

**UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y AMBIENTALES**



Eficiencia de remoción de biomasa de la cianobacteria  
potencialmente toxigénica *Microcystis aeruginosa* Kützing  
usando arcilla Chak'ó procedente de Ocuwiri, Puno

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE**  
**INGENIERO AMBIENTAL**

**AUTORES**

Milagros Valles Fasabi  
Xiomara Paola Romero Oblitas

**ASESORA**

Heidi Isabel Sánchez Torres

Lima, Perú

2024

**METADATOS COMPLEMENTARIOS****Datos de los Autores****Autor 1**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

**Autor 2**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

**Autor 3**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

**Autor 4**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

**Datos de los Asesores****Asesor 1**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (Obligatorio)	

**Asesor 2**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (Obligatorio)	

**Datos del Jurado****Presidente del jurado**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

**Segundo miembro**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

**Tercer miembro**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

**Datos de la Obra**

Materia*	
Campo del conocimiento OCDE Consultar el listado:	
Idioma	
Tipo de trabajo de investigación	
País de publicación	
Recurso del cual forma parte (opcional)	
Nombre del grado	
Grado académico o título profesional	
Nombre del programa	
Código del programa Consultar el listado:	

**\*Ingresar las palabras clave o términos del lenguaje natural (no controladas por un vocabulario o tesauro).**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS****ACTA N° 031 - 2024/UCSS/FCAA/DI**

Siendo las 11:00 a.m. del martes 09 de julio de 2024 a través de la plataforma virtual zoom de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, el Jurado de Tesis integrado por:

- |                                   |                 |
|-----------------------------------|-----------------|
| 1. Natividad Lourdes Artica Cosme | presidente      |
| 2. Julián Alberto Álvarez Paredes | primer miembro  |
| 3. Segundo Octavio Zegarra Aliaga | segundo miembro |
| 4. Heidi Isabel Sánchez Torres    | asesor(a)       |

Se reunieron para la sustentación virtual de la tesis titulada

**Eficiencia de remoción de biomasa de la cianobacteria potencialmente toxigénica  
*Microcystis aeruginosa* Kützing usando arcilla Chak'ó  
procedente de Ocuvi, Puno**

Que presentan las bachilleres en **Ciencias Ambientales**

**Milagros Valles Fasabi  
Xiomara Paola Romero Oblitas**

Cumpliendo así con los requerimientos exigidos por 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 y luego de deliberar, el jurado acuerda:

APROBAR	<b>X</b>
DESAPROBAR	...

La tesis, con el calificativo de **BUENA** y eleva la presente acta al decanato de la Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales, a fin de que se declare EXPEDITA para conferirle el TÍTULO de **INGENIERO AMBIENTAL**.

Lima, 09 de julio de 2024.



Natividad Lourdes Artica Cosme  
Presidente



Julián Alberto Álvarez Paredes  
1° miembro



Segundo Octavio Zegarra Aliaga  
2° miembro



Heidi Isabel Sánchez Torres  
Asesor(a)

**Anexo 2****CARTA DE CONFORMIDAD DEL ASESOR(A) DE TESIS / INFORME ACADÉMICO/ TRABAJO DE INVESTIGACIÓN/ TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL CON INFORME DE EVALUACIÓN DEL SOFTWARE ANTIPLAGIO**

Ciudad, 08 de julio de 2024

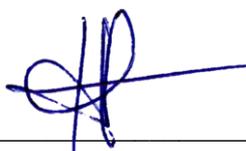
Señor(a),  
Wilfredo Mendoza Caballero  
Jefe del Departamento de Investigación  
Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales

Reciba un cordial saludo.

Sirva el presente para informar que **la tesis** / informe académico/ trabajo de investigación/ trabajo de suficiencia profesional, bajo mi asesoría, con **título:** Eficiencia de remoción de biomasa de la cianobacteria potencialmente toxigénica *Microcystis aeruginosa* Kützing usando arcilla Chak'ó procedente de Ocuwiri, Puno, presentado por Milagros Valles Fasabi (código de estudiante 2014101883 y DNI 77102523) y Xiomara Paola Romero Oblitas (código de estudiante 20107100666 y DNI 70292336) para optar el **título profesional**/ grado académico de Ingeniero Ambiental ha sido revisado en su totalidad por mi persona y **CONSIDERO** que el mismo se encuentra **APTO** para ser sustentado ante el Jurado Evaluador.

Asimismo, para garantizar la originalidad del documento en mención, se le ha sometido a los mecanismos de control y procedimientos antiplagio previstos en la normativa interna de la Universidad, **cuyo resultado alcanzó un porcentaje de similitud de 6% (poner el valor del porcentaje)**. Por tanto, en mi condición de asesor(a), firmo la presente carta en señal de conformidad y adjunto el informe de similitud del Sistema Antiplagio Turnitin, como evidencia de lo informado.

Sin otro particular, me despido de usted. Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized 'H' and 'S' followed by a horizontal line.

**Firma**

**Heidi Isabel Sánchez Torres**

DNI N°: 40484791

ORCID: 0000-0001-5876-6920

Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales - UCSS

\* De conformidad con el artículo 8°, del Capítulo 3 del Reglamento de Control Antiplagio e Integridad Académica para trabajos para optar grados y títulos, aplicación del software antiplagio en la UCSS, se establece lo siguiente:

Artículo 8°. Criterios de evaluación de originalidad de los trabajos y aplicación de filtros

El porcentaje de similitud aceptado en el informe del software antiplagio para trabajos para optar grados académicos y títulos profesionales, será máximo de veinte por ciento (20%) de su contenido, siempre y cuando no implique copia o indicio de copia.

## **DEDICATORIA**

La presente tesis la dedico principalmente a Dios por permitir cumplir mis metas y guiarme a lo largo de este camino con fortaleza en aquellos momentos de dificultad.

A mis padres Walter y Paula, por ser los principales promotores de mi vida, por confiar e inculcarme los principios y valores de la vida.

A mi hermana Luciana por su amor, cariño y apoyo incondicional también, por ser mi constante motivación para seguir siendo su orgullo.

A mi primo Aaron, mis tíos Luis y Rocío por su paciencia, apoyo y consejos durante este camino recorrido.

Finalmente, a toda mi familia y amigos por haberme dado la motivación durante toda esta etapa de mi vida profesional para alcanzar cada una de mis metas trazadas.

***Xiomara Paola Romero Oblitas***

La presente tesis realizada se la dedico a mis padres Obdias y Carmela, quienes desde su humildad, sencillez e infinito amor me ayudaron y guiaron para cumplir mis metas.

A mi preciada Isabella, por ser mi principal motivación en este largo viaje ya que dentro de su inocencia me brinda amor, paz y tranquilidad para seguir avanzando y cumpliendo mis objetivos.

A Carlos, mi compañero de vida, por ser partícipe de mis logros; así como también brindar soporte y apoyo en los momentos de desasosiego.

Finalmente, a mis queridos y preciados hermanos, quienes siempre me apoyan y son vigilantes de mis logros y partícipes de mis vivencias.

***Milagros Valles Fasabi***

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por iluminarnos y guiarnos durante toda la ejecución del proyecto, a nuestros padres y familiares por ser quienes nos impulsaron a seguir y no decaer en el camino.

A nuestra asesora Blga. Heidi Isabel Sánchez Torres, a quien expresamos nuestro agradecimiento por la disposición y orientación en la materialización de esta investigación.

A la Universidad Católica Sedes Sapientiae (UCSS), por acogernos durante el transcurso de nuestra formación académica y brindarnos los conocimientos necesarios para formarnos como futuros profesionales.

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xii
ÍNDICE DE APÉNDICES .....	xiii
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT .....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos .....	3
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	4
1.1 Antecedentes ´.....	4
1.1.1. Internacionales .....	4
1.1.2. Nacionales.....	8
1.2 Bases teóricas especializadas .....	9
1.2.1. Arcilla.....	9
1.2.2. Análisis de la arcilla a través de la microscopía electrónica de barrido (MEB... 16	
1.2.3. Minerales asociados a arcillas.....	19
1.2.4. Características de la arcilla del Chak´o.....	20
1.2.5. Control de floraciones algales usando arcilla .....	20
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS .....	23
2.1 Descripción de la investigación .....	23

2.2 Lugar y fecha.....	23
2.3 Descripción del experimento.....	24
2.3.1. Muestras de arcillas del Chak'ó.....	24
2.3.2. Técnicas de caracterización de las arcillas .....	25
2.3.3. Recolección de muestra de agua conteniendo poblaciones de <i>M. aeruginosa</i> ....	26
2.3.4. Aislamiento y obtención de biomasa de la cianobacteria <i>M. aeruginosa</i> .....	27
2.3.5. Determinación de la cinética de crecimiento de <i>M. aeruginosa</i> .....	28
2.4 Tratamientos .....	29
2.4.1. Efecto de diferentes dosis de arcilla en la remoción de colonias de <i>M. aeruginosa</i> .....	29
2.4.2. Efecto de la arcilla sobre las colonias de <i>M. aeruginosa</i> .....	30
2.4.3. Efecto de la arcilla en la duración de la sedimentación de <i>M. aeruginosa</i> .....	30
2.5 Unidades experimentales .....	31
2.6 Variables de la investigación y su mensuración .....	31
2.7 Diseño estadístico del experimento .....	32
2.8 Análisis estadístico de los datos.....	32
2.9 Materiales y equipos.....	33
2.9.1. Material biológico.....	33
2.9.2. Material de laboratorio.....	33
CAPÍTULO III: RESULTADOS .....	35
3.1 Evaluación de la cinética de crecimiento de <i>M. aeruginosa</i> en medio BG-11 .....	35
3.2 Caracterización química de la arcilla del Chak'ó extraída de la localidad Ocuwiri, Puno .....	36
3.3 Eficiencia de remoción de las poblaciones de <i>M. aeruginosa</i> por las diferentes concentraciones de arcilla del Chak'ó .....	38
3.3.1. Variación de <i>M. aeruginosa</i> a diferentes cantidades con arcilla .....	38
3.3.2. Remoción de <i>M. aeruginosa</i> a diferentes tratamientos con arcilla .....	40

3.4 Efecto de tiempo de exposición de la arcilla del Chak'ó en la sedimentación de biomasa de <i>M. aeruginosa</i> .....	42
3.4.1. Efecto del tiempo de exposición de la arcilla del Chak'ó en la cantidad de <i>M. aeruginosa</i> .....	42
CAPÍTULO IV: DISCUSIONES .....	47
4.1 Evaluación de la cinética de crecimiento de <i>M. aeruginosa</i> en medio BG-11 .....	47
4.2 Características fisicoquímicas que presenta la arcilla del Chak'ó extraída de la localidad Ocuwiri, Puno .....	48
4.3 Eficiencia de remoción de las poblaciones de <i>M. aeruginosa</i> por las diferentes concentraciones de arcilla del Chak'ó .....	49
4.4 Efecto de tiempo de exposición de la arcilla del Chak'ó en la sedimentación de biomasa de <i>M. aeruginosa</i> .....	50
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES .....	52
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES .....	53
REFERENCIAS .....	54
TERMINOLOGÍA .....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. <i>Capacidades de intercambio catiónico y sus áreas superficiales</i> .....	14
Tabla 2. <i>Composición de los tratamientos para evaluar el efecto de la dosis de arcilla sobre M. aeruginosa</i> .....	30
Tabla 3. <i>Composición de los tratamientos para evaluar el efecto de la arcilla en la duración de la sedimentación de M. aeruginosa</i> .....	31
Tabla 4. <i>VARIABLES y su mensuración</i> .....	32
Tabla 5. <i>Valores de los parámetros cinéticos evaluados a M. aeruginosa en medio BG-11</i> .....	36
Tabla 6. <i>Composición química de la arcilla del Chak'ó</i> .....	36
Tabla 7. <i>Características de la arcilla del Chak'ó</i> .....	37
Tabla 8. <i>Variación de las cantidades de M. aeruginosa en los diferentes tratamientos</i> ...39	39
Tabla 9. <i>Resultado del análisis de la varianza de los tratamientos y la variación de cantidades de M. aeruginosa</i> .....	39
Tabla 10. <i>Valores de la remoción (%) de M. aeruginosa</i> .....	41
Tabla 11. <i>Resultado del análisis de la varianza de los tratamientos y la variación de cantidades de M. aeruginosa</i> .....	41
Tabla 12. <i>Valores promedio de las cantidades de M. aeruginosa en los diferentes tiempos de exposición con la arcilla del Chak'ó</i> .....	42
Tabla 13. <i>Resultado del análisis de la varianza entre la cantidad de M. aeruginosa y los tiempos de exposición</i> .....	43
Tabla 14. <i>Valores promedio de la eficiencia de remoción de M. aeruginosa en los diferentes tiempos de exposición con la arcilla del Chak'o</i> .....	44
Tabla 15. <i>Resultados del análisis de la varianza entre el tiempo de exposición y la eficiencia de remoción</i> .....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. <i>Imágenes de arcillas por microscopía electrónica de barrido</i> .....	18
Figura 2. <i>Imagen de arcilla al microscopio de barrido y análisis por espectroscopía de rayos X</i> .....	19
Figura 3. <i>Escenario de floculación, deposición y resuspensión de la arcilla y las algas</i> ..	21
Figura 4. <i>Ubicación del laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae</i> .....	24
Figura 5. <i>Muestras de arcilla del Chak'o usadas en la investigación</i> .....	25
Figura 6. <i>Ubicación de la toma de muestra del agua conteniendo M. aeruginosa en el humedal Albufera de Medio Mundo</i> .....	27
Figura 7. <i>Obtención de biomasa de M. aeruginosa</i> .....	28
Figura 8. <i>Curva de crecimiento de M. aeruginosa en medio BG-11</i> .....	35
Figura 9. <i>Espectros de la composición química de la arcilla del Chak'o</i> .....	36
Figura 10. <i>Ultraestructura superficial de las partículas de la arcilla del Chak'o</i> .....	38
Figura 11. <i>Efecto de las aplicaciones de arcilla en la variación de las poblaciones de M. aeruginosa</i> .....	40
Figura 12. <i>Efecto de los tratamientos con arcilla en la remoción (%) de M. aeruginosa</i> ..	42
Figura 13. <i>Efecto de los tiempos de exposición con la arcilla en la eficiencia de sedimentación y la cantidad de M. aeruginosa</i> .....	46

## ÍNDICE DE APÉNDICES

	<b>Pág.</b>
Apéndice 1. <i>Parámetros fisicoquímicos del cultivo a M. aeruginosa</i> .....	65
Apéndice 2. <i>Composición elemental de la partícula de arcilla del Chak'o</i> .....	65
Apéndice 3. <i>Prueba de Tukey para los resultados de la cantidad de M. eruginosa y los tratamientos</i> .....	66
Apéndice 4. <i>Prueba de Tukey para los resultados del porcentaje de remoción de M. eruginosa y los tratamientos</i> .....	66
Apéndice 5. <i>Prueba de Tukey para los resultados de la cantidad de de M. eruginosa y los tiempos de exposición</i> .....	67
Apéndice 6. <i>Prueba de Tukey para los resultados de la eficiencia de sedimentación de M. eruginosa y los tiempos de exposición</i> .....	67
Apéndice 7. <i>Parámetro, métodos e instrumentos usados en la caracterización fisicoquímica de la muestra</i> .....	68
Apéndice 8. <i>Procedimiento para la determinación de fósforo total de la muestra</i> .....	69
Apéndice 9. <i>Procedimiento para la determinación de nitrógeno total de la muestra</i> ....	70
Apéndice 10. <i>Procedimientos y cálculos para determinar la CIC</i> .....	71
Apéndice 11. <i>Registro fotográfico de la investigación</i> .....	72

## RESUMEN

La presencia de cianobacteria *Microcystis aeruginosa* en los cuerpos de agua continentales son un problema actual, el control con medios sencillos y amigables con el ambiente son importantes, por esta razón se evaluó el efecto en la remoción de biomasa de la cianobacteria *M. aeruginosa* por la arcilla nativa del Chak'ó procedente de Ocuwiri, Puno. La muestra de arcilla fue analizada fisicoquímicamente para establecer la composición de partículas, como la capacidad de intercambio catiónico (CIC) que permitió establecer el tipo de arcilla. La cianobacteria usada en el estudio fue aislada de muestras de agua recolectadas del humedal Albuferas de Medio Mundo y llevada a cultivo en el medio BG-11 para incrementar su biomasa. Posteriormente, fueron aplicadas concentraciones de arcilla en 50, 100, 500 y 1 000 mg/L sobre una biomasa de *M. aeruginosa* conteniendo  $26 \times 10^3$  col/mL para evaluar el efecto de la arcilla sobre las colonias. Además, se buscó establecer el efecto de la arcilla en el porcentaje de sedimentación de *M. aeruginosa*, evaluándose la exposición a 10, 20, 30, 60 y 90 min. Los resultados mostraron una alta adaptabilidad de la cianobacteria al medio BG-11 lo que permitió un crecimiento de  $29 \times 10^3$  colonias/mL en 25 días de cultivo; además, se pudo establecer por las características fisicoquímicas que esta arcilla corresponde al tipo esmectita y que pudo remover hasta 77,81 % de las poblaciones de *M. aeruginosa* a concentraciones de 1000mg/L. La investigación concluyó que, las arcillas del Chak'ó son eficientes en la remoción de la cianobacteria; logrando altos valores de sedimentación en los 20 primeros min.

**Palabras clave:** Arcilla del Chak'ó, esmectita, *M. aeruginosa*, partícula de arcilla.

## ABSTRACT

The presence of cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* in continental water bodies such as lakes and lagoons is a current problem and whose control with simple and environmentally friendly means is very important, for this reason the effect on biomass removal was evaluated. of the potentially toxic cyanobacterium *M. aeruginosa* by native Chak'o clay from Ocuvi, Puno. The clay sample was physicochemically analyzed to establish the chemical composition of the particles; as well as the cation exchange capacity (CEC) that allowed establishing the type of clay. The cyanobacteria used in the study were isolated from water samples collected from the Albuferas de Medio Mundo wetland and cultured in BG-11 medium to increase their biomass. Subsequently, clay concentrations of 50, 100, 500 and 1 000mg/L were applied on a biomass of *M. aeruginosa* containing  $26 \times 10^3$  col/mL to evaluate the effect of clay on the colonies. In addition, it was sought to establish the effect of clay on the percentage of sedimentation of *M. aeruginosa*, evaluating the exposure at 10, 20, 30, 60 and 90 min. The results showed a high adaptability of the cyanobacteria to the BG-11 medium, which allowed a growth of  $29 \times 10^3$  colonies/mL in 25 days of culture; In addition, it was possible to establish by the physicochemical characteristics that this clay corresponds to the smectite type and that it could remove up to 77,81 % of the *M. aeruginosa* populations at concentrations of 1 000 mg/L. The investigation concluded that the Chak'o clays are efficient in the removal of cyanobacteria; achieving high sedimentation values in the first 20 min.

**Key words:** Chak'o clay, clay particle, *M. aeruginosa*, smectite.

## INTRODUCCIÓN

En el mundo las floraciones algales por cianobacterias están asociados a ambientes eutrofizados y se consideran un problema al producir olores desagradables, causar la muerte de peces debido a hipoxia/anoxia, afectando los servicios ecosistémicos, la producción de agua, riego, recreación, acuicultura y pesca (Paerl y Huisman, 2009). Se espera que muchos ecosistemas acuáticos que presentan estas floraciones por cianobacterias aumenten aún más en las próximas décadas, debido al crecimiento de la población humana, la intensa actividad agrícola y el cambio climático (Beaulieu *et al.*, 2005; Sinha *et al.*, 2017). Además, estos cambios podrían dar como resultado, el aumento de la incidencia, intensidad y duración de floraciones de cianobacterias en lagos, estanques y embalses (Huisman *et al.*, 2018).

Se ha identificado al género *Microcystis* como la más representativa en la formación de floraciones por cianobacterias en todos los continentes, excepto en la Antártida y a menudo se asocia con la producción de cianotoxinas como las microcistinas. Así mismo, el crecimiento de este organismo, al igual que otras cianobacterias están influenciadas por la temperatura, la luz y nutrientes, particularmente nitrógeno (N) y fósforo (P), lo que lleva a que su presencia esté directamente relacionada con ecosistemas eutrofizados (Harke *et al.*, 2016).

En el Perú existen registros de varias especies potencialmente tóxicas que conforman las floraciones por cianobacterias en especial *M. aeruginosa*, la cual ha sido reportada en diversos cuerpos de aguas como lagos, lagunas recreativas, ríos y en humedales costeros, muchos de los cuales se encuentran en condición de eutrofización (Martínez, 2018).

Las arcillas naturales son una forma muy prometedora y respetuosa con el medio ambiente, no tóxicas y económicas, que permite flocular y eliminar las células de algas potencialmente tóxicas (Sengco y Anderson, 2004). Además, se ha informado que las arcillas como la montmorillonita, la caolinita y el fosfatado son las más efectivas en la

eliminación de estas algas. Sin embargo, todavía existe la necesidad de identificar más arcillas eficaces; así como, determinar la eficiencia de la remoción de la arcilla, y la necesidad de desarrollar nuevas técnicas de modificación de arcilla que hacen que la técnica de arcillas puedan ser aplicable en aguas dulces (Shemesh *et al.*, 2021).

