corregido	19211,994	23			

a. R al cuadrado = 0,997 (R al cuadrado ajustada =0,996)

Fuente: Elaboración propia

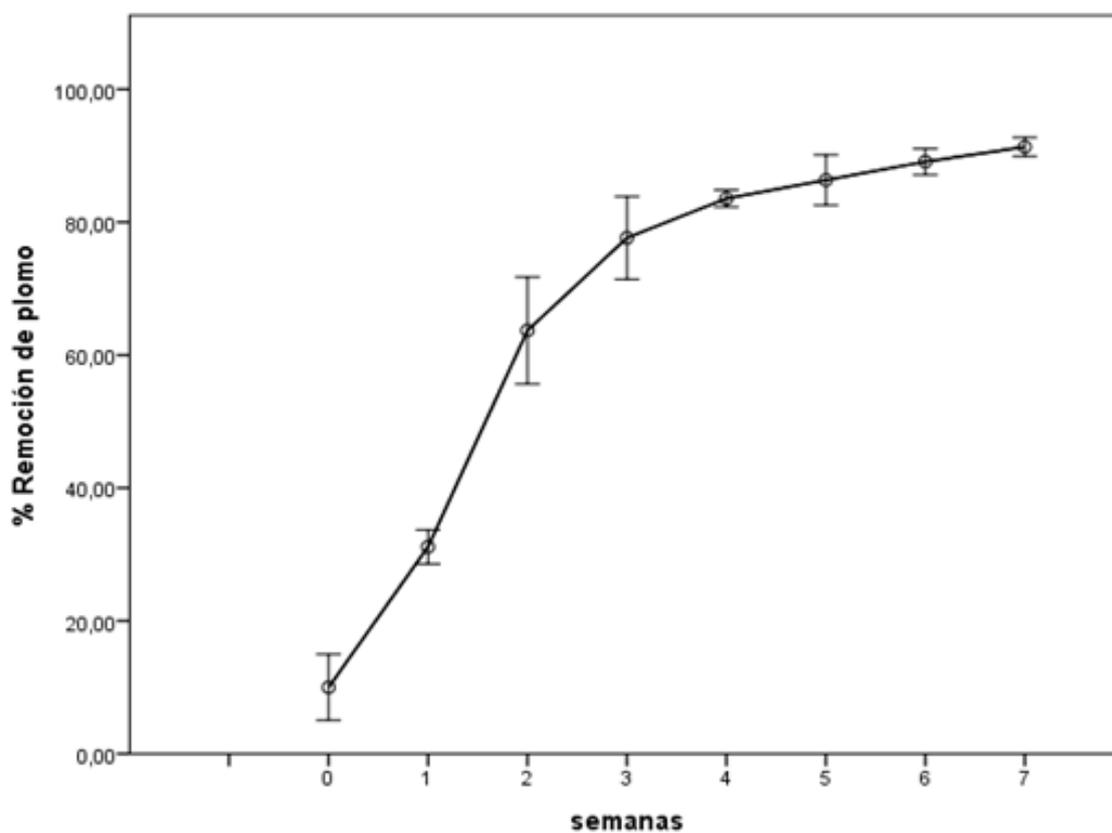


Figura 11. Curvas de remoción de plomo tratada con *Rhizoclonium* sp. en un período de siete semanas. Barras de error = media±D.E

#### 1.4. Variación de la Concentración de Nitrógeno Total por Parte del Alga Filamentosa *Rhizoclonium* sp.

La concentración inicial de nitrógeno total (NT) para el control y el tratamiento 1 fue de 0,00 y  $14,2 \pm 1,17$  mgL<sup>-1</sup>, respectivamente. La cantidad de NT en el tratamiento alcanzó un valor mínimo de  $0,27 \pm 0,05$  mgL<sup>-1</sup> la última semana de experimentación (ver Figura 12).

El alga filamentosa *Rhizoclonium* sp. registró una caída abrupta de NT desde el inicio hasta la semana 2, para luego mantenerse constante desde la semana 4 a la 7 ( $p=0,99$ ).

El control a partir de la primera semana presentó un valor de 0,05 mgL<sup>-1</sup> aumentando paulativamente en las siguientes semanas (ver Tabla 8). Finalmente, en la semana siete, el control presentó una cantidad de 2,1 mgL<sup>-1</sup>, un valor de NT antagónico con respecto al tratamiento 1. El análisis de la varianza realizado para NT evidencia influencias significativas de *Rhizoclonium* sp. sobre este nutriente ( $p < 0,0001$ ) (ver Tabla 9)

Tabla 8

*Registro semanal promedio de las concentraciones de nitrógeno total (mg/L) con las desviaciones estándares ( $\pm$  DS) del Tratamiento 1 y el control.*

SEMANAS	CONTROL	TRATAMIENTO
Semana 0	0	$14,2 \pm 1,17$
Semana 1	0,05	$7,26 \pm 1,1$
Semana 2	0,09	$3,3 \pm 1,2$
Semana 3	0,10	$2,85 \pm 1,1$
Semana 4	0,35	$1,5 \pm 0,5$
Semana 5	0,88	$1,09 \pm 0,3$
Semana 6	1,2	$0,62 \pm 0,07$
Semana 7	2,1	$0,27 \pm 0,05$

Fuente: Elaboración propia

Tabla 9

Análisis de la varianza de la variación nitrógeno total (mg/L) según la disminución entre las semanas

ANOVA					
Nitrógeno total	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	510,445	7	72,921	284,541	,0001
Dentro de grupos	4,100	16	,256		
Total	514,545	23			

