

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



Eficiencia de *Chlorella* spp. inmovilizada en alginato en la remoción de  
contaminantes de las aguas residuales municipales del distrito  
de Llamellin, Ancash

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

**AUTORES**

Lisbeth Alicia Ugarte Espíritu

Fran Shiver Ibarra Benedicto

**ASESORA**

Elvira Teófila Castañeda Chirre

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° 037- 2024/UCSS/FCAA/DI**

Siendo las 09:00 a.m. del jueves 29 de agosto de 2024 a través de la plataforma virtual zoom de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, el Jurado de Tesis integrado por:

- |                                    |                 |
|------------------------------------|-----------------|
| 1. Manuel Antonio Trelles Velasco  | presidente      |
| 2. Mario Antonio Anaya Raymundo    | primer miembro  |
| 3. Segundo Octavio Zegarra Aliaga  | segundo miembro |
| 4. Elvira Teófila Castañeda Chirre | asesor(a)       |

Se reunieron para la sustentación virtual de la tesis titulada:

**Eficiencia de *Chlorella* spp. inmovilizada en alginato en la remoción de contaminantes de las aguas residuales municipales del distrito de Llamellin, Ancash**

Que presentan los bachilleres en **Ciencias Ambientales**:

**Lisbeth Alicia Ugarte Espíritu y Fran Shiver Ibarra Benedicto**

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 **SUFICIENTE** 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, 29 de agosto de 2024.



Manuel Antonio Trelles Velasco  
Presidente



Mario Antonio Anaya Raymundo  
1° miembro



Segundo Octavio Zegarra Aliaga  
2° miembro



Elvira Teófila Castañeda Chirre  
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**

Huacho, 16 de diciembre de 2024

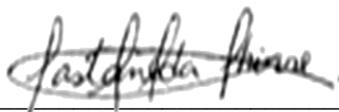
Señor(a),  
Wilfredo Mendoza Caballero  
**Jefe del Departamento de Investigación**  
**Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales** - UCSS

Reciba un cordial saludo.

Sirva el presente para informar que **la tesis**, bajo mi asesoría, con título: Eficiencia de *Chlorella* spp. Inmovilizada en alginato en la remoción de contaminantes de las aguas residuales municipales del distrito de Llamellin, Ancash, presentado por Lisbeth Alicia Ugarte Espiritu (código de estudiante: 2014101173 y DNI: 76277444) y de Fran Shiver Ibarra Benedicto (código de estudiante: 2014101597 y DNI: 74326336 ) para optar **el título profesional** de Ingeniero Ambiental ha sido revisado en su totalidad por mi persona y **CONSIDERO** que el mismo se encuentra **APTO** para ser sustentado/publicado 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 0 %** (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,



Firma del Asesor (a)

**Elvira Teofila Castañeda Chirre**

DNI N°: 15744138

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1953-8869>

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**

Nuestra tesis es dedicada a Dios, por darnos fortaleza y muchas bendiciones.

A mis padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años en mi formación profesional.

*Lisbeth Alicia Ugarte Espíritu*

A mis hermanos por el apoyo moral, que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida y a todas las personas que apoyaron para que la investigación se realice con éxito.

*Fran Shiver Ibarra Benedicto*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mis padres, hermanos y demás familiares porque hicieron todo lo posible para alcanzar mis metas profesionales.

*Lisbeth Alicia Ugarte Espíritu*

Mi gratitud a la Universidad Católica Sedes Sapientiae, al Programa “Beca 18” del Estado peruano y a la Ingeniera Elvira Teófila Castañeda Chirre, por todo su apoyo y enseñanzas a nivel técnico y profesional.

*Fran Shiver Ibarra Benedicto*

# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>DEDICATORIA</b>	<b>vi</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>x</b>
<b>ÍNDICE DE APÉNDICES</b>	<b>xi</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xiii</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO</b>	<b>4</b>
1.1. Antecedentes	4
1.1.1. Antecedentes internacionales	4
1.1.2. Antecedentes nacionales	7
1.2. Bases teóricas especializadas	11
1.2.1. Aguas residuales	11
1.2.2. Tipos de tratamientos de aguas residuales	15
1.2.3. Nutrientes	16
1.2.4. Biorremediación	17
1.2.5. Tratamiento de aguas residuales con microalgas	18
1.2.6. <i>Chlorella</i> spp.	24
1.2.7. Formulación de hipótesis	27
<b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>28</b>
2.1. Diseño de investigación	28
2.2. Lugar y fecha	28
2.3. Descripción del experimento	28
2.3.1. Toma de muestras de agua residual	28
2.3.2. Caracterización de las muestras de efluente provenientes de la PTAR	29
Llamellin	
2.3.3. Obtención de la microalga <i>Chlorella</i> spp.	30

2.3.4. Inmovilización del alga <i>Chlorella</i> spp. en esferas de alginato	30
2.3.5. Medición de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), sólidos suspendidos totales (SST), temperatura y potencial de hidrógeno (pH)	31
2.3.6. Determinación de la variación de la biomasa <i>Chlorella</i> spp. después de los tratamientos	31
2.3.7. Análisis de la contaminación microbiológica	31
2.4. Tratamientos	32
2.5. Unidades experimentales	32
2.6. Identificación de variables y su mensuración	32
2.7. Diseño estadístico del experimento	33
2.8. Análisis estadístico de datos	34
2.9. Materiales de laboratorio	34
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS</b>	<b>35</b>
3.1 Caracterización de los parámetros físico-químicos y microbiológicos de los efluentes de la PTAR de Llamellin, antes de los tratamientos con la microalga <i>Chlorella</i> spp. inmovilizada en alginato	35
3.2 Variación y porcentaje de remoción de los parámetros físico-químicos y microbiológicos del efluente de la PTAR Llamellin	37
3.2.1. Variación y porcentaje de remoción de los coliformes termotolerantes después de los tratamientos con <i>Chlorella</i> spp.	37
3.2.2. Variación y porcentaje de la demanda bioquímica de oxígeno después de los tratamientos con <i>Chlorella</i> spp.	40
3.2.3. Variación y porcentaje de la demanda química de oxígeno después de los tratamientos con <i>Chlorella</i> spp.	43
3.2.4. Variación y porcentaje de remoción de los sólidos suspendidos totales (SST) después de los tratamientos con <i>Chlorella</i> spp.	46
3.2.5. Variación del valor de pH en el efluente después de los tratamientos con <i>Chlorella</i> spp.	49
3.2.6. Variación de la temperatura	50
3.3. Evaluación de variación de la biomasa de <i>Chlorella</i> spp.	50
3.3.1. Concentración inicial de <i>Chlorella</i> spp.	50
3.3.2. Variación de la biomasa de <i>Chlorella</i> spp.	51

<b>CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN</b>	<b>52</b>
4.1. Caracterización de los parámetros físico-químicos y microbiológicos de los efluentes de la PTAR de Llamellin	53
4.2. Variación y porcentaje de remoción de los parámetros físico-químicos y microbiológicos del efluente de la PTAR Llamellin	55
4.3. Variación de la biomasa de <i>Chlorella</i> spp. después de los tratamientos	57
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES</b>	<b>57</b>
<b>CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES</b>	<b>59</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>60</b>
<b>TERMINOLOGÍA</b>	<b>71</b>
<b>APÉNDICES</b>	<b>73</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> <i>Métodos de análisis de los parámetros en el laboratorio</i>	30
<b>Tabla 2.</b> <i>Descripción de los tratamientos en base a las distintas concentraciones de la microalga</i>	32
<b>Tabla 3.</b> <i>VARIABLES de estudio</i>	33
<b>Tabla 4.</b> <i>Características físico químicas iniciales del agua residuales efluente del PTAR Llamellin, Ancash</i>	35
<b>Tabla 5.</b> <i>Valores obtenidos de los coliformes termotolerantes de efluentes de PTAR Llamellin tratados con Chlorella spp.</i>	36
<b>Tabla 6.</b> <i>Análisis de la varianza de los coliformes termotolerantes</i>	38
<b>Tabla 7.</b> <i>Prueba HSD Tukey de los coliformes termotolerantes</i>	38
<b>Tabla 8.</b> <i>Valores obtenidos de la DBO<sub>5</sub> de efluentes de PTAR Llamellin tratados con Chlorella spp.</i>	39
<b>Tabla 9.</b> <i>Análisis de la varianza de la DBO<sub>5</sub></i>	41
<b>Tabla 10.</b> <i>Prueba HSD Tukey de la DBO<sub>5</sub></i>	41
<b>Tabla 11.</b> <i>Valores obtenidos de la DQO de efluentes de PTAR Llamellin tratados con Chlorella spp.</i>	42
<b>Tabla 12.</b> <i>Análisis de la varianza de la DQO</i>	44
<b>Tabla 13.</b> <i>Prueba HSD Tukey de la DQO</i>	44
<b>Tabla 14.</b> <i>Valores obtenidos de SST de efluentes de PTAR Llamellin tratados con Chlorella spp.</i>	45
<b>Tabla 15.</b> <i>Análisis de la varianza de SST</i>	47
<b>Tabla 16.</b> <i>Prueba HSD Tukey de SST</i>	47
<b>Tabla 17.</b> <i>Valores obtenidos del pH de efluentes de PTAR Llamellin tratados con Chlorella spp.</i>	48
<b>Tabla 18.</b> <i>Análisis de la varianza del pH</i>	48
<b>Tabla 19.</b> <i>Prueba HSD Tukey del pH</i>	49
<b>Tabla 20.</b> <i>Crecimiento escalar de Chlorella spp. mediante lecturas diarias de la concentración</i>	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> <i>Ultraestructura esquemática de Chlorella que representa diferentes orgánulos</i>	25
<b>Figura 2.</b> <i>Mapa de ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales de Llamellin, Ancash</i>	29
<b>Figura 3.</b> <i>Resultado de la variación y porcentaje de remoción de coliformes termotolerantes por Chlorella spp.</i>	37
<b>Figura 4.</b> <i>Resultado de la variación y porcentaje de remoción de la DBO<sub>5</sub> por Chlorella spp.</i>	40
<b>Figura 5.</b> <i>Resultado de la variación y porcentaje de remoción de la DQO por Chlorella spp.</i>	43
<b>Figura 6.</b> <i>Resultado de la variación y porcentaje de remoción de SST por Chlorella spp.</i>	46
<b>Figura 7.</b> <i>Variación de la biomasa de Chlorella spp. después de los tratamientos</i>	51

## ÍNDICE DE APÉNDICES

	<b>Pág.</b>
Apéndice 1. <i>Mapa de ubicación del distrito de Llamellin</i> .....	73
Apéndice 2. <i>Dossier fotográfico</i> .....	74

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo principal determinar la eficiencia de *Chlorella* spp. inmovilizada en alginato en la remoción de contaminantes de las aguas residuales municipales del distrito de Llamellin, Ancash. Para realizar esta investigación fueron analizados los parámetros físico-químicos (DBO, DQO, sólidos suspendidos totales, pH y temperatura) y microbiológicos (coliformes termotolerantes) de los efluentes de la planta de tratamiento antes y después de los tratamientos con la microalga *Chlorella* spp. Para los distintos tratamientos fue necesario inmovilizar al alga con una matriz de alginato, a una densidad de  $10,9 \times 10^7$  células/L. Los tratamientos fueron cinco y contenían 350 mL de agua residual del efluente depositados en frascos de 475 mL al cual se le adicionaron diferentes volúmenes de la microalga inmovilizada (T0=Control= 0 mL, T1= 10 mL, T2= 20 mL, T3= 50 mL y T4= 100 mL). La temperatura de las aguas de las unidades experimentales estuvo monitoreada constantemente y presentaron un promedio de 21,50 °C. Los tratamientos fueron evaluados en 3 semanas, obteniendo máximos valores de remoción de 96,50 % para coliformes termotolerantes, 83,89 % para la DQO, 77,50 % para la DBO y 85,19 % para los SST. Además, se pudo registrar un incremento máximo de la biomasa en T4 con 67,88 %. Los resultados obtenidos de las aguas cumplen con la norma para el LMP de aguas residuales, lo que sugiere el uso de esta microalga en el tratamiento de aguas residuales domésticas y como una alternativa para abordar el problema de contaminación fecal por vertidos.

**Palabras clave:** *Alginato*, *Chlorella* spp., Llamellin, microalga inmovilizada, remoción.

## ABSTRACT

The main objective of the present study was to determine the efficiency of *Chlorella* spp. immobilized in alginate in the removal of contaminants from municipal wastewater in the district of Llamellin, Ancash. To carry out this research, the physical-chemical parameters (BOD, COD, Total Suspended Solids, pH and Temperature) and microbiological parameters (thermotolerant coliforms) of the effluents of the treatment plant were analyzed before and after treatments with the microalgae *Chlorella* spp. For the different treatments it was necessary to immobilize the algae with an alginate matrix, at a density of  $10,9 \times 10^7$  cells/L. There were five treatments and they contained 350 mL of residual water from the effluent deposited in 475 mL bottles to which different volumes of the immobilized microalgae were added (T0=Control= 0 mL, T1= 10 mL, T2= 20 mL, T3= 50 mL and T4= 100 mL). The water temperature of the experimental units was constantly monitored and presented an average of 21,50 °C. The treatments were evaluated in 3 weeks, obtaining maximum removal values of 96.50 % for thermotolerant coliforms, 83.89 % for COD, 77.50 % for BOD and 85.19 % for TSS. Furthermore, a maximum increase in biomass could be recorded in T4 with 67.88 %. The results obtained from the waters comply with the standard for the LMP of wastewater, which suggests the use of this microalgae in the treatment of domestic wastewater and as an alternative to address the problem of fecal contamination due to discharges.

**Keywords:** *Chlorella* spp. immobilized microalgae, Llamellin, removal.

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial más del 80 % de las aguas residuales no son tratadas; mientras que, en Perú, el 70,90 % de las mismas (530 millones de m<sup>3</sup>/año) no reciben ningún proceso de mejora (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura [UNESCO], 2017). Por ello, menciona UNESCO, que surge la deficiencia en nuestro país en la remoción de nutrientes como fosfatos ( $PO_4^{-3}$ ) y formas nitrogenadas ( $N - NO_3$ ) en el tratamiento terciario, y más aún en la capital, donde ninguna planta lleva a cabo este tipo de tratamiento de forma directa.