Aunque los estudios anteriores (Noyma *et al.*, 2016; Shemesh *et al.*, 2021) indicaron que las arcillas pueden ser eficaces en la eliminación de células de microalgas en una columna de agua, se deben realizar experimentos controlados que simulan la condición natural para facilitar estimaciones de la eficacia de la aplicación de arcilla en el campo (Xia *et al.*, 2021; Shemesh *et al.*, 2021). Las condiciones naturales pueden influir en cuatro procesos principales que deben tenerse en cuenta al evaluar si la arcilla puede mitigar las floraciones algales: floculación, advección, deposición y resuspensión (Ma *et al.*, 2014).

En el Perú no existen estudios que demuestran la actividad de remoción de la arcilla natural del Chak'ó sobre las poblaciones de *M. aeruginosa*, por lo que este sería el primer estudio sobre el control de esta cianobacteria potencialmente tóxica.

Con respecto al control de estas floraciones en el país son escasas, posiblemente falta de especialistas que puedan ayudar en la identificación taxonómica, escasez de apoyo económico y de profesionales dedicados a estudiar su ecología y los riesgos potenciales para el ecosistema. Además, no existen estudios que demuestran la actividad de remoción de la arcilla natural del Chak'ó sobre las poblaciones de *M. aeruginosa*. Por lo tanto, mitigar y controlar floraciones de cianobacterias es de gran importancia, por lo que se planteó evaluar la remoción de la cianobacteria potencialmente tóxica *Microcystis aeruginosa* usando la arcilla nativa del Chak'ó procedentes de Ocuwiri, Puno.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar el efecto en la remoción de biomasa de la cianobacteria potencialmente tóxica *M. aeruginosa* por la arcilla nativa del Chak'ó procedente de Ocuvi, Puno.

### Objetivos específicos

- Determinar la cinética de crecimiento de *M. aeruginosa* en medio de cultivo BG-11.
- Estudiar la característica fisicoquímica que presenta la arcilla del Chak'ó extraída de la localidad Ocuvi, Puno.
- Evaluar la eficiencia de remoción para la eliminación de la población de *M. aeruginosa* por las diferentes concentraciones de arcilla del Chak'ó extraída de la localidad Ocuvi, Puno.
- Determinar el efecto de tiempo de exposición de la arcilla del Chak'ó en la sedimentación de biomasa de *M. aeruginosa*.

# CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

## 1.1 Antecedentes

### 1.1.1. Internacionales

Kumari y Mohan (2021) en el estudio “Fundamentos de los minerales arcillosos y sus propiedades características”, tuvieron como objetivo definir los conceptos de arcilla y su naturaleza. En ella fueron definidos los minerales arcillosos como la caolinita, la esmectita, la clorita y las micas como componentes principales de materias primas de arcilla. Un gran número de arcillas fue utilizado para formar la estructura diferente, como los filosilicatos hidratados que tienen sílice, alúmina y agua que con cantidades de iones inorgánicos como  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$ . Los minerales arcillosos fueron descritos como láminas bidimensionales, tetraédricas ( $SiO_4$ ) y octaédricas ( $Al_2O_3$ ). Además, mostraron los diferentes minerales de arcilla que fueron clasificados en función de la presencia de capas tetraédricas y octaédricas en su estructura, como caolinita (1:1 de capas tetraédricas y octaédricas), grupo de arcilla como esmectitas (2:1 de capas tetraédricas y octaédricas) y clorita (2:1:1 de tetraédricas, capas tetraédricas y octaédricas). Las características más relevantes fueron el tamaño pequeño y su estructura cristalina distintiva. Los autores concluyeron que, respecto a las propiedades únicas que muestran estas arcillas, están ganando interés en diferentes campos como la biotecnología y la medicina.

Shemesh *et al.* (2021) en el estudio “Impacto del cocultivo en las tendencias de agregación y sedimentación de cianobacterias con minerales arcillosos nativos y modificados”, tuvieron como objetivo estudiar el efecto del cocultivo de heterocistos de la cianobacteria *Anabaena* PCC 7120 con arcillas naturales y arcillas recubiertas con óxidos de hierro ubicuos, materia orgánica natural (MON) y quitosano. En este estudio fueron cultivadas poblaciones de *Anabaena* sp. cedidos por la Universidad de Haifa, Israel. Fue usado el medio BG-11 para obtener biomasa de la cianobacteria y que fueron puestos en contacto con fracciones de arcillas. El crecimiento y la actividad de la cianobacteria fue monitoreada observando el contenido de clorofila y la producción de amoníaco. La extensión y la morfología de la agregación de la arcilla-cianobacteria fue evaluada midiendo la disminución de densidad óptica a lo largo del tiempo, seguimiento de cambios en el potencial zeta y caracterización

mediante microscopía. Los resultados revelaron que la cianobacteria cultivada en presencia de Ca-montmorillonita y caolinita nativa sufre solo un obstáculo menor en la tasa de crecimiento, pero experimenta una rápida sedimentación. La arcilla recubierta de ácido húmico solamente obstaculizó ligeramente el crecimiento, pero inhibió significativamente la sedimentación. Por el contrario, el quitosano y el recubrimiento de óxido de hierro causaron daño a la membrana celular y la muerte de la cianobacteria después de varios días. Por otro lado, el quitosano y las arcillas recubiertas de hierro fueron tanto bactericidas como excelentes floculantes. Por lo que los autores concluyeron que, estos hallazgos pueden avanzar y mejorar el diseño de la separación y eliminación de las cianobacterias en sistemas naturales.

Park *et al.* (2020) en la investigación “Estrategia de adsorción para la eliminación de especies de cianobacterias nocivas *Microcystis aeruginosa* utilizando fibra de quitosano”, tuvieron como objetivo aplicar quitosano para eliminar células de *M. aeruginosa* a partir de fases acuosas. Este estudio fue desarrollado en la División de Ciencias Ambientales de la Universidad de Seúl, Korea. La parte experimental consistió en fabricar el quitosano que fue elaborado como un sorbente de fibra (fibra de quitosano, FC) y que fue agregado en dosis de 300 mg/L a las muestras de *M. aeruginosa* determinando la eficiencia de eliminación. Para evaluar la significancia estadística entre los grupos de datos experimentales y de control, fue utilizada la prueba T de Student. Los resultados demostraron que la estructura del FC permitió eliminar casi el 89% de las células de cianobacterias, en comparación con las del grupo de control. La microscopía electrónica de barrido de emisión de campo demostró que las células de *M. aeruginosa* estuvieron adheridas principalmente a la superficie del sorbente, que fue correlacionada con la medición del área superficial de la fibra. Los autores concluyeron que, el FC podría ser una solución segura y ecológica para controlar a esta cianobacteria presente en los recursos hídricos contaminados.

Peng *et al.* (2019) en el estudio “Eliminación de cianobacterias por un floculante a base de suelo rojo y su efecto sobre el zooplancton: un experimento con recintos profundos en un embalse tropical en China”, tuvieron como objetivo aplicar suelos modificados en un sistema experimental, buscando probar la eficiencia de eliminación de diferentes especies de cianobacterias y su influencia en la comunidad de fitoplancton; así como el tiempo de

recuperación de las cianobacterias. En esta investigación fueron instalados doce recintos en el embalse del mesotrófico tropical en el sur de China. Durante el período experimental, la temperatura del agua osciló entre 28,4 y 30,4 °C, el valor de pH osciló entre 6,2 y 7,8, la turbidez osciló entre 241,2 y 335,4 NTU y la salinidad fue estable en 0,04 mg/L. El floculante estuvo compuesto por suelo rojo, quitosano y FeCl<sub>3</sub> (cloruro de hierro). Para detectar el efecto del floculante en los tratamientos fue usado el análisis de la varianza de medidas repetidas. El paquete estadístico utilizado fue el SPSS v. 15. Los resultados mostraron que el floculante a base de suelo rojo puede eliminar significativamente biomasa de cianobacterias y reducir las concentraciones de nutrientes, incluidos nitrógeno total, nitrato, amoníaco, fósforo total y ortofosfato. Las biomasas de *Microcystis* spp. y *Anabaena* spp. fue reducido de manera más eficiente (95 y 50 %) que otros organismos filamentosos. Los autores concluyeron que, la tierra roja es el floculante efectivo para tratamientos urgentes a escala local en sistemas dominantes de cianobacterias.

Wan *et al.* (2019) en el estudio “Estrategia de cianobacterias formadoras de floraciones (*Dolichospermum* y *Microcystis*) y su papel en su sucesión”; tuvieron como objetivo principal fue estudiar las respuestas *in situ* de las cianobacterias frente al estado de fósforo ambiental (P) durante la transición de *Dolichospermum flosaquae* Brébisson ex Bornet y Flahault a *Microcystis* spp. en el lago Taihu y el lago Chaohu. Para realizar este estudio fue tomado muestras de agua de estos dos lagos de la China en el año 2018, de donde fueron extraídas estas dos microalgas y realizaron su cultivo usando el medio BG-11 a 25 °C. Para detectar la acumulación de los polifosfatos en las microalgas fue aplicado a las incubaciones la solución de DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) (concentración final 15 µM). Los datos fueron correlacionados con la prueba de Pearson utilizando el software SPSS 18.0. Los resultados demostraron que *D. flosaquae* experimentó deficiencia de P según la detección cualitativa de fosfatasa extracelular a través de la enzima fluorescencia marcada (ELF). El porcentaje de células de *D. flosaquae* marcadas con ELF fue del 33 % cuando dominaba la comunidad de fitoplancton, y fue del 78 % cuando co-dominó con *Microcystis* spp. La forma en que se produjo la acumulación de PPB en *Microcystis* spp. en respuesta a la disponibilidad de P en los cultivos fue similar a la observada en campo, demostrando una estrategia de conservación de energía sobre la acumulación de P. Los autores concluyeron que la limitación de nutrientes fue determinada a nivel de población y que la disponibilidad de

nutrientes impulsó cambios entre el dominio del fitoplancton, que a su vez reflejó el nutriente limitante.

Crettaz (2018) en la investigación “Estudio del crecimiento de *Microcystis aeruginosa* y de la producción de microcistina en cultivo de laboratorio”; tuvieron como objetivo estudiar la influencia de los parámetros fisicoquímicos sobre el crecimiento, producción de clorofila y la toxina microcistina-LR (MC-LR) de *M. aeruginosa*. La parte experimental con la cianobacteria incluyeron ensayos de cinética de crecimiento y la producción de microcistinas, para lo cual fueron aislados estos microorganismos de la localidad de Pila, Buenos Aires-Argentina. Esta investigación contó con un diseño factorial que estuvo compuesto por el factor temperatura a niveles de 26, 30 y 36 °C, el factor irradiación luminosa y la relación de nutrientes N y P a niveles de 10, 100 y 150. Además, fue determinada la cantidad de células de la cianobacteria, el contenido de pigmento (Clorofila-a) y de la toxina. Los datos obtenidos fueron evaluados a través del análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y el test de comparación de pares de Tukey ( $p < 0,05$ ) empleando el programa Systat 5,0. Los resultados demostraron que la tasa de crecimiento poblacional fue afectada por la exposición a 26 °C ( $\mu = 0,20$  a  $0,38d^{-1}$ ) y a 30 °C ( $\mu = 0,22$ - $0,36d^{-1}$ ), mientras que a 36 °C no fue observado efecto significativo ( $p > 0,05$ ). El autor concluyó que, los parámetros de crecimiento, producción de clorofila-a y microcistina fueron afectados por la temperatura y la relación N y P.

Ito *et al.* (2018) en la investigación “Reducción del crecimiento de *Microcystis aeruginosa* mediante solución de elución de bolas de arcilla”; tuvieron como objetivo evaluar los efectos de la arcilla y del cemento en la cianobacteria *Microcystis* y la diatomea *Achnanthydium minutissimum*. Para realizar este estudio fueron fabricadas bolas de arcilla de caolín de color oscuro extraída de Kibushi, Japón. Los componentes principales de la arcilla Kibushi fueron 58,6 % de SiO<sub>2</sub>, 25,5 % de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 1,67 % de K<sub>2</sub>O, 1,17 % de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0,25 % de MgO, 0,17 % de CaO y 0,13 % de Na<sub>2</sub>O, mientras que las bolas de cemento fueron realizadas a partir de cemento Portland tipo I. Los microorganismos fueron adquiridos de la Colección de Cultivos Microbianos del Instituto Nacional de Estudios Ambientales, Tsukuba, Japón. Posteriormente, los microorganismos fueron incubados por un mes con las bolas de arcilla y cemento a pH 7,0 y a 25 °C. Los resultados mostraron que la incubación con bolas de

arcilla generó una disminución en dos tercios de la tasa de crecimiento de *Microcystis* en comparación con la incubada sin bolas de arcilla. Los autores concluyeron que la reducción en el crecimiento de *Microcystis* fue debida a un efecto combinado del silicato y otros compuestos químicos eluidos de las bolas de arcilla.

### **1.1.2. Nacionales**

Cañazaca y Ramos (2022) en la investigación “Remoción de arsénico de agua subterránea empleando arcilla natural (Chaco) del Altiplano Peruano”; tuvieron como objetivo adsorber el arsénico del agua subterránea usando arcilla nativa. El estudio presentó un diseño experimental con enfoque cuantitativo, en el que utilizaron el diseño factorial 2x3x3 a fin de observar los efectos de los factores. Las muestras de arcillas recolectadas fueron secadas a 100 °C para ser tamizadas con malla N° 60. Las muestras de agua fueron tomadas de pozos tubulares de la localidad de Taparachi, Puno. Posteriormente, fueron mezcladas las muestras de agua y la arcilla de las localidades en concentraciones de 18 g/L. Los datos fueron procesados con el software SPSS v21. Los resultados obtenidos en la remoción de arsénico para la localidad de Asillo fueron de 69,9 %, mientras que para Conima fue de 82,81 % a condiciones de pH 5,0 y a tiempo de contacto de 90 min. Los autores concluyeron que, la arcilla natural sin ninguna modificación remueve arsénico de las aguas subterráneas en el altiplano peruano, recomendándolo realizar más estudios en este tipo de arcilla.

Álvarez (2019) en la investigación “Extracción de la fracción arcilla del Chak’o con extracto acuoso de *Lepechinia meyenii* y su caracterización de texturas y estructuras”; tuvo como objetivo obtener la porción de arcilla del Chak’o a partir del extracto ancestral de *Lepechinia meyenii*, además, determinar su caracterización física. Las muestras de arcilla fueron extraídas de yacimientos al noreste de la provincia de Melgar, Puno. Fueron aplicados dos métodos para extraer la arcilla, la primera (A) fue por el método de Stokes y la otra arcilla extraída (B) usando *Lepechinia meyenii*. Los resultados mostraron que el método B fue el más eficiente en tiempo de obtención, ahorro energético y uso de reactivos. Las extracciones estuvieron en el orden de 48,98 % para el método A y 30,75 % para B. El análisis de textura practicado a las arcillas mostró un área superficial de 53,61 m<sup>2</sup>/g; así como una capacidad de intercambio catiónico de 54,60 meq/100g, que lo ubican dentro del tipo de arcilla sódica.

El análisis por microscopía electrónica de barrido de la arcilla mostró un carácter laminar y un tamaño de partícula en promedio de  $24,54 \pm 3,37$  nm. El autor concluyó que, a base de ambos métodos se logró sintetizar una nanoarcilla con características secuestrantes para elementos variados de tipo orgánico e inorgánico.

Martínez (2018) en la investigación “Evaluación del potencial alelopático de la pajilla de arroz en el control de las floraciones algales producidas por *Microcystis aeruginosa* (Kützing)”, tuvieron como objetivo estudiar el efecto de la pajilla de arroz en el control de floraciones algales. Este estudio presentó un diseño experimental con un enfoque cuantitativo y fue desarrollado en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la UCSS en el año de 2016. Los tratamientos planteados consistieron en exponer cultivos de la cianobacteria en fase exponencial a porciones 0,1; 1,0 y 10 g de pajilla de arroz, siendo evaluada la inhibición de esta cianobacteria por la actividad alelopática de la pajilla de arroz. Además, estudió la acción de los parámetros pH, temperatura, nitrógeno total, fósforo total y crecimiento del alga. Los resultados obtenidos demostraron la actividad alelopática de hasta un 100 % sobre las poblaciones de *M. aeruginosa* en su forma colonial. La concentración óptima de inhibición fue de  $1,0 \text{ g.L}^{-1}$  de pajilla de arroz. El autor concluyó que, con base en los resultados la pajilla de arroz es útil para el control biológico de la cianobacteria tóxica *M. aeruginosa*.

## **1.2 Bases teóricas especializadas**

### **1.2.1. Arcilla**

Se ha definido a la arcilla como un material natural constituido por una cantidad de minerales muy finos, que generalmente es moldeable en presencia de agua que se endurecerá si es secado o cocido. Por esta definición, las arcillas sintéticas y los materiales arcillosos no se consideran arcillas, aunque pueden ser de grano fino y mostrar los atributos de plasticidad y endurecimiento en el secado y la cocción. El tamaño de la partícula es una condición para establecer el carácter que define a la arcilla. En pedología, por ejemplo, la “fracción de arcilla” está referida al material cuyas dimensiones son menores a 2 mm de diámetro esférico equivalente. En geología, sedimentología y geingeniería, el límite de tamaño se establece

comúnmente en menor en 4 mm (Moore y Reynolds, 1997), mientras que en la ciencia coloidal el valor menor a 1 mm es generalmente aceptado. De hecho, Weaver (1989) sugirió que el término “arcilla” solamente debería utilizarse en el sentido de textura para indicar material que es más fino que 4mm.

Para Bergaya y Lagaly (2013), operacionalmente, la “plasticidad” puede definirse como la capacidad (de un material arcilloso) de moldearse en una determinada forma sin romperse cuando se aplica tensión, y de que esta forma se conserve después de la tensión. Sin embargo, en la industria cerámica, la plasticidad es comúnmente medida en términos del “agua de plasticidad” (límites líquido y plástico). En ingeniería, la plasticidad se mide o se expresa en términos del “índice de plasticidad”. Como regla general, una arcilla con un índice de plasticidad >25 % tendería a expandirse o hincharse cuando está húmedo. En las aplicaciones industriales de las arcillas, se distinguen cuatro tipos de arcillas:

- (a) Bentonitas, con montmorillonita como principal constituyente del mineral arcilloso
- (b) Caolines, que contienen caolinita
- (c) Paligorskita y sepiolita
- (d) Arcillas comunes, que a menudo contienen minerales de capa mixta illita-esmectita, ampliamente utilizado para la cerámica.

Siendo los tipos de arcilla más importantes:

#### **a) Bentonita**

La bentonita es una forma impura de arcilla de filosilicato de aluminio que consiste en un 98 % de montmorillonita y se produce por división *in situ* de cenizas volcánicas o por meteorización mecánica y química de la roca madre, con mayor frecuencia en presencia de agua. La composición química de cada celda unitaria está representada como  $[(Al_{3,02} Mg_{0,50} Ca_{0,06} Fe_{0,18} Ti_{0,22}) O_{20} (OH)_4]$ . Este es un mineral versátil por su estructura plaquetaria, donde cada plaqueta consta de una capa de óxido de silicio tetraédrico en la que se intercala algo de silicio, reemplazado por cationes trivalentes entre dos capas octaédricas de óxido de aluminio en las que el aluminio se reemplazó por cationes divalentes (Murray, 2006).

Los diferentes tipos de bentonita se encuentran en función de su respectiva dominante, como potasio (K), sodio (Na), calcio (Ca) y aluminio (Al). Para fines industriales, existen tres clases principales de bentonita: sodio, calcio y bentonita potásica, y que se explican a continuación:

***Bentonita de sodio:*** La bentonita de sodio se expande en condiciones húmedas donde absorbe el agua tanto como varias veces es su masa seca. Por su excelente propiedad coloidal, a menudo se utiliza en lodos de perforación para pozos de petróleo y gas y también en perforaciones para investigaciones geotécnicas y ambientales. Debido a su capacidad de hinchamiento, la bentonita de sodio se utiliza como sellador, ya que ofrece un auto sellado y una baja barrera de permeabilidad (Kumari y Mohan, 2021).

***Bentonita de calcio:*** La bentonita de calcio se considera un adsorbente útil para iones, grasas y aceites. Es conocido como el principal componente activo de la tierra de batán y probablemente uno de los primeros agentes de limpieza industrial. La bentonita cálcica puede ser convertida en bentonita de sodio (denominada beneficio de sodio o activación de sodio) por proceso de intercambio iónico y muestra muchas de las propiedades de la bentonita de sodio. Por lo tanto, algunas propiedades de la bentonita de calcio beneficiada con sodio (o bentonita activada con sodio), como la viscosidad y la pérdida de fluido de las suspensiones, pueden no ser completamente comparables con las de la bentonita de sodio natural (Kumari y Mohan, 2021).

***Bentonita potásica:*** También conocida como bentonita potásica o bentonita K. Esta bentonita de potasio se forma a partir de la alteración de la ceniza volcánica y se considera como arcilla ilítica rica en potasio (Kumari y Mohan, 2021).

## **b) La caolinita**

La caolinita es un mineral de arcilla 1:1 con fórmula química  $\text{Si}_4\text{Al}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$ . Las rocas que se encuentran ricas en caolinita se identifican como caolín o caolín. La caolinita se deriva del caolín, que es muy común y es una corrupción del Jailing chino (Pinyin; Wade-Giles

romanización Kao-ling), que significa “cresta alta”. La meteorización química del silicato de aluminio, como el feldespato, da como resultado la formación de un mineral terroso blando, generalmente blanco (arcilla de filosilicato dioctaédrico).