Fuente: Elaboración propia

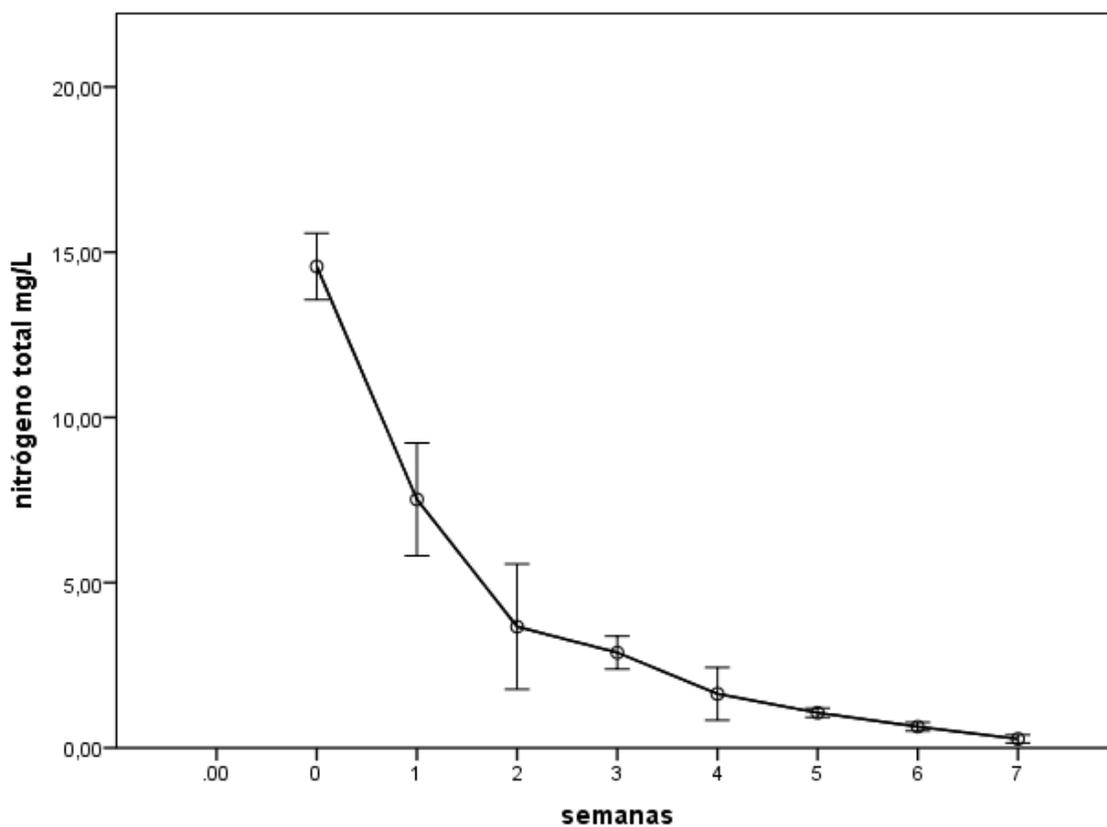


Figura 12. Curvas de la variación de nitrógeno total tratadas con *Rhizoclonium* sp. en un período de 7 semanas. Barras de error = media  $\pm$  D.E

### 1.5. Variación de la Concentración de Fósforo Total por Parte del Alga Filamentosa *Rhizoclonium* sp.

La Tabla 10 muestra el registro promedio de la concentración inicial de fósforo total (PT) de  $1,84 \pm 0,21 \text{ mgL}^{-1}$ . La cantidad de PT en el tratamiento alcanzó un valor mínimo de  $0,13 \pm 0,01 \text{ mgL}^{-1}$  la última semana de experimentación (ver Figura 13).

Para este parámetro, el análisis de la varianza mostró diferencias significativas al análisis de fósforo total ( $p=0,000$ ) (ver Tabla 11). La cantidad de dicho nutriente tuvo una caída importante durante la primera, segunda y tercera semana, mostrando una reducción menos acelerada y constante desde la semana cuarta a la séptima ( $p=0,858$ ) (ver Apéndice 6).

El control a partir de la primera semana presentó un valor de  $0,003 \text{ mgL}^{-1}$  aumentando paulatinamente en las siguientes semanas (Tabla 10) hasta alcanzar finalmente en la séptima semana la cantidad de  $0,29 \text{ mgL}^{-1}$ .

Tabla 10

*Registro semanal promedio de las concentraciones de fósforo total (mg/L) con las desviaciones estándares ( $\pm DS$ ) del Tratamiento 1 y el control.*

SEMANAS	CONTROL	TRATAMIENTO
Semana 0	0,003	$1,84 \pm 0,21$
Semana 1	0,05	$0,60 \pm 0,2$
Semana 2	0,08	$0,40 \pm 0,11$
Semana 3	0,13	$0,31 \pm 0,07$
Semana 4	0,15	$0,25 \pm 0,06$
Semana 5	0,20	$0,19 \pm 0,01$
Semana 6	0,25	$0,16 \pm 0,01$
Semana 7	0,29	$0,13 \pm 0,01$

*Fuente:* Elaboración propia

Tabla 11

*Análisis de la varianza de la variación de fósforo total (mg/L) según la disminución entre las semanas*

<b>ANOVA</b>					
Fósforo					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6,891	7	,984	176,986	,000
Dentro de grupos	,089	16	,006		
Total	6,980	23			

Fuente: Elaboración propia

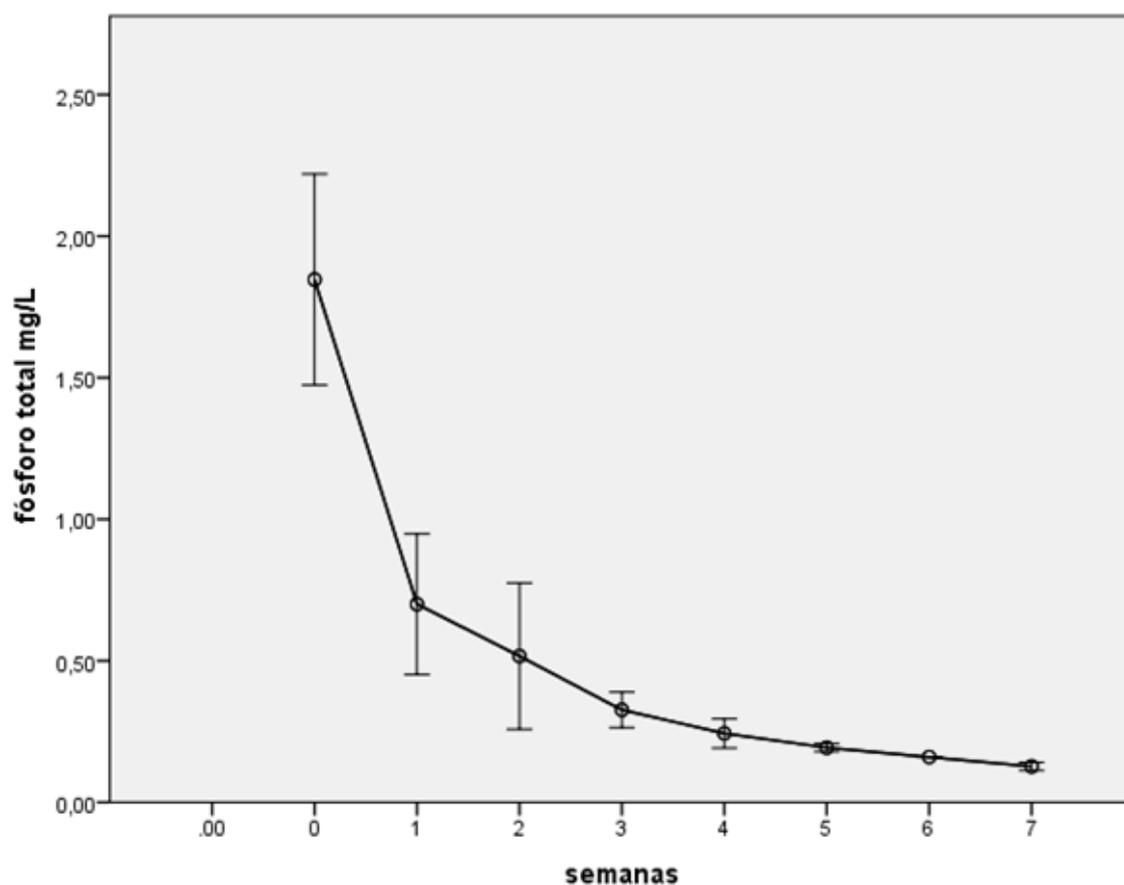


Figura 13. Curvas de la variación de fósforo total en un período de 7 semanas. Barras de error = media  $\pm$  D.E

## 1.6.Resultados del Cálculo del Ratio NT/PT

Los resultados del cálculo del ratio NT/PT se detallan en la Tabla 12. Se observó un valor de ratio de aproximadamente  $8,0 \pm 0,5$  al inicio de los ensayos, mientras que entre las semanas de uno a siete se presentó valores de ratio fluctuantes. La primera semana el valor del ratio NT/PT presentó un aumento de aproximadamente  $10,7 \pm 0,7$ . La segunda semana el ratio NT/PT mostró un valor decreciente de  $7,6 \pm 0,9$ , para volver a incrementarse nuevamente a un valor de ratio de NT/PT de  $9,1 \pm 0,2$ . Finalmente, este índice cae en las semanas 4,5,6 y 7, alcanzando un valor del ratio de  $2,45 \pm 0,1$  en la séptima semana (ver Figura 14).