En Latinoamérica, el 70,00 % de las aguas residuales no han sido sometidas a tratamiento previo antes de ser reutilizadas, sumado a ello, se conoce que solo el 14,00 %, de 143 plantas de tratamiento de agua residual en el Perú, cumple con las leyes en vigencia; asimismo, 7 millones de habitantes no tienen acceso a agua potable segura (Larios *et al.*, 2015).

La falta de mantenimiento de las plantas de tratamiento de aguas residuales en el Perú afecta su eficiencia debido a la presencia de arenas, lodos, malezas y macrófitas (Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento [SUNASS], 2018). De acuerdo con SUNASS, el exceso de nutrientes (N y P) provoca un crecimiento excesivo de microalgas en la superficie, lo que restringe el intercambio de gases ( $O_2$  y  $CO_2$ ), impide el paso de la radiación solar y genera condiciones anóxicas. Estas condiciones no solo afectan la eficiencia de remoción de la  $DBO_5$ , sino que también causan malos olores debido a la formación de hidrógeno sulfurado ( $H_2S$ ).

Por otro lado, Ávila (2015) afirma que la presencia de contaminantes inorgánicos como los metales pesados y compuestos orgánicos de difícil degradación en los efluentes sin tratar, disminuyen el grado de salud y afectan la disponibilidad de agua potable en zonas aledañas, no solo debido a la descomposición de los organismos muertos sino también por el aumento de focos infecciosos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017) argumentó que el agua contaminada y el saneamiento se basan con la transmisión de enfermedades como el cólera, diarreas, disentería, hepatitis A, fiebre tifoidea y poliomielitis, por la forma inapropiada en su gestión, exponen a la población a riesgos prevenibles para su salud.

Actualmente, las tecnologías orientadas al desarrollo, cuidado del medio ambiente, a la reutilización de los residuos y a la generación de energías limpias de bajo costo se han tornado indispensables. Las tecnologías que usan microorganismos como las microalgas, adquieren un gran protagonismo, al ser considerados eco-amigables, dado que reciclan eficientemente contaminantes, como son el nitrógeno y fósforo, siendo incorporados a su metabolismo para generar biomasa (Markou y Georgakakis, 2011).

En el Perú se han llevado a cabo investigaciones sobre tratamientos de aguas residuales en la que se emplea a la microalga *Chlorella* spp. y se ha observado buenos resultados en la remoción de nutrientes en este tipo de aguas. Sin embargo, los estudios sobre el uso de microalgas inmovilizadas para el tratamiento de aguas residuales son muy escasos, considerando los bajos porcentajes de aguas tratadas en el Perú y otros países de la región (Campos y Saconi, 2014).

Dado lo anterior, es crucial el uso de la microalga *Chlorella* spp. en la eliminación de contaminantes. Es fundamental comprender plenamente esta cuestión debido a la interrelación entre el ser humano, el medio ambiente y la calidad de vida, con el objetivo de hacer que el agua sea reutilizable y genere beneficios para el distrito de Llamellin. Asimismo, la ejecución de esta investigación marca el comienzo de esta actividad, con la posterior planificación en otros distritos, lo que resulta en un menor costo. Por estos motivos, el presente estudio buscó determinar la eficacia de *Chlorella* spp. en la eliminación de contaminantes de los efluentes de la PTAR de Llamellin, para lo cual las microalgas fueron inmovilizadas en matrices de alginato y evaluadas durante 3 semanas, obteniendo altos valores de remoción.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Determinar la eficiencia de *Chlorella* spp. inmovilizada en alginato en la remoción de contaminantes de las aguas residuales municipales del distrito de Llamellin, Ancash.

### Objetivos Específicos

- Realizar la caracterización de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos (coliformes termotolerantes, demanda bioquímica de oxígeno, demanda química de oxígeno, sólidos suspendidos totales, pH y temperatura) de los efluentes de la PTAR de Llamellin, antes de los tratamientos con la microalga *Chlorella* spp. inmovilizada en alginato.
- Evaluar el comportamiento de los parámetros físico-químicos y microbiológicos del efluente de la PTAR de Llamellin sometida a la actividad remediadora de *Chlorella* spp.
- Evaluar la variación de la biomasa de *Chlorella* spp. al finalizar los tratamientos.

# CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

## 1.1. Antecedentes

### 1.1.1. Antecedentes internacionales

Rosales *et al.* (2018) en la investigación titulada “Remoción de contaminantes y crecimiento del alga *Scenedesmus* sp. en aguas residuales de curtiembres, comparación entre células libres e inmovilizadas”; tuvieron como objetivo evaluar la capacidad de crecimiento de la microalga clorofícea *Scenedesmus* sp. inmovilizada y libre para el tratamiento de aguas residuales de una curtiembre de la localidad de San Benito, Bogotá - Colombia. Para ello, establecieron dos tratamientos con tres repeticiones cada una, utilizando el diseño completo al azar. En el primer tratamiento instalaron reactores de tipo *batch*, de 2,00 L de capacidad cada una, donde agregaron “de manera libre” 1,80 L de biomasa centrifugada; mientras que, en el segundo tratamiento, bajo las mismas características de diseño del reactor, insertaron 10 discos de *Luffa* con *Scenedesmus* sp. inmovilizadas. El experimento realizado fue en condiciones controladas de temperatura y ciclos de luz/oscuridad de 20,00 °C y 12 horas, respectivamente; en un periodo de 35 días. Asimismo, para determinar la diferencia estadística en el crecimiento del alga, utilizaron la prueba no paramétrica U de *Mann-Whitney*. Por otro lado, la toma de muestra y caracterización fue mediante los análisis fisicoquímicos *in situ* (oxígeno disuelto, pH, conductividad eléctrica y turbidez) y posteriormente, fueron analizados los parámetros *ex situ* (nitratos, nitritos, amonio, sulfatos, DBO y DQO). Entre los resultados mostraron remociones mayores al 90,00 % para nitratos, amonio, fosfatos y cromo total. Asimismo, la DBO y la DQO fueron removidas en más del 97,00 % en ambos sistemas (94,00 - 98,00 % para “libres” y 97,00 - 98,00 % para inmovilizadas). Asimismo, la cantidad de lípidos generados fueron superiores al 20,00 %. Los autores concluyeron que la microalga *Scenedesmus* creció notablemente utilizando el agua residual de curtiembre como sustrato, siendo la forma libre la de mayor crecimiento. Esto muestra la viabilidad de uso de esta microalga como agente en la remoción de contaminantes de las aguas residuales.

Cartagena y Malo (2017) en la investigación “Evaluación del uso de la microalga *Chlorella Vulgaris* en la remoción de materia orgánica de las aguas residuales de la PTAR el Salitre a nivel laboratorio”; tuvieron como objetivo evaluar el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en la remoción de la materia orgánica de las aguas residuales de los efluentes provenientes de la PTAR El Salitre en Bogotá-Colombia. Para ello, establecieron una investigación experimental de enfoque mixto, ejecutada en 4 etapas. En la etapa 1, luego de acondicionar los parámetros de crecimiento (temperatura =  $22,00 \pm 3,00$  °C y pH entre 6,00 y 7,00 unidades), inocularon 200,00 mL de cultivo (Foliagro) y 20,00 mL de la microalga obtenida de Biotefua y obtuvieron 1000,00 mL de cultivo y 100,00 mL de microalga, en un periodo de 16 días de escalamiento. La etapa 2 consistió en la pre – experimentación en dos condiciones: a) inoculación en porcentaje de volumen del 33,00 y 50,00 % en 300,00 mL de agua residual en un periodo de 11 días y b) inoculación en porcentaje de volumen del 10,00 y 30,00 % en 300,00 mL de agua residual en un periodo de 15 días, en el cual utilizaron la cámara de Neubauer para el determinar la concentración celular. La etapa 3 consistió en la experimentación de 10,00; 20,00 y 30,00 % de microalga en volúmenes de agua de 1,00 L. En la etapa 4 realizaron la medición de los parámetros como sólidos totales, pH, turbiedad, alcalinidad, conductividad, sólidos disueltos totales y la demanda química de oxígeno y ejecutaron el biotratamiento de las muestras del PTAR El Salitre. Entre los principales resultados obtuvieron que la materia orgánica por DQO y por SST fueron removidos en mayor cantidad con 81,80 y 89,91 %; siendo mayores a la remoción por la PTAR El Salitre que fue de 35,30 % por DQO y 57,51 % por SST. Los autores concluyeron que el biotratamiento realizado por la microalga *Chlorella vulgaris*, reportó mejor resultado, que podría servir como tratamiento complementario para las aguas residuales.

Vacca *et al.*, (2017) en la investigación “Uso de la microalga *Chlorella* sp. Viva en suspensión en la decoloración del agua residual de una empresa textil”; tuvieron como objetivo evaluaron la capacidad de la microalga *Chlorella* sp. en suspensión para remover el color del efluente textil en el departamento Atlántico (Colombia). Para ello, establecieron una investigación experimental de enfoque mixto, con tres tratamientos: 0,10, 0,20 y 0,30 de concentración inicial de absorbancia a 647 nm, a una temperatura de  $25,00 \pm 1,00$  °C y fotoperiodo de 12 horas. Por un lado, recolectaron el agua en un punto localizado antes del vertimiento final de una empresa textil ubicada en el municipio de Juan de Acosta. Por otro lado, cultivaron la microalga en un biorreactor de 2,50 L de capacidad efectiva, con

fertilizante comercial “Nutrifoliar” como medio de cultivo a temperatura de laboratorio, con fotoperiodos de luz/oscuridad de 12 horas. Asimismo, colocaron 250,00 cm<sup>3</sup> de agua residual y biomasa microalga en las concentraciones estudiadas, en frascos esterilizados en un sistema de estudio “batch” a temperatura de 25,00 °C con sus respectivos controles. A partir de ello, ejecutaron la curva de crecimientos, la curva de calibración del colorante y bioensayos de coloración (análisis remoción, evaluación de DBO, DQO, nitrógeno total y fosfatos). Entre los resultados mostraron que el bioensayo de 0,30 en absorbancia removió el 97,20 % del colorante, es decir, que disminuyó el DQO (en 88,00; 91,30 y 94,60 %), DBO<sub>5</sub> (en 85,20; 91,10 y 95,40 %), NKT (98,20; 98,80 y 99,80 %) y fosfatos (65,60; 72,40 y 78,30 %). Los autores concluyeron que el método de absorbancia podría servir como una referencia para la remoción de una planta de tratamiento de agua residual textil; asimismo, a pesar de que el colorante reduce el crecimiento de la microalga, dicha reducción no frenó de forma significativa a la remoción de los parámetros fisicoquímicos.

López *et al.* (2016) en la investigación “Remoción biológica de nutrientes en aguas residuales urbanas con fotobiorreactores utilizando microalgas”; tuvieron como objetivo estudiar un sistema de tratamiento de aguas residuales haciendo uso de fotorreactores y la acción de microalgas en Torreón, Coahuila - México. Para ello, establecieron una investigación experimental de enfoque mixto. Aplicaron un Diseño Completo al Azar (DCA), con tres tratamientos y tres repeticiones cada uno. El tratamiento 1 (T1) estuvo conformado con agua residual en un 80,00 % + una mezcla de microalgas en un 20,00 %, el tratamiento 2 (T2) presentó 75,00 % de agua residual + 20,00 % de mezcla de microalgas y 5,00 % de lodos activados y el tratamiento 3 (T3) estuvo compuesto con 80,00 % de agua residual + 20,00 % de mezcla de microalgas y adición de N (30,00 ppm) y P (2,50 ppm), donde las aguas residuales recolectadas del PTAR de Torreón, Coahuila, México contemplaron el uso de 4 biorreactores piramidales con capacidad de 28,50 L cada uno y fueron analizados mediante los métodos de la evaluación de OD, SST, DBO<sub>5</sub>, grasas y aceites, determinación de CF y huevos de helmintos (HH) en base al *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*; mientras que para el pH, el CE y las concentraciones de fósforo total (P), nitrógeno total (N) y demanda química de oxígeno (DQO), emplearon el equipo Ultra BASIC, HANNA y HACH. Entre los resultados mostraron una alta reducción de la DQO del 98,10; 97,70; y 93,50 % para T1, T2 y T3. Así mismo, lograron altas remociones de N y P para todos los tratamientos (T1= 87,50 y

73,70 %, T2= 78,90 y 85,50 % y T3= 88,60 y 89,50 %) y una menor remoción en la conductividad eléctrica (T1=25,00 %, T2= 32,20 % y T3= 11,40 %). Los autores concluyeron que los fotobiorreactores en actividad con las microalgas presentaron una excelente opción en el tratamiento de aguas residuales sin presentar altos niveles de ninguno de los parámetros en evaluación.

Difusa *et al.* (2015) en la investigación “Efecto de la intensidad de la luz y la condición de pH sobre el crecimiento, la biomasa y el contenido de lípidos de la especie de microalgas *Scenedesmus*”; tuvieron como objetivo estudiar el crecimiento, biomasa y producción de lípidos de dos aislamientos nativos de especies de *Scenedesmus* bajo diferente intensidad de luz y condiciones de pH constante, en el departamento de biotecnología de la Universidad de Gauhati, India. Para ello, establecieron una investigación experimental de enfoque cualitativo y cuantitativo. Por un lado, la muestra estuvo compuesta por 2 especies aisladas de *Scenedesmus* cultivadas a seis intensidades de luz diferentes (27,00; 40,50; 54,00; 67,50; 81,00 y 94,50  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) y a variadas condiciones de pH (5,00; 6,00; 7,00; 8,00 y 9,00 unidades). Por otro lado, utilizaron el ANOVA, el SE y el *software GraphPad Prism* versión: 5.00 para el análisis estadístico de los datos. Entre los resultados mostraron un máximo crecimiento y un incremento de la biomasa para *Scenedesmus*, sometida a una intensidad luminosa de 81,00  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Sin embargo, a iluminaciones por debajo de 94,50  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  pudieron observar una alta producción de lípidos. Por otro lado, observaron una tolerancia a la variación de pH; así como, un crecimiento y producción de biomasa en los diferentes rangos de pH evaluado. Los autores concluyeron que este estudio proporciona una perspectiva potencial de las cepas y podría explorarse más a fondo para mejorar la biomasa y rendimiento de lípidos; no obstante, observaron una dependencia de resultados en base a la intensidad de la luz y las condiciones del pH.