La dickita y la nacrita son formas raras de caolinita, que son químicamente similares a la caolinita, pero de naturaleza amorfa. Se encuentra que la caolinita es electrostáticamente neutra y tiene simetría triclinica. El enlace de hidrógeno se encuentra entre los átomos de oxígeno y los iones de hidroxilo de las capas que están emparejadas. Dado que los enlaces de hidrógeno son débiles, los movimientos aleatorios entre las capas son bastante usuales y dan como resultado una cristalinidad más baja de los minerales de caolinita que la de la caolinita triclinica. La estructura ideal de la caolinita no tiene carga. Por lo tanto, la estructura de la caolinita se fija debido al enlace de hidrógeno; no hay expansión entre las capas o tienen baja capacidad de contracción-hinchamiento cuando la arcilla se humedece.

La caolinita no se hincha en agua y tiene áreas superficiales y capacidad de intercambio catiónico bajas (< 1 centimol/kg). Debido a la baja área superficial y la poca sustitución isomorfa, la caolinita tiene una baja capacidad para absorber los iones. Las capas compuestas de caolinita tienen un espesor de 7 Å y el espacio entre capas/eje también es de 7 Å. La dickita y la nacrita son formas politípicas de caolinita que consisten en una doble capa 1:1 y tienen simetría monoclinica. La dickita y la nacrita se diferencian por diferentes secuencias de apilamiento de las dos capas de silicato 1:1 (Perry, 2011).

El mineral Halloysita que tiene una estructura de capa 1:1 como caolinita tiene una sola lámina de moléculas de agua entre dos capas con espaciado entre capas de 10,1 Å que lo hace diferente de la caolinita. Se ilustra por su forma tubular en contraste con la forma laminar de las partículas de caolinita. La deshidratación ocurre con el calentamiento suave de Halloysite y se transformará irreversiblemente en caolinita. La haloisita posee una forma hidratada con una composición de  $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , la cual cambia irreversiblemente a una variedad deshidratada principalmente a temperaturas relativamente bajas (60 °C) o al ser dirigida a condiciones de baja humedad relativa. La forma deshidratada de Halloysita tiene un espaciado basal con el espesor de una capa de caolinita (aproximadamente 7,2 Å),

mientras que el espaciado basal de la forma hidratada es de aproximadamente 10,1 Å. La diferencia de 2,9 Å se debe al espesor de una lámina de agua. En consecuencia, en forma hidratada, las capas de haloisita están separadas por capas monomoleculares de agua que se pierden durante la deshidratación (Perry, 2011).

**Serpentina:** La serpentina es un grupo de minerales de silicato hidratados ricos en magnesio y un mineral formador de roca común que tiene la composición  $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$ . La serpentina generalmente aparece en tres formas polimórficas: crisotilo, un tipo fibroso utilizado como asbesto; antigorita, existe una variedad en placas corrugadas o fibras; y lizardita, una variedad platy de grano muy fino. La serpentina suele ser grisácea, blanca o verde (debido a que el hierro reemplaza al magnesio) pero puede ser amarillo (crisotilo) o verde azulado (antigorita). La formación de serpentina tiene lugar por debajo de los 500 °C (930 °F) (Kumari y Mohan, 2021).

**Vermiculita:** La vermiculita también pertenece al grupo 2:1 de minerales arcillosos donde una hoja octaédrica se produce entre dos hojas tetraédricas. La mayoría de las vermiculitas están dominadas por aluminio (Al), mostrando una estructura dioctaédrica. La vermiculita se conoce como mineral de filosilicato que sufre una expansión sustancial cuando se calienta, así mismo, los resultados en la exfoliación y los hornos comerciales pueden generar rutinariamente este efecto. Vermiculita es formada por la meteorización o modificación hidrotermal de biotita o flogopita. La vermiculita se describió por primera vez en 1824 en Millbury, Massachusetts. Su nombre se deriva de la palabra latina, vermiculare, “criar gusanos”, por la forma en que se exfolia cuando se calienta (vermiculita). El mineral de arcilla Vermiculita, tiene una carga muy negativa debido a la mayor sustitución de  $Al^{3+}$  en lugar de  $Si^{4+}$  da como resultado una densidad de carga de capa alta (entre 0,6 y 0,8 por unidad) que es más alta que el grupo esmectita del mineral arcilloso (Kumari y Mohan, 2021).

### **Capacidades de intercambio catiónico y áreas superficiales específicas de minerales arcillosos**

Las capacidades de intercambio catiónico y sus áreas superficiales se describen en la Tabla 1:

**Tabla 1***Capacidades de intercambio catiónico y sus áreas superficiales*

<b>Mineral</b>	<b>CIC (meq/100 g)</b>	<b>Área superficial (m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>)</b>
Caolinita	3-15	5-40
Halloysita	40-50	1100
Illita	10-40	10-100
Chlorita	10-40	10-55
Vermiculita	100-150	760
Esmectita	80-120	40-800
Sepiolita	3-20	40-180
Allophano	30-135	2 200
Imogolita	20-30	1540

*Nota:* Elaboración propia a partir de Kumari y Mohan (2021). Basics of clay minerals and their characteristic properties. DOI:10.5772/intechopen.97672.

### **Definición y propiedades de la arcilla**

Los minerales arcillosos son minerales secundarios cristalinos muy pequeños y que se han formado debido a la descomposición química de algunos minerales formadores de rocas. Los grupos comunes de minerales arcillosos incluyen a la caolínita, illita y montmorillonita. La caolinita se compone de placas de sílice y alúmina en forma alternada y conectados muy fuertemente. La montmorillonita tiene capas hechas de dos placas de sílice y una placa de aluminio. Los enlaces entre estas capas son muy débiles, por lo que grandes cantidades de agua pueden entrar fácilmente en la estructura y separarlos. La illita está formada por dos placas de sílice y una placa de aluminio. La illita tiene capas similares a las de la montmorillonita, pero contiene iones de potasio entre cada una de estas capas (Kumari y Mohan, 2021).

Las arcillas se presentan en partículas de pequeño tamaño (<0,002mm). Por lo tanto, los minerales arcillosos no se pueden ver a simple vista, siendo necesaria una imagen de microscopía electrónica de barrido (MEB) para su estudio científico (Ural, 2021). En general, la forma de las arcillas es similar al plato. Debido a la forma de la arcilla, la relación de masa de la superficie es bastante grande. Esta relación se conoce como la superficie específica. El área superficial específica de la arcilla es más grande, por lo que este estado

provoca más área de contacto entre las partículas y el desarrollo de fuerzas entre partículas. La carga eléctrica en la arcilla interactúa con el dipolo de agua; finalmente, la arcilla absorbe más agua. Así, los suelos arcillosos, especialmente con agua, causan problemas tales como asentamiento excesivo y cambio de volumen (Murray, 2006).

Ya que los procesos físicos de la arcilla están directamente relacionados con superficies, el área superficial específica es importante para estudios de la arcilla. Sin embargo, para identificar las arcillas, el análisis de difracción de rayos X (XRD) es el más recomendado y se debe realizar un área de superficie específica. El análisis XRD permite la identificación de diferentes minerales con diferentes estructuras cristalinas (Murray, 2006).

Debido a los campos de fuerza desequilibrados en las superficies de minerales arcillosos, existen interacciones fisicoquímicas entre agua, iones disueltos y minerales arcillosos. La interacción de estas fuerzas afecta el comportamiento de ingeniería de los suelos y la microestructura de las arcillas. Como la superficie de la arcilla tiene carga negativa, la molécula de agua, que es un dipolo, es atraída hacia la superficie. Esta interacción adsorbida forma la base física de la estructura del suelo. Debido a la interacción de las arcillas con agua absorbida, la presencia de diferentes iones, diferentes materiales orgánicos y diferentes componentes crean diferencias en las estructuras del suelo (Kumari y Mohan, 2021).

### **Propiedades microestructurales de la arcilla**

Los minerales de arcilla se recolectan de diferentes maneras para formar arcilla. Así, en los suelos las partículas de arcilla van a generar interacciones de rechazo entre sí electrostáticamente, dependiendo de la concentración de iones y la distancia intergranular. Simultáneamente, una partícula de arcilla está bajo la influencia de una atracción debido al enlace de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals y otros enlaces químicos. Las partículas pueden atraer (agrupar) o empujarse (dispersarse) entre sí. En ingeniería geotécnica, la estructura del suelo es definida por la disposición geométrica de las partículas del suelo y las fuerzas entre estas partículas (Kumari y Mohan, 2021).

### **Tipología de la arcilla**

Respecto a la tipología de la arcilla, tal como indica Zea (2005), estas se hallan en la naturaleza y están constituidas por unos minerales de origen primario y por otros de origen secundario. Los minerales primarios son los que existían en las rocas ígneas que dieron lugar a la arcilla, y que han llegado a nuestros días sin sufrir alteración apreciable en su composición. Los minerales secundarios se han formado por las diversas acciones de la descomposición química de los minerales originales.

Las arcillas se clasifican, a su vez, en residuales y sedimentarias. Las primeras se hallan en el lugar en que fueron formadas, o a lo sumo han sufrido un transporte muy limitado. En estas arcillas existen, con frecuencia, grandes proporciones de minerales primarios. Las arcillas sedimentarias, que han sido transportadas a grandes distancias y depositadas una o más veces a lo largo de su historia, contienen, por lo general, menor proporción de minerales primarios.

### **Área geográfica de la arcilla según su origen**

Según la investigación de Cañazaca y Ramos (2022) se indica que las arcillas se encuentran en muchos yacimientos del altiplano peruano-boliviano, principalmente en las comunidades de Ácora, Asillo, Azángaro, Ocuvi, Tiquillaca en Perú, y Achocalla, Mocomoco y Andamarca en Bolivia.

Asimismo, de acuerdo a la recomendación de la investigación de Alvarez (2019), la extracción de la arcilla Chak'ó fue realizada en la localidad Melgar-Puno, debido a que previamente se cuenta con la caracterización fisicoquímica de la arcilla. La composición de la arcilla Chak'ó es tipo esméctica y de color blanquecina.

#### **1.2.2. Análisis de la arcilla a través de la microscopía electrónica de barrido (MEB)**

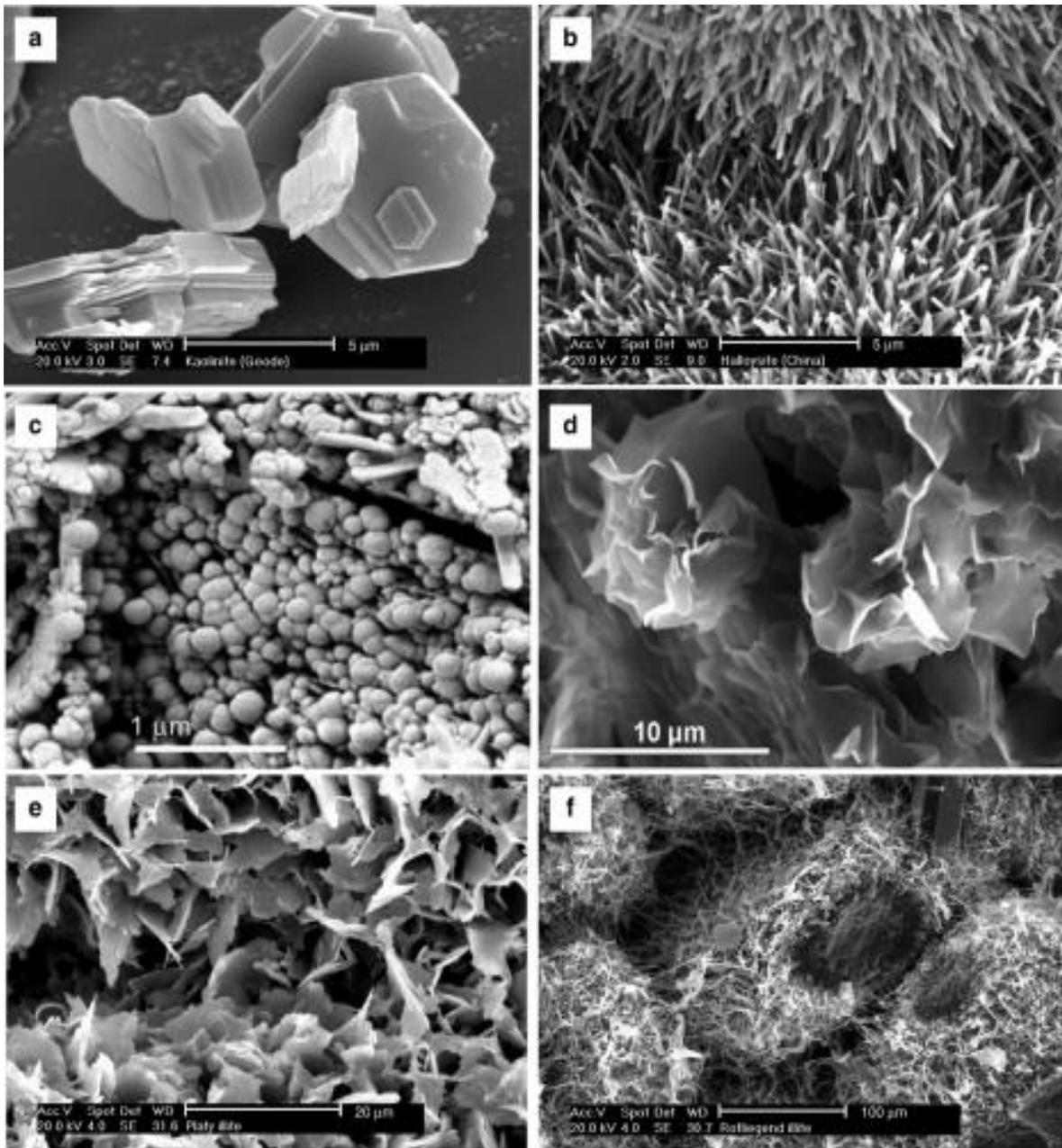
El MEB genera las imágenes ampliadas del tamaño, forma, composición, cristalografía y otros procesos físicos y propiedades químicas de una muestra (Figura 1). La MEB ofrece la oportunidad de analizar el material a ser examinado con un haz de electrones generado en

un entorno de vacío y adelgazado con lentes electromagnéticas generando una imagen de alta resolución. Las imágenes que se encuentran en el microscopio se crean contando las reflexiones o electrones reflejados por la interacción del haz de electrones con el material (Ural, 2021).

El instrumento de la MEB comprende la consola electrónica y la columna de electrones. Además, hay controles e interruptores que van a generar variaciones en la cantidad de energía (voltaje), enfoque e incremento de la imagen; así como el brillo y contraste de lo observado en la consola. Se accede a todos los controles primarios mediante una computadora. Las imágenes capturadas se guardan en formato digital. El haz de electrones se genera bajo vacío, enfocado a un diámetro pequeño y escaneado a través de la superficie de un espécimen por bobinas de deflexión electromagnética en la columna de electrones. Las MEB cuentan con instalaciones para detectar electrones secundarios y retrodispersados y conocer la ubicación es esencial. Por lo general, un lado de la cámara se ubica el detector de rayos X móvil. Además, el uso de un dispersor de energía permite determinar el espectrómetro de rayos X (ERX) con la composición elemental de la MEB (Ural, 2021).

## Figura 1

*Imágenes de arcillas por microscopía electrónica de barrido*



*Nota.* Adaptada de “The significance of scanning electron microscopy (SEM) analysis on the microstructure of improved clay: An overview” (p. 202), por Ural (2021). *Open Geosciences*; 13: 197–218.

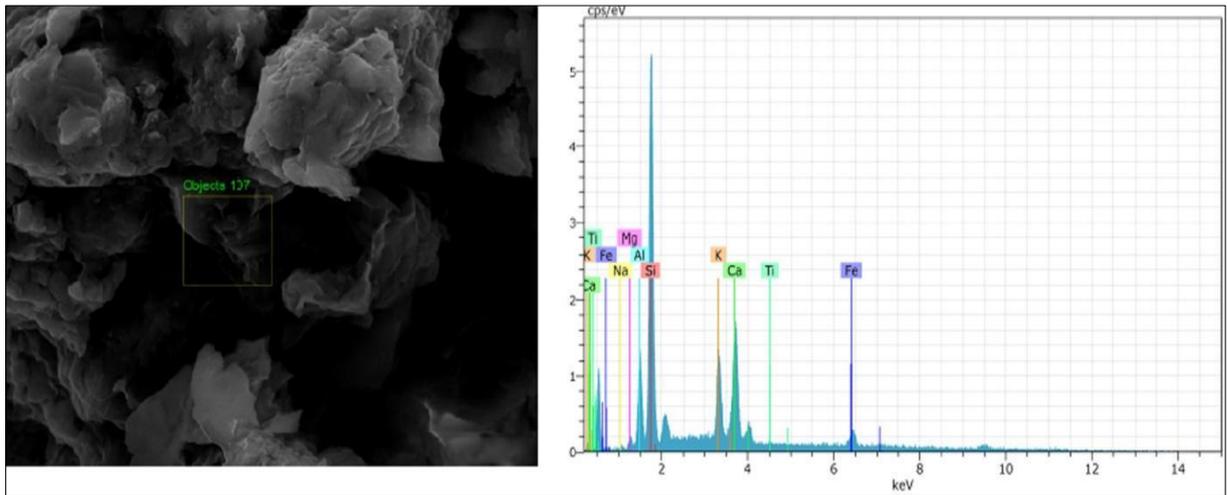
## Espectrometría de rayos X

La espectrometría de rayos X (ERX) utiliza el espectro de rayos X emitido por una muestra sólida bombardeada con un haz enfocado de electrones para localizar un elemento químico. Así, al obtener imágenes electrónicas por el MEB se pueden obtener un mapeo de elementos y análisis de puntos. De este modo se pueden hacer análisis cualitativos y cuantitativos con

un escaneo de punto, línea y área determinado por ERX (Figura 2). Por esta razón, muchos investigadores hacen el análisis elemental de los puntos o regiones que eligen mientras hacen análisis por MEB (Gira *et al.*, 2017)

## Figura 2

*Imagen de arcilla al microscopio de barrido y análisis por espectroscopía de rayos X*



*Nota.* Adaptado de “The significance of scanning electron microscopy (SEM) analysis on the microstructure of improved clay: An overview” (p. 203), por Ural (2021). Open Geosciences, 13(1).

### 1.2.3. Minerales asociados a arcillas

La fracción arcillosa de los suelos y sedimentos (que generalmente presentan partículas con tamaños menores a 2 mm) a menudo contiene minerales como carbonatos, feldespatos y cuarzo, junto con los hidróxidos de hierro y aluminio. Por la falta de plasticidad que no imparten a la arcilla, se les denomina minerales no arcillosos. Mientras los “minerales asociados” presentan una asociación muy marcada con los filosilicatos de la arcilla, por lo tanto, obstruye con su identificación. La presencia de minerales asociados en depósitos de arcillas naturales también reduce el valor comercial del recurso, por estas razones, mucho esfuerzo se ha gastado en la purificación de arcillas crudas y la síntesis de minerales arcillosos “puros” (Dixon y Weed, 1989).

### Minerales de arcilla y medio ambiente

El interés de las arcillas no solo radica en el material, sino también en su interacción con sustancias extrañas (es decir, en el medio ambiente). Esta interacción está influenciada por

muchos factores, como el carácter ácido-básico (pH y fuerza iónica) y las condiciones termodinámicas (presión y temperatura) del medio circundante. Además, la interacción entre los minerales arcillosos y otros compuestos en el medio ambiente puede ocurrir en diferentes estados de la materia (sólido, sólido fundido, líquido, gas y plasma) (Bergaya y Lagaly, 2013).

#### **1.2.4. Características de la arcilla del Chak'ó**

Los estudios realizados por Castillo *et al.* (2014) sobre las propiedades fisicoquímicas de la arcilla de Chak'ó revelaron que estas arcillas presentan como principales componentes a la sílice (54,4 %) y al aluminio (23,4 %). Posteriormente, García *et al.* (2006) comunicaron que fueron realizados estudios por el Instituto Geológico, Minero y Metalúrgico (INGEMMET) en Lima, encontrándose valores altos de montmorillonita en la localidad de Ccapalla (> 50 %) y menor cantidad en la localidad de Ácora (<30,0 %), otros minerales reconocidos fueron la caolinita, halloysita e illita. En la Universidad Complutense de Madrid realizaron la caracterización mineralógica de la arcilla del Chak'ó por la técnica de difracción, alta microscopía, encontrando a estas arcillas muy homogéneas y compactas, siendo formadas por placas de esmectita dioctaédrica con láminas menores de 1,0  $\mu\text{m}$  (García *et al.* 2006). Este carácter diminuto de la partícula y su delaminación son los generadores de su alta superficie externa de la arcilla. Esta elevada superficie externa permite, a su vez, una alta capacidad de adsorción de distintas moléculas orgánicas unidas por enlaces no saturados que permiten interacciones con sustancias polares, como una gran variedad de toxinas. Además, su estructura presenta un gran número de centros ácidos que favorece su poder secuestrante, lo que la hace una partícula potencial en la captura de contaminantes (Castillo y Frisancho, 2015).