Los resultados del análisis de la varianza mostraron que el alga filamentosa *Rhizoclonium* sp. presenta una influencia significativa al ratio NT/PT ( $p=0,000$ ) en las siete semanas (ver Tabla 13). La prueba de Tukey mostró que durante las primeras semanas (1-3) el ratio NT/PT no presentó diferencias significativas entre si a la acción del alga ( $p >0,05$ ). Mientras que en las semanas (4-7) presentaron altas diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) (ver Apéndice 7).

Tabla 12

*Valores promedio del ratio NT/PT durante las semanas*

SEMANAS	RATIO NT/PT
Semana 0	$8,0 \pm 0,5$
Semana 1	$10,7 \pm 0,7$
Semana 2	$7,6 \pm 0,9$
Semana 3	$9,1 \pm 0,2$
Semana 4	$6,80 \pm 1,4$
Semana 5	$5,20 \pm 0,1$
Semana 6	$4,0 \pm 0,3$
Semana 7	$2,45 \pm 0,1$

*Fuente:* Elaboración propia

Tabla 13

*Análisis de la varianza del ratio NT/PT según la variación entre las semanas*

<b>ANOVA</b>					
ratio NT/PT					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	157,612	7	22,516	23,002	,000
Dentro de grupos	15,662	16	,979		
Total	173,273	23			

Fuente: Elaboración propia

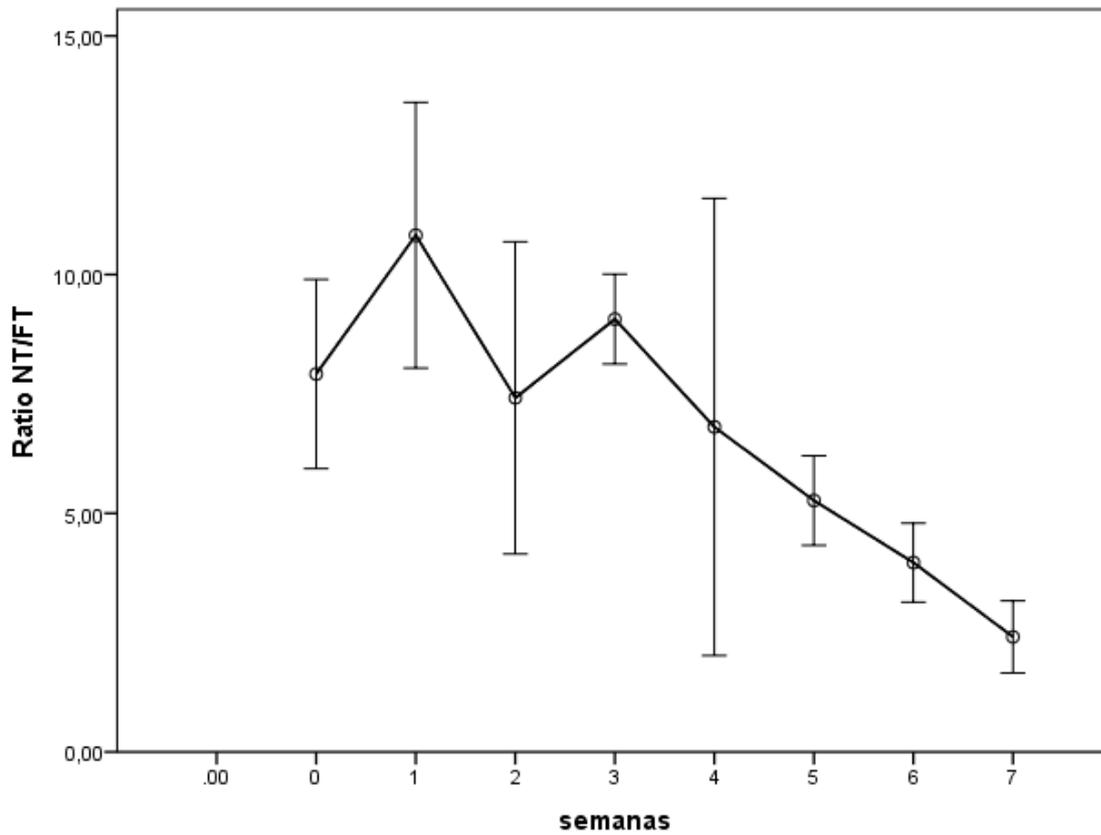


Figura 14. Curvas de los ratios NT/PT en un período de 7 semanas. Barras de error = media  $\pm$  D.E

## 1.7. Resultados de la Variación de la Biomasa y el pH

En la Tabla 14 se observa que el peso de la biomasa algal mostró un incremento de  $65,98 \pm 1,02$  por ciento con respecto a la biomasa inicial, siendo el valor del peso inicial de  $58,3 \pm 0,02$  g y el peso final de  $88,0 \pm 0,1$  g en la última semana. Con respecto al grado de asociación de la biomasa algal y el porcentaje de remoción, esta mostró un alto grado de correlación ( $r = 0,85$ ;  $P < 0,05$ ) (ver Apéndice 8).

El pH inicio con un valor de  $8,17 \pm 0,40$  y al final del experimento registró un valor de  $7,0 \pm 0,17$  (ver Tabla 14). El grado de asociación pH y porcentaje de remoción fue inverso con valores de  $r = -0,88$  (ver Apéndice 8).

Tabla 14

*Valores promedio de la variación de la biomasa algal (gr) y el pH durante las semanas*

SEMANAS	BIOMASA (g)	pH
Semana 0	$58,3 \pm 0,02$	$8,17 \pm 0,40$
Semana 1	$64,8 \pm 0,8$	$8,1 \pm 0,80$
Semana 2	$67,56 \pm 1,02$	$8,0 \pm 0,5$
Semana 3	$70,3 \pm 0,2$	$7,15 \pm 1,1$
Semana 4	$70,7 \pm 1,2$	$7,1 \pm 0,8$
Semana 5	$75,8 \pm 0,1$	$7,0 \pm 0,23$
Semana 6	$83,8 \pm 1,3$	$7,0 \pm 0,16$
Semana 7	$88,0 \pm 0,1$	$7,0 \pm 0,05$