### **1.1.2. Antecedentes nacionales**

Natividad (2022) en la investigación “Remoción Bacteriana de aguas residuales domiciliarias con Microalgas *Chlorella* sp. en el distrito de Oxapampa-Pasco”; tuvo como objetivo evaluar el efecto las microalgas *Chlorella* sp en la remoción de contaminantes, centrándose en la dosis óptima y la variación de su concentración con respecto al pH, temperatura, fósforo, nitrógeno, coliformes totales, *Escherichia coli* y la salmonella en las

aguas residuales domésticas del distrito de Oxapampa. Para ello, estableció una investigación experimental-longitudinal de enfoque mixto. Por un lado, cultivó las microalgas por duplicado en medios discontinuos en 5 tratamientos (3 diluciones-3 series) y muestras de agua recolectadas de aguas domiciliarias del río Chontabamba. Por otro lado, empleó una lista de cotejo, el estadígrafo ANOVA-Tukey y el Programa SPSS. Entre los resultados mostró que la cantidad óptima de microalgas inmovilizadas asciende a 11,00 g con concentraciones que varían desde el 6, 25; 12,50; 25,00; 50,00 y 100,00 % en dependencia de los litros empleados. Asimismo, indicó que la muestra actuó de forma significativa y óptima en la remoción de fosfatos y nitratos con una mejora de 52 % del valor inicial para el primero. Del mismo modo, obtuvo que los tratamientos con la microalga *Chlorella* sp. removieron el nitrato hasta un 95,00 % y a la par el Control de la microalga *Chlorella* sp., con 94,20 % de remoción. El autor concluyó que la remoción bacteriana está ligada al grado de remoción de nitratos y fosfatos, los cuales al mezclarse con el agua residual obtenida del PTAR Taboada consigue una variación y tendencia equilibrada, incrementando con ello su densidad celular.

Morales (2019) en la investigación “Inmovilización de la microalga *Chlorella peruviana* para remover nitratos y fosfatos en aguas residuales del colector principal del AA.HH. San Gabriel – Comas 2019”; tuvo como objetivo evaluar la inmovilización de la microalga *Chlorella peruviana* para la remoción de nitratos y fosfatos en aguas residuales del sistema de alcantarillado del AA. HH. San Gabriel del distrito de Comas, Lima - Perú. Para ello estableció una investigación experimental de enfoque mixto. Utilizó tres dosis diferentes de microalga (50, 100 y 150 g/L), con una dimensión de 5,00 mm aproximadamente y una concentración de  $30,1 \times 10^6$  células por mililitro, en 11 L de aguas residuales provenientes del sistema de alcantarillado. Por otro lado, empleó el Programa SPSS y Minitab para el análisis de varianza y la prueba de Tukey. Entre los resultados mostró que, en promedio, los nitratos en los tratamientos oscilaron entre 4,03 y 18,23 mg/L. Asimismo, los fosfatos variaron entre 3,23 y 13,54 mg/L. Del mismo modo, la dosis de 150 g/L presentó 83,14 % de remoción de nitratos, mientras que las dosis de 50 y 100 g/L removieron un 23,70 y 56,10 %, respectivamente. Con respecto a los fosfatos, los porcentajes de remoción fueron 39,50; 64,40 y 85,60 % en los tres tratamientos, respectivamente. El autor concluyó que la microalga *Chlorella peruviana* posee amplia capacidad para la remoción de nitratos y

fosfatos, siendo la dosis de 150 g/L la dosis erigida como la óptima para ser empleada como alternativa de solución.

Tantte (2018) en la investigación “Evaluación de la capacidad depuradora de *Chlorella vulgaris* Beyerinck inmovilizada en alginato para el tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Huaura-Lima”; tuvo como objetivo evaluar la capacidad depuradora de la microalga *Chlorella vulgaris* Beyerinck en la remoción de nitrógeno, fósforo y plomo presente en las aguas del río Huaura, Lima - Perú. Para ello, estableció una investigación experimental de enfoque mixto, con cuatro tratamientos estudiados (T1: 75,00 g de microalga+100,00 % agua residual; T2: 75,00 g de microalga+50,00 % agua residual 50,00 % agua desionizada; T3: 75,00 g de microalga+25,00 % agua residual/75,00 % agua desionizada y T4: 75 g de microalga+12,50 % agua residual/87,50 % agua desionizada), con tres repeticiones cada uno y un tratamiento control (75,00 g de microalga+100,00 % agua desionizada). Caracterizó los parámetros fisicoquímicos como el pH, conductividad, temperatura, nitrógeno, fósforo y plomo. También, construyó fotobiorreactores de tubos de policloruro de vinilo (PVC) de alta densidad, donde incorporó las mezclas de células *Chlorella vulgaris* inmovilizadas en esferas de alginato de sodio con agua residual recolectada de la desembocadura del río Huaura (a una densidad de  $1,40 \times 10^7$  cel/L) y determinó la eficiencia de remoción de nitrógeno, fósforo y plomo, en un periodo de 30 días. Asimismo, para el análisis estadístico utilizó un análisis de varianza de 1 vía y la prueba de significancia de Tukey (DVS). Entre los resultados mostró que, en la caracterización, los parámetros fisicoquímicos resultaron de la siguiente manera: pH (7,80), conductividad ( $740 \mu S/cm^2$ ), temperatura (24,00 °C), nitrógeno (8,09 mg/L), fósforo (0,38 mg/L) y plomo (0,66 mg/L). Asimismo, indicó que el T2 obtuvo el mayor porcentaje, con un valor de 66,00 %, mientras que en el T1 un 47,00 %, siendo la remoción de plomo promedio de 57,10 %. El autor concluyó que la microalga *Chlorella vulgaris* inmovilizada en alginato fue eficaz en la reducción de nitrógeno y fósforo. Asimismo, indicó que la muestra de agua analizada presenta contaminación de plomo superando el estándar de calidad ambiental (ECA) para aguas en la categoría 3: riego de vegetales y bebida de animales. Por esta razón, recomendó evaluar la remoción de plomo con otro tipo de microalga o con consorcios microalgales.

Ávila *et al.* (2018) en la investigación “Remoción de nitratos y fosfatos por cepas nativas de *Chlorella* sp. (Chlorellaceae) y *Chlamydomonas* sp. (Chlamydomonadaceae) libres e inmovilizadas en aguas residuales municipales”; tuvieron como objetivo determinar el grado de capacidad de las microalgas nativas (cultivos libres e inmovilizados de *Chlorella* spp. y *Chlamydomonas* spp.) para remover nitratos y fosfatos las Agua Residuales Municipales (ARM). Para ello, establecieron una investigación experimental-longitudinal, con un diseño factorial completamente aleatorizado del tipo 2<sup>2</sup>, donde el factor 1 fue representado por el tipo de cepa (*Chlorella* sp. o *Chlamydomona* sp.) y el factor 2 por la forma de cultivo (libre o inmovilizado), con cinco repeticiones cada uno y un tratamiento control. Por un lado, inmovilizaron a *Chlorella* spp. y *Chlamydomonas* spp. utilizando 15,00 mL de medio basal Bold con 60,00 mL de alginato al 4,00 %; luego en una mezcla de 2,10 mL de la microalga inmovilizada, añadieron en placas Petri de 15,00 x 100,00 mm estériles y para lograr la gelificación, agregaron una solución al 2,00 % de CaCl. Por otro lado, cuantificaron la clorofila, los nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y fosfatos (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) en los tratamientos y pre-tratamiento. Asimismo, utilizaron el *software* estadístico SPSS, versión 21, para el análisis de la prueba de Shapiro-Wilk, test de Levene, prueba T para muestras independientes, ANOVA y test post-hoc de Tukey. Entre los resultados, por un lado, mostraron que el porcentaje de remoción de nitratos con muestras de *Chlamydomonas* spp. libre resultó 75,10 %; mientras que la inmovilizada presentó 67,10 % de eficiencia. Asimismo, la muestra libre removió un 82,10 % de fosfatos; mientras que la inmovilizada, un 78,40 %. Por otro lado, mostraron que la *Chlorella* spp. libre e inmovilizada removieron 71,30 y 5,80 % de nitratos, respectivamente; mientras que la remoción de fosfatos en la muestra libre de *Chlorella* spp. fue 83,70 % y en la inmovilizada un 81,55 %. Los autores concluyeron que las dos cepas cultivadas de forma libre o inmovilizada poseen potencial para remover de forma eficiente a los nutrientes inorgánicos en aguas residuales municipales debido a que ambos cultivos inmovilizados, en equiparación a su valor inicial, fueron significativos en la densidad celular de los efluentes, especialmente de los fosfatos y a partir de ello, recomendaron utilizar matrices naturales o sintéticas, con el fin de elegir el requerimiento más óptimo para cada efluente a tratar.

Ñaupari y Rojas (2017) en la investigación “Remoción de nitrógeno total empleando la microalga *Chlamydomona reinhardtii* en el efluente de un camal avícola”; tuvieron como objetivo determinar la remoción del nitrógeno total empleando la microalga *Chlamydomona*

*reinhardtii* en efluentes de un camal avícola, en las instalaciones de la Universidad Nacional del Centro, Huancayo - Perú. Para ello, establecieron una investigación experimental de enfoque cualitativo y cuantitativo. Por un lado, aislaron la microalga de las aguas estancadas producto de las lluvias pertenecientes al efluente de un camal avícola, en el distrito El Tambo. Por otro lado, construyeron 8 fotobiorreactores de una capacidad de ocho L cada uno, donde evaluaron el efecto de tres variables, tales como: la temperatura (20,00 y 26,00 °C), concentraciones iniciales de microalga (2,00 y 10,00 ppm) y el pH variable entre 8,00 y 9,00, con un Diseño Factorial Completo ( $2^3$ ) y haciendo uso del programa MINITAB 17 para el procesamiento de datos. Entre los resultados mostraron una remoción de 69,24 % de nitrógeno total condicionados a una temperatura de 20,00 °C, con un pH de 8,00 y un periodo de 12 días; mientras que los demás tratamientos con condiciones de mayor temperatura presentaron alteraciones fisiológicas de la microalga. Los autores concluyeron que el método de remoción biológica podría resultar como una alternativa viable para el tratamiento de aguas residuales principalmente del camal.

## **1.2. Bases teóricas especializadas**

### **1.2.1. Aguas residuales**

Se les denomina a aquellas aguas que han sido modificadas por actividades humanas y que requieren un tratamiento previo, antes de ser reusados o vertidos a un cuerpo receptor (Organismo de Evaluación y Fiscalización ambiental [OEFA], 2014).

Asimismo, pueden presentarse de diversas formas que a continuación se detallan:

#### **a. Tipos de agua residual**

Las aguas residuales, por el uso, origen y/o características, se pueden clasificar en:

- **Agua residual doméstica:** El agua residual doméstica constituye el 99 % de agua y 0,1 % de sólidos suspendidos, coloidales y disueltos, considerando este mínimo porcentaje quien presenta mayores problemas para su tratamiento y disposición (Díaz *et al.*, 2012).

- **Agua residual municipal:** Son las que descargan los centros urbanos a las alcantarillas con contenido de materia orgánica, nutrientes, patógenos, entre otros (Lahera, 2010).
- **Agua residual industrial:** Las resultantes de las descargas de esta agua va a depender de la naturaleza de la industria o actividad de cual proviene (Troconis, 2010).
- **Agua negra:** Son aguas que presentan orina y heces, es decir, con un alto contenido de nutrientes, patógenos, hormonas y residuos farmacéuticos (Lahera, 2010).
- **Agua amarilla:** Es la orina transportada con o sin agua con alto contenido de nutrientes, hormonas y alta concentración de sales (Troconis, 2010).
- **Agua café:** Son agua con pequeña cantidad de heces y orina con contenido de nutrientes, patógenos, hormonas y residuos (Arocutipa, 2013).
- **Agua gris:** Presentan gran cantidad de cargas de productos y detergentes, provenientes de lavamanos, duchas y lavadoras (Arocutipa, 2013).

#### **b. Composición de las aguas residuales**

Se encuentran compuestas generalmente por un porcentaje de agua del 99,90 % y un escaso 0,10 % de sólidos suspendidos, con mayor parte de compuestos orgánicos, mientras que los inorgánicos con menor proporción, siendo esta que debe ser tratado en las PTARs. Por otro lado, el sólido en suspensión es de 75,00 % y sólidos filtrables con 40,00 % de un agua residual de concentración media que son de naturaleza orgánica (Raffo y Ruiz, 2014).

### c. Características de las aguas residuales

Según Muñoz (2008) existen tres características esenciales de las aguas residuales tales como:

#### Características físicas

Los sólidos totales son los principales componentes físicos de las aguas residuales, y que concentra materia en suspensión, la sedimentable, la coloidal y la disuelta.

- **Sólidos totales:** Se obtiene de someter el agua residual a un proceso de evaporación, siendo el residuo final el sólido total (Muñoz, 2008).
- **Los sólidos sedimentables:** Es el lodo que se obtiene de la decantación primaria del agua tratada (Muñoz, 2008).

#### Características químicas

Las características químicas lo constituyen principalmente la carga orgánica, que se puede expresar en materia orgánica, grasa, contenido orgánico y el contenido de la DBO<sub>5</sub> (Muñoz, 2008).