#### **1.2.5. Control de floraciones algales usando arcilla**

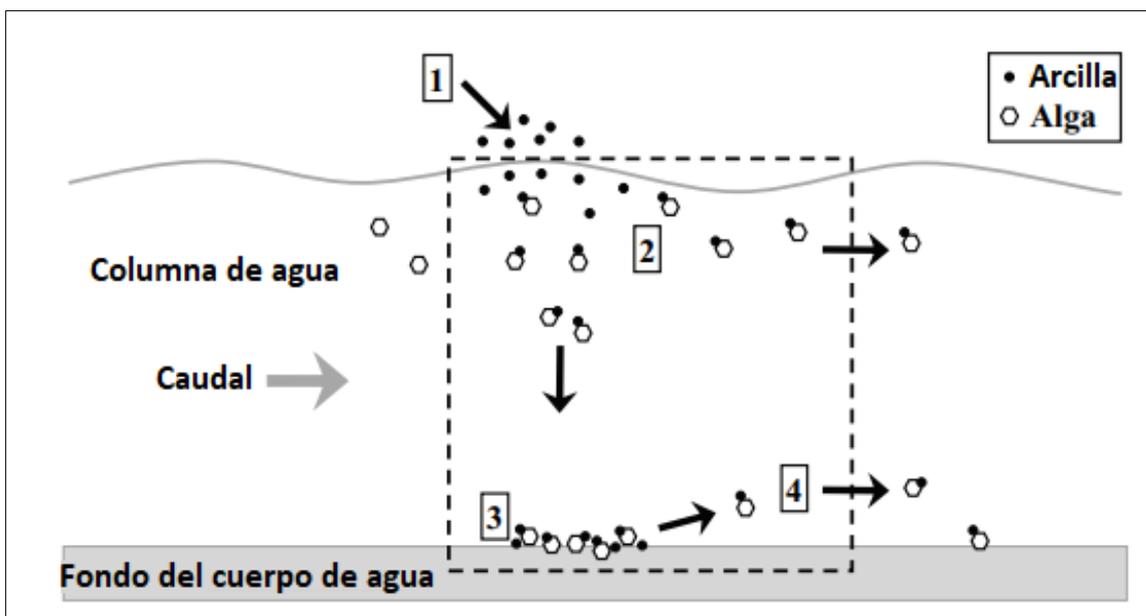
En los últimos 25 años, las arcillas han sido investigadas en varios países como un medio de eliminar las algas dañinas de la columna de agua en diferentes latitudes como Japón, Corea del Sur y Australia (Shirota, 1989; Yu *et al.*, 1994; Bae *et al.*, 1998 y Atkins *et al.*, 2001). La sedimentación rápida de las células de algas puede ser causada por la floculación de células de algas por partículas de arcilla, por la pérdida de motilidad de las células de algas

debido a las interacciones fisicoquímicas con las partículas de arcilla. Al acumularse en una capa de flóculos en el fondo del mar, las células de algas quedarían atrapadas entre las partículas de arcilla, resultando probablemente en la muerte celular (Sengco *et al.*, 2001). Una amplia variedad de estudios de laboratorio en sistemas estáticos (es decir, agua sin gas) han confirmado que las arcillas pueden eliminar eficazmente células de algas de la columna de agua. Los primeros estudios en tubos de ensayo demostraron que la floculación de arcilla/algas era influenciada por el tipo de mineral, especies de algas, y concentración de partículas de algas y arcilla (Soballe y Threlkeld, 1988). Los estudios de laboratorio con especies de algas nocivas demostraron nuevamente que algunos minerales de arcilla fueron más efectivos para eliminar células de la columna de agua (Sengco *et al.*, 2001).

Estudios realizados por Sengco *et al.* (2001) indicaron que las arcillas pueden ser eficaces en la eliminación de células de algas de una columna de agua estática, se deben realizar experimentos controlados que simulen las condiciones de flujo natural para facilitar estimaciones de la eficacia de la aplicación de arcilla en el campo. Las condiciones de flujo pueden influir en cuatro procesos principales que deben tenerse en cuenta al evaluar si la arcilla puede mitigar las floraciones algales: floculación, advección, deposición y resuspensión, tal como se aprecia en la Figura 3.

### Figura 3

*Escenario de floculación, deposición y resuspensión de la arcilla y las algas*



*Nota.* El cuadrado punteado indica un volumen de estudio en el que los impactos ambientales son monitoreados. (1) Se rocía arcilla sobre la superficie del agua. (2) Arcilla y algas unicelulares flocculan en la columna de agua; algunos flóculos se desplazan lateralmente fuera del volumen de estudio. (3) Los flóculos de arcilla/algas se asientan y acumulan en el fondo del cuerpo de agua. (4) Incrementado el flujo que conduce a la resuspensión y advección lateral de los flóculos. Imagen adaptada de “Using clay to control harmful algal blooms: deposition and resuspension of clay/algal flocs” (p. 124) por Beaulieu *et al.*, 2005. *Harmful algae* 4: 123–138.

La floculación, o la formación de agregados de arcilla/algas (flóculos), resultarían del contacto de partículas (colisión) seguida de adhesión. La tasa de partícula contacto, en el caso de la floculación de arcilla/algas, estaría influenciada por la intensidad de la turbulencia, el asentamiento diferencial de partículas y flóculos, y la motilidad de las células algas (Sengco *et al.*, 2001). Los estudios de laboratorio (Soballe y Threlkeld, 1988 y Sengco *et al.*, 2001). de especies de algas nocivas demuestran que algunos tipos de arcilla son más efectivos para eliminar células de la columna de agua y se deben realizar experimentos controlados que simulen las condiciones de flujo natural para facilitar estimaciones de la eficacia de la aplicación de arcilla en el campo.

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

### **2.1 Descripción de la investigación**

El estudio fue de tipo aplicado, porque a través de conocimientos adquiridos se buscó conocer la influencia de la variable independiente con respecto a la variable dependiente (Hernández-Sampieri y Mendoza, 2018). Además, presentó un diseño experimental por el que se aplicó un estímulo representado por las diferentes concentraciones de arcilla como parte de los tratamientos.

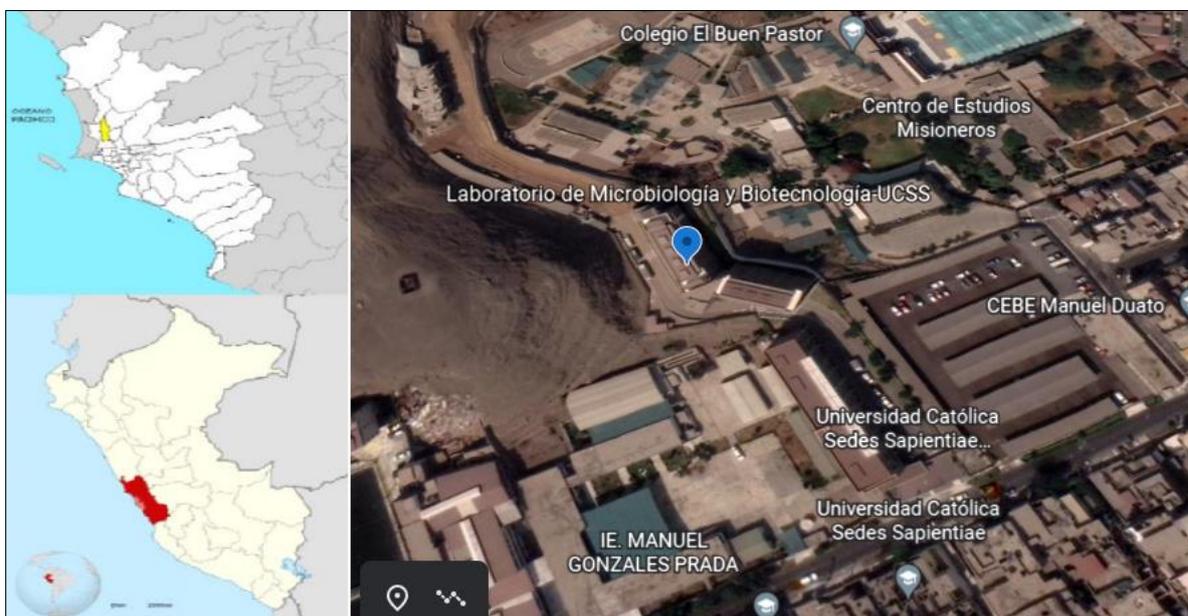
Esta investigación mostró un enfoque mixto, lo que implicó la recolección y análisis de datos cuantitativos y cualitativos en un mismo estudio, tal como lo refieren Hernández-Sampieri y Mendoza (2018). Finalmente, esta investigación exhibió un alcance explicativo en el que se indagó conocer el efecto de la arcilla sobre las poblaciones de la cianobacteria *M. aeruginosa*.

### **2.2 Lugar y fecha**

La parte experimental de la investigación fue realizada en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, sede Lima (Figura 4). El inicio de la investigación fue en junio del 2022, culminando en noviembre del mismo año.

## Figura 4

*Ubicación del laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae*



*Nota.* Las imágenes han sido adaptadas del Google Earth (2022).

## 2.3 Descripción del experimento

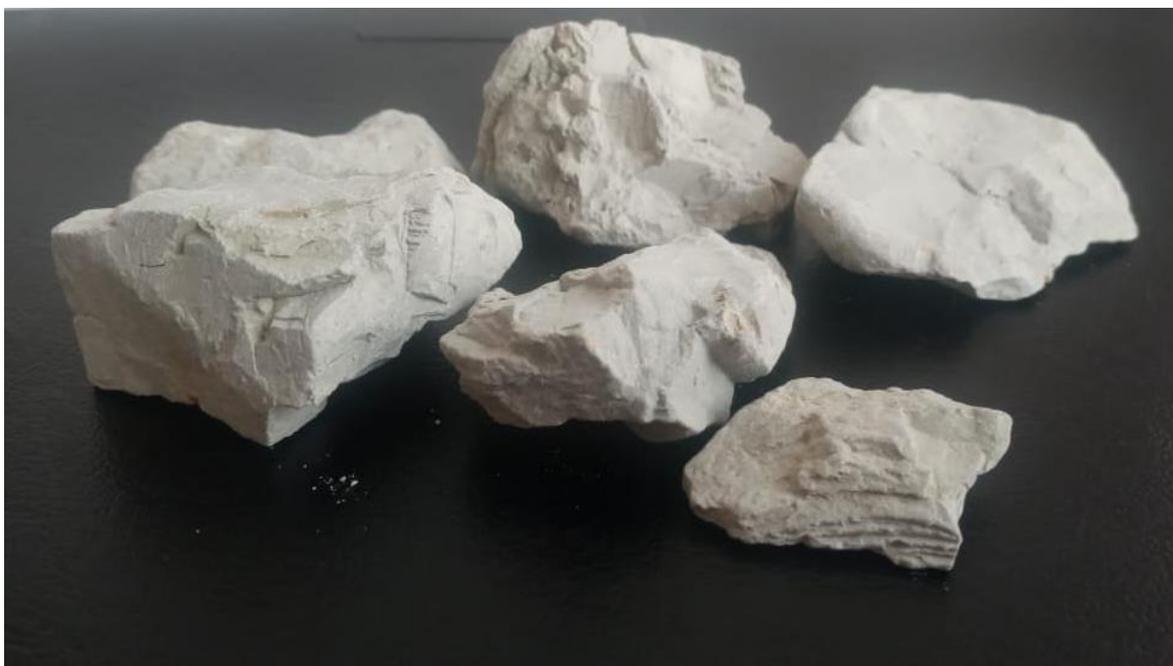
### 2.3.1. Muestras de arcillas del Chak'ó

La arcilla Chak'ó que comprendió la materia prima que se aplicó sobre las poblaciones de cianobacterias, fue adquirida de los mercadillos del distrito de Ocuwiri, Melgar-Puno y cuyas propiedades la denotan como una arcilla de origen primario de color blanquecino (Figura 5), que posteriormente fueron caracterizadas fisicoquímicamente. Las muestras en laboratorio fueron pesadas en fracciones de 42,928 g de arcilla, previamente molida, a la que se le añadió 450 mL de NaCl (0,25M), con la finalidad de saturar los poros de la arcilla que se estima en 8,7 % según Ramos y Oviedo (1995), la acción del cloruro de sodio fue la deformación del volumen y la permeabilidad de arcillas, para esto se agitó la solución con la ayuda de un agitador magnético (ver Apéndice 10) a 200 rpm hasta disolución y decantando por una noche (8h). Posteriormente, fue sifoneado la parte suspendida a otro vaso hasta que sedimentó, aplicando una agitación de 250 rpm x 10 min y reposando por otra noche. Finalmente, fue sifoneado el sobrenadante, que es el que llevó las impurezas. La colada que contenía la mayor cantidad de la fracción de arcilla fue liberada de sales de sodio, cloruros de calcio y magnesio aplicando alcohol etílico neutro de 80 % (proporción V: V).

Finalmente, el sedimento fue lavado y centrifugado y llevado a secar a 80 °C con estufa para ser pesado, tal como lo recomendó Ramos y Oviedo (1995).

### **Figura 5**

*Muestras de arcilla del Chak'o usadas en la investigación*



### **2.3.2. Técnicas de caracterización de las arcillas**

#### **Capacidad de intercambio catiónico (CIC)**

A través de esta técnica fue caracterizada la capacidad de intercambiar sus cationes, principalmente sodio (Na<sup>+</sup>) por otros cationes, para realizar esta metodología se siguió lo propuesto por Álvarez (2019) y que se resume en la aplicación de esta fórmula y cuyos procedimientos cálculos se detallan en el Apéndice 10:

$$CIC = \frac{Vg \times N \times 100}{pm}$$

Donde:

CIC: Capacidad de intercambio catiónico en meq/100 g.

Vg: Volumen de HCl gastado

N: Normalidad de HCl

Pm: Peso de la muestra.

## **Área superficial**

Mediante esta característica se planteó determinar el área interfacial por gramo de la arcilla estudiada. Además, en ella se suma las superficies externa e interna (área formada por las paredes de poros, cavidades y hendiduras). El método usado fue la espectroscopia de dispersión de rayos x.

## **Caracterización morfológica**

Las características morfológicas de la arcilla fueron realizadas por alta microscopia, usando un microscopio electrónico de barrido (MEB) modelo Quattro ESEM, marca Thermo Fisher y un detector de electrones para la obtención de las microfotografías (ver Apéndice 10). El análisis se realizó en la facultad de Ingeniería Metalúrgica de la Universidad José Faustino Sánchez Carrión, Huacho-Lima. El resultado morfológico de la arcilla plasmada en las imágenes fue obtenido a  $22\pm^{\circ}\text{C}$ .

## **Características fisicoquímicas**

La técnica de Espectroscopia de Dispersión de Rayos X (EDS) fue usada para determinar el análisis elemental de la muestra de arcilla, siguiendo el protocolo establecido por Mishra *et al.* (2017). El instrumento de espectroscopia estuvo acoplado al MEB (Quattro ESEM, Thermo Fisher). Para realizar el análisis por esta técnica fueron colocadas las muestras fraccionadas de arcilla en las portas muestras forrados con las láminas de carbono (3M); estas muestras fueron sometidas a rayos x suministrados por una energía de 50 kV, lo que permitió establecer una corriente de unos 30mA de electrones libres. Esta dispersión de rayos permitió establecer el volumen de la muestra; de la misma manera, las características morfológicas de la superficie de la partícula. Los espectros de energía fueron evidenciados por picos, lo que permitió identificar el elemento químico presente en la partícula, mientras que la intensidad de la señal corresponde a la concentración del elemento.

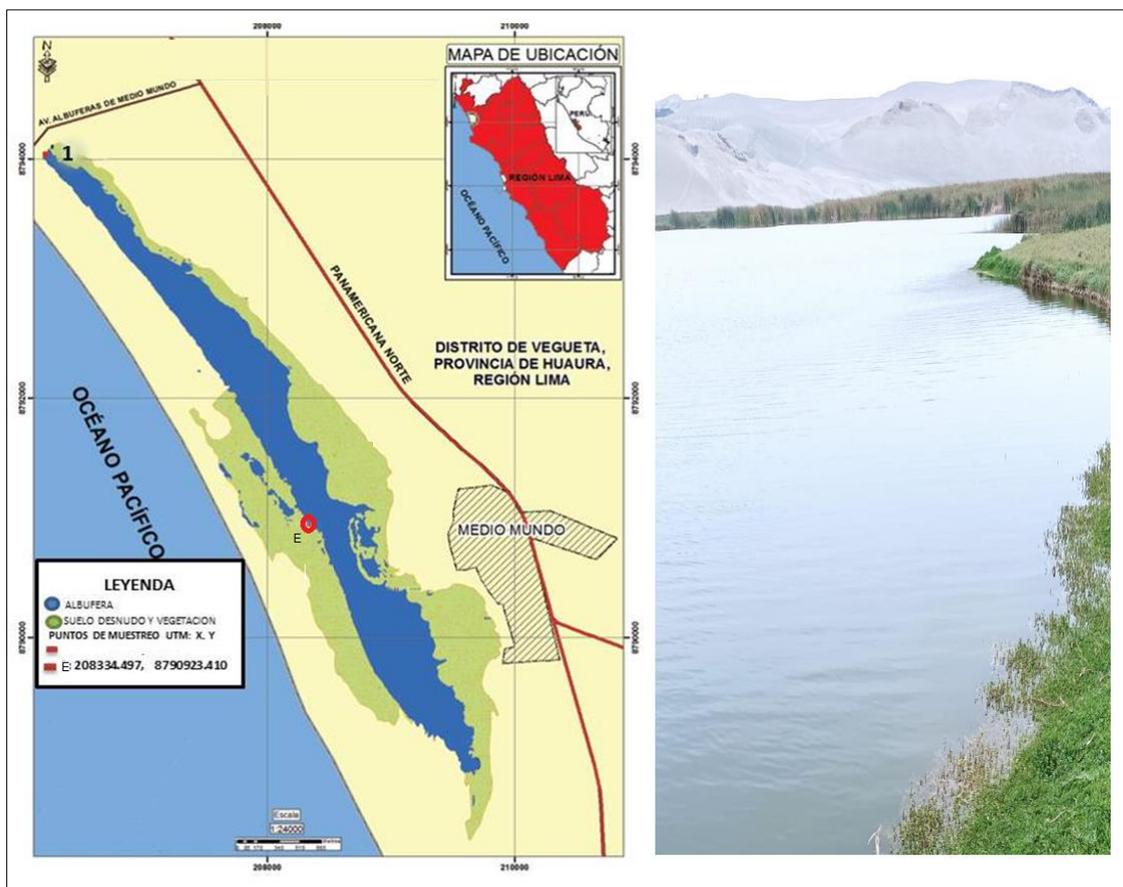
### **2.3.3. Recolección de muestra de agua conteniendo poblaciones de *M. aeruginosa***

La muestra de agua con presencia de *M. aeruginosa*, para su posterior cultivo en laboratorio, fueron recolectadas del humedal Albuferas de Medio Mundo (HAMM) (Figura 6), siguiendo

la metodología propuesta por Martínez (2018), usando para estos casos frascos de PVC de 500 ml de capacidad, los cuales fueron debidamente esterilizados para esta colecta. La toma de la muestra fue realizada de la zona superficial del humedal en la que se usó un tamiz de malla N°400. No fue necesario aplicar ningún preservante que pueda alterar las características de las poblaciones de cianobacterias. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio en un *cooler* a 4 °C para su posterior aislamiento y cultivo.

### Figura 6

*Ubicación de la toma de muestra del agua conteniendo *M. aeruginosa* en el humedal Albufera de Medio Mundo*



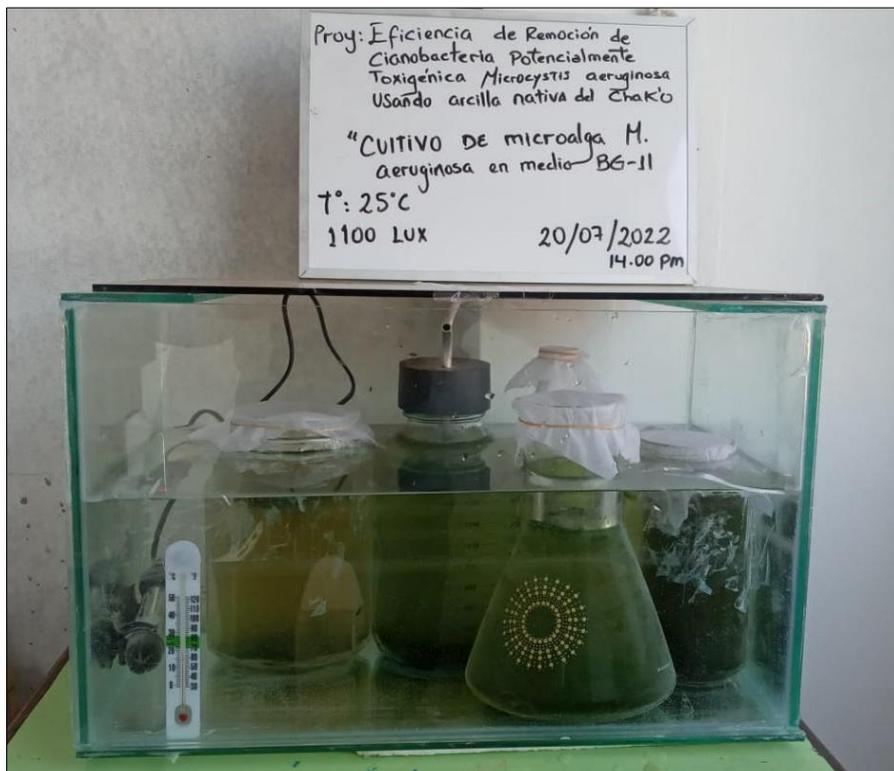
#### 2.3.4. Aislamiento y obtención de biomasa de la cianobacteria *M. aeruginosa*

Para el aislamiento e incremento de la biomasa se siguió la metodología propuesta por Poonam *et al.* (2015) y consistió en extraer una célula o colonia de la cianobacteria usando una micropipeta bajo observación microscópica. Estas células o colonias individuales fueron transferidas a gotas estériles de agua o adecuados medios de cultivo. Para realizar la

producción de biomasa de la cianobacteria fue necesario tener un medio de crecimiento que presente una alta concentración de nutrientes (nitrógeno, fósforo, carbono inorgánico y elementos esenciales como Fe, Mn, Zn, Cu, etc.), que permita a la cianobacteria una salud fotosintética y un alto contenido de clorofila (Figura 7). Fue utilizado el medio de cultivo para cianobacterias BG-11 que reúne los requisitos para esta investigación. Este medio fue preparado, esterilizado en autoclave y guardado en ambientes estériles. Posteriormente, fue realizada la siembra de las cianobacterias en tubos de ensayo conteniendo el medio de cultivo BG-11 y se realizó el escalamiento de 250 mL a 1,0 L a condiciones de 8,5 de pH, 25 °C y a 1 100 luxes de iluminación.