*Fuente:* Elaboración propia

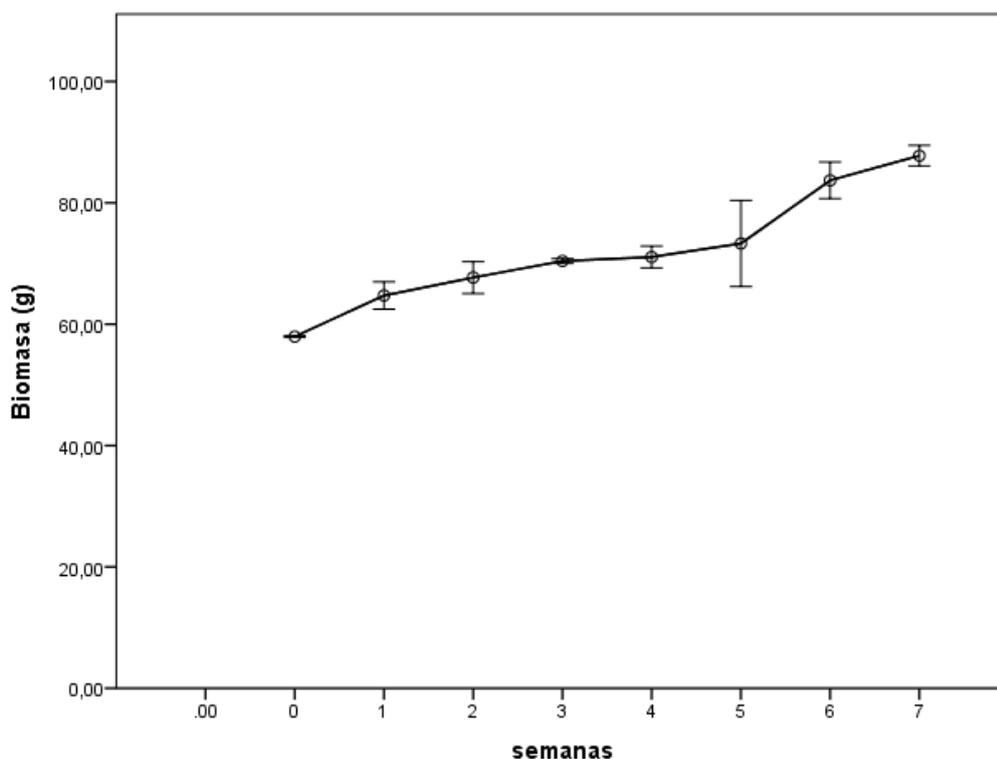


Figura 15. Curvas de la variación de la Biomasa en un período de siete semanas. Barras de error = media  $\pm$  D.E

## 2. DISCUSIÓN

La aplicación biotecnológica del alga filamentosa *Rhizoclonium* sp. en la remoción de plomo representa el primer registro para Perú. Esta alga genera masas de filamentos verdosos preferentemente en ecosistemas acuáticos eutrofizados, por ende, encontradas comúnmente en ríos contaminados (Montoya, 2006). La morfología de los filamentos aisladas en este estudio es similar a la reportada en la literatura científica; no obstante, debe realizarse una determinación taxonómica mucho más rigurosa a nivel de especie, desde un enfoque clásico y molecular, para poder atribuir dichas diferencias a variaciones intra o interespecíficas.

Los resultados de la evaluación de la capacidad biorremediadora del alga *Rhizoclonium* sp. sobre el efluente proveniente del río Chillón, muestra que la biomasa del organismo es tolerante a las concentraciones de plomo (0,86 mg/L) y esto se evidencia por la alta capacidad de remoción del metal (91,8 por ciento). Dicho comportamiento se ha registrado ampliamente en especies de macro y microalgas donde el alga acumula el metal en función de la adaptación y disponibilidad (Baker & Walker, 2000; Seeliger & Edwards, 1977;

Wilcox, Guinther, Duin & Maybaum, 1998). Estudios de Vera y Wilkinson (2002) en condiciones de laboratorio han demostrado que la concentración de metales pesados en las algas son el reflejo de la presencia de estos contaminantes en el ambiente. Esta investigación coincide con los resultados obtenidos por estos investigadores.

Los estudios de Suganya et al. (2016) sobre la acumulación de Pb, Ni y Cr asociado a la variación de la biomasa de *Rhizoclonium tortuosum*, presentaron valores de 60,8; 60,15 y 50,55 por ciento para la acción del plomo, níquel y cromo respectivamente, mientras que en la presente investigación la biomasa se incrementó en 65,98 por ciento con respecto a la biomasa inicial en ensayos realizados con el efluente conteniendo plomo. Según Morales et al. (2010), este incremento en la biomasa es el resultado del uso de nutrientes como el nitrógeno y los microelementos, que ayudan a mantener el metabolismo primario en presencia de metales. En la presente investigación no se agregó nutrientes, pero es muy probable que el efluente del Río Chillón haya contenido trazas de nutrientes que permitiera el incremento de la biomasa algal.

El análisis de ANOVA indicó que los parámetros más influyentes en la biorremediación de plomo por el alga *Rhizoclonium* sp. durante las siete semanas de evaluación fueron los nutrientes en términos NT y PT. Diversos estudios han demostrado que el tiempo de exposición favorece la remoción de metales pesados y nutrientes en cultivos microalgales (Hoffman, 1998; Mallick, 2002; De-Bashan, Hernandez, Morey y Bashan, 2004) y en cultivos de algas filamentosas (Ospina et al. 2006).

Se ha observado reducción en el ratio NT/PT cuyo valor inicial disminuyó de  $8,0 \pm 0,5$  a  $2,45 \pm 0,1$  finalmente, debido a la acción metabólica de *Rhizoclonium* sp. Uno de los factores más importantes que influyen en la remoción de nutrientes es la concentración inicial de los mismos (Aslan & Kapdan, 2006), por lo que los resultados obtenidos tan solo pueden ser comparables con trabajos que tengan concentraciones iniciales de NT y PT similares a los de esta investigación (Zamani, Noshadi, Amin, Niazi & Ghasemi, 2012). Las concentraciones finales NT (0,27 mg/L) no superó el valor máximo permitido en Perú (Estándar Nacional de Calidad Ambiental para Agua de 0,315 mg/L D.S 015-2015-MINAM) y las concentraciones de PT (0,13mg/L) superó el valor máximo permitido para ríos de la costa peruana (valores límites dado por el Estándar Nacional de Calidad Ambiental para Agua de 0,035 mg/L D.S 015-2015-MINAM).

Un factor importante dentro de los mecanismos de biorremediación es la temperatura. Se han reportado porcentajes altos de remoción de metales pesados al incrementarse la temperatura en condiciones de laboratorio (Suganya et al. 2016). El resultado con respecto a los valores de temperatura en esta investigación muestra una alta correlación directa con respecto a la remoción de plomo ( $r= 0,856$ ;  $P<0,05$ ) lo que podría explicar que la temperatura es uno de los principales mecanismos de dependencia energética en la captación de iones de metales pesados mediados por microorganismos (Rezaee, Derayat, Mortazavi, Yamini & M.T, 2005)

Finalmente, diversos estudios indican al pH como un parámetro efectivo en la captación de iones de metales pesados en algas (Gupta, Shivastana y Jain, 2001; Rezaee, Ramavandi, Ganati, Ansari & Solimanian, 2006). Suhaimi, Samah y Aziz (2013) realizaron evaluaciones del pH en la captación de plomo (II), emplearon para tal efecto diferentes valores de pH con rangos de 1,0 a 8,0, encontrando una alta significancia en la absorción del plomo principalmente en el rango de 4,5 a 6,5. En esta investigación los valores de pH registrados (7,0 a 8,17) muestran una alta correlación ( $r= - 0,88$ ;  $P=0,02$ ) con respecto a la remoción de plomo hecha por *Rhizoclonium* sp., mostrando que a valores de pH menores, la remoción de plomo se incrementa. Este resultado refleja una alta influencia de esta variable en los procesos de biorremediación de plomo en soluciones metálicas, tal como lo refiere Marques, Rosa y Pinheiro (2000). Es de conocimiento que el pH afecta la solubilidad de los iones metálicos, como así también la disponibilidad de los grupos funcionales presentes en la pared celular de la biomasa principalmente de algas (Monteiro & Castro, 2012).