- **Materia orgánica:** Procede de desechos de alimentos, de aguas negras domésticas o industriales, siendo descompuesta por bacterias, protozoarios y diversos organismos mayores. Este proceso de descomposición se lleva a cabo mediante reacciones químicas que requieren oxígeno para convertir sustancias ricas en energía en sustancias pobres (Muñoz, 2008).
- **Grasas de animales y vegetales:** Son contaminantes que llegan a los efluentes como parte de residuos de alimentos (mantecas, aceite y otros), siendo componentes que afectan directamente el paso del oxígeno y otros gases beneficiosos para la vida de organismos fotosintéticos en cuerpos de agua, siendo estos compuestos que acumulan materias en descomposición generando la eutrofización (Muñoz, 2008).

- **Medida de contenido orgánico.** El contenido orgánico de las aguas residuales se resume en la medición de dos parámetros básicos, la demanda química y la demanda bioquímica de oxígeno (Muñoz, 2008).
- **Demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>):** Este parámetro es uno de los más requeridos en el análisis del contenido orgánico de los cuerpos de agua a los cinco días de incubación y también expresa la cantidad de oxígeno que necesitan los organismos en el proceso de la oxidación de la materia orgánica (Muñoz, 2008).
- **Demanda Química de oxígeno (DQO):** Este parámetro es muy usado y sirve para establecer el grado de contaminación orgánica en aguas medianamente contaminadas expresada el equivalente de oxígeno de la carga orgánica capaz de ser oxidada y generalmente el valor de la DQO es mayor a los valores de la DBO obtenidos de una misma muestra (Muñoz, 2008).
- **Nitrógeno:** El total de este nutriente puede estar constituido de nitrógeno orgánico, amoníaco, nitrito y nitrato; presencia de estas formas oxidadas o reducidas del nitrógeno sirve para establecer la condición de contaminación de un cuerpo de agua, que establecen riesgos para el hombre por su ingesta o contacto directo con compuestos como toxinas, liberadas por floraciones de cianobacterias en ambientes eutrofizados (Cárdenas y Sánchez, 2013).
- **Fósforo:** Es un elemento esencial en el crecimiento de plantas y animales, siendo uno de los nutrientes que controla el crecimiento de las algas, además, el exceso de este elemento produce un desarrollo exorbitado de algas, por condiciones inadecuadas para usos benéficos del agua (Muñoz, 2008).

### **Características biológicas**

Lo conforman principalmente los coliformes termotolerantes. Según Narváez *et al.* (2008) denominaron coliformes termotolerantes (CTE) al grupo de bacterias entéricas en forma de bastoncillos, ampliamente usadas como indicadores de contaminación fecal; además, el término fue acuñado de manera reciente, ya que, con anterioridad a este mismo grupo bacteriano, se les conocía como coliformes fecales.

Los coliformes se encuentran compuestos, principalmente, por los géneros *Escherichia* y *Aerobacter*, diversificándose en distintas especies, algunas de las cuales forman parte de los entornos naturales y siendo la primera la más compleja de identificar debido a que es una especie de origen exclusivamente, fecal lo que indica que su presencia supone contaminación antropogénica. La totalidad de las bacterias del grupo coliformes son consideradas indicadores de contaminación fecal, debiendo ser identificadas y eliminadas de los componentes acuáticos ya que son el origen de diversas enfermedades gastrointestinales en el ser humano y los animales (Alejos, 2018; Feachem *et al.*, 1983; Larrea *et al.*, 2013).

### **1.2.2. Tipos de tratamientos de aguas residuales**

Los tipos de tratamientos de aguas residuales son el primario, secundario y terciario (Baeza, 2018; Pérez *et al.*, 2016).

#### **a. Tratamiento primario**

Reducen a los sólidos en suspensión que comprenden sistemas como: sedimentación, flotación y coagulación. El primero es un proceso que aprovecha la diferencia de densidad y peso entre el líquido y las partículas suspendidas, mientras que el proceso de flotación es empleado para la separación de partículas sólidas en un medio líquido y, finalmente la coagulación es un proceso por el cual los componentes de una suspensión son desestabilizados (Fernández y Ruiz, 2020; Lizarazo y Orjuela, 2013).

#### **b. Tratamiento secundario**

El tratamiento secundario pretende alcanzar la liberación de impurezas de las aguas, abarcando aquellas cuyo tamaño no les permite ser captadas por la decantación y las rejillas, basándose para ello, en una combinación de métodos mecánicos y biológicos (Baeza, 2018). Por otro lado, SUNASS (2018) menciona que el tratamiento secundario remueve la materia orgánica biodegradable (carga orgánica) y los sólidos en suspensión, siendo necesario cumplir los LMP de la  $DBO_5$ , DQO y sólidos suspendidos. Asimismo, las reacciones que generan estos procesos son generalmente biológicas.

### **c. Tratamiento terciario**

El tratamiento terciario se emplea para separar la materia residual de los efluentes de procesos de tratamiento biológico, a fin de prevenir la contaminación de los cuerpos de agua receptores, u obtener la calidad adecuada para el reúso, factor de importancia en la planeación de recursos hidráulicos donde el abastecimiento de agua potable es limitado, como ocurre en las grandes metrópolis de nuestro país, así como los elevados costos de inversión (Baeza, 2018; Agencia de Cooperación Internacional del Japón [JICA], 2002; Jiménez *et al.*, 1995). Por otro lado, consideran una mejor posibilidad para el tratamiento en agregar uno o más estanques en serie a una planta convencional (Pérez *et al.*, 2016).

#### **1.2.3. Nutrientes**

Sustancias que asimiladas o adquiridas por el organismo pueden promover su desarrollo en las aguas residuales normalmente como el nitrógeno y fósforo, así como otros elementos esenciales. Además, estas sustancias generalmente están conformadas por elementos químicos importantes para la vida de muchos organismos microscópicos, para sus funciones de almacenamiento y reutilización, siendo perjudiciales en grandes cantidades en los cuerpos receptores (García, 2012). De este modo, García (2012) consideró que las fuentes de nitratos en las aguas residuales son las siguientes:

- Por procesos de nitrificación aerobia.
- Uso de compuestos nitrogenados.
- Disposición de excretas humanas y de los animales.
- Descargas de desechos municipales e industriales con altas concentraciones de compuestos de nitrógeno.
- Residuos de carnes, salchichas, tocino y otros embutidos (utilizan nitrato de potasio como conservante).
- Los compuestos de fosfato que se encuentran en las aguas residuales o se vierten directamente a las aguas superficiales provienen de fertilizantes eliminados del suelo por el agua o el viento.
- Excreciones humanas y animales.
- Detergentes y productos de limpieza.

#### a. **Remoción de nutrientes**

Las aguas residuales, por lo general, contienen elevadas cantidades de nutrientes que podrían generar el aumento incontrolado de poblaciones de macrófitas e incluso ser letales para los seres bióticos que puedan tener contacto con las mismas; todo ello, genera mala apariencia en las aguas, problemas de olores por descomposición con un nivel bajo de oxígeno disuelto y afecciones negativas en la respiración tanto de animales acuáticos como de las plantas adheridas en el lecho de los cursos de agua (Pérez y Camacho, 2011).

#### 1.2.4. **Biorremediación**

Según Torres (2003) la biorremediación es una tecnología basada en el uso de organismos naturales o mejorados genéticamente para recuperar sitios contaminados y proteger el medio ambiente. Por su parte, Garzón *et al.* (2017) denominaron una tecnología alternativa con el potencial necesario para lograr una depuración adecuada de las aguas residuales u optimizar y modernizar los procesos de tratamientos secundarios o terciarios convencionales en las PTAR.

Por otro lado, Ome y Zafra (2018) identificaron mediante la tecnología de biorremediación seis factores clave en la depuración de las aguas residuales como: el pH, temperatura, oxígeno, nitrógeno, fósforo y la demanda bioquímica de oxígeno; los cuales deben ser monitoreados de manera constante. Además, mencionaron que, en América del Sur, la frecuencia de uso de la biorremediación como alternativa de tratamiento de las aguas residuales es muy baja, a diferencia de Asia, Europa y Norte América.

#### a. **Tipos de biorremediación**

El tratamiento de las aguas residuales mediante la tecnología de biorremediación se divide en tres tipos (Ome y Zafra, 2018).

**Depuración natural:** En la cual las aguas residuales son depuradas naturalmente por acción de los microorganismos nativos (Ome y Zafra, 2018).

**Bioestimulación:** Es la mezcla del suelo de la capa superficial con los depósitos de recortes, así como proporcionar a la mezcla condiciones adecuadas para la vida microbiana como aireación, humedad y nutrientes (Rivera *et al.*, 2018).

**Bioaumentación:** Denominado como aquello en la que se inoculan al suelo microorganismos (nativos o exógenos) con capacidad comprobada para la degradación de contaminantes presentes en el suelo multiplicados *in vitro* (Windevoxhel *et al.*, 2011).

### **1.2.5. Tratamiento de aguas residuales con microalgas**

En el tratamiento de aguas residuales con microalgas se aprovechan el rápido crecimiento de estas y la capacidad de eliminación de nutrientes (Candela, 2016). La eliminación de nutrientes es básicamente un efecto de asimilación de nutrientes a medida que crecen las algas, pero también ocurren otros fenómenos de eliminación de nutrientes, por ejemplo, volatilización de amoníaco y precipitación de fósforo como resultado del elevado pH inducido por las algas (Aguilar, 2020). Algunos informes revelan que una gran parte, a veces hasta el 90,00 %, de la eliminación de fósforo se debe a este efecto. Además del tratamiento terciario, las microalgas pueden proporcionar variaciones del pH durante la fotosíntesis y generar un efecto desinfectante sobre las aguas residuales (Ajayan, 2015).

El término microalgas se refiere a todas las algas demasiado pequeñas para ser visto correctamente sin microscopio, y a menudo incluye tanto microalgas eucariotas como cianobacterias procariotas (Ruiz, 2011). La característica común más importante de todas las microalgas y cianobacterias eucariotas es que tienen fotosíntesis que genera oxígeno y que utilizan nutrientes inorgánicos y carbono (González, 2016). La biomasa de microalgas puede ser utilizado para la producción de gas hidrógeno, conversión de bioenergía y producción de sustancias farmacéuticas o alimentos (Aguilar, 2020; Becker, 1994).

#### **a. Crecimiento de algas**

El tratamiento exitoso de las aguas residuales con microalgas requiere un buen crecimiento y comprensión de los factores que afectan el crecimiento (González, 2016). La tasa de crecimiento de algas y cianobacterias está influenciada por factores físicos, factores

químicos y biológicos (Ruiz, 2011). El primer factor comprende a la luz y la temperatura, mientras que el segundo abarca la disponibilidad de nutrientes y el dióxido de carbono y, finalmente el tercero contempla la competencia entre especies, pastoreo de animales e infecciones víricas (Aguilar, 2020; Becker, 1994).

## **b. Carbono y nutrientes**

Las algas son autótrofas, es decir, pueden sintetizar moléculas orgánicas mismas a partir de nutrientes inorgánicos. Una fórmula estequiométrica para los elementos más comunes en una célula de algas promedio es  $C_{106}H_{181}O_{45}N_{16}P$ , y los elementos debe estar presente en estas proporciones en el medio para un crecimiento óptimo. Altas proporciones entre nitrógeno y fósforo, aproximadamente 30:1, sugieren limitación de P, mientras que proporciones bajas de aproximadamente 5:1 sugieren limitación de N (Valera, 2018). Según las proporciones que se encuentran con mayor frecuencia en las aguas residuales, el fósforo rara vez limita el crecimiento de algas, pero el nitrógeno actúa como inhibidor (López *et al.*, 2017). Sin embargo, las aguas residuales exponen a las algas, de forma permanente, a un alto grado de concentraciones de nutrientes, llegando a alcanzar una magnitud 3 veces mayor al límite establecido para condiciones normales y limitando su crecimiento en base al carbono y la luz (Ruiz, 2011). Asimismo, la velocidad a la que una célula de algas absorbe un nutriente específico depende de la diferencia entre la concentración (dentro y fuera de la celda), las tasas de difusión (limitadas por el grosor), la transferencia tanto de masa, como de la tasa de nutrientes y metabolitos (Moster y Grobbelaar, 1987).

## **Carbono**

las microalgas asimilan carbono inorgánico en la fotosíntesis (Ruiz, 2011; Becker, 1994). La energía solar se convierte en energía química con oxígeno ( $O_2$ ) como subproducto, y en un segundo paso la energía química se utiliza para asimilar el dióxido de carbono ( $CO_2$ ) y convertirlo en azúcares (Becker, 1994). La fórmula estequiométrica general para la fotosíntesis es:



Los carbonos inorgánicos que normalmente utilizan las microalgas son el  $\text{CO}_2$  y el  $\text{HCO}_3^-$ , este último requiere la enzima anhidrasa carbónica para convertirlo en  $\text{CO}_2$  (Ruiz, 2011; García, 2010). Junto a estos, las algas pueden utilizar carbono orgánico, como ácidos orgánicos, azúcares, acetato o glicerol (Capa, 2022). Este metabolismo heterotrófico es probablemente significativo en estanques cargados de residuos, donde las cosechas de algas en pie pueden ser muy elevadas y, en consecuencia, agotarse el dióxido de carbono (González, 2016). Las fuentes de carbono orgánico pueden asimilarse químicamente o fotoheterotróficamente. En el primer caso, el sustrato orgánico se utiliza tanto como fuente de energía (a través de la respiración) y como fuente de carbono, mientras el segundo caso, la luz es la fuente de energía (Aguilar, 2020). En las algas el modo de nutrición del carbono se puede cambiar de la autotrofia a la heterotrofia cuando se cambia la fuente de carbono; este es el caso del verde de algas *Chlorella* y *Scenedesmus* (Aguilar, 2020; Becker, 1994).