### Figura 7

*Obtención de biomasa de M. aeruginosa*



#### 2.3.5. Determinación de la cinética de crecimiento de *M. aeruginosa*

Para evaluar el crecimiento de la cianobacteria *M. aeruginosa* se hicieron conteos, bajo microscopia, de las colonias cada 24 horas por un período de 25 días. Con los valores obtenidos se procedió a elaborar las curvas de crecimiento y obtener los parámetros cinéticos

como son las tasas de crecimiento (r), tiempo de duplicación (td) y la capacidad de carga (K), según lo recomendado por Sánchez (2014).

Para la obtención de la tasa de crecimiento continuo fue aplicada la siguiente ecuación:

$$Nf = Ni e^{rt}$$

Donde:

Nf: población final

Ni: población inicial

e: constante neperiano

r: tasa de crecimiento

t: tiempo

Para obtener la capacidad de carga (K) fue aplicado la siguiente ecuación:

$$No = \frac{K}{1 - \left(1 - \frac{K}{No}\right)e^{-rt}}$$

Donde.

K: Capacidad de Carga

No: población inicial

r: Tasa de crecimiento

t: tiempo

e: constante neperiano

## 2.4 Tratamientos

Los tratamientos se describen a continuación:

### 2.4.1. Efecto de diferentes dosis de arcilla en la remoción de colonias de *M. aeruginosa*

Para obtener el cálculo de la eficiencia de remoción (eliminación) de colonias de *M. aeruginosa* en la columna de agua se siguió lo propuesto por Beaulieu *et al.* (2005), donde se evaluó por cada unidad experimental el efecto de las arcillas sobre poblaciones de la cianobacteria en su estado de máximo crecimiento (%) exponencial usando la siguiente ecuación:

$$\% RE = \frac{Co - Cf}{Co} \times 100$$

Donde:

% RE: es el porcentaje de remoción

Co: es la concentración de colonias de cianobacterias justo antes de la adición de arcilla

Cf: es la concentración de colonias en un momento posterior (p. ej., después de un período de sedimentación de 3 h).

#### 2.4.2. Efecto de la arcilla sobre las colonias de *M. aeruginosa*

Para evaluar el efecto de la dosis de arcilla sobre *M. aeruginosa* fueron colocados 400 mL de medio de cultivo que contenía poblaciones de la cianobacteria ( $26 \times 10^3$  col/mL) en recipientes esterilizados de 500 ml, agregándoles varias dosis de arcilla de 50, 100, 500 y 1000 mg.L<sup>-1</sup>, siendo agitados a 200 rpm por 2 min. Esto fue dejado por una hora a temperatura ambiente, recogiendo con una pipeta la capa superficial del agua para su evaluación fisicoquímica y biológica, tal como lo sugirió Ma *et al.* (2014) y cuya composición de los tratamientos se aprecia en la Tabla 2.

**Tabla 2**

*Composición de los tratamientos para evaluar el efecto de la dosis de arcilla sobre M. aeruginosa*

Tratamientos	Descripción
T0	<i>M. aeruginosa</i> ( $26 \times 10^3$ col/mL)*
T1	50 mg.L <sup>-1</sup> AC + <i>M. aeruginosa</i> ( $26 \times 10^3$ col/mL)
T2	100 mg.L <sup>-1</sup> AC + <i>M. aeruginosa</i> ( $26 \times 10^3$ col/mL)
T3	500 mg.L <sup>-1</sup> AC + <i>M. aeruginosa</i> ( $26 \times 10^3$ col/mL)
T4	1 000 mg.L <sup>-1</sup> AC+ <i>M. aeruginosa</i> ( $26 \times 10^3$ col/mL)

Nota. AC= arcilla del Chak'ó

#### 2.4.3. Efecto de la arcilla en la duración de la sedimentación de *M. aeruginosa*

En esta investigación fueron evaluadas las características de sedimentación sobre la base de la duración de las poblaciones de *M. aeruginosa* en la columna de agua, para esto fueron colocados 400 mL de agua conteniendo poblaciones de *M. aeruginosa* (a base de los

resultados anteriores, donde se estableció la dosis óptima de remoción de cianobacteria (DOR) la que fue aplicada y agitada a 200 rpm durante 2 min.) a exposiciones con las partículas de arcilla a tiempos de 10, 20, 30, 60 y 90 min. Seguidamente, fueron tomadas muestras de la capa superficial, para así obtener los valores de la densidad algal en el tiempo programado, tal como se muestra en la Tabla 3. Los cálculos del porcentaje de sedimentación fueron obtenidos a partir de la siguiente ecuación sugerida por Shemesh *et al.* (2021).

$$\% \text{ Sedimentación} = \frac{\text{Cantidad inicial} * - \text{Cantidad final} *}{\text{Cantidad inicial} *} \times 100$$

Donde:

(\*) se refiere a la cantidad de *M. aeruginosa* (colonias/mL)

**Tabla 3**

*Composición de los tratamientos para evaluar el efecto de la arcilla en la duración de la sedimentación de M. aeruginosa*

<b>Tratamientos</b>	<b>Descripción</b>
T0´	<i>M. aeruginosa</i>
T1´	10 min exp.+ DOR + <i>M. aeruginosa</i>
T2´	20 min exp.+ DOR + <i>M. aeruginosa</i>
T3´	30 min exp.+ DOR + <i>M. aeruginosa</i>
T4´	60 min exp. + DOR + <i>M. aeruginosa</i>
T5	90 min exp. + DOR + <i>M. aeruginosa</i>

*Nota:* DOR= Dosis óptima de remoción

## 2.5 Unidades experimentales

Las unidades experimentales fueron en número de 15, donde cada unidad estuvo conformada por un matraz de vidrio de 500 mL que contenía 400 mL de medio de cultivo de poblaciones de la cianobacteria ( $26 \times 10^3$  col/mL) a los que se les agregó diferentes dosis de arcilla del Chak´o.

## 2.6 Variables de la investigación y su mensuración

La Tabla 4 muestra las variables y su mensuración:

**Tabla 4**

*Variables y su mensuración*

<b>Variable</b>	<b>Unidad</b>	<b>Método</b>
<b>Independiente</b>		
Dosis de arcilla	mg.L <sup>-1</sup>	gravimetría
Tiempo de exposición	Min	
<b>Dependiente</b>		
Porcentaje de remoción	%	Conteo
Porcentaje de sedimentación	%	Conteo

## **2.7 Diseño estadístico del experimento**

La investigación contó con un diseño estadístico completamente al azar (DCA) de efectos fijos que fueron aplicados a cada uno de los tratamientos planteados con sus respectivas repeticiones. Todo este planteamiento fue sistematizado a partir del factor con I niveles y para el nivel i-ésimo fue obtenido  $n_i$  observaciones respuesta. Para el experimento fue contrastado el efecto de un solo factor (dosis de arcilla) que se presenta con cinco niveles (T0, T1, T2, T3 Y T4), sobre la variable respuesta.

## **2.8 Análisis estadístico de los datos**

Todas las figuras graficadas fueron realizadas usando el programa Microsoft Excel. Los datos fueron procesados para verificar su normalidad y su homogeneidad de la varianza empleando la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homocedasticidad de varianzas con base en la prueba de Levene respectivamente. Posteriormente, fueron analizados los efectos de la arcilla sobre las poblaciones de *M. aeruginosa*; así como, los tiempos de exposición de las arcillas sobre las poblaciones de la cianobacteria.

Nuestra hipótesis fue centrada en comprobar si la cantidad de las poblaciones *de M. aeruginosa* fue significativamente distinta en los diferentes tratamientos. Para responder a

esta hipótesis fue necesario recurrir al Análisis de la Varianza de un factor, planteándose de la siguiente manera:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \quad \text{vs} \quad H_1 \neq \mu_1 \neq \mu_j$$

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el software SPSS v 25, aplicándose una significancia del 5 %, tal como lo recomendó Hernández-Sampieri y Mendoza (2018).

## **2.9 Materiales y equipos**

### **2.9.1. Material biológico**

- Poblaciones de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*

### **2.9.2. Material de laboratorio**

#### **Varios**

- Asa de siembra
- Cintas de parafina
- Placas de Petri
- Tubos de ensayo
- Probeta de 100 mL y 1,0 L
- Vasos de Beacker de 250 mL
- Laminas porta y cubreobjetos

#### **Reactivos**

- Ácido clorhídrico
- Agua desionizada
- Cristal violeta
- Hidróxido de sodio
- Medio de cultivo BG-11
- Safranina

## **Equipos**

- Autoclave
- Balanza analítica
- Conductímetro HANNA
- Espectroscopio de Dispersión de Rayos X (EDS)
- Incubadora
- Lector de colonias
- Microscopio electrónico de barrido Thermo Fisher
- Microscopio binocular Leica
- Multiparámetro HANNA

## CAPÍTULO III: RESULTADOS

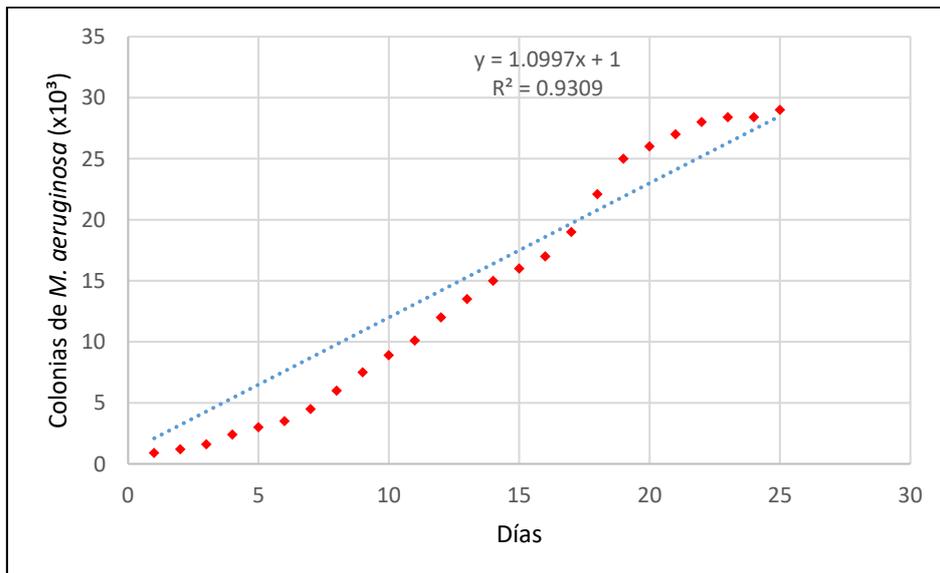
### 3.1 Evaluación de la cinética de crecimiento de *M. aeruginosa* en medio BG-11

Las poblaciones de *M. aeruginosa* recolectadas del humedal Albuferas de Medio Mundo-Huaura fueron cultivadas durante 25 días a temperatura promedio de  $23 \pm 0,5$  °C, determinando los parámetros cinéticos de crecimiento que se detallan en la Tabla 5 y que fueron calculados a partir de la obtención de la curva de crecimiento que se observa en la Figura 8. La tasa de crecimiento intrínseco ( $\mu$ ) fue de  $0,533$  días<sup>-1</sup>, el tiempo de duplicación (T2) fue de 1,30 días y la capacidad de carga (K) fue de 29 629 colonias/día. Las características fisicoquímicas del cultivo de *M. aeruginosa* se detallan en el Apéndice 1.

La curva de crecimiento que presentó *M. aeruginosa* en el medio BG-11 pudo ser modelada por la a través de la ecuación  $y = 1,099x + 1$  y presentar un alto coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9789$  (Figura 8).

#### Figura 8

Curva de crecimiento de *M. aeruginosa* en medio BG-11



**Tabla 5***Valores de los parámetros cinéticos evaluados a M. aeruginosa en medio BG-11*

Tasa de crecimiento ( $\mu$ )	Tiempo de duplicidad (T2)	Capacidad de carga (K)
0,533 días <sup>-1</sup>	1,30 días	29 629 colonias/día

### 3.2 Caracterización química de la arcilla del Chak'ó extraída de la localidad Ocuvi, Puno

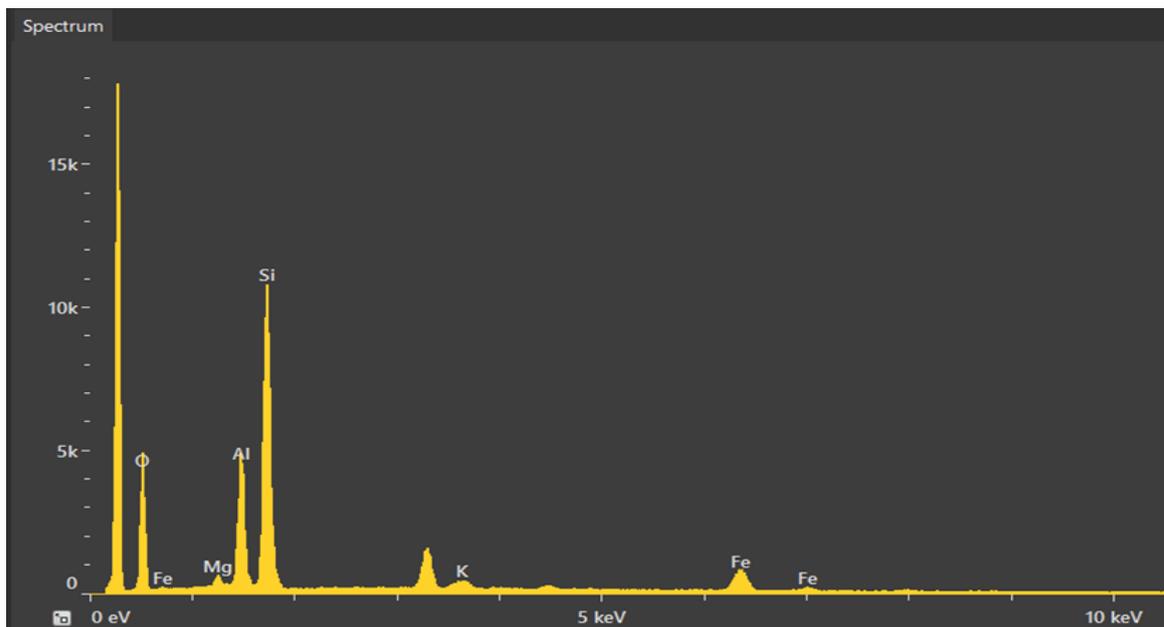
La Tabla 6 muestran los resultados de la composición química de la arcilla del Chak'ó obtenidos del análisis de fluorescencia de rayos x y cuyos espectros cualitativos se observan en la Figura 9. El compuesto más abundante en la estructura química de la partícula de arcilla fue el óxido de silicio (SiO<sub>2</sub>) con 63,6 %, seguido del óxido de aluminio (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) con 21,9 %. Los óxidos minoritarios fueron el óxido férrico (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) con 8,7 %, seguido del óxido de potasio (K<sub>2</sub>O) con 2,6 % y el óxido de magnesio (MgO) con 1,0 % (ver Apéndice 2).

**Tabla 6***Composición química de la arcilla del Chak'ó*

Compuesto	Cantidad (%)
SiO <sub>2</sub>	63,6
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	21,9
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	8,7
K <sub>2</sub> O	2,6
MgO	1,0

## Figura 9

### *Espectros de la composición química de la arcilla del Chak'ó*



*Nota:* Elaboración propia a partir de los resultados de la fluorescencia de rayos x a la partícula de arcilla del Chak'ó.

La Tabla 7 muestra los valores obtenidos de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) que fue de 75,5 meq/100g (Ver Apéndice 10). Además, el tamaño de la partícula estuvo en el rango de 5 a 25  $\mu\text{m}$  (Figura 10).

## Tabla 7

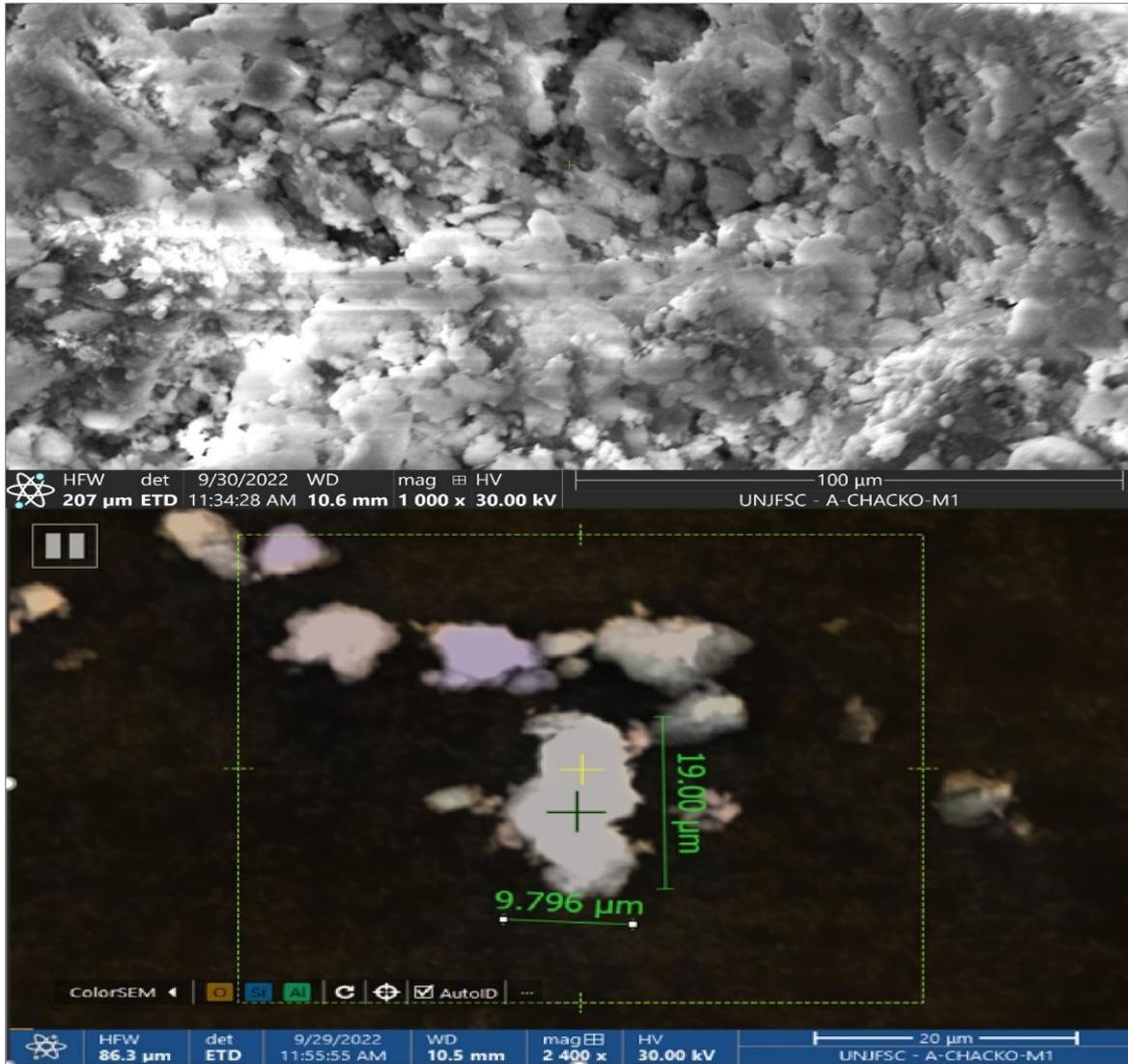
### *Características de la arcilla del Chak'ó*

<b>Tipo de arcilla (rangos de CIC)</b>	<b>CIC (meq/100 g)</b>	<b>Tamaño de la partícula</b>
Esmeclita (70-130)	75,5	5-25 $\mu\text{m}$

En la Figura 10 se muestran la estructura superficial de las partículas de arcilla del Chak'ó y sus dimensiones.