## CONCLUSIONES

1. El alga filamentosa aislada de los estanques de almacenamiento de agua del Centro de Investigación Biológica (CIB-Ancón) corresponden a la especie *Rhizoclonium* sp.
2. El alga *Rhizoclonium* sp. demostró una alta tolerancia al plomo, con valores de remoción de hasta 91,8 por ciento de este metal en un periodo de siete semanas, también presenta capacidad de reducir nitrógeno y fósforo.
3. La biomasa de *Rhizoclonium* sp. presentó un incremento notable con respecto de su valor inicial del orden de 65,98 por ciento.
- 4.. En este estudio los valores de pH registrados en el experimento muestran una alta afinidad con respecto a la remoción de plomo hecha por el alga *Rhizoclonium* sp, mostrando que a valores de pH menores la remoción de plomo se incrementa.
5. El alga filamentosa *Rhizoclonium* sp. fue efectivo en la biorremediación de aguas del río Chillón contaminados con nutrientes y el metal pesado plomo.

## RECOMENDACIONES

- Evaluar la remoción de plomo con otro tipo de alga o probar con consorcios algales.
- Evaluar a *Rhizoclonium* sp. en la remoción de otros metales pesados ligados a cuerpos de agua contaminados.
- Evaluar el efecto del tratamiento de aguas residuales con algas filamentosas sobre otros parámetros fisicoquímicos (DQO, DBO, conductividad, salinidad etc.).
- Realizar estudios de remoción con metales pesados teniendo en cuenta los valores de concentración de clorofila como referente del estado metabólico del alga en estudio.
- Realizar las mediciones de los diversos parámetros de la investigación en periodos más cortos de tiempo para que reduzcan los márgenes de error durante la evaluación respectiva

## REFERENCIAS

- Alexander, M. (1999). *Biodegradation and bioremediation*. Academic Press. 2nd ed. London
- Ampuero (1994). *Vertientes Hidrográficas del Pacífico*. Recuperado de [http://es.scribd.com/doc/32073345/Vertiente hidrográfica del Pacífico.pdf](http://es.scribd.com/doc/32073345/Vertiente_hidrografica_del_Pacifico.pdf),
- Arcos PM, Ávila NS, Estupiñán TS, Gómez PA. (2005) Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *NOVA-Publicación Científica*. 2005;116(3):69-79
- Aslan S & Kapdan (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecol. Eng.* 28: 64–70
- Atlas M. y Unterman, R. (1999). *Bioremediation*. In: Demain & Davies. JE (Eds.). *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2<sup>nd</sup> ed. ASM Press. Washington D.C.
- Baker AJ & Walker PL. 2000. *Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants*. Pp. 155-177. En: Shaw JA (ed.). *Heavy metal tolerance in plants: Evolution aspects*. CRC Press, Inc. Boca Ratón (Florida), E. U.A.
- Bourrelly (1972). *Les algues d'eau douce*. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/44335400\\_Les\\_algues\\_d'eau\\_douce\\_initiation\\_a\\_la\\_systematique\\_Pierre\\_Bourrelly](https://www.researchgate.net/publication/44335400_Les_algues_d'eau_douce_initiation_a_la_systematique_Pierre_Bourrelly)
- Burrows, E. M. (1991). *Seaweeds of the British Isles*. Chlorophyta II. Natural History Museum, London.
- Cañizares, R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 42:131- 143

- Castro, C. (1998). *Estudios de remoción de Cadmio y Plomo de aguas residuales industriales por adsorción empleando arcillas*. Ingeniero Químico. Tesis Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá.
- Daniel W.W. 1993. *Bioestadística*. Tercera Edición. Editorial Limusa (México)
- De-Bashan LE, Hernandez JP, Morey T, Bashan Y. (2004). Microalgae growth-promoting bacteria as "helpers" for microalgae: a novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater. *Water Res.* 2004; 38(2): 466-474.
- Doshi, H., Ray, A., Kothari, I. y Gami, B. (2006). Spectroscopic and scanning electron microscopy studies of bioaccumulation of pollutants by algae. *Curr. Microbiol.*, 53, 148-157
- European Federation of Biotechnology [EFB] (1999):*Environmental Biotechnology*, Briefing paper 4, second edition. January 1999.
- Galindo A., Avendaño R. y Angulo A. (2012) *Biología Conceptos básicos*. Servicios editoriales Once. Sinaloa: México.
- García (2013). Ciclo de vida de las algas verdes y líquenes. Recuperado de <http://cienciasdejoseleg.blogspot.pe/2014/07/reproduccion-en-las-algas-verdes.html>
- González M. S. y Wilderer P. A. (1991) Phosphate removal in a biofilm reactor. *Water Science and Technology*. 23 (7/9): 1405-1415, Gran Bretaña.
- Gupta S, Bhushan B, Hoondal GS (2000) Isolation, purification and characterization of xylanase from *Staphylococcus* sp. SG-13 and its application in biobleaching of kraft pulp. *J Appl Microbiol* 88:325–334
- Gupta, V.K., A.K Shivastana and N. Jain (2001). Biosorption of chromium (VI) from aqueous solutions by green *Spirogyra* species. *Water Res.*, 35. 4079-4085
- Harvey (1849). *Phycologia britannica*, or, a history of British sea-weeds: containing coloured figures, generic and specific characters, synonymes, and descriptions of all the

species of algae inhabiting the shores of the British Islands. pp. text with plates, pls CCXVII-CCLXX [217-270]. London: Reeve & Benham.

Heinke, G. & Henry G. (1999). *Ingeniería Ambiental*. Recuperado de [https://www.u-cursos.cl/usuario/0e280fd639ac6a63c42fb8d3ed7c6f04/mi\\_blog/r/ingenieria-ambiental\\_glynn.pdf](https://www.u-cursos.cl/usuario/0e280fd639ac6a63c42fb8d3ed7c6f04/mi_blog/r/ingenieria-ambiental_glynn.pdf)

Hidalgo S. & Martínez M. (2004). *Reutilización de residuos de raspo de uva para la eliminación de metales tóxicos en los efluentes líquidos*. *Ingeniero Químico. Universidad Politécnica de Cataluña*. Departamento de Ingeniería Química.

Hoffman JP. (1998). Wastewater Treatment with suspended and nonsuspended algae. *J. Phycol.*; 34: 757-63.