Se puede proporcionar dióxido de carbono atmosférico a los cultivos de algas mediante aireación. Sin embargo, dado que la concentración atmosférica ambiental (0,033 %) está lejos y por debajo del óptimo para el crecimiento de algas, es necesario suministrar dióxido de carbono adicional (García, 2010). Esto se puede lograr proporcionando a los cultivos aire enriquecido con 1,00 a 5,00 % de  $\text{CO}_2$ . La cantidad de  $\text{CO}_2$  disuelto en agua varía mucho al pH, donde la adición de  $\text{CO}_2$  da como resultado una disminución del pH (Aguilar, 2020). A un pH mayor que 9,00, la mayor parte del carbono inorgánico se transforma en carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) que no pueden ser asimilados por las algas (Ladino, 2010). La menor disponibilidad de  $\text{CO}_2$  puede actuar como limitante para el crecimiento de las algas; no obstante, el poco uso de la adición de  $\text{CO}_2$  se justifica debido a que se constituye como una de las medidas más costosas aplicables a los cultivos masivos de algas de alta densidad (Ladino, 2010; Moster y Grobbelaar, 1987).

## **Nitrógeno**

El nitrógeno (N), además del carbono (C), es el segundo nutriente más importante para las microalgas, ya que puede comprender más de 10,00 % de la biomasa (Hernández y Labbé, 2014). El nitrógeno existe en muchas formas, y los compuestos nitrogenados más comunes asimilados por microalgas son amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Oscanoa *et al.*, 2021). El compuesto preferido es el amonio, y cuando está disponible, no hay fuentes alternativas de

nitrógeno que pueda ser asimilado (Puente, 2021; Paredes, 2013). Sin embargo, las concentraciones de amonio superiores a 20 mg de amonio por litro no son recomendadas debido a la toxicidad del amoniaco (Puente, 2021). Además de estos compuestos nitrogenados, urea y nitrito se pueden utilizar como fuentes de nitrógeno (Paredes, 2013). Sin embargo, la toxicidad del nitrito a concentraciones más altas lo hace menos conveniente (Mostert y Grobbelaar, 1987). Las cianobacterias también son capaces de asimilar los aminoácidos arginina, glutamina y la asparagina y algunas especies pueden fijar nitrógeno ( $N_2$ ) (Buxens, 2011). De todas las fuentes de nitrógeno, esta fijación de nitrógeno es el más demandante de energía y solo ocurre en algunas cianobacterias cuando no hay otros compuestos nitrogenados disponibles en cantidades suficientes (Paredes, 2013). Las microalgas pueden absorber nitrógeno en exceso de las necesidades metabólicas inmediatas, lo que se denomina consumo de lujo, esto puede ser utilizado más tarde en el caso de la falta de (Mostert y Grobbelaar, 1987).

## **Fósforo**

El fósforo es otro macronutriente esencial para el crecimiento, que es absorbido por las algas como ortofosfato inorgánico ( $PO_4^{3-}$ ) (Fernandez, 2014). La captación de ortofosfato es un proceso activo que requiere energía. Fosfatos orgánicos pueden convertirse en ortofosfatos por fosfatasa en la superficie celular, y esto ocurre especialmente cuando el fosfato inorgánico es escaso (Buades *et al.*, 2017). Las microalgas pueden asimilar el fósforo en exceso, que se almacena en las células en forma de gránulos de polifosfato (volutina) (Buades *et al.*, 2017; Mostert y Grobbelaar, 1987). Estas reservas pueden ser suficientes para un crecimiento prolongado en la ausencia de fósforo disponible. La tasa de crecimiento por lo tanto de un alga puede no responder de inmediato a los cambios de la concentración externa de fósforo, en contraposición a las respuestas inmediatas a la temperatura y la luz (Buades *et al.*, 2017; Fernandez, 2014). Las algas cultivadas en aguas residuales pueden, por tanto, contener cantidades mucho más altas de fósforo de lo normal (Mostert y Grobbelaar, 1987).

## **Otros nutrientes**

El nitrógeno y el fósforo son macronutrientes, que son necesarios en grandes cantidades para el crecimiento (Fernandez, 2014; Paredes, 2013). Otros macronutrientes son azufre, potasio,

calcio y magnesio. Micronutrientes, que se necesitan en más pequeñas cantidades son manganeso, molibdeno, cobre, hierro, zinc, boro, cloruro y níquel (Rodríguez y Flórez, 2004). Además, algunos elementos pueden ser esenciales para ciertas especies de algas, como sodio, silicio, cobalto, yodo, vanadio y selenio (Rodríguez y Flórez, 2004; Oliver y Ganf, 2000). Para evitar la limitación del crecimiento por micronutrientes, estos a menudo se agregan juntos a cultivos comerciales de algas con un agente quelante como el EDTA (Oliver y Ganf, 2000).

### **c. Luz, temperatura y potencial de hidrógeno (pH)**

#### **Luz**

Las microalgas son fotótrofas, lo que significa que obtienen energía de la luz (Ruiz, 2011; García, 2010). Sin embargo, algunas algas pueden crecer en la oscuridad usando compuestos orgánicos simples como fuente de energía y carbono (González, 2016). La energía de la luz se convierte en energía química en la fotosíntesis, pero una gran parte se pierde en forma de calor (Aguilar, 2020; Capa, 2022). Asimismo, en estanques al aire libre, más del 90,00 % de la energía solar incidente total se puede convertir en calor y menos del 10,00 % en energía química (Aguilar, 2020; Borowitzka, 1998). Algunos autores informan una eficiencia de conversión de la luz solar en energía química de solo el 2,00 % (Borowitzka, 1998). Hay varias estrategias que utilizan las microalgas para permanecer cerca de la superficie del agua con el fin de atrapar suficiente luz, estas estrategias tienen como objetivo disminuir la gravedad específica y de ese modo minimizar la velocidad de hundimiento (García, 2010; Ruiz, 2011). Ejemplos de lo mencionado son acumulación de grasa, producción de mucílago, acumulación selectiva de iones (los iones monovalentes tienen una gravedad específica más baja) y flotabilidad entre algunas cianobacterias que flotan debido a las vacuolas de gas; no obstante, debido a que no todas las microalgas poseen la capacidad de flotar en la superficie, el hecho de mantenerse en la parte más profunda de un recipiente de cultivo tiende a limitar a las mismas con respecto a la recepción de la luz necesaria para su correcto desarrollo, siendo el agua la que absorbe la radiación activa fotosintética (PAR) (Borowitzka, 1998). Además, en los cultivos densos, las propias algas pueden disminuir la disponibilidad de luz debido al sombreado interno (Borowitzka, 1998; García, 2010; Ruiz, 2011). Cuando se cultiva en aguas residuales crudas, este efecto de sombreado también puede ser agravado aún más por un alto contenido de material particulado (Borowitzka, 1998). Para evitar esto,

la turbulencia es esencial, ya que expone todas las células a la luz durante al menos períodos cortos, por lo que hace posible una alta productividad (Borowitzka, 1998; Capa, 2022). La forma más fácil de evitar que los cultivos de algas se limiten a la luz es disminuir la profundidad del recipiente de cultivo (Borowitzka, 1998; Ruiz, 2011). Generalmente, se recomiendan profundidades de entre 15,00 y 50,00 cm; sin embargo, durante el invierno se recomiendan profundidades no mayores a 20,00 cm, porque superiores a esta, disminuyen notablemente la producción (Borowitzka, 1998; González, 2016). Asimismo, demasiada luz también puede causar efectividad fotosintética reducida, que se conoce como fotoinhibición; por lo que la intensidad luminosa debería estar equilibrada en el sistema (Borowitzka, 1998).

### **Temperatura**

El aumento de temperatura mejora el crecimiento de algas hasta que se alcanza la temperatura óptima, pero un mayor aumento de la temperatura conduce a una disminución en la tasa de crecimiento (Jimenez y Castillo, 2021; Steller *et al.*, 2007). El sobrecalentamiento de los cultivos de algas es un problema especialmente en climas húmedos donde se inhibe la evaporación. A bajas temperaturas, las microalgas se fotoinhiben fácilmente por las altas intensidades de luz. Esta sensibilidad a la luz brillante a bajas temperaturas puede representar un problema operativo. A temperaturas cercanas a las óptimas para el crecimiento, las microalgas pueden tolerar mejor las altas intensidades de luz antes de inhibirse (De la Noüe *et al.*, 1992; Yepes y Silveira, 2011). Generalmente, las temperaturas alrededor 15,00-25,00 °C parece adaptarse a la mayoría de las especies de algas, incluso aquellas que se adaptan al crecimiento a temperaturas más frías (De la Noüe *et al.*, 1992; Jimenez y Castillo, 2021; Steller *et al.*, 2007). Para permitir temperaturas más altas en cultivos de algas, invernaderos puede ser una solución en latitudes más altas (De la Noüe *et al.*, 1992).

### **Potencial de hidrógeno (pH)**

La tasa de crecimiento de microalgas y la composición de especies pueden verse también afectado por el pH (Gómez *et al.*, 2021). En cultivos de algas, el pH suele aumentar debido a la asimilación fotosintética de CO<sub>2</sub> (Beltrán *et al.*, 2017; Gómez *et al.*, 2021). Los valores de pH superiores a 10,00 son frecuentes cuando no hay CO<sub>2</sub> suministrado, y el pH puede alcanzar 11 o más si se la limita y el bicarbonato se utiliza como fuente de carbono (Beltrán

*et al.*, 2017). En estanques de algas de alta tasa, este aumento de pH puede compensarse mediante la respiración más profunda en los estanques, y el pH luego se puede regular dejando entrar más material orgánico y por lo tanto mejorando la respiración (Becker, 1994; Valenzuela *et al.*, 2005). El pH también afecta la disponibilidad de carbono inorgánico; incluso si el pH es alto por otras razones que no sean el agotamiento de CO<sub>2</sub> fotosintético (Becker, 1994; Beltrán *et al.*, 2017).

La absorción de nitrógeno por las algas también afecta el pH en el medio (Beltrán *et al.*, 2017; Oscanoa *et al.*, 2021). La asimilación de iones de nitrato tiende a aumentar el pH, pero si se usa amoníaco como fuente de nitrógeno, el pH del medio puede disminuir hasta 3, que es demasiado ácido para soportar el crecimiento (Oscanoa *et al.*, 2021; Puente, 2021). Un pH alto puede provocar la precipitación de fosfato en el medio por la formación de fosfatos de calcio, pero estos pueden volver a disolverse si el pH baja. Si la concentración de amoníaco es alta a pH alto, la fotosíntesis se inhibirá (Beltrán *et al.*, 2017; Oscanoa *et al.*, 2021; Oswald, 1988). El pH alto puede también inducir la floculación de algunas algas, que a su vez conducen a la reducción de la absorción y el crecimiento de nutrientes, generando el tamaño adecuado para facilitar su recolección (Oswald, 1988).

### **1.2.6. *Chlorella* spp.**

#### **a. Morfología**

Según Oswald (1998), *Chlorella* es una célula microscópica esférica con un diámetro de 2,00-10,00  $\mu\text{m}$  y tiene muchos elementos estructurales similares a las plantas y presenta las principales estructuras visualizadas en la Figura 1.

#### **Pared celular**

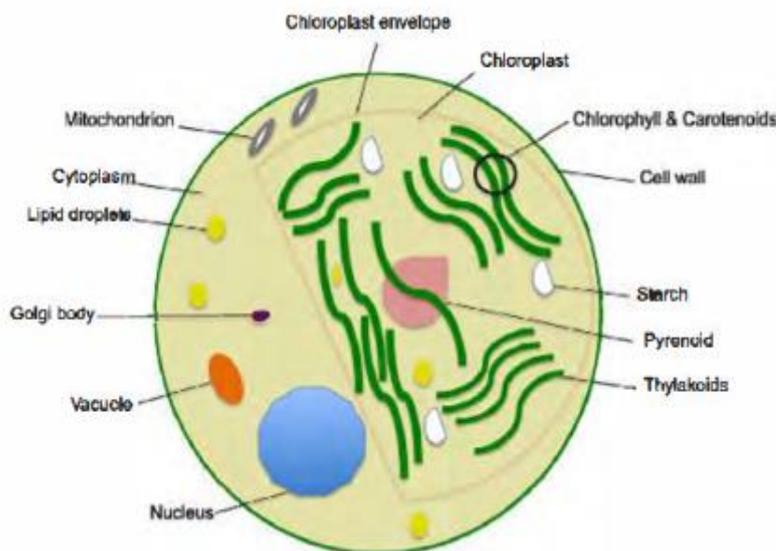
Safi *et al.* (2014) mencionan lo siguiente:

La rigidez preserva la integridad de la celda y es básicamente una protección contra los invasores y el medio ambiente hostil. Varía según cada fase de crecimiento. Durante su formación temprana en su autosporangia, la pared celular recién formada

permanece frágil, formando una capa unilaminar de densidad electrónica delgada de 2,00 nm. La pared celular de la célula hija aumenta gradualmente de grosor hasta que alcanza 17,00-21,00 nm después de la maduración, donde una microfibrilla forma una capa que representa una capa similar al quitosano compuesta de glucosamina, que explica su rigidez. En la etapa de madurez, el espesor de la pared celular y la composición no son constantes porque su crecimiento puede cambiar de acuerdo con las condiciones del medio ambiente (p. 269).

### Figura 1

*Ultraestructura esquemática de Chlorella que representa diferentes orgánulos*



*Nota.* Diagrama tomado de Safi *et al.* (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review [Morfología, composición, producción, procesamiento y aplicaciones de *Chlorella vulgaris*: una revisión]. 35 p. 269. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>

### Citoplasma

Safi *et al.* (2014) mencionan lo siguiente:

Es la sustancia gelatinosa confinada dentro de la barrera de la membrana celular y está compuesta de agua, proteínas solubles y minerales. *Chlorella* alberga orgánulos internos como mitocondrias, un núcleo pequeño, vacuolas, un solo cloroplasto y el cuerpo de Golgi. (p. 269)

## **Mitocondria**

Cada mitocondria contiene algunos materiales genéticos y tiene una membrana de doble capa, la membrana rodea todo el exterior del orgánulo y se compone de una proporción igual de proteínas y fosfolípidos (Solomon *et al.*, 1999). Sin embargo, la membrana interna está compuesta por tres veces más proteínas que fosfolípidos; rodea el espacio interno llamado matriz, que contiene la mayoría de las proteínas mitocondriales (Solomon *et al.*, 1999).