**Figura 10**

*Ultraestructura superficial de las partículas de la arcilla del Chak'ó*



### 3.3 Eficiencia de remoción de las poblaciones de *M. aeruginosa* por las diferentes concentraciones de arcilla del Chak'ó

#### 3.3.1. Variación de *M. aeruginosa* a diferentes cantidades con arcilla

La Tabla 8 muestra la variación de las cantidades de *M. aeruginosa* en los diferentes tratamientos. El T0 mostró una ligera disminución de colonias de *M. aeruginosa* del orden del 7,69 % con respecto al valor inicial. El T4 registró el valor más bajo con  $5\,766 \pm 642$  colonias de *M. aeruginosa*, lo que reflejó una disminución del orden del 77,84 % seguido

del T3 con  $6\,800 \pm 800$  con una disminución del orden del 73,84 % con respecto a la cantidad inicial.

**Tabla 8**

*Variación de las cantidades de *M. aeruginosa* en los diferentes tratamientos*

	Tratamientos				
	T0	T1	T2	T3	T4
Cantidad de <i>M. aeruginosa</i>	23 000	16 450	9 200	6 000	6 500
	24 000	15 000	10 000	7 600	5 500
	25 000	16 000	9 500	6 800	5 300
Promedio $\pm$ DE	24 000 $\pm$ 1 000	15 833 $\pm$ 763	9 566 $\pm$ 404	6 800 $\pm$ 800	5 766 $\pm$ 642

La Tabla 9 muestra el resultado del análisis de la varianza (ANOVA), presentando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos y la variación de las cantidades de *M. aeruginosa*.

**Tabla 9**

*Resultado del análisis de la varianza de los tratamientos y la variación de cantidades de *M. aeruginosa**

ANOVA					
Variación de <i>M. aeruginosa</i>					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1108369333,333	4	277092333,333	710,493	0,000
Dentro de grupos	3900000,000	10	390000,000		
Total	1112269333,333	14			

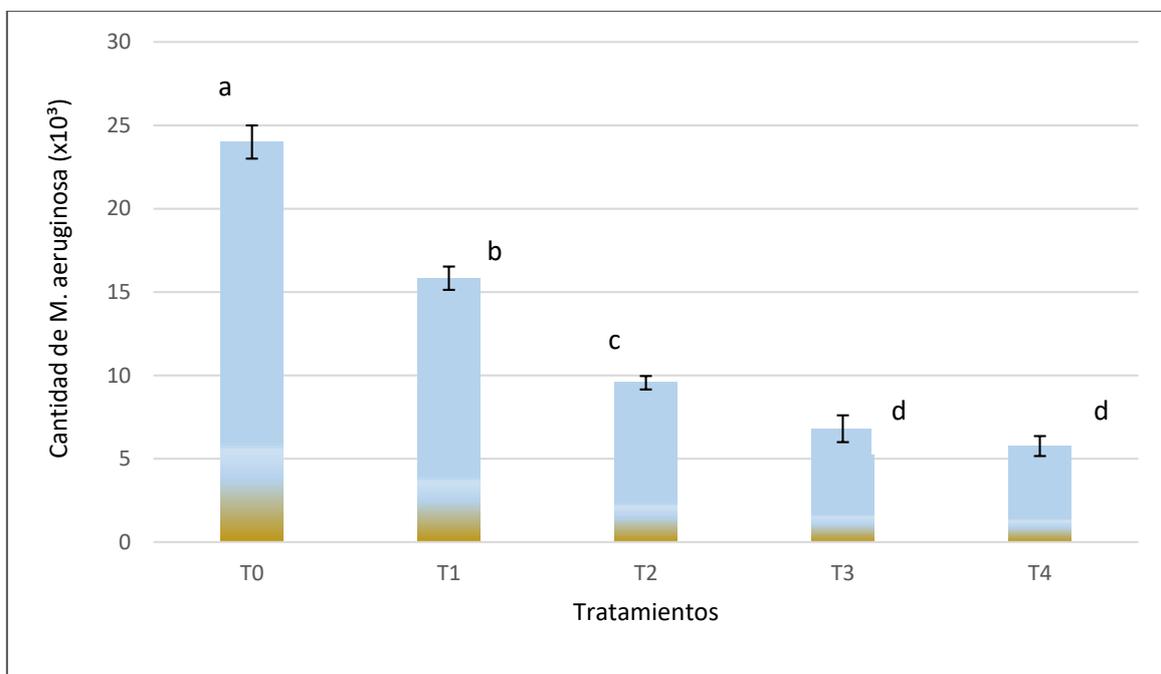
Las pruebas de comparación de medias de Tukey obtuvieron como resultado cuatro subconjuntos en T0, T1, T2 y el subconjunto formado entre T3 y T4 que mostraron diferencias significativas entre ellos ( $p > 0,05$ ) (ver los resultados en el Apéndice 3).

La Figura 11 muestra que, a mayor concentración de arcilla, mayor es el porcentaje de remoción de la cianobacteria *M. aeruginosa*. Es importante indicar que, los valores medios

seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes al nivel de probabilidad del 5 % según la prueba de Tukey.

### Figura 11

*Efecto de las aplicaciones de arcilla en la variación de las poblaciones de *M. aeruginosa**



#### 3.3.2. Remoción de *M. aeruginosa* a diferentes tratamientos con arcilla

La Tabla 10 muestra los valores promedio de la remoción (%) de *M. aeruginosa* en los diferentes tratamientos. El T0 registró el valor más bajo de remoción con  $7,65 \pm 3,84$  %, seguido de T1 con  $39,16 \pm 2,85$  % y T2 con  $63,13 \pm 1,66$  %. Por otro lado, el valor promedio más alto fue para T4 con  $77,81 \pm 2,46$  %, mientras T3 obtuvo  $73,84 \pm 2,46$  %.

**Tabla 10***Valores de la remoción (%) de M. aeruginosa*

	<b>Tratamientos</b>				
	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
	11,53	36,73	64,61	76,9230	75,00
Remoción (%)	7,60	42,30	61,33	70,76	78,84
	3,84	38,46	63,46	73,86	79,61
Promedio±DE	7,65±3,84	39,16±2,85	63,13±1,66	73,84±3,08	77,81±2,46

La Tabla 11 muestra el resultado del ANOVA, presentando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos y la variación de las cantidades de *M. aeruginosa*.

**Tabla 11***Resultado del análisis de la varianza de los tratamientos y los porcentajes de remoción de M. aeruginosa*

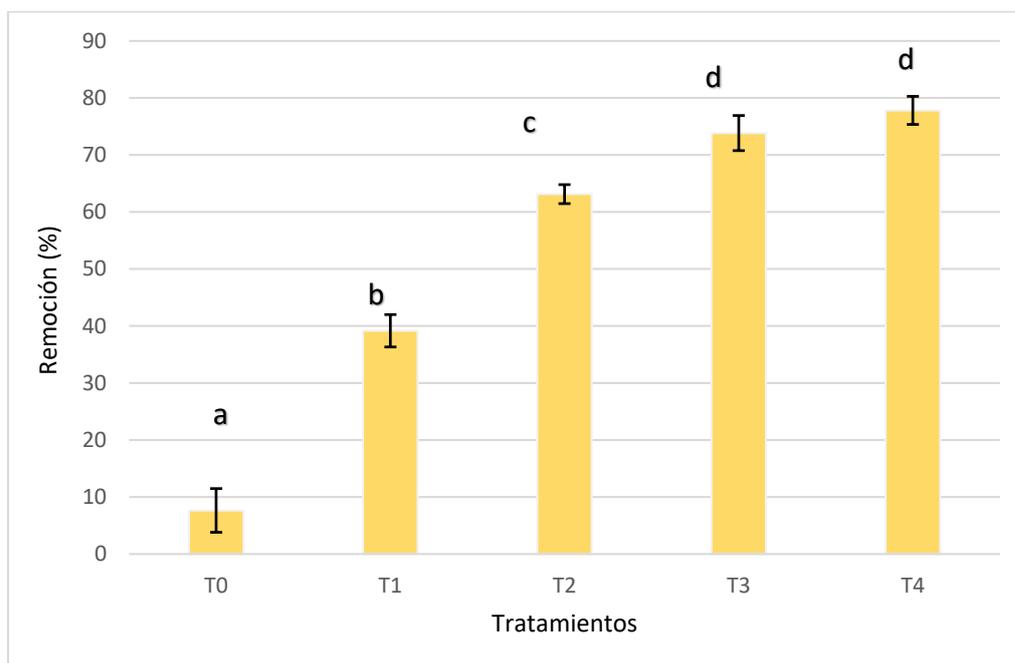
<b>ANOVA</b>					
<b>Remoción</b>					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	10 194,950	4	2 548,738	308,802	0,000
Dentro de grupos	82,537	10	8,254		
Total	10 277,487	14			

Las pruebas de comparación de medias de Tukey obtuvieron respuesta significativa ( $p < 0,05$ ) en T0, T1 y T2, mientras que T3 y T4 no mostraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) (ver Apéndice 4).

La Figura 12 muestra que el mayor porcentaje de remoción de la cianobacteria *M. aeruginosa* fue en T4, con una concentración de 1 000 mg/L de arcilla, seguida del T3 a una concentración de 500 mg/L de arcilla. Es preciso indicar que, los valores medios seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según el test de Tukey.

**Figura 12**

*Efecto de los tratamientos con arcilla en la remoción (%) de M. aeruginosa*



Nota. T0= 0 mg/L arcilla del Chak'ó  
T1= 50 mg/L arcilla del Chak'ó  
T2= 100 mg/L arcilla del Chak'ó  
T3= 500 mg/L arcilla del Chak'ó  
T4= 1 000 mg/L arcilla del Chak'ó

### **3.4 Efecto de tiempo de exposición de la arcilla del Chak'ó en la sedimentación de biomasa de *M. aeruginosa***

#### **3.4.1. Efecto del tiempo de exposición de la arcilla del Chak'ó en la cantidad de *M. aeruginosa***

La Tabla 12 muestra la cantidad de colonias de *M. aeruginosa* en los diferentes tiempos de exposición. Así, a 10 min de exposición la cantidad promedio registrada fue de  $4\,400 \pm 1\,442$  colonias/mL, mientras que a los 20 min se reportaron  $1\,266,6 \pm 404$  colonias/mL, a los 30 minutos se registraron  $283,3 \pm 125$  colonias/mL, a los 60 y 90 min se registraron las menores cantidades con  $266,6 \pm 57,7$  y  $150 \pm 50$  colonias /mL, respectivamente.

**Tabla 12**

*Valores promedio de las cantidades de M. aeruginosa en los diferentes tiempos de exposición con la arcilla del Chak'ó*

<b>Tiempos</b>	<b>Cantidad de <i>M. aeruginosa</i> (colonias/mL)</b>
10 min	4 000
	6 000
	3 200
Promedio ± DE	4 400±1 442
20 min	1 500
	800
	1 500
Promedio ± DE	1 266,6±404
30 min	300
	150
	400
Promedio ± DE	283,3±125
60 min	300
	200
	300
Promedio ± DE	266,6±57,7
90 min	150
	90
	210
Promedio ± DE	150±50

La Tabla 13 muestra el análisis de la varianza entre la cantidad de *M. aeruginosa* y los tiempos de exposición que muestran diferencias significativas en por lo menos un tratamiento ( $p < 0,05$ ). Por otro lado, se obtuvieron una respuesta significativa ( $p < 0,05$ ) a la prueba de Tukey sólo la exposición sometida a 10 min con la arcilla del Chak'ó, mientras que los tiempos 20, 30, 60 y 90 min no presentaron respuesta significativa ( $p > 0,05$ ) (Ver Apéndice 5).

### **Tabla 13**

*Resultado del análisis de la varianza entre la cantidad de *M. aeruginosa* y los tiempos de exposición*

ANOVA					
Cantidad de <i>M. aeruginosa</i> y los tiempos de exposición					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1567614444,444	5	313522888,889	830,524	0,000
Dentro de grupos	4530000,000	12	377500,000		
Total	1572144444,444	17			

### Efecto del tiempo de exposición de la arcilla del Chak'ó en la eficiencia de sedimentación de *M. aeruginosa*

La Tabla 14 muestra la eficiencia de sedimentación de *M. aeruginosa* en diferentes tiempos de exposición. Así, para el tiempo de exposición de 10 min se obtuvo  $83,07 \pm 5,54$  % de sedimentación, para 20 min  $95,12 \pm 1,55$  % de sedimentación, para 30 min  $98,90 \pm 0,48$  % de sedimentación y para 60 y 90 min se obtuvieron  $99,35 \pm 0,10$  y  $99,42 \pm 0,19$  % de sedimentación, respectivamente.

**Tabla 14**

Valores promedio de la eficiencia de remoción de *M. aeruginosa* en los diferentes tiempos de exposición con la arcilla del Chak'ó

Tiempos	Sedimentación (%)
10 min	84,61
	76,92
	87,69
Promedio $\pm$ DE	$83,07 \pm 5,54$
20 min	94,23
	96,92
	94,23
Promedio $\pm$ DE	$95,12 \pm 1,55$
30 min	98,84
	99,42
	99,42

	98,46
Promedio ± DE	98,90±0,48
	99,42
60 min	99,23
	99,42
Promedio ± DE	99,35±0,10
	99,42
90 min	99,65
	99,19
Promedio ± DE	99,42±0,19

El análisis de la varianza mostró una respuesta significativa ( $p < 0,05$ ) para los tiempos evaluados y la eficiencia de sedimentación (Tabla 15). Por otro lado, sólo se obtuvo una respuesta significativa ( $p < 0,05$ ) a la prueba de Tukey para el tiempo de exposición de 10 min, mientras que los tiempos de 20, 30, 60 y 90 min no mostraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) a la prueba sometida (ver Apéndice 6).

**Tabla 15**

*Resultado del análisis de la varianza entre el tiempo de exposición y la eficiencia de remoción*

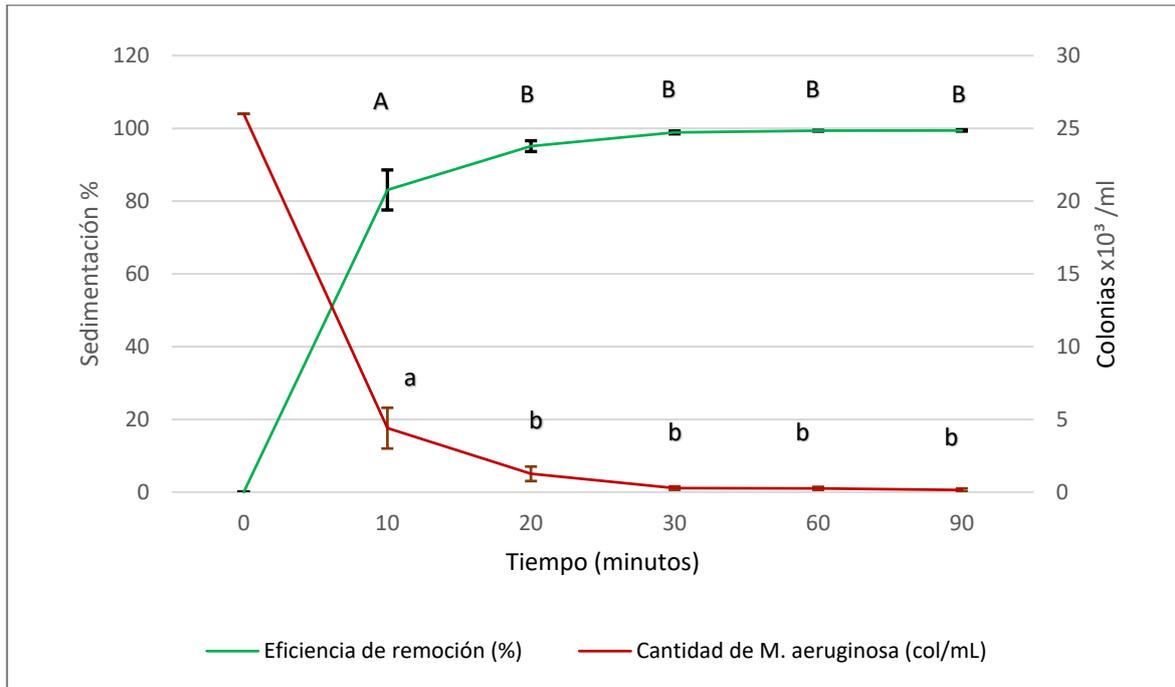
ANOVA					
Efecto del tiempo de exposición y la eficiencia de remoción					
	Suma de	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	23 234,148	5	4 646,830	833,185	0,000
Dentro de grupos	66,926	12	5,577		
Total	23 301,074	17			

La Figura 13 muestra los resultados del efecto de los tiempos de exposición con las arcillas en la eficiencia de sedimentación de *M. aeruginosa*. En ella se puede observar una

disminución de colonias/mL a partir de los 10 min de exposición y mantener una casi homogénea variación en los tiempos 20, 30, 60 y 90 min.

**Figura 13**

*Efecto de los tiempos de exposición con la arcilla en la eficiencia de sedimentación y la cantidad de M. aeruginosa*



## CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

### 4.1 Evaluación de la cinética de crecimiento de *M. aeruginosa* en medio BG-11

En la presente investigación, la microalga *M. aeruginosa* logró un crecimiento de  $29 \times 10^3$  colonias/mL en 25 días de cultivo, con una tasa intrínseca de crecimiento de  $0,533 \text{ días}^{-1}$  y a condiciones de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  de temperatura. Esta tasa de crecimiento es superior a lo reportado por Martínez (2018), quien evaluó la cinética de crecimiento de *M. aeruginosa* en el mismo medio de cultivo (BG-11) logrando una tasa de crecimiento de  $0,12 \text{ días}^{-1}$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , y lo reportado por Crettaz (2018), con una tasa de crecimiento de  $0,17 \text{ días}^{-1}$  en medio de cultivo BG-11 y a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Mientras que Lyck (2004) reportaba tasa de crecimiento de  $0,52$  a  $0,54 \text{ días}^{-1}$  para *M. aeruginosa* en medio  $\text{O}_2$  modificado y a temperatura de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . En base a los resultados obtenidos se puede observar un alto crecimiento de la microalga *M. aeruginosa*, lo que podría indicar que esta microalga se adapta muy bien a temperaturas de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , tal como lo refiere Reynolds (2006) al explicar que existe una mayor tasa de crecimiento a temperaturas superiores a  $25$  y menores de  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ . En ese sentido, es importante tener en cuenta que una variedad de factores, como la calidad del medio de cultivo, la disponibilidad de nutrientes y las condiciones ambientales, pueden afectar el crecimiento de las microalgas. En este escenario, las restricciones pueden incluir: (i) La composición del medio BG-11 puede no ser ideal para todos los cultivos de *M. aeruginosa*, (ii) la tasa de crecimiento puede verse afectada por cambios en la temperatura, la luz y otros factores y finalmente (iii) en cuanto a la contaminación, la presencia de otras especies de algas o microorganismos puede competir por recursos y afectar los resultados.

Con respecto al crecimiento de la microalga en medio BG-11 este presentó al nitrógeno (N) y al fósforo (P) como nutrientes principales con ratios de N: P:10. Esta investigación reportó un crecimiento de  $29 \times 10^3$  colonias/mL en 25 días. Bortoli *et al.* (2014) reportaron crecimientos de hasta  $33,3 \times 10^3$  colonias/mL de *M. aeruginosa* en el mismo medio BG-11 por 21 días y con ratios de N y P: 100. Park *et al.* (2020) reportaron crecimientos de  $4,3 \times 10^3$  *M. aeruginosa* en medio de BG-11 con ratios de N y P: 10. Por lo tanto, los resultados obtenidos en esta investigación respecto al crecimiento de *M. aeruginosa* demuestran una buena adaptación al medio BG-11. Además, es importante señalar que el medio BG-11 usado, presentó a parte de los nutrientes antes señalados (N y P), diferentes minerales como

el hierro, siendo este elemento esencial para varios procesos metabólicos en cianobacterias como la síntesis de clorofila-a, la respiración, fotosíntesis y fijación de nitrógeno, tal como lo refiere Alexova *et al.* (2011) y Bortoli *et al.* (2014). En ese sentido, la proporción desequilibrada de nitrógeno y fósforo en el medio BG-11 fue probablemente la principal limitación para el crecimiento óptimo de *M. aeruginosa*, a pesar de que contenía todos los nutrientes necesarios. En este contexto, se hace evidente que al ajustar la relación N y P a valores más cercanos a 16:1 mejoraría el rendimiento de biomasa.

#### **4.2 Características fisicoquímicas que presenta la arcilla del Chak'ó extraída de la localidad Ocuvi, Puno**

El compuesto más abundante en la estructura fisicoquímica de la partícula de arcilla del Chak'ó procedente de la localidad de Ocuvi fue el óxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) con 63,6 %, seguido del óxido de aluminio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) con 21,9 %. Los óxidos minoritarios fueron el óxido férrico ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) con 8,7 %, seguido del óxido de potasio ( $\text{K}_2\text{O}$ ) con 2,6 % y el óxido de magnesio ( $\text{MgO}$ ) con 1,0 %. Similar a esta composición fisicoquímica de las arcillas fue comunicado por Cañazaca y Ramos (2022), quienes reportaron composiciones para arcilla de la localidad de asilo (Azángaro-Puno) conteniendo  $\text{SiO}_2$  en un 56,37 %,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  con un 24,03 %,  $\text{K}_2\text{O}$  con un 6,98 %,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  con un 6,44 % y el  $\text{MgO}$  con 1,99 %. Mientras que Álvarez (2019) encontró en arcillas de la localidad de Hatu Ayllu (Melgar-Puno) composiciones de  $\text{SiO}_2$  con 36,63 %,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  con 7,37 %,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  con 1,31% y  $\text{K}_2\text{O}$  con 0,69 %. Por los tipos de elementos y su abundancia, la arcilla de la presente investigación corresponde al tipo esmectita, tal como lo refiere Kumari y Mohan (2021). En resumen, aunque la arcilla del Chak'o tiene una composición fisicoquímica interesante y potencialmente útil, su aplicación y estudio se ven afectados por limitaciones en la variabilidad de las muestras, los métodos de análisis, la falta de estándares comparativos y la falta de investigación preclínica.