Ichihara, Shimada y Miyaji (2013). Systematics of *Rhizoclonium*-like algae (Cladophorales, Chlorophyta) from Japanese brackish waters, based on molecular phylogenetic and morphological analyses. *Phycologia* (2013) Volume 52 (5), 398–410

Kidgell, Nys, Hu, Paul y Roberts (2014). *Bioremediation of a Complex Industrial Effluent by Biosorbents Derived from Freshwater Macroalgae*. Recuperado de <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1>.

Kützing (1843). *Phycologia generalis* oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange. Mit 80 farbig gedruckten Tafeln, gezeichnet und gravirt vom Verfasser. pp. [part 1]: [i]-xxxii, [1]-142, [part 2:] 143-458, 1, err.], pls 1-80. Leipzig: F.A. Brockhaus

Lee, Y. C., & Chang, S. P. (2011). The biosorption of heavy metals from aqueous solution by *Spirogyra* and *Cladophora* filamentous macroalgae. *Bioresource technology*, 102(9), 5297-5304.

Lewis & McCourt (2004). Green algae and the origin of land plants. *Am.J.Bot* 2004 vo. 91 n°10 1535 - 1556.

- Liu y Vyverman (2014). *Las diferencias en la capacidad de asimilación de nutrientes de las algas filamentosas bentónicas Cladofora sp., Klebsormidium sp. y Pseudanabaena bajo diferentes condiciones de N/P.*  
Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25544498>
- Mallick N. (2002) Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: A review. *BioMetals* 2002; 15: 377-90.
- Marques, M.F. Rosa H.M., Pinheiro, (2000). PH effects on the removal of Cu<sup>+2</sup>, Cd<sup>+2</sup> and Pb<sup>+2</sup> from aqueous solution by waste brewery biomass. *Bioproc. Eng.* 23, 135–14.
- Monteiro, C. & Castro, P. (2012). Metal uptake by microalgae: Underlying mechanisms and practical applications. *Biotechnology Progress*, 28 (2), 299- 311.
- Montoya, W., Peña, E. J., & Benítez, R. (2006). *Evaluación de la tasa fotosintética del alga verde Rhizoclonium riparium (Roth) Kützing ex Harvey, expuesta a cobre y su uso como indicador de contaminación por metales en aguas estuarinas.*  
Recuperado de <http://hdl.handle.net/1834/2256>
- Montoya H. (2006). Flora y ecología algal del ecosistema lagunar de Puerto Viejo, departamento de Lima. *Magistri et Doctores* 1(1):9–18
- Morales-Fonseca, D., Ruiz-Tovar, K., Martínez-Salgado, M.M., Soto-Guzmán, A.B., Falcony-Guajardo, C., Rodríguez Vázquez, R. & Pedroza-Rodríguez, A.M.(2010). Desarrollo de un bioadsorbente laminar con *Phanerochaete chrysosporium* hipertolerante al cadmio, al níquel y al plomo para el tratamiento de aguas. *Revista iberoamericana de Micología.* 23 (3): 111-118
- Navarro A, Blanco D, Llanos B, Flores J, Maldonado H. (2004) Biorremoción de cadmio (II) por desechos de algas marinas: optimización del equilibrio y propuesta de mecanismo. *Rev. Soc. Quím. Perú*; 70: 147-157.
- Navarro A, Ramos K, Campos K, Maldonado H. (2006) Elucidación del efecto del pH en la adsorción de metales pesados mediante biopolímeros naturales: cationes

divalentes y superficies activas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. Volumen 7(2) 113 -126.

Nienhuis (1974). Variability in the life cycle of *Rhizoclonium riparium* (Roth) Harv. (Chlorophyceae: Cladophorales) under Dutch estuarine conditions. *Hydrobiol. Bull.* 8: 172-178.

Olarte, B. (2007). La cuenca del Rio Chillón: Problemática y potencial productivo. *Ingeniería Industrial* (25). p. 54.

Ospina-Álvarez, N., Peña-Salamanca, E., & Benítez, R. (2006). Efecto de la salinidad en la capacidad de bioacumulación de plomo en el alga verde *Rhizoclonium riparium* (Roth) Harvey (Chlorophyceae, Cladophorales). *Actual biol*, 28(84), 17-25.

Parodi & Cáceres (1993) Life history of freshwater populations of *Rhizoclonium hieroglyphicum* (Cladophorales, Chlorophyta), *European Journal of Phycology*, 28:1, 69-74

Patterson J. W. (1991). *Industrial Wastewater Treatment Technology*. Stoneham, Butterworth Publishers p. 37-49.

Pick, F. y Lean, D. (1987) The role of macronutrients (C, N, P) in controlling cyanobacterial dominance in temperate lakes. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 21: 425-434

Quingbiao Li, Songtao Wu, Gang Liu, Xinkai Liao, Xu Deng, Daohua Sun, Yuelin Hu, Yili Huang. (2004). Simultaneous biosorption of cadmium (II) and lead (II) ions by pretreated biomass of *Phanerochaete chrysosporium*. *Separation and Purification Technology*. 34:135–142.

Rezaee, A., J. Derayat, S.B. Mortazavi, Y. Yamini and M.T J. (2005). Removal of mercury from chlor-Alkali industry wastewater using *Acetobacter xylinum* cellulose. *Am.J. Environ. Sci.*, 1: 102-105.

Rezaee, A., Ramavandi, B., Ganati, F., Ansari, M. and Solimani, A. (2006). Biosorption of mercury by biomass of filamentous algae *Spirogyra* species. *J. Biol. Sci.*, 6, 695-700.

- Rivas F, Vicuña N y Wong S. (2000). Exposición urbana no ocupacional al plomo y niveles sanguíneos en mujeres embarazadas y en recién nacidos, Mérida, Venezuela. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*. 18(2): 73-81
- Schmidt, W. (2000). *Suelos contaminados con hidrocarburos: la biorremediación como una solución ecológicamente compatible*. Cooperación Técnica Alemana (GTZ). Recuperado de [www.gtz.org.mx/sitios-contam/articulos/biorremed\\_Mex2.pdf](http://www.gtz.org.mx/sitios-contam/articulos/biorremed_Mex2.pdf)
- Seeliger U & Edwards P. (1977) Correlation coefficients and concentration factors of copper and lead in seawater and benthic algae. *Marine Pollution Bulletin*, 8(1):16-19.
- Skinner & Entwisle (2004). Non-marine algae of Australia: 6. Cladophoraceae (Chlorophyta). *Telopea* 10(3): 731-748.
- Spain, A. (2003). Implications of Microbial Heavy Metals Tolerance in the Environment. *Reviews in Undergraduate Research*, 2 :1-6.
- Suganya, S., Kayalvizhi, K., Senthil, P., Saravanan, A., & Vinoth, V. (2016). Biosorption of Pb (II), Ni (II) and Cr (VI) ions from aqueous solution using *Rhizoclonium tortuosum*: extended application to nickel plating industrial wastewater. *Desalination and Water Treatment*, 57(52), 25114-25139.
- Suhaimi, A. A., Samah, M. A. A., & Aziz, S. A. (2013). Biosorption of lead (II) ions from aqueous solution by treated corn (Z. Mays) leaves biomass. *International Journal of Environmental Protection*, 3(3), 44.
- Vera IS & Wilkinson J. (2002). Physicochemical aspects of lead bioaccumulation by *Chlorella vulgaris*. *Environmental Science and Technology*, 36:969-975
- Wilcox, B., Guinther, E., Duin, K. & Maybaum, H. (1998). *Manual for watershed health and water quality*. Prepared by Geo InSight International, Inc. and Institute for Sustainable Development. Prepared for Marine Corps Base Hawaii MCBH Environmental Affairs Division, under contract to Navy Facilities Engineering Services Center.