## **Cloroplasto**

*Chlorella* tiene un solo cloroplasto con doble envoltura membranosa compuesta de fosfolípidos; la membrana exterior es permeable a metabolitos y iones, pero la membrana interna tiene una función más específica sobre el transporte de proteínas (Díaz, 2020). Así mismo, los gránulos de almidón, compuestos de amilosa y amilopectina, se puede formar dentro del cloroplasto, especialmente durante condiciones desfavorables de crecimiento (Den *et al.*, 1995; Díaz, 2020). También almacena un grupo de tilacoides fusionados, donde el pigmento dominante clorofila se sintetiza enmascarando el color de otros pigmentos como la luteína y durante el estrés por nitrógeno, los glóbulos de lípidos se acumulan principalmente en el citoplasma y el cloroplasto (Den *et al.*, 1995).

### **b. Reproducción**

Safi *et al.* (2014) mencionan lo siguiente:

La microalga *Chlorella* es una célula reproductora inmóvil (autospora) que se reproduce asexual y rápidamente. Por lo tanto, dentro de las 24 h, una celda de *Chlorella* cultivada en condiciones óptimas se multiplica por autosporulación, la cual es la reproducción asexual más común en las algas. De esta manera, cuatro células hijas que tienen su propia pared celular se forman dentro de la pared celular de la célula madre. Después de la maduración de estas células la pared celular se rompe, lo que permite la liberación de las células hijas y los restos restantes de la célula madre se consumirán como alimento por las células hijas recién formadas. (p. 269)

## 1.2.7. Formulación de hipótesis

### Hipótesis General

La eficiencia de *Chlorella* spp. inmovilizada en alginato en la remoción de contaminantes de las aguas residuales municipales del distrito de Llamellin, Ancash es superior al 70 % en todos los tratamientos.

### Hipótesis Específicas

- Los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos (coliformes termotolerantes, demanda bioquímica de oxígeno, demanda química de oxígeno, sólidos suspendidos totales, pH y temperatura) de los efluentes de la PTAR de Llamellin, antes de los tratamientos con la microalga *Chlorella* spp. inmovilizada en alginato, son superiores a los valores establecidos en los Límites Máximos Permisibles (LMP).
- Los parámetros físico-químicos (DQO, DBO, Sólidos suspendidos totales) y microbiológicos (coliformes termotolerantes) del efluente de la PTAR de Llamellin sometida a la actividad remediadora de *Chlorella* spp., se reducen por encima del 70 % y resultan por debajo del LMP; siendo los coliformes termotolerantes y DBO con mayor y menor remoción, respectivamente.
- La mayor variación de la biomasa de *Chlorella* spp. antes y después de los tratamientos, se obtiene con el tratamiento 4 (100 mL de cultivo inmovilizado+ 350 mL de agua residual), con un incremento algal superior al 60 % con respecto a la biomasa inicial.

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

### **2.1. Diseño de investigación**

La presente investigación fue experimental, con enfoque cuantitativo, porque se manipularon a las variables independientes en los diferentes tratamientos establecidos (Hernández *et al.*, 2014).

### **2.2. Lugar y fecha**

La investigación se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, en los meses de agosto a diciembre del 2020.

### **2.3. Descripción del experimento**

#### **2.3.1. Toma de muestras de agua residual**

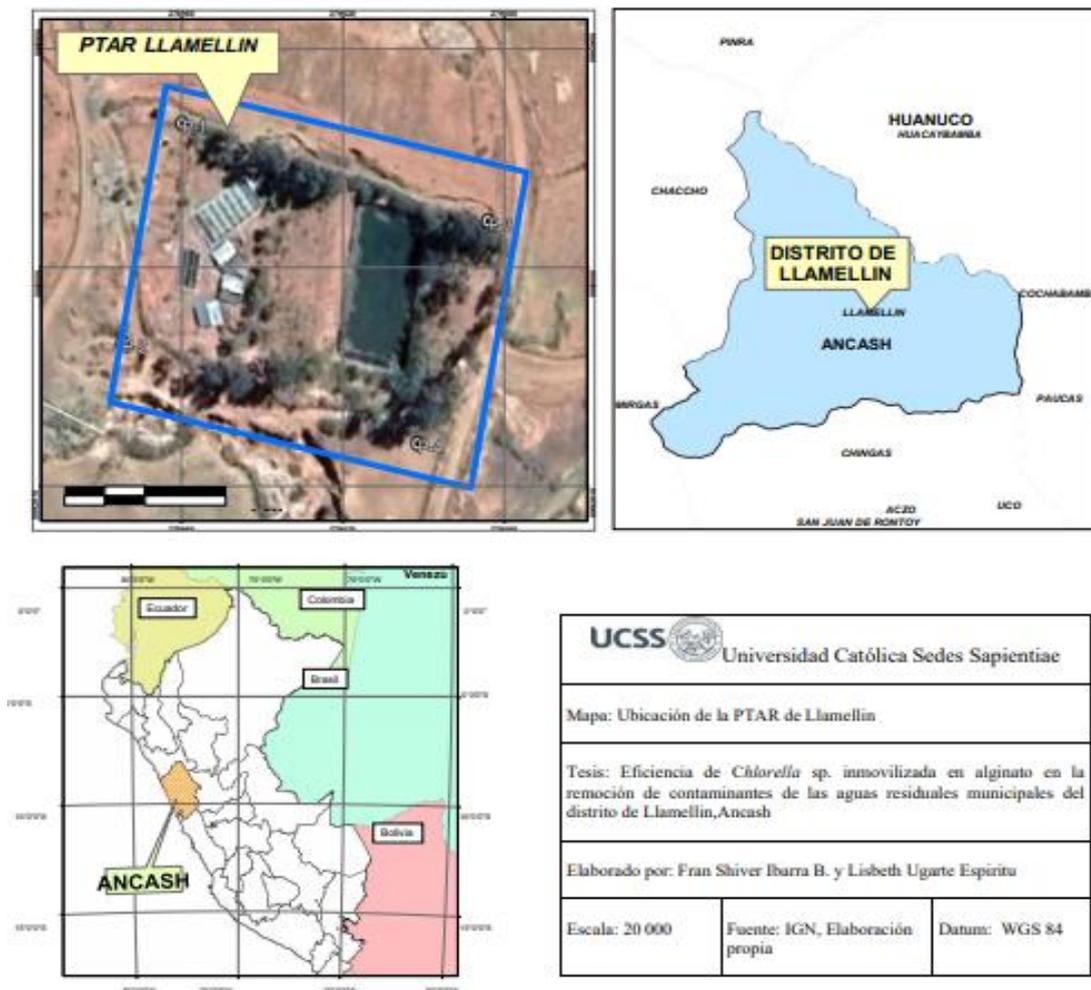
Las muestras de agua residual fueron colectadas de la Planta de tratamiento de Aguas residuales (PTAR) de Llamellin, Ancash (Apéndice 1 y Figura 2); y estuvo conformadas por 50,00 L de efluente líquido. La toma de muestras se realizó siguiendo la metodología establecida en el Protocolo de Monitoreo de la Calidad de Los Efluentes de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales, aprobado por Resolución Ministerial N° 273, en la cual se establecen aspectos como: identificación del punto de monitoreo del efluente, según sus características y accesibilidad; parámetros de calidad a evaluar, toma de muestras, preservación, rotulado y transporte respectivo; así como el aseguramiento y control de las muestras (Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento [MVCS], 2013).

### 2.3.2. Caracterización de las muestras de efluente provenientes de la PTAR Llamellin

Las muestras de agua provenientes de la PTAR Llamellin (Figura 2), fueron caracterizadas en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, para la determinación de los parámetros tales como: coliformes termotolerantes, demanda bioquímica de oxígeno, demanda química de oxígeno, pH, Sólidos Suspendidos Totales (SST) y temperatura (Tabla 1).

**Figura 2**

*Mapa de ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales de Llamellin, Ancash*



*Nota.* Se muestra la ubicación del PTAR, con componentes considerados en el diseño hidráulico de tratamiento.

**Tabla 1***Métodos de análisis de los parámetros en el laboratorio*

<b>Parámetros</b>	<b>Método</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>Referencia</b>
DBO	Winkler modificada	mg/L	(Fernández y Curt, 2013)
DQO	Fotometría	mg/L	(Fernández y Curt, 2013)
Coliformes fecales	NMP	NMP/100 L	(APHA, 1992)
pH	Potenciometría	Rango de pH	(APHA, 1992)
Temperatura	Método convencional	°C	(APHA, 1992)
SST	Método gravimétrico	mg/L	(APHA, 1992)

*Nota.* Todos los parámetros han sido determinados con método estandarizados.

### **2.3.3. Obtención de la microalga *Chlorella* spp.**

Se obtuvo una cepa pura de la microalga *Chlorella* spp. del Instituto del Mar del Perú (IMARPE), la cual fue luego cultivada en masa utilizando una solución hidropónica estándar de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las proporciones para la preparación de las soluciones fueron de 2,50 mL de “solución A” y 1,00 mL de “solución B” por cada litro de solución hidropónica final, seguido por el conteo celular utilizando la cámara de Neubauer hasta alcanzar una cantidad superior a  $10^7$  células/L, tal como lo recomienda Tante (2018). La cantidad referida fue alcanzada a los 10 días de iniciado el cultivo.

### **2.3.4. Inmovilización del alga *Chlorella* spp. en esferas de alginato**

Para la inmovilización del alga se mezclaron 100,00 mL de agua destilada en un *beaker* con 4,00 g de alginato de sodio. Posteriormente, se calentó cuidadosamente la mezcla con la finalidad de disolver uniformemente el alginato y dejándose enfriar a temperatura ambiente. De forma subsecuente, se añadió 45,00 mL de un cultivo de la microalga en una concentración de  $10,90 \times 10^7$  células/L para obtener esferas de alginato las cuales fueron depositadas en recipientes de vidrio de 400,00 mL de capacidad.

### **2.3.5. Medición de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), sólidos suspendidos totales (SST), temperatura y potencial de hidrógeno (pH)**

Cada semana se tomaron muestras de 20,00 mL de los tratamientos para medir la DBO, DQO, SST, temperatura y pH durante todo el período de experimentación, que fue de 3 semanas, sin incluir el período de crecimiento de la microalga de 10 días. Con estos datos, se calculó el porcentaje de remoción según Aslan y Kapdan (2006), y los LMP para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales domésticas o municipales.

### **2.3.6. Determinación de la variación de la biomasa *Chlorella* spp. después de los tratamientos**

La concentración inicial para la presente investigación fue el registrado en el día 10 del crecimiento de la microalga en el proceso de cultivo; la misma que, al igual que la concentración final, fue determinada por el conteo celular utilizando la cámara de Neubauer, aplicando la siguiente ecuación (Tantte, 2018):

$$\sum n \times 50 \times 10^3 \left( \frac{cel}{mL} \right)$$

Donde:

n: número de microalgas contadas en cinco cuadrantes de la cámara.

### **2.3.7. Análisis de la contaminación microbiológica**

Fue determinada la cantidad de coliformes fecales (Cf) usando el método del número más probable (NMP) a través de la prueba confirmativa de microorganismos coliformes fecales; para lo cual se transfirieron 1,00 mL de la muestra a analizar a un tubo de 16 x 150 mm que contenga 9,00 mL de agua destilada estéril (dilución 1/10). A partir de la mezcla anterior se incorporaron 1,00 mL a otro tubo que contenía 9,00 mL de agua estéril (dilución 1/100); estos pasos se siguieron hasta conseguir una dilución 1/1000. Estas muestras de agua residual diluidas fueron trasferidas a tubos que contenían caldo verde brillante (BRILA), con campanas de Durham, homogenizándose y sometiendo a una incubación de 35,00 °C de

24 a 48 horas. Finalmente, fueron registrados como positivos aquellos tubos en donde se observó turbidez (crecimiento) y producción de gas, tal como lo refiere Camacho y Ariosa (2000).

## 2.4. Tratamientos

La presente investigación contó con cinco tratamientos, con tres repeticiones cada uno que se detallan en la Tabla 2; mismos que estuvieron constituidos por 350,00 mL de agua residual provenientes de la PTAR, a los que se añadieron diferentes volúmenes de la microalga inmovilizada en esferas de alginato de sodio, con poblaciones de la microalga *Chlorella* spp., en concentraciones de  $10,90 \times 10^7$  cél/L.

**Tabla 2**

*Descripción de los tratamientos en base a las distintas concentraciones de la microalga*

<b>Tratamiento</b>	<b>Descripción</b>
T0 (control)	350 mL de agua residual
T1	10 mL de cultivo inmovilizado+ 350 mL de agua residual
T2	20 mL de cultivo inmovilizado+ 350 mL de agua residual
T3	50 mL de cultivo inmovilizado+ 350 mL de agua residual
T4	100 mL de cultivo inmovilizado+ 350 mL de agua residual

*Nota.* En todos los tratamientos se utilizaron la misma cantidad de agua residual.

## 2.5. Unidades experimentales

En esta investigación se ejecutaron 3 repeticiones para 5 tratamientos, los cuales representaron 15 unidades experimentales.

## 2.6. Identificación de variables y su mensuración

Las variables y su mensuración se describen en Tabla 3, tomando en cuenta los parámetros con la variable de estudio.

**Tabla 3***Variables de estudio*

<b>Variabes de estudio</b>	<b>Descripción</b>	<b>Mensuración</b>
Independiente	<i>Chlorella</i> spp. inmovilizada en alginato	Análisis en laboratorio.
Dependiente	Remoción de contaminantes de las aguas residuales municipales del distrito de Llamellin, Ancash	$\%R = \left( \frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \times 100$

*Nota.* La fórmula del porcentaje de remoción (%R) corresponde al establecido por Aslan y Kapdan (2006).