Una característica importante de la arcilla es la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y que representa la medida de cargas negativas de la superficie de la arcilla. En el presente estudio fue determinada la CIC de las partículas de arcilla en un rango de 75,5 meq/100 g, presentando una coloración blanquecina, tal como se aprecia en la Figura 5. De la misma manera, Álvarez (2019) reportó para arcillas de color blanco extraídas de la localidad de

Ocuviri-Puno una CIC de 54,62 meq/100 g y para arcillas de color plomo una CIC de 16,27 meq/100 g. Por otro lado, estudios realizados por Kumari y Mohan (2021) sobre la CIC de diversas arcillas, demuestran que la CIC del orden 70 a 130 meq/100 g está comprendida como arcillas del tipo esmectita de una alta capacidad de contracción y expansión; además, de tener una alta capacidad flocculante para diversos elementos orgánicos e inorgánicos. En ese contexto la variabilidad de resultados depende de las condiciones de medición, como el pH, la relación suelo/agua y la concentración de sales, donde la CIC puede variar significativamente y esto sugiere que los hallazgos pueden no ser consistentes entre varios estudios o enfoques de análisis. La influencia del pH en el suelo tiene un impacto en la carga de las partículas de arcilla, impactando directamente en la CIC. Por lo tanto, si se utilizan métodos que no toman en cuenta el pH adecuadamente en suelos ácidos, la CIC puede sobreestimarse, lo que puede conducir a conclusiones incorrectas sobre la fertilidad del suelo.

#### **4.3 Eficiencia de remoción de las poblaciones de *M. aeruginosa* por las diferentes concentraciones de arcilla del Chak'ó**

En esta investigación fueron evaluadas diferentes concentraciones de arcilla del Chak'ó sobre poblaciones de la cianobacteria *M. aeruginosa*, observándose una disminución en cantidad de *M. aeruginosa* a medida que se incrementan las concentraciones de arcilla del tipo esmectita. Asimismo, este efecto se reflejó en altos valores de remoción (%) principalmente, para T3 (500 mg/L) y T4 (1000 mg/L) con 73,84 y 77,81 %, respectivamente. Arcillas naturales con concentraciones de 700 mg/L fueron usadas para evaluar la eficiencia de remoción de la cianobacteria *M. aeruginosa* por Pan *et al.* (2003) encontrando así para las arcillas sepiolita y caolinita valores de remoción 96,3 y 93,9 %; mientras que para la arcilla illita se reportó valores de 58,6 % y para la bentonita 34,7 %. Asimismo, altos porcentajes de remoción de *M. aeruginosa* del orden de 98,92 y 97,85 % fueron reportados por Liu *et al.* (2010) al aplicar dosis conteniendo 500 y 1 000 mg/L de arcilla modificada, respectivamente. Similar resultado fue obtenido por Gu *et al.* (2016) quienes utilizaron arcillas del tipo montmorillonita modificada en concentraciones de 400 mg/L como adsorbente para eliminar *Microcystis aeruginosa*, eliminando el 90,4 % en 3 h. Por esta razón, se ha podido establecer que existe una variación de resultados en la remoción de *M. aeruginosa* en función del tipo de arcilla, siendo la esmectita, reportada en

esta investigación, la que presentó una alta eficiencia de remoción. Además, el aumento en las concentraciones de arcilla generó una mayor remoción significativa de las poblaciones de *M. aeruginosa*. Por otro lado, al comparar los valores de remoción de las arcillas naturales con las arcillas modificadas, estas últimas muestran valores más altos de remoción, tal como lo reporta Loutfi *et al.* (2021). Esto indica que las propiedades de las arcillas pueden mejorar su capacidad para adsorber y eliminar cianobacterias del agua.

#### **4.4 Efecto de tiempo de exposición de la arcilla del Chak'ó en la sedimentación de biomasa de *M. aeruginosa***

En este estudio fue evaluada la sedimentación de la biomasa de *M. aeruginosa* sobre la base del tiempo de exposición. La eliminación de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* aumentó conforme pasó el tiempo; así, a 10 min se obtuvo una alta sedimentación de 83,07 % y se volvió constante en los periodos de 20, 30, 60 y 90 min (Figura 9) con los valores de sedimentación de 95,12; 98,90; 99,3 y 99,42 %, respectivamente y a una concentración de arcilla de 1 000 mg/L. Las cantidades de colonias de las cianobacterias registradas en los tiempos 20, 30, 60 y 90 min no mostraron respuesta significativa ( $p > 0,05$ ). Estos resultados similares de sedimentación fueron reportados por Shemesh, *et al.* (2021) en el porcentaje de sedimentación de la cianobacteria *Anabaena* expuesta a dos tipos de arcilla (montmorillonita y bentonita), alcanzando un 51 y 60 % de sedimentación a los 3 y 10 min de exposición a una concentración de arcilla (Montmorillonita) de 1 500 mg/L, mientras que para la arcilla bentonita fueron reportados sedimentaciones aproximadas de 40 y 65 %, con exposiciones de 3 y 10 min; sometidos a concentraciones de 1 500 mg /L de arcilla. Este similar porcentaje de sedimentación fue informado por Pei *et al.* (2014) en poblaciones de la cianobacteria *Anabaena flos-aquae* logrando obtener entre 60 y 65 % en la sedimentación, usando las arcillas bentonitas y clausitas. En nuestro estudio, la rápida sedimentación a concentraciones de 1 000 mg/L de la arcilla esmectita sugiere la existencia de grandes cúmulos que contiene la masa de arcilla, cuya densidad podría servir de lastre, permitiendo sedimentar más rápidamente a la cianobacteria. A una menor concentración de arcilla, es posible que estos cúmulos no puedan formarse, lo que explica un menor porcentaje de sedimentación, concordando con lo establecido por Aktas *et al.* (2013) y Shemesh *et al.* (2021). En ese sentido, los factores como la temperatura y la presencia de otros contaminantes, pueden no reflejar las condiciones del medio ambiente natural en el estudio, lo que dificulta generalizar los resultados. En cuanto, a la concentración de arcilla la

evaluación de una sola concentración de arcilla (1 000 mg/L) puede no dar una idea precisa de cómo las diferentes concentraciones afectarían la sedimentación de *M. aeruginosa*, considerando el tiempo de exposición y que la falta de datos en intervalos de tiempo más cortos o más largos podría limitar la comprensión del proceso de sedimentación, a pesar de que se evaluaron diferentes intervalos de tiempo. Es preciso mencionar que, no se tomó en cuenta la variabilidad en las respuestas biológicas de varias cepas de *M. aeruginosa* o la influencia de otros organismos en el agua, lo que podría tener un impacto en los resultados.

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos en esta investigación respecto al crecimiento de *M. aeruginosa* demuestran una buena adaptación al medio BG-11, permitiendo establecer un alto crecimiento de  $29 \times 10^3$  colonias/mL en 25 días de cultivo con una tasa intrínseca de crecimiento de  $0,533 \text{ días}^{-1}$  a condiciones de  $25 \text{ °C}$  de temperatura.
2. El compuesto más abundante en la estructura fisicoquímica de la partícula de arcilla del Chak'ó procedente de la localidad de Ocuvi fue el óxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) con 63,6 %, seguido del óxido de aluminio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) con 21,9 %. Los óxidos minoritarios fueron el óxido férrico ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) con 8,7 %, seguido del óxido de potasio ( $\text{K}_2\text{O}$ ) con 2,6 % y el óxido de magnesio ( $\text{MgO}$ ) con 1,0 %. Además, las partículas de arcilla presentaron una CIC de 75,5 meq/100 g, estas características la ubican como arcillas del tipo esmectita.
3. Se establece que las máximas remociones de la cianobacteria *M. aeruginosa* fueron de 77,81 % (T4), seguida de 73,84 % (T3) a concentraciones de 1 000 y 500 mg/L de arcilla nativa respectivamente.
4. La eliminación de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* aumentó conforme pasó el tiempo; así, a 10 min se obtuvo una alta sedimentación de 83,07 % y se volvió constante en los periodos de 20, 30, 60 y 90 min con los valores de sedimentación de 95,12; 98,90; 99,3 y 99,42 %, respectivamente y a una concentración de arcilla de 1 000 mg/L.
5. Los resultados de la presente investigación muestran una alta eficiencia de remoción de la cianobacteria *M. aeruginosa* por la arcilla nativa del Chak'ó pudiendo ser utilizada en el control de esta microalga potencialmente tóxica.

## CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

1. Teniendo en cuenta que la presente investigación buscó evaluar la eficiencia de remoción de la arcilla sobre las poblaciones *M. aeruginosa*, se recomienda ampliar la investigación con estudios cinéticos de adsorción lo que permitiría establecer la capacidad de eliminación del contaminante presente en el cuerpo de agua.
2. Se recomienda ampliar la investigación considerando otros parámetros fisicoquímicos tales como pH, tamaño de partícula, luminosidad, etc., lo cual permitiría tener un panorama más amplio respecto a las características de la arcilla Chak'ó.
3. Dado los resultados logrados en el porcentaje de remoción de las poblaciones *M. aeruginosa* usando la arcilla Chak'ó, se recomienda desarrollar investigación científica considerando otras cianobacterias y hacer las comparaciones con los resultados obtenidos en la presente investigación.
4. También se recomienda ampliar el estudio con modificaciones en las arcillas, de tal manera que se puedan comparar con los resultados de la presente investigación.
5. Finalmente, se recomienda incorporar otras variables de estudio que involucre el estudio de las cianotoxinas que libera *M. aeruginosa*, siendo importante conocer el proceso de coagulación, sedimentación y remoción por las partículas de arcilla.

## REFERENCIAS

- Aktas TS, Takeda F. y Maruo C. (2013) Comparison of four types of coagulants for the removal of picophytoplankton [Comparación de cuatro tipos de coagulantes para la eliminación de Picoplancton fotosintético]. *Desalination and water treatment.*, 51 (16–18): 3547-3557. <https://doi.org/10.1080/19443994.2012.750777>
- Alexova, R., Fujii, M., Birch, D., Cheng, J., Waite, T. D., Ferrari, B. C., y Neilan, B. A. (2011). Iron uptake and toxin synthesis in the bloom-forming *Microcystis aeruginosa* under iron limitation [Captación de hierro y síntesis de toxinas en la *Microcystis aeruginosa* formadora de floraciones bajo limitación de hierro]. *Environmental microbiology*, 13(4), 1064–1077. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02412.x>
- Álvarez, F. (2019). *Extracción de la fracción arcilla del Chak'ó con extracto acuoso de Lepechinia meyenii y su caracterización textural y estructural* [Tesis de maestría, Universidad Nacional San Agustín de Arequipa]. Repositorio de la UNSA. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/10850>
- Atkins, R., Rose, T., Brown, R. y Robb, M. (2001). The *Microcystis* cyanobacteria bloom in the Swan River—February 2000 [La floración de cianobacterias *Microcystis* en el río Swan-febrero de 2000]. *Water Sci. Technol.* 43 (9), 107–114. <https://doi.org/10.2166/wst.2001.0518>
- Bae, H., Choi, G., Lee, C. y Yoon, J. (1998). Control of the red tide by yellow loess dispersion [Control de la marea roja mediante la dispersión del *Loess amarillo*]. In: Kim, H.G., Lee, S.G., Lee, C.K. (Eds.), *Proceedings of Korea–China Joint Symposium on Harmful Algal Blooms. National Fisheries Research and Development Institute, Pusan, Korea*: 53–60
- Beaulieu, S., Sengco, M. y Anderson, D. (2005). Using clay to control harmful algal blooms: deposition and resuspension of clay/algal flocs [Utilización de la arcilla para controlar la proliferación de algas nocivas: deposición y resuspensión de flóculos de

arcilla y algas]. *Harmful Algae* 4: 123–138.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2003.12.008>

Bergaya, F. y Lagaly, G. (2013). Introduction: Clays, Clay Minerals, and Clay Science [Introducción: Arcillas, minerales arcillosos y ciencia de la arcilla]. *Journal Developments in Clay Science*, 1:1-18. <https://doi.org/10.4236/ajcc.2012.14020>

Bortoli, S., Oliveira-Silva, D., Krüger, T., Dörr, F., Colepicolo, P., Volmer, D. y Pinto, Z. (2014). Growth and microcystin production of a Brazilian *Microcystis aeruginosa* strain (LTPNA 02) under different nutrient conditions [Crecimiento y producción de microcistina de una cepa brasileña de *Microcystis aeruginosa* (LTPNA 02) en diferentes condiciones nutricionales]. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 24. 389–398. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.019>

Cañazaca, N. y Ramos, B. (2022). *Remoción de arsénico de agua subterránea empleando arcilla natural (Chaco) del Altiplano Peruano*. [Tesis de pregrado, Universidad Peruana Unión]. Repositorio institucional UPU. <http://hdl.handle.net/20.500.12840/5540>

Castillo, O., Castro, R., Capatinta, C., López, P. y Yasuda, M. (2014). Evaluación de la capacidad antiácida in vitro de la arcilla del altiplano peruano “chaco”. *Acta Gastroenterol Latinoam*, 44 Suppl 1:GP 158

Castillo, O. y Frisancho, O. (2015). El "chaco": arcilla medicinal comestible del altiplano peruano y sus propiedades en la patología digestiva. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 35(1), 97-99. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1022-51292015000100013&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1022-51292015000100013&script=sci_abstract)

Catherine, Q., Susanna, W., Isidora, E.S., Mark, H., Aurélie, V. y Jean-François, H. A. (2013) Review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria--ecology, toxin production and risk management [Una revisión del conocimiento actual sobre las cianobacterias bentónicas tóxicas de agua dulce: ecología, producción de toxinas y gestión de riesgos]. *Water Res.* 2013 Oct 1;47(15):5464-79. doi: 10.1016/j.watres.2013.06.042.

- Chislock, M. F., Doster, E., Zitomer, R. A. y Wilson, A. E. (2013) Eutrophication: Causes, Consequences, and Controls in Aquatic Ecosystems [Eutrofización: Causas, consecuencias y controles en los ecosistemas acuáticos]. *Nature Education Knowledge* 4(4):10. <https://doi.org/10.4236/ijg.2016.74039>
- Choque-Quispe, D., Solano-Reynoso, A. y Ramos-Pacheco, B. (2018). Capacidad floculante de coagulantes naturales en el tratamiento de agua. *RTQ*. 38 (2): 298-309. ISSN 2224-6185
- Crettaz, M. C. (2018). *Estudio del crecimiento de Microcystis aeruginosa y de la producción de microcistina en cultivo de laboratorio*. [Tesis de posgrado, Universidad Nacional de la Plata]. Repositorio institucional de la UNLP. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/65910>
- Dixon, J.B. y Weed, S.B. (1989) Minerals in Soil Environments [Minerales en el medio edáfico]. 2nd Edition, Soil Science Society of America, Madison. <https://doi.org/10.4236/oalib.1101865>
- García, R.E., M. Suárez y M.J. Aranibar (2006). Arcilla chacko en alimentación animal. XXVI Reunión de la Sociedad Española de Mineralogía (SEM) y XX Reunión de la Sociedad Española de Arcillas (SEA). Oviedo-España
- Gira, A.V., Caputo, G. y Ferro M.C. (2017). Chapter 6 – application of scanning electron microscopy–energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS) [Aplicación de la microscopía electrónica de barrido-espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (SEM-EDS)]. In: Rocha-Santos TAP, Duarte AC, eds., *Comprehensive analytical chemistry*, vol. 75. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 153–68. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2016.10.002>
- Gu, N., Gao, J., Li, H., Wu, Y., Ma, y. Wang, K. (2016). Montmorillonite-supported with Cu<sub>2</sub>O nanoparticles for damage and removal of *Microcystis aeruginosa* under visible light [Montmorillonita soportada con nanopartículas de Cu<sub>2</sub>O para dañar y eliminar

*Microcystis aeruginosa* bajo luz visible]. *Applied Clay Science*, 132–133, 79-89, <https://doi.org/10.1016/j.clay.2016.05.017>

Guggenheim, S. y Martin, R. (1995). Definition report of clay and clay mineral: Joint the Aipea and CMS nomenclature committees. *Clay Minerals*, 30, 257-259

Harke, M., Steffen, M., Gobler, C., Otten, Timothy, G., Wilhelm, S., Wood, S. y Paerl, W. (2016). A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp [Revisión de la ecología global, genómica y biogeografía de la cianobacteria tóxica *Microcystis* spp]. *Harmful Algae*. 54: 4-20. <https://doi:10.1016/j.hal.2015.12.007>. PMID 28073480

Hernández-Sampieri, R. y Mendoza, C (2018). Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta, Ciudad de México, México: Editorial Mc Graw Hill Education, ISBN: 978-1-4562-6096-5, 714 p

Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M. H. y Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms [Floraciones de cianobacterias]. *Nature Reviews Microbiology*. 16 (8): 471-483. <https://doi:10.1038/s41579-018-0040-1>

Ito, T., Okabe, K., y Mori, M. (2018). Growth reduction of *Microcystis aeruginosa* by clay ball elution solution. *Applied Clay Science*, 162, 223-229

Kumari, N., y Mohan, C. (2021). Basics of clay minerals and their characteristic properties. *Clay Miner*, 24, 1-29. ISSN NO: 2394-8442

Liu, G., Fan, C., Zhong, J., Zhang, L., Ding, S., Yan, S. y Han, S. (2010). Using hexadecyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) modified clays to clean the *Microcystis aeruginosa* blooms in Lake Taihu, China. *Harmful Algae*, 9, 413–418

Lorenzo-Acosta, Y., (2006). Estado del arte del tratamiento de aguas por coagulación-floculación. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, XL (2),10-17. ISSN: 0138-6204

- Loutfi, M., Mariouch, R., Belfaquir, M., y Elyoubi, S. (2021). Removal of nickel from aqueous solutions using natural clay from northern Morocco [Eliminación de níquel de soluciones acuosas utilizando arcilla natural del norte de Marruecos]. *Materials Today: Proceedings*, 45 (8):7457-7467. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.02.018>
- Lyck, S. (2004). Simultaneous changes in cell quotas of microcystin, chlorophyll a, protein and carbohydrate during different growth phases of a batch culture experiment with *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Plankton Research*, 26(7), 727-736
- Ma, X., Wang, Y., Feng, S. y Wang, S. (2014). Comparison of four flocculants for removing algae in Dianchi Lake [ Comparación de cuatro floculantes para la eliminación de algas en el lago Dianchi]. *Environ Earth Sci*, 74 (5). <https://doi:10.1007/S12665-015-4093-4>
- Martínez, P. (2018). *Evaluación del potencial alelopático de la pajilla de arroz en el control de las floraciones algales producidas por Microcystis aeruginosa (kützing)*. [Tesis de pregrado, Universidad Católica Sedes Sapientiae]. Repositorio UCSS. [https://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14095/506/Martinez\\_Pedro\\_tesis\\_bachiller\\_2018.pdf?sequence=1](https://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14095/506/Martinez_Pedro_tesis_bachiller_2018.pdf?sequence=1)
- Mishra, R. K., Zachariah, A. K., y Thomas, S. (2017). *Energy-dispersive X-ray spectroscopy techniques for nanomaterial*. In *Microscopy methods in nanomaterials characterization* (pp. 383-405). Elsevier
- Moore, D.M. y Reynolds, R. (1997). *X-ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals*, Second ed. Oxford University Press, Oxford
- Murray, H.H. (2006). *Structure and composition of clay minerals and their physical and chemical properties* [Estructura y composición de los minerales arcillosos y sus propiedades físicas y químicas]. *Applied clay mineralogy – occurrence, processing and applications of Kaoline, Bentonite, Polygonskite-Sepiolite and common clays*: 7-31. [https://doi:10.1016/ s1572-4352\(06\)02002-2](https://doi:10.1016/ s1572-4352(06)02002-2)