Zamani N, Noshadi M, Amin S, Niazi A, Ghasemi Y. (2012). Effect of alginate structure and microalgae immobilization method on orthophosphate removal from wastewater. *J. Appl. Phycol.* 2012; 24(4):649-56.

## TERMINOLOGÍA

Los conceptos de los términos indicados a continuación se han tomado del libro *Biología Conceptos básicos* perteneciente a Galindo, Avendaño y Angúlo (2012).

**Almidón:** Macromolécula compuesta de dos polisacáridos, la amilosa (en proporción del 20 por ciento) y la amilopectina (80 por ciento).

**Biocombustible:** Es una mezcla de sustancias orgánicas que se utiliza como combustible en los motores de combustión interna. Deriva de la biomasa, materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía.

**Clorofila:** Son una familia de pigmentos de color verde que se encuentran en todos aquellos organismos que contienen cloroplastos en sus células, lo que incluye a las plantas y a los diversos grupos de algas y que son importantes para realizar la función de la fotosíntesis.

**Cloroplastos:** Son los organelos celulares que en los organismos eucariontes fotosintetizadores se ocupan de la fotosíntesis.

**Cigoto:** huevo de la célula resultante de la unión del gameto masculino (espermatozoide) con el gameto femenino (óvulo) en la reproducción sexual de los organismos.

**Diploide:** son las células que tienen un número doble de cromosomas.

**Enzima:** son moléculas de naturaleza proteica y estructural que catalizan reacciones químicas, es decir que acelera el proceso (aumenta la velocidad).

**Esporas:** cuerpo microscópico unicelular o pluricelular que se forma con fines de dispersión y supervivencia por largo en condiciones adversas, y que generalmente es una célula haploide.

**Eucariota:** Esta referido al dominio que incluye los organismos formados por células con núcleo verdadero.

**Fotosintéticos:** Corresponde a organismos que realizan la conversión de materia inorgánica en materia orgánica gracias a la energía que aporta la luz.

**Haploide:** son las células que tienen un solo número de cromosomas.

**Isogamia:** Es una forma de reproducción sexual propia de los vegetales en la cual los dos gametos que se unen para formar el cigoto son idénticos en estructura y tamaño.

**Metal Pesado:** son elementos químicos con masa atómica elevada como por ejemplo el mercurio, plomo, cromo, cadmio y el arsénico. Una característica de ellos es que tiene a dañar los organismos incluso a bajas concentraciones y tienden a acumularse a lo largo de la cadena alimentaria.

**Oogamia:** Proceso en donde los zoogametos masculinos son pequeños, pobres en plastos y en reservas, y muy móviles; se denominan espermatozoides.

**Plastos:** Son orgánulos celulares eucarióticos, propios de las plantas y algas. Su función principal es la producción y almacenamiento de importantes compuestos químicos usados por la célula.

**Pluricelular:** Es aquel que está constituido por dos o más células.

**Unicelular:** Está formado por una única célula.

## APÉNDICES

### APÉNDICE 1

#### **REGISTRO SEMANAL DE LAS CONCENTRACIONES (mg/L) DE PLOMO CON LAS DESVIACIONES ESTANDARES DEL TRATAMIENTO Y EL CONTROL**

<b>Semanas</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
Réplicas								
Réplica 1	0,86	0,59	0,30	0,19	0,14	0,11	0,10	0,1
Réplica 2	0,90	0,60	0,40	0,20	0,11	0,12	0,11	0,05
Réplica 3	0,80	0,50	0,35	0,15	0,12	0,08	0,11	0,06
<b>X ± DE</b>	<b>0,86 ± 0,17</b>	<b>0,59 ± 0,1</b>	<b>0,30±0,03</b>	<b>0,19 ±0,11</b>	<b>0,14 ± 0,05</b>	<b>0,11 ± 0,08</b>	<b>0,10 ± 0,07</b>	<b>0,07± 0,03</b>

## APÉNDICE 2

### ESTÁNDAR NACIONAL DE CALIDAD AMBIENTAL PARA AGUA D.S 015-2015- MINAM

#### CATEGORÍA 3

CATEGORIAS		ECA AGUA: CATEGORIA 3	
PARÁMETRO	UNIDAD	PARÁMETROS PARA RIEGO DE VEGETALES	PARÁMETROS PARA BEBIDAS DE ANIMALES
		D1: RIEGO DE CULTIVOS DE TALLO ALTO Y BAJO	D2: BEBIDA DE ANIMALES
<b>FÍSICOS - QUÍMICOS</b>			
Aceites y grasas	mg/L	5	10
Bicarbonatos	mg/L	518	**
Cianuro Wad	mg/L	0,1	0,1
Cloruros	mg/L	500	**
Color (b)	Color verdadero escala Pt/Co	100 (a)	100 (a)
Conductividad	(uS/cm)	2 500	5 000
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> )	mg/l	15	15
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/l	40	40
Detergentes (SAAM)	mg/l	0,2	0,5
Fenoles	mg/l	0,002	0,01
Fluoruros	mg/l	1	**
Nitratos (NO <sub>3</sub> -N) + Nitritos (NO <sub>2</sub> -N)	mg/l	100	100
Nitritos (NO <sub>2</sub> -N)	mg/l	10	10
Oxígeno Disuelto (valor mínimo)	mg/L	4	5
Potencial de Hidrógeno (pH)	Unidad de pH	6,5 – 8,5	6,5 – 8,4
Sulfatos	mg/L	1000	1000
Temperatura	°C	Δ 3	Δ 3
<b>INORGÁNICOS</b>			
Aluminio	mg/L	5	5
Arsénico	mg/L	0,1	0,2
Bario	mg/L	0,7	**
Berilio	mg/L	0,1	0,1
Boro	mg/L	1	5
Cadmio	mg/L	0,01	0,05
Cobre	mg/l	0,2	0,5
Cobalto	mg/l	0,05	1
Cromo Total	mg/l	0,1	1
Hierro	mg/l	5	**
Litio	mg/l	2,5	2,5
Magnesio	mg/l	**	250
Manganeso	mg/l	0,2	0,2
Mercurio	mg/l	0,001	0,01
Níquel	mg/l	0,2	1
Plomo	mg/l	0,05	0,05
Selenio	mg/l	0,02	0,05

## APÉNDICE 3

### REGISTRO SEMANAL DE LAS REMOCIONES (%) DE PLOMO CON LAS DESVIACIONES ESTANDARES DE LAS RÉPLICAS

Semanas Réplicas	0	1	2	3	4	5	6	7
Réplica 1	10	31,39	65,11	77,9	83	88	88,50	91
Réplica 2	12	32	60	80	83,7	85	88,8	92
Réplica 3	8,5	30,00	66	75	84	86	90	91
<b>X ± DE</b>	<b>10 ± 0,17</b>	<b>31,4 ± 0,1</b>	<b>65,1±0,07</b>	<b>77,9 ±0,21</b>	<b>83,7 ± 0,09</b>	<b>86,51 ± 0,13</b>	<b>89,1 ± 0,11</b>	<b>91,8± 0,11</b>

## APÉNDICE 4

### PRUEBA DE TUKEY DEL PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE PLOMO

#### Remoción

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

semanas	N	Subconjunto							
		1	2	3	4	5	6		
semana0	3	10,0000							
semana1	3		31,1300						
semana2	3			63,7033					
semana3	3				77,6333				
semana4	3					83,5667			
semana5	3						86,3333		
semana6	3							89,1000	
semana7	3								91,3333
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	,568	,052		

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 3.175.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

b. Alfa = .05.