## 2.7. Diseño estadístico del experimento

En la presente investigación se usó el Diseño de Bloques Completamente Aleatorizados (DBCA), en la que se estudió el efecto de dos factores, el cual varió en los distintos tratamientos planteados con sus respectivas mediciones por semanas (3), tal como se describe a continuación:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 * T1 + \beta_2 * T2 + \beta_3 * T3 + \beta_4 * T4 + \beta_5 * Semana_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

- $Y_{ij}$ : variable dependiente (remoción de contaminantes).
- $\beta_0$ : intersección (el efecto del tratamiento de control T0).
- $\beta_1, \beta_2, \beta_3$  y  $\beta_4$ : coeficientes que representan el efecto de cada tratamiento en comparación con el control.
- $\beta_5$ : efecto de la medición semanal (1, 2 y 3).
- $\varepsilon_{ij}$ : error experimental.

Interpretación:

- $\beta_0$ : Representa el efecto base de no añadir cultivo inmovilizado (T0).

- $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$ : Indican cómo cada tratamiento (T1 a T4) afecta la variable dependiente en relación con el control.
- $\beta_5$ : Muestra cómo la variable dependiente cambia a lo largo de las semanas.

Este modelo permitió evaluar tanto el efecto de los diferentes tratamientos como el efecto del tiempo (semanas) en la respuesta que estás investigando.

## 2.8. Análisis estadístico de datos

Para determinar las diferencias estadísticas entre los tratamientos se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) a un nivel de significancia del 5 % ( $\alpha = 0,05$ ), en el *software* estadístico SPSS v. 22. Además, se realizó la comparación de medias mediante la prueba de *Tukey* con  $\alpha = 0,05$ .

## 2.9. Materiales de laboratorio

- **Materiales de vidrio:** Pipetas de 10 mL, una cámara de Neubauer, frascos de Erlenmeyer de 500 ml y un termómetro ambiental.
- **Materiales de plástico:** botellas de plástico de 2 L, botellas de plástico de 7 L, jeringas de 20 mL y probeta de 500 ml.
- **Equipos:** aireadores para pecera AP-408A, autoclave, microscopio, GPS Garmin, multiparámetro YSI® 556 MPS, balanza, pistola de soldar ALMOS y un multímetro.
- **Reactivos:** Hipoclorito de sodio, alginato de sodio, cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), decolorador líquido comercial para acuario y solución hidropónica.

## CAPÍTULO III: RESULTADOS

### 3.1. Caracterización de los parámetros físico-químicos y microbiológicos de los efluentes de la PTAR de Llamellin, antes de los tratamientos con la microalga *Chlorella* spp. inmovilizada en alginato

La Tabla 4 muestra los resultados de la caracterización físico-químico inicial de la muestra efluente de agua provenientes de la Planta de tratamiento de aguas residuales de Llamellin. De acuerdo con los resultados obtenidos, tres de los seis parámetros (50,00 %) evaluados no cumple con los Límites Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales (MINAM, 2010).

**Tabla 4**

*Características físico químicas iniciales del agua residuales efluente del PTAR Llamellin, Ancash*

Parámetros	Unidades	Resultados	LMP para agua residual	Cumplimiento de LMP para agua residual
Coliformes termotolerantes	NMP/100 mL	6 000,00	10 000,00	SI
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)	mg/L	120,00	100,00	NO
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg/L	420,00	200,00	NO
pH	Unidades	7,05	6,50-8,50	SI
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	mg/L	180,00	150,00	NO
Temperatura	°C	21,00	<35,00	SI

*Nota.* Los parámetros que excedieron la norma antes mencionada fueron la DBO (20 %), DQO (110 %) y los SST (20 %); mientras que los coliformes termotolerantes, el pH y la temperatura si cumplieron con la norma.

### 3.2. Variación y porcentaje de remoción de los parámetros físico-químicos y microbiológicos del efluente de la PTAR Llamellin

#### 3.2.1. Variación y porcentaje de remoción de los coliformes termotolerantes después de los tratamientos con *Chlorella* spp.

La Tabla 5 muestra los resultados de los valores de coliformes termotolerantes en los diferentes tratamientos, con valores promedio decrecientes, en las tres semanas. El tratamiento control (T0) mantuvo los valores más altos de coliformes (5 846,7±55,1 5716,7±76,4 y 4 900,0±793,7 NMP/100 mL), con respecto al valor inicial (6 000,00 NMP/100 mL); mientras que el tratamiento 4, presentó el menor valor, con 210,0±36,1 NMP/100 mL, en la tercera semana.

**Tabla 5**

*Valores obtenidos de los coliformes termotolerantes de efluentes de PTAR Llamellin tratados con Chlorella spp.*

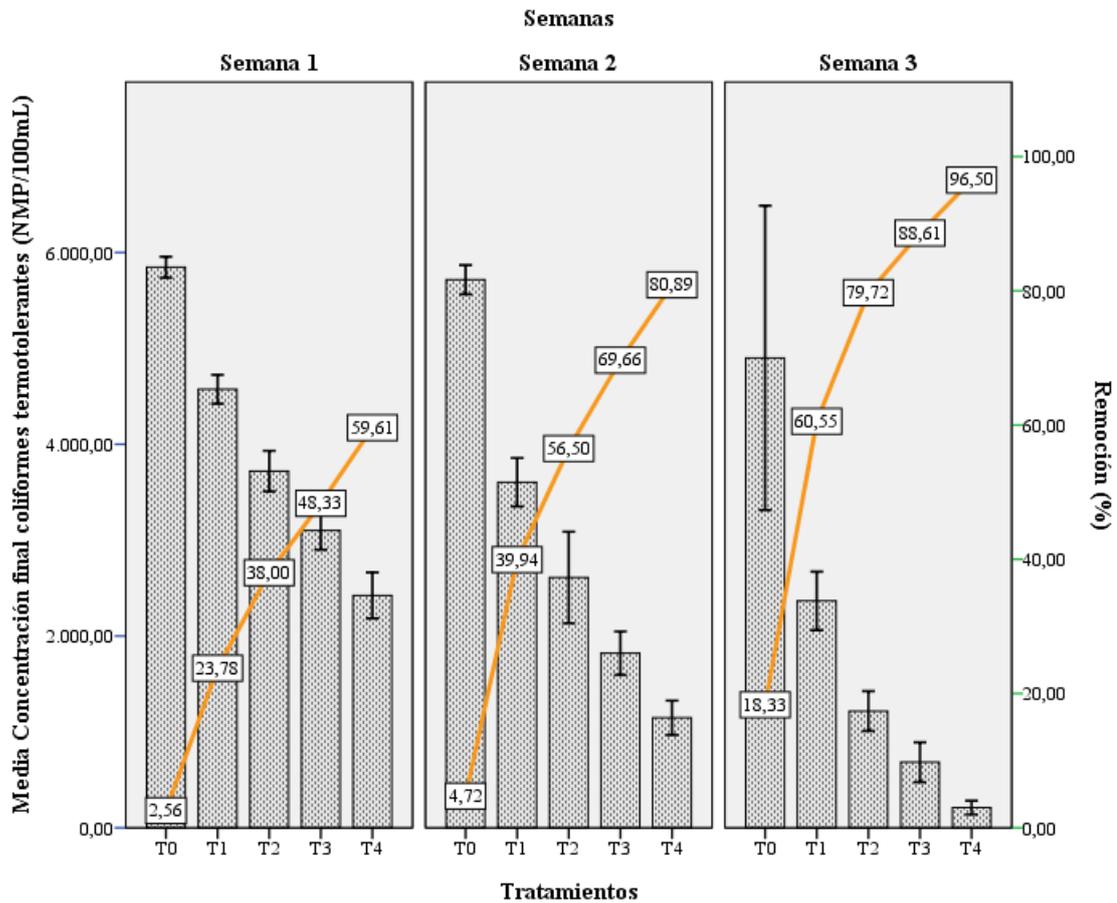
Semana	Repetición	Tratamientos				
		Control	T1	T2	T3	T4
S1	1	5 900,00	4 500,00	3 800,00	3 000,00	2 540,00
	2	5 850,00	4 650,00	3 760,00	3 200,00	2 300,00
	3	5 790,00	4 570,00	3 600,00	3 100,00	2 430,00
	<b>Promedio</b>	5 846,7±55,1	4 573,3±75,1	3 720,0±105,8	3 100,0±100,0	2 423,3±120,1
S2	1	5 700,00	3 650,00	2 400,00	1 900,00	1 100,00
	2	5 800,00	3 460,00	2 560,00	1 870,00	1 250,00
	3	5 650,00	3 700,00	2 870,00	1 690,00	1 090,00
	<b>Promedio</b>	5 716,7±76,4	3 603,3±126,6	2 610,0±239,0	1 820,0±113,6	1 146,7±89,6
S3	1	4 000,00	2 500,00	1 300,00	800,00	180,00
	2	5 200,00	2 200,00	1 100,00	650,00	250,00
	3	5 500,00	2 400,00	1 250,00	600,00	200,00
	<b>Promedio</b>	4 900,0±793,7	2 366,7±152,8	1 216,7±104,1	683,3±104,1	210,0±36,1

*Nota.* La concentración inicial de coliformes termotolerantes fue 6000,00 NMP/100 mL.

El porcentaje de remoción de coliformes utilizando *Chlorella* spp. en la primera semana osciló entre 23,78 % (T1) y 59,61 % (T4). En la segunda semana, la eliminación fluctuó entre 39,94 % (T1) y 80,89 % (T4). Por último, en la tercera semana, la eliminación se situó entre 60,55 % (T1) y 96,50 % (T4) (Figura 3).

**Figura 3**

*Resultado de la variación y porcentaje de remoción de coliformes termotolerantes por Chlorella spp.*



*Nota.* El Control tuvo mayor variación y menor porcentaje de remoción.

El análisis de la varianza (ANOVA), con grado de libertad 4 y un nivel de significancia del 5,00 % ( $\alpha = 0,050$ ;  $gl = n-1$ ,  $gl = 4$ ), determinó que sí había diferencia estadística significativa entre los tratamientos ( $p$  valor  $< \alpha$ ;  $0,000 < 0,050$ ) al rechazarse la hipótesis nula de “similitud de medias entre los grupos” (Tabla 6).

**Tabla 6***Análisis de la varianza de los coliformes termotolerantes*

<b>Origen</b>	<b>Suma de cuadrados tipo III</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo corregido	130 556 413,333	6	21 759 402,222	188,946	,000
Intersección	386 086 135,556	1	386 086 135,556	3352,552	,000
Tratamientos	98 755 008,889	4	24 688 752,222	214,383	,000
Semana	31 801 404,444	2	15 900 702,222	138,073	,000
Error	4 376 151,111	38	115 161,871		
Total	521 018 700,000	45			
<b>Total corregida</b>	<b>134 932 564,444</b>	<b>44</b>			

*Nota.* El grado de libertad 4 es porque en el *software* estadístico se compararon las medias de los cuatro tratamientos y del control.

La comparación de medias de coliformes termotolerantes, se realizó con Tukey ( $\alpha = 0,050$ ), el mismo que determinó que en el tratamiento 4 se obtuvo la menor concentración final promedio de los coliformes (1260,00 NMP/ 100 ml) en las tres semanas de evaluación; resultando estadísticamente diferente a los demás tratamientos (Tabla 7). De manera general, conforme se incrementó la biomasa de *Chlorella* spp. disminuyó significativamente la cantidad de coliformes termotolerantes en los efluentes tratados.

**Tabla 7***Prueba HSD Tukey de los coliformes termotolerantes*

<b>Tratamientos</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto</b>				
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
T4	9	1 260,00				
T3	9		1 867,78			
T2	9			2 515,56		
T1	9				3 514,44	
T0	9					5 487,78
<b>Sig.</b>		<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>

*Nota.* N es el tamaño muestral de la media.

### 3.2.2. Variación y porcentaje de la demanda bioquímica de oxígeno después de los tratamientos con *Chlorella* spp.

La Tabla 8 muestra los resultados de los valores de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) en los diferentes tratamientos con valores promedio decrecientes, en las tres semanas. El tratamiento control (T0) mantuvo los valores más altos de DBO<sub>5</sub> (118,00±1,00, 115,00±1,00 y 112,67±2,52 mg/L), con respecto al valor inicial (120,00 mg/L); mientras que los tratamientos 3 y 4, presentaron el menor valor en la tercera semana, con 27,00±2,65 y 27,00±11,27, respectivamente.