- Noyma, N., De Magalhaes, L., Furtado, M. Mucci, F. van Oosterhout, V. Huszar, M. Marinho, M. y Lüring, M. (2016). Controlling cyanobacterial blooms through effective flocculation and sedimentation with combined use of flocculants and phosphorus adsorbing natural soil and modified clay [Control de las floraciones de cianobacterias mediante floculación y sedimentación efectivas con el uso combinado de floculantes y suelos naturales que absorben fósforo y arcilla modificada]. *Water Research*, 97: 26–38, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.057>
- Pan, G., Zhang, M., Yan, H., Zou, H. y Chen, H. (2003). Kinetics and mechanism of removing *Microcystis aeruginosa* using clay flocculation. *Huan Jing Ke Xue*; 24(5):1-10. PMID: 14719252
- Paerl, H. W. y Huisman, J. (2009). Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms [El cambio climático, catalizador de la expansión mundial de las floraciones de cianobacterias nocivas]. *Environ. Microbiol. Rep.* 1, 27–37. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x>
- Park, Y. H., Kim, S., Kim, H. S., Park, C., y Choi, Y. E. (2020). Adsorption strategy for removal of harmful cyanobacterial species *Microcystis aeruginosa* using chitosan fiber [Estrategia de adsorción para la eliminación de la especie cianobacteriana nociva *Microcystis aeruginosa* utilizando fibra de quitosano]. *Sustainability*, 12(11), 4587. <https://doi.org/10.3390/su12114587>
- Pei, H.-Y., Ma, C.-X., Hu, W.R. y Sun, F. (2014). The behaviors of *Microcystis aeruginosa* cells and extracellular microcystins during chitosan flocculation and flocs storage processes. *Bioresource Technology* 151, 314–322
- Peng, L., Lei, L., Xiao, L. y Han, B. (2019). Cyanobacterial removal by a red soil-based flocculant and its effect on zooplankton: an experiment with deep enclosures in a tropical reservoir in China [Eliminación de cianobacterias mediante un floculante a base de tierra roja y su efecto sobre el zooplancton: un experimento con recintos profundos en un embalse tropical de China]. *Environ Sci Pollut Res* 26, 30663–30674. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2572-3>

- Perry, D.L. (2011). *Handbook of Inorganic Compounds*. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis
- Poonam, S., Sanjay, K. Gupta, A. Guldhe, I. y Faizal, B. (2015). *Microalgae Isolation and Basic Culturing Techniques* [Aislamiento de microalgas y técnicas básicas de cultivo]. Editor(s): Se-Kwon Kim. *Handbook of Marine Microalgae*, Academic Press: 43-54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00004-2>
- Ramos, J., y Oviedo, M. (1995). *Filtro cerámico y aditivo clarificante a partir del Chak'o y sus aplicaciones*. [Tesis de pregrado, Universidad de San Antonio Abad del Cusco]. Repositorio institucional UNSAAC. <http://hdl.handle.net/20.500.12918/934>
- Reynolds, C. S. (2006). *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press
- Sánchez, T. H. (2014). *Cultivo de Spirulina platensis (Gomont) Geitler en Fast Biol T20 para la obtención de biomasa como fuente alternativa de proteína*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio digital UNMSM
- Schindler, D. W. (2006). Recent advances in the understanding and management of eutrophication [Avances recientes en la composición y gestión de la eutrofización]. *Limnology and Oceanography* 51, 356-363. [https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.1\\_part\\_2.0356](https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.1_part_2.0356)
- Sengco, M.R., Li, A., Tugend, K., Kulis, D. y Anderson, D.M. (2001). Removal of red- and brown-tide cells using clay flocculation. I. Laboratory culture experiments with *Gymnodinium breve* and *Aureococcus anophagefferens*. *Marine Ecology Progress Series* 210, 41-53
- Sengco, M., y Anderson, D. (2004). Controlling harmful algal blooms through clay flocculation [Control de proliferación de algas nocivas mediante la floculación de arcilla]. *Journal of Eukaryotic Microbiology*;51(2):169–72. <https://doi:10.1111/j.1550-7408.2004.tb00541.x>
- Shemesh, A., Zyulunov, Y. y Radian, A. (2021). Impact of cocultivation on the aggregation and sedimentation trends of cyanobacteria with native and modified clay minerals

[Impacto del cocultivo en las tendencias de agregación y sedimentación de cianobacterias con minerales arcillosos nativos y modificados]. *Separation and Purification Technology* 278: 119179. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119179>

Shirota, A. (1989). Red tide problem and countermeasures [Problema de la marea roja y contramedidas]. *Int. J. Aquacult. Fish. Technol.* 1, 195–223. <https://doi.org/10.3800/pbr.1.71>

Sinha, E., Michalak, A. y Balaji, V. (2017). Eutrophication will increase during the 21st century as a result of precipitation changes [La eutrofización aumentará durante el siglo XXI como consecuencia de los cambios en las precipitaciones]. *Science* 357 (6349), 405-408. <https://doi:10.1126/science.aan2409>

Soballe, D.M. y Threlkeld, S.T., (1988) Algal-clay flocculation in turbid waters: variations due to algal and mineral differences [Floculación algal-arcillosa en aguas turbias: variaciones debidas a diferencias algales y minerales]. *Verh. Int. Ver. Limnol.* 23, 750–754. <https://doi.org/10.1080/03680770.1987.11899705>

Ural, N. (2021). The significance of scanning electron microscopy (SEM) analysis on the microstructure of improved clay: An overview [La importancia del análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM) de la microestructura de la arcilla mejorada: Una visión general]. *Open Geosciences*, 13 (1): 197-218. <https://doi.org/10.1515/geo-2020-0145>

Wan, L., Chen, X., Deng, Q., Yang, L., Li, X., Zhang, J. y Cao, X. (2019). Phosphorus strategy in bloom-forming cyanobacteria (*Dolichospermum* and *Microcystis*) and its role in their succession [Estrategia del fósforo en cianobacterias formadoras de floraciones (*Dolichospermum* y *Microcystis*) y su papel en su sucesión]. *Harmful Algae*, 84, 46-55. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.02.007>

Weaver, C.E., (1989). Clays, Muds, and Shales. Elsevier, Amsterdam

- Xia, M., Liu, H., Wang, H., Sun, F., Zou, X., Chen, T., y Xie, Q. (2021). Impact of the interaction between hematite and halloysite on environmental fate of organic pollutants. *Applied Clay Science*, 209, 106123
- Yu, Z., Zou, J. y Ma, X., (1994). Application of clays to removal of red tide organisms. 1. Coagulation of red tide organisms with clays [Aplicación de arcillas a la eliminación de organismos de la marea roja. Coagulación de los organismos de la marea roja con arcillas]. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 12 (3), 193–200.  
<https://doi.org/10.1023/B:JAPH.0000044775.33548.38>
- Zea, O. (2005). Caracterización de las arcillas para la fabricación de ladrillos artesanales. [Tesis de posgrado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Repositorio institucional de la USAC: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_2549\\_C.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_2549_C.pdf)

## TERMINOLOGÍA

**Adsorción por arcillas.** Está relacionada con la capacidad que posee la superficie de la arcilla en interactuar con otros elementos catiónicos, esto facilitada por la carga negativa que esta posee (Ural, 2021).

**Blooms.** Se les considera a los microorganismos que existen en forma de células individuales, colonias o filamentos. Aunque las cianobacterias son de naturaleza microscópica, pueden ser visibles cuando existen en forma de colonias, como costras o floraciones (Catherine *et al.*, 2013).

**Capacidad floculante.** La capacidad de coagulación, se genera con la aplicación de sustancias químicas y la provisión de mezcla, de tal manera que las partículas de los polímeros se aglutinan con algunos contaminantes, pudiendo ser retirados mediante procesos secundarios de remoción (Choque-Quispe *et al.*, 2018).

**Cianobacteria.** Las cianobacterias son los primeros microorganismos fotosintéticos oxigénicos en la tierra y han contribuido a la producción de oxígeno en la atmósfera terrestre durante los últimos 3 mil millones de años (Huisman *et al.*, 2018).

**Coagulación.** Proceso fisicoquímico en la que se incorporan partículas en suspensión, que podrían ser sales inorgánicas que van a permitir disminuir la repulsión entre las partículas que se desean coagular (Lorenzo-Acosta, 2006).

**Eutrofización.** La eutrofización se caracteriza por un crecimiento excesivo de plantas y algas debido a la mayor disponibilidad de una o más factores de crecimiento limitantes necesarios para la fotosíntesis, como son los nutrientes fósforo y nitrógeno (Schindler, 2006).

**Fotosíntesis.** Conversión de carbono inorgánico (dióxido de carbono) a carbono orgánico (glucosa) por un productor primario (Chislock *et al.*, 2013).

**Floculación algal.** La floculación de la floración es el resultado de la colisión repetida y la unión de las células, formando aglomerados progresivamente más grandes (o flóculos) que se sedimentan rápidamente (Sengco y Anderson, 2004).

**Hipoxia.** Reducción de la concentración de oxígeno disuelto en el agua que estresa al organismo (Chislock *et al.*, 2013).

**Mineral arcilloso:** El término mineral arcilloso se refiere a minerales de filosilicato y a minerales que imparten plasticidad a la arcilla y que endurece al secarse o cocerse (Guggenheim y Martin, 1995).

**Sedimentación.** Proceso por el cual las partículas más pesadas que el agua son precipitadas por la acción de la gravedad (Lorenzo-Acosta, 2006).

**Sucesión algal.** Corresponde a la variación de la biomasa de cianobacterias fijadoras de N<sub>2</sub> en periodos estacionales, siendo el principal factor los nutrientes que se incorporan en los cuerpos de agua (Wan *et al.*, 2019).

## APÉNDICES

### Apéndice 1

*Parámetros fisicoquímicos del cultivo a M. aeruginosa*

Parámetro	unidad	cantidad
pH		8,5
Conductividad eléctrica	mS/cm	0,77
Nitrógeno total	mg/L	35,80
Fósforo total	mg/L	2,23
Sólidos disueltos totales	mg/L	450

### Apéndice 2

*Composición elemental de la partícula de arcilla del Chak'o*

Element	Atomic %	Atomic % Error	Weight %	Weight % Error
O	63.6 %	0.5 %	48.2 %	0.5 %
Si	21.9 %	0.3 %	29.2 %	0.3 %
Al	8.7 %	0.5 %	11.1 %	0.5 %
Fe	2.1 %	0.5 %	5.5 %	0.5 %
Mg	1.0 %	3.1 %	1.2 %	3.1 %
K	2.6 %	0.7 %	4.9 %	0.7 %

*Nota.* Reporte del análisis de fluorescencia de rayos x realiza a la arcilla del Chak'o.

### Apéndice 3

*Prueba de Tukey para los resultados de la cantidad de M. eruginosa y los tratamientos*

<b>Cantidad de M. aeruginosa</b>					
<b>HSD Tukey<sup>a</sup></b>					
Subconjunto para alfa = 0.05					
Tratamientos	N	1	2	3	4
Tratamiento 4	3	5766,6667			
Tratamiento 3	3	6800,0000			
Tratamiento 2	3		9566,6667		
Tratamiento 1	3			15833,3333	
Control	3				24000,0000
Sig.		,480	1,000	1,000	1,000

### Apéndice 4

*Prueba de Tukey para los resultados del porcentaje de remoción de M. eruginosa y los tratamientos*

<b>REMOCIÓN</b>					
<b>HSD Tukey<sup>a</sup></b>					
		1	2	3	4
Control	3	7,6567			
Tratamiento 1	3		39,1633		
Tratamiento 2	3			63,1333	
Tratamiento 3	3				73,8467
Tratamiento 4	3				77,8167
Sig.		1,000	1,000	1,000	0,479

*Nota:* Subconjunto para alfa = 0.05.

## Apéndice 5

*Prueba de Tukey para los resultados de la cantidad de de M. eruginosa y los tiempos de exposición*

<b>Cantidad de M. aeruginosa</b>				
<b>HSD Tukey<sup>a</sup></b>				
		1	2	3
tiempo 90	3	150,0000		
tiempo 60	3	266,6667		
tiempo 30	3	283,3333		
tiempo 20	3	1266,6667		
tiempo 10	3		4400,0000	
tiempo inicial	3			26000,0000
Sig.		0,294	1,000	1,000

*Nota:* Subconjunto para alfa = 0.05.

## Apéndice 6

*Prueba de Tukey para los resultados de la eficiencia de sedimentación de M. eruginosa y los tiempos de exposición*

<b>Eficiencia de sedimentación</b>				
<b>HSD Tukey<sup>a</sup></b>				
		1	2	3
tiempo inicial	3	,0000		
tiempo 10	3		83,0733	
tiempo 20	3			95,1267
tiempo 30	3			98,9067
tiempo 60	3			99,3567
tiempo 90	3			99,4200
Sig.		1,000	1,000	0,294

*Nota:* Subconjunto para alfa = 0.05.

## Apéndice 7

*Parámetro, métodos e instrumentos usados en la caracterización fisicoquímica de la muestra.*

<b>Parámetro</b>	<b>Metodología</b>	<b>Instrumento</b>
pH	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-H+ B. 23rd Ed. pH Value. Electrometric Method. 2017	Potenciómetro HANNA
Conductividad	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2510 B.23rd Ed. Conductivity. Laboratory Method. 2017	Conductímetro HANNA
Nitrógeno total	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-N C, 23rd Ed. Total Nitrogen: Persulfate Method. 2017	Fotometría
Fósforo total	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-P B(Item 5) y E, 23 rd Ed. Phosphorus. Ascorbic Acid Method. 2017	Fotometría
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Identificación taxonómica al microscopio	Clave de identificación

## Apéndice 8

### Procedimiento para la determinación de fósforo total de la muestra

#### Fosfato: P orto

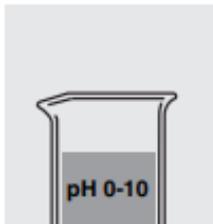
No. del programa

51



a xylem brand

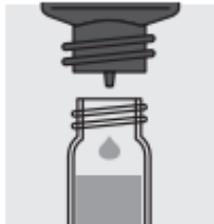
WTW Modelo No.:	14543
Categoría:	KT (ensayo de reactivos con cubeta)
Cubeta:	16 mm
Rango de medición:	0,05 - 3,00 mg/l PO <sub>4</sub> -P
	0,15 - 9,20 mg/l PO <sub>4</sub>
	Indicación posible en mmol/l



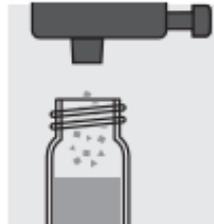
Verificar el valor pH de la muestra.  
Rango nominal: pH 0-10.  
En caso necesario, corregir con lejía de sosa diluida o con ácido sulfúrico diluido.



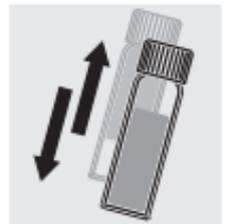
Llenar con una pipeta 5,0 ml de la muestra en una cubeta de reacción y mezclar.



Añadir 5 gotas de **P-2K** y cerrar la cubeta con el tapón roscado y mezclar.



Añadir 1 dosis **P-3K** con el dosificador azul y cerrar la cubeta con el tapón roscado.



Sacudir enérgicamente la cubeta para diluir las sustancias sólidas.



Dejar en reposo durante 5 minutos.



Colocar la cubeta en el compartimiento del fotómetro e iniciar la medición.

## Apéndice 9

### Procedimiento para la determinación de Nitrógeno total de la muestra

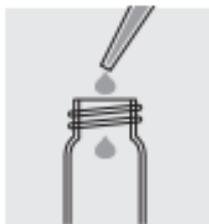
#### Nitrógeno (total)

No. del programa **35**



WTW Modelo No.:	14537
Categoría:	KT (ensayo de reactivos con cubeta)
Cubeta:	16 mm
Rango de medición:	0,50 - 15,00 mg/l N

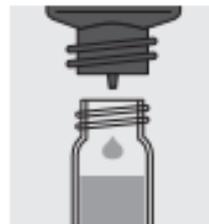
**Observación:** Antes de ejecutar por primera vez, determinar el valor en blanco del reactivo.



Agregar 10,0 ml de muestra en una cubeta vacía.



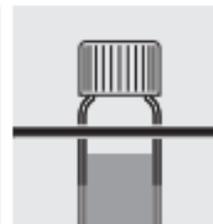
Agregar 1 cuchara micrométrica azul rasa de **N-1K**.



Añadir 6 gotas de **N-2K** y cerrar la cubeta con el tapón roscado y mezclar.



Calentar la cubeta en la unidad térmica durante 1 hora a 120 °C.



Colocar la cubeta nuevamente en el soporte y dejar que se enfríe a temperatura ambiente (=muestra preparada).



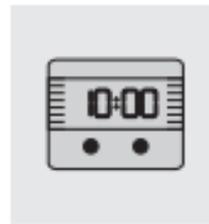
Añadir 1 cuchara micrométrica azul rasa de **N-3K** en una cubeta de reacción y cerrar la cubeta con el tapón roscado.



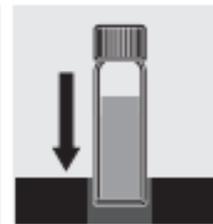
Sacudir la cubeta **enérgicamente** durante **1 minuto para disolver el material sólido**.



Agregar muy lentamente 1,5 ml de la muestra preparada con la pipeta, cerrar la cubeta con el tapón roscado y mezclar **enérgicamente**. **Cuidado, la cubeta se calienta mucho!**



Dejar en reposo durante 10 minutos.



Colocar la cubeta en el compartimiento del fotómetro e iniciar la medición.

## Apéndice 10

### *Procedimientos y cálculos para determinar la CIC*

Los reactivos usados fueron:

- Acetato de amonio 1N
- Ácido bórico al 4%
- Alcohol etílico al 95%
- Agua bidestilada
- HCl 0,1N
- Indicador mixto
- Muestra de arcilla
- NaOH 10N
- Reactivo Nessler

Procedimientos:

- Se pesó 0,5g de arcilla en muestra hermética y se añadió 20mL de acetato de amonio 1N (agitar por 15min y reposar por 24h).
- Filtrar la muestra y lavar con alcohol
- Se realizó el desplazamiento del amonio intercambiado en la muestra, adicionando 1mL de NaOH 10N.
- Se realizó la destilación por arrastre de vapor de agua, recibiendo el destilado en 10mL de solución de ácido bórico al 4%, hasta 100mL del destilado.
- Finalmente, fue realizada la determinación volumétrica del amonio con HCl adicionando al destilado 5 gotas del indicador y procediendo a titular.

Cálculos:

$$CIC = Vg \times N \times 100g/Pm$$

$$CIC = (3,71mL \times 0,1N \times 100 g) / 0,5g$$

$$CIC = 75,5meq/100g.$$

## Apéndice 11

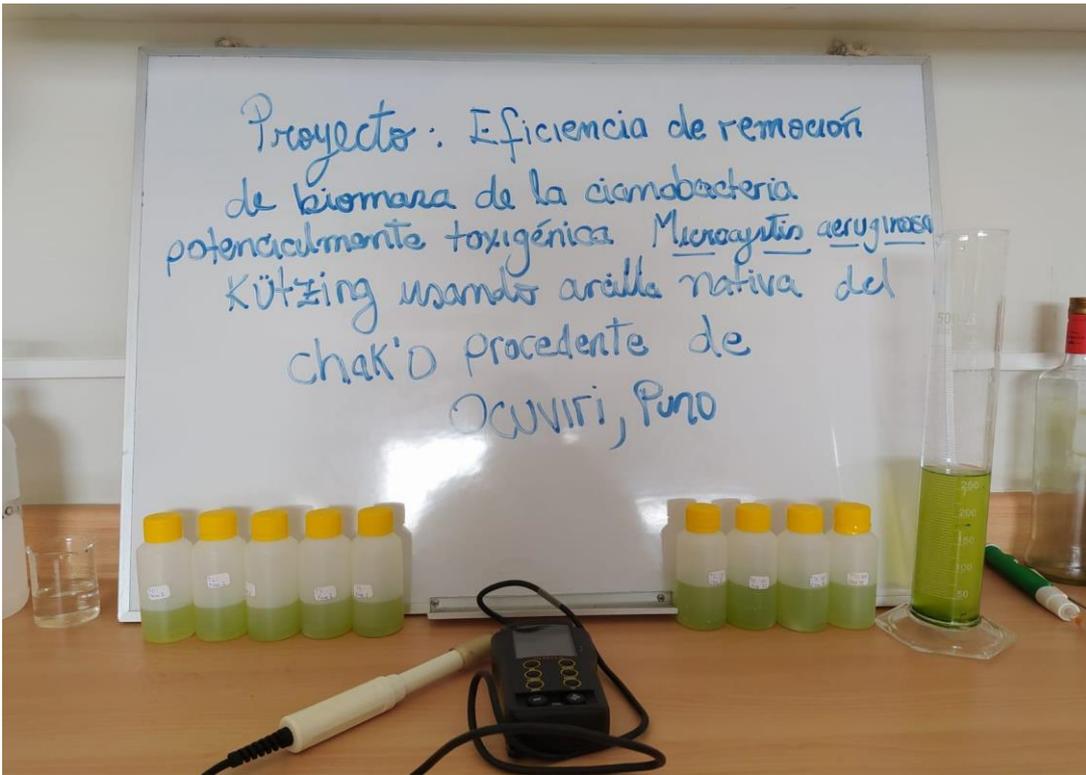
### *Registro fotográfico de la investigación*



*Nota:* Microscopio electrónico de barrido usado en la investigación.



*Nota:* Fraccionamiento y preparación de las partículas de arcilla del Chak'ó.



Nota: Distribución de las muestras de *M. aeruginosa*.



Nota: Imágenes observadas al microscopio compuesto de las colonias de *M. aeruginosa*.



*Nota:* Determinación de los parámetros fisicoquímicos de las muestras conteniendo las colonias de *M. aeruginosa*.



*Nota:* Mezcla de las colonias de *M. aeruginosa* con las arcillas del Chak'o.



*Nota:* Pesaje de las arcillas y mezcla con las poblaciones de *M. aeruginosa*.