## APÉNDICE 5

### PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL

#### Nitrógeno

HSD Tukey<sup>a</sup>

semanas	N	Subconjunto para alfa = 0,05				
		1	2	3	4	5
semana7	3	,2733				
semana6	3	,6000				
semana5	3	1,1600				
semana4	3	1,4667	1,4667			
semana3	3		2,7833	2,7833		
semana2	3			3,6333		
semana1	3				7,8533	
semana0	3					14,6667
Sig.		,141	,083	,478	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

## APÉNDICE 6

### PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DEL FÓSFORO TOTAL

#### Fósforo total

HSD Tukey<sup>a</sup>

semanas	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
semana7	3	,1267			
semana6	3	,1600			
semana5	3	,1933			
semana4	3	,2433			
semana3	3	,3267	,3267		
semana2	3		,5167	,5167	
semana1	3			,7000	
semana0	3				1,8467
Sig.		,070	,094	,114	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

## APÉNDICE 7

### PRUEBA DE TUKEY DE LA VARIACIÓN DEL RATIO NT/PT

#### Ratio NT/PT

HSD Tukey<sup>a</sup>

semanas	N	Subconjunto para alfa = 0,05				
		1	2	3	4	5
semana7	3	2,4100				
semana6	3	3,9667	3,9667			
semana5	3		5,2667	5,2667		
semana4	3			6,8067	6,8067	
semana2	3			7,4167	7,4167	
semana0	3			7,9167	7,9167	
semana3	3				9,0667	9,0667
semana1	3					10,8233
Sig.		,553	,739	,070	,016	,014

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

## APÉNDICE 8

### COEFICIENTES DE CORRELACIÓN LINEAL DE PEARSON (r) ENTRE LOS VALORES DE PORCENTAJE DE REMOCIÓN, BIOMASA, PH Y TEMPERATURA. SIGNIFICANCIA DE P < 0,05

	REMOCIÓN	BIOMASA	pH	TEMPERATURA
REMOCIÓN		0,85	-0,88	0,856
BIOMASA	0,85		-0,76	0,754
pH	-0,88	-0,76		-0,833

## APÉNDICE 9

### REGISTRO FOTOGRÁFICO DE LA INVESTIGACIÓN

**Fotografía 9.1.** Características geométricas usadas en la identificación de *Rhizoclonium* sp.  
(Diámetro, ancho y largo)



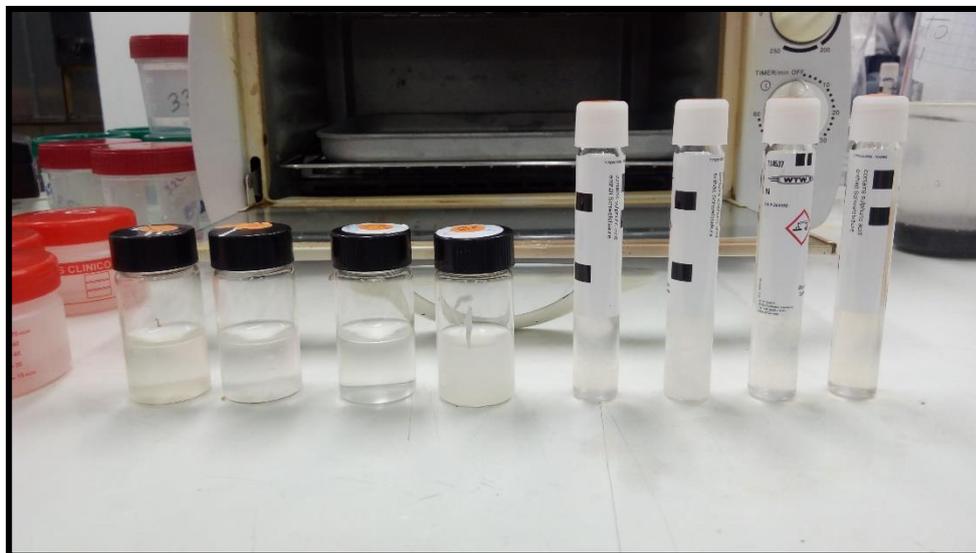
**Fotografía 9.2.** Almacenamiento de la biomasa algal de *Rhizoclonium* sp. en CIB-Ancón



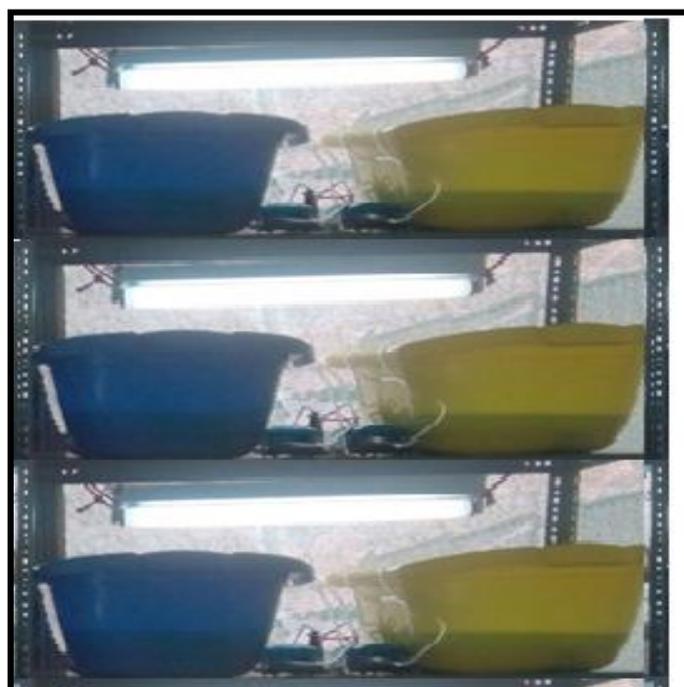
**Fotografía 9.3** Lectura de los parámetros de nitrógeno total, fósforo total y plomo con el equipo Photoflex WTW.



**Fotografía 9.4** Reactivos usados en la de determinación del nitrógeno total, fósforo total y plomo.



**Fotografía 9.5** Distribución de las unidades experimentales en los laboratorios de la UCSS.



**Fotografía 9.6** (A) Pesaje de la biomasa algal. (B) Muestras de aguas extraídas de las unidades experimentales para el análisis en Laboratorio.



**Fotografía 9.7** Equipo fotométrico Fotoflex WTW y los reactivos usados en la cuantificación de los parámetros físico químicos de la investigación