**Tabla 8**

*Valores obtenidos de la DBO<sub>5</sub> de efluentes de PTAR Llamellin tratados con Chlorella spp.*

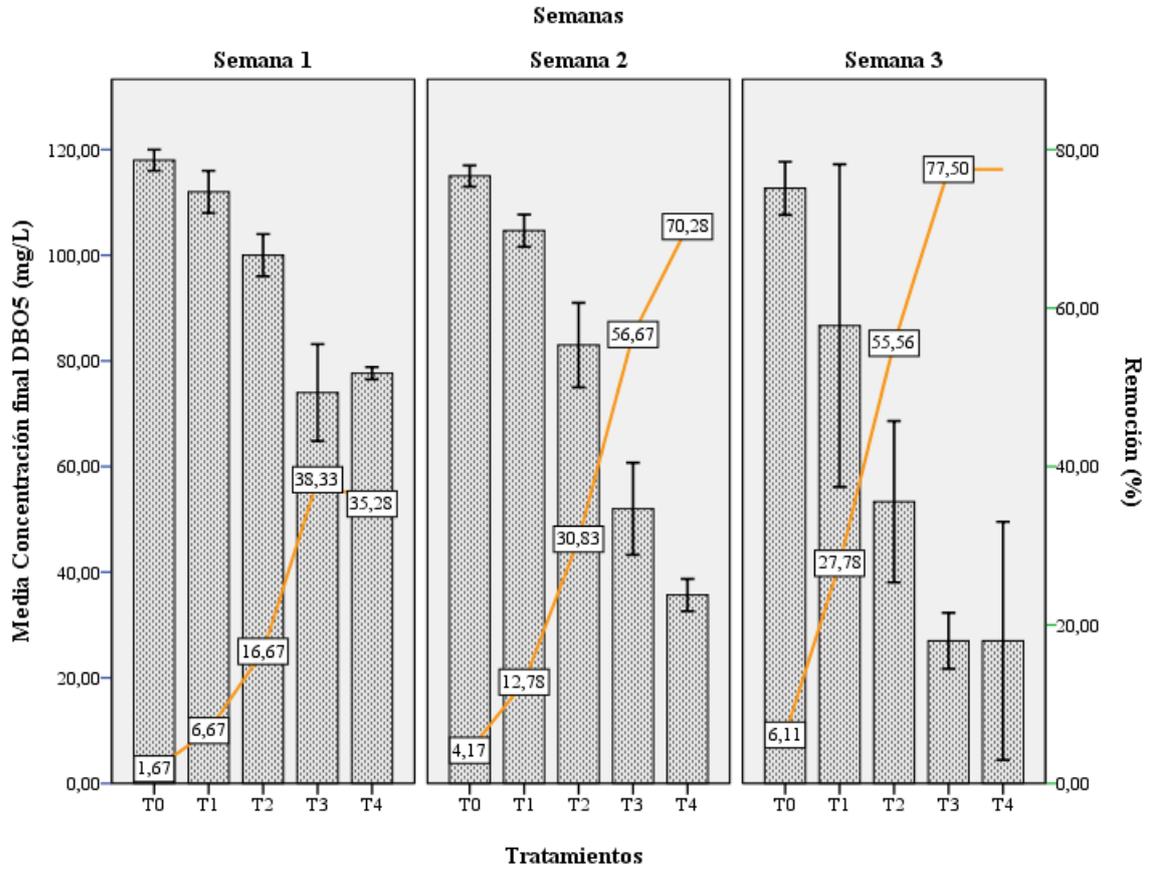
Semana	Repetición	Tratamientos				
		Control	T1	T2	T3	T4
S1	1	119,00	110,00	100,00	75,00	78,00
	2	118,00	112,00	98,00	69,00	77,00
	3	117,00	114,00	102,00	78,00	78,00
Promedio		118,00±1,00	112,00±2,00	100,00±2,00	74,00±4,58	77,67±0,58
S2	1	115,00	106,00	87,00	47,00	37,00
	2	114,00	105,00	79,00	55,00	36,00
	3	116,00	103,00	83,00	54,00	34,00
Promedio		115,00±1,00	104,67±1,53	83,00±4,00	52,00±4,36	35,67±1,53
S3	1	110,00	100,00	60,00	26,00	20,00
	2	115,00	90,00	45,00	25,00	21,00
	3	113,00	70,00	55,00	30,00	40,00
Promedio		112,67±2,52	86,67±15,28	53,33±7,64	27,00±2,65	27,00±11,27

*Nota.* La concentración inicial de DBO<sub>5</sub> fue 120,00 mg/L.

El porcentaje de remoción de DBO<sub>5</sub> utilizando *Chlorella* spp. en la primera semana osciló entre 6,67 % (T1) y 38,33 % (T3). En la segunda semana, la eliminación fluctuó entre 12,78 % (T1) y 70,28 % (T4). Por último, en la tercera semana, la eliminación se situó entre 27,78 % (T1) y 77,50 % (T3 y T4) (Figura 4).

**Figura 4**

*Resultado de la variación y porcentaje de remoción de la DBO<sub>5</sub> por Chlorella spp.*



*Nota.* El Control tuvo menor porcentaje de remoción.

El análisis de la varianza (ANOVA), con grado de libertad 4 y un nivel de significancia del 5,00 % ( $\alpha = 0,050$ ;  $gl = n-1$ ,  $gl = 4$ ), determinó que sí había diferencia estadística significativa entre los tratamientos ( $p$  valor  $< \alpha$ ;  $0,000 < 0,050$ ) al rechazarse la hipótesis nula de “similitud, igual u homogeneidad de medias entre los grupos” (Tabla 9).

**Tabla 9***Análisis de la varianza de la DBO<sub>5</sub>*

<b>Origen</b>	<b>Suma de cuadrados tipo III</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo corregido	41 794,800	6	6 965,800	67,078	,000
Intersección	277 851,022	1	277 851,022	2 675,586	,000
Tratamientos	32 601,422	4	8 150,356	78,484	,000
Semana	9 193,378	2	4 596,689	44,264	,000
Error	3 946,178	38	103,847		
Total	323 592,000	45			
<b>Total corregida</b>	<b>45 740,978</b>	<b>44</b>			

*Nota.* El grado de libertad 4 es porque en el *software* estadístico se compararon las medias de los cuatro tratamientos y del control.

La comparación de medias de la DBO<sub>5</sub>, se realizó con Tukey ( $\alpha = 0,050$ ) (Tabla 10), el mismo que determinó que los tratamientos 3 y 4 presentaron la menor concentración final de DBO<sub>5</sub> (27,00 mg/L), sin presentar una diferencia estadística significativa. De manera general, conforme se incrementó la biomasa de *Chlorella* spp. disminuyó significativamente la DBO<sub>5</sub> en los efluentes tratados.

**Tabla 10***Prueba HSD Tukey de la DBO<sub>5</sub>*

<b>Tratamientos</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto</b>			
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
T4	9	46,7778			
T3	9	51,0000			
T2	9		78,7778		
T1	9			101,1111	
T0	9				115,2222
<b>Sig.</b>		<b>,903</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>

*Nota.* Similar comportamiento fue determinado en el porcentaje de remoción.

### 3.2.3. Variación y porcentaje de la demanda química de oxígeno después de los tratamientos con *Chlorella* spp.

La Tabla 11 muestra los resultados de los valores de la demanda química de oxígeno (DQO) en los diferentes tratamientos con valores promedio decrecientes, en las tres semanas. El tratamiento control (T0) mantuvo los valores más altos de DQO ( $440,00 \pm 18,03$ ,  $466,67 \pm 15,28$  y  $536,67 \pm 77,67$  mg/L), con respecto al valor inicial ( $420,00$  mg/L); mientras que el tratamiento 1, presentó el menor valor, con  $67,67 \pm 2,52$ , en la tercera semana.

**Tabla 11**

*Valores obtenidos de la DQO de efluentes de PTAR Llamellin tratados con Chlorella spp.*

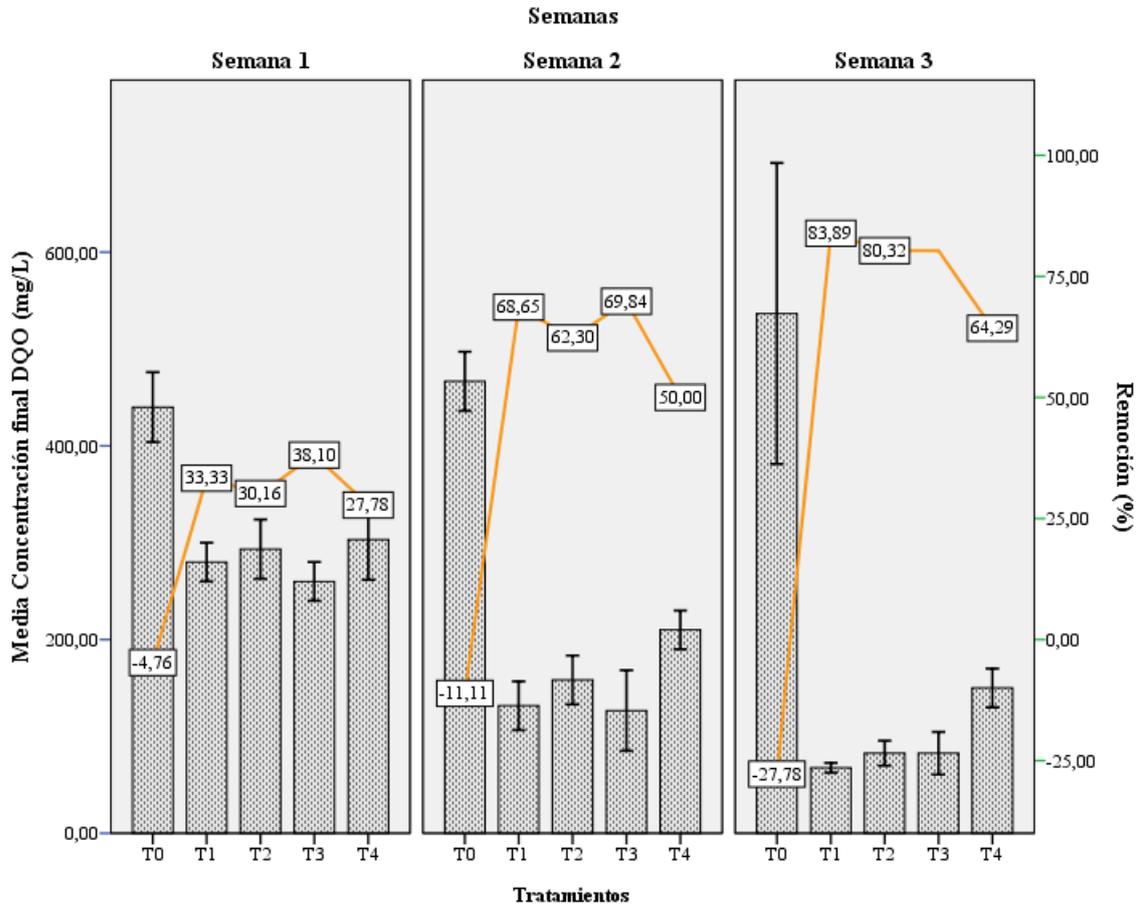
Semana	Repetición	Tratamientos				
		Control	T1	T2	T3	T4
S1	1	435,00	270,00	280,00	260,00	320,00
	2	425,00	280,00	290,00	270,00	310,00
	3	460,00	290,00	310,00	250,00	280,00
	Promedio	$440,00 \pm 18,03$	$280,00 \pm 10,00$	$293,33 \pm 15,28$	$260,00 \pm 10,00$	$303,33 \pm 20,82$
S2	1	470,00	145,00	145,00	120,00	220,00
	2	450,00	120,00	170,00	110,00	210,00
	3	480,00	130,00	160,00	150,00	200,00
	Promedio	$466,67 \pm 15,28$	$131,67 \pm 12,58$	$158,33 \pm 12,58$	$126,67 \pm 20,82$	$210,00 \pm 10,00$
S3	1	450,00	65,00	90,00	90,00	150,00
	2	600,00	70,00	80,00	70,00	160,00
	3	560,00	68,00	78,00	88,00	140,00
<b>Promedio</b>		<b><math>536,67 \pm 77,67</math></b>	<b><math>67,67 \pm 2,52</math></b>	<b><math>82,67 \pm 6,43</math></b>	<b><math>82,67 \pm 11,01</math></b>	<b><math>150,00 \pm 10,00</math></b>

*Nota.* La concentración inicial de DQO fue  $420,00$  mg/L. Asimismo, el promedio calculado solo corresponde a la semana 3 de la evaluación.

El porcentaje de remoción de DQO utilizando *Chlorella* spp. en la primera semana osciló entre  $33,33$  % (T1) y  $38,10$  % (T3). En la segunda semana, la eliminación fluctuó entre  $50,00$  % (T4) y  $69,84$  % (T3). Por último, en la tercera semana, la eliminación se situó entre  $64,29$  % (T4) y  $83,89$  % (T1) (Figura 5).

**Figura 5**

*Resultado de la variación y porcentaje de remoción de la DQO por Chlorella spp.*



*Nota.* El Control tuvo mayor variación y menor porcentaje de remoción.

El análisis de la varianza (ANOVA), con grado de libertad 4 y un nivel de significancia del 5,00 % ( $\alpha = 0,050$ ;  $gl = n-1$ ,  $gl = 4$ ), determinó que sí había diferencia estadística significativa entre los tratamientos ( $p \text{ valor} < \alpha$ ;  $0,000 < 0,050$ ) al rechazarse la hipótesis nula de “similitud, igual u homogeneidad de medias entre los grupos” (Tabla 12).

**Tabla 12***Análisis de la varianza de la DQO*

<b>Origen</b>	<b>Suma de cuadrados tipo III</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo corregido	820 711,244	6	136 785,207	43,488	,000
Intersección	2 577 141,356	1	2 577 141,356	819,342	,000
Tratamientos	681 627,200	4	170 406,800	54,177	,000
Semana	139 084,044	2	69 542,022	22,109	,000
Error	119 524,400	38	3 145,379		
Total	3 517 377,000	45			
<b>Total corregida</b>	<b>940 235,644</b>	<b>44</b>			

*Nota.* El grado de libertad 4 es porque en el *software* estadístico se compararon las medias de los cuatro tratamientos y del control.

La comparación de medias de las concentraciones finales de la DQO, se realizó con Tukey ( $\alpha = 0,050$ ), el mismo que determinó que los tratamientos 1, 2, 3 y 4 no presentaron diferencias estadísticas entre sí ( $p$  valor  $< \alpha$ ;  $0,100 < 0,050$ ); sin embargo, el tratamiento control fue diferente a los demás (Tabla 13). De manera general, conforme se incrementó la biomasa de *Chlorella* spp. disminuyó significativamente la DQO en los efluentes tratados.

**Tabla 13***Prueba HSD Tukey de la DQO*

<b>Tratamientos</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto</b>	
		<b>1</b>	<b>2</b>
T3	9	156,4444	
T1	9	159,7778	
T2	9	178,1111	
T4	9	221,1111	
T0	9		481,1111
<b>Sig.</b>		<b>,125</b>	<b>1,000</b>

*Nota.* Similar comportamiento fue determinado en el porcentaje de remoción.

### 3.2.4. Variación y porcentaje de remoción de los sólidos suspendidos totales (SST) después de los tratamientos con *Chlorella* spp.

La Tabla 14 muestra los resultados de los valores de los sólidos suspendidos totales (SST) en los diferentes tratamientos con valores promedio crecientes, en las tres semanas. El tratamiento control (T0) mantuvo los valores más altos de SST (175,00±1,00, 162,00±3,00 y 130,00±20,00 mg/L), con respecto al valor inicial (180,00 mg/L); mientras que el tratamiento 1, presentó el menor valor, con 26,67±7,64, en la tercera semana.

**Tabla 14**

Valores obtenidos de SST de efluentes de PTAR Llamellin tratados con *Chlorella* spp.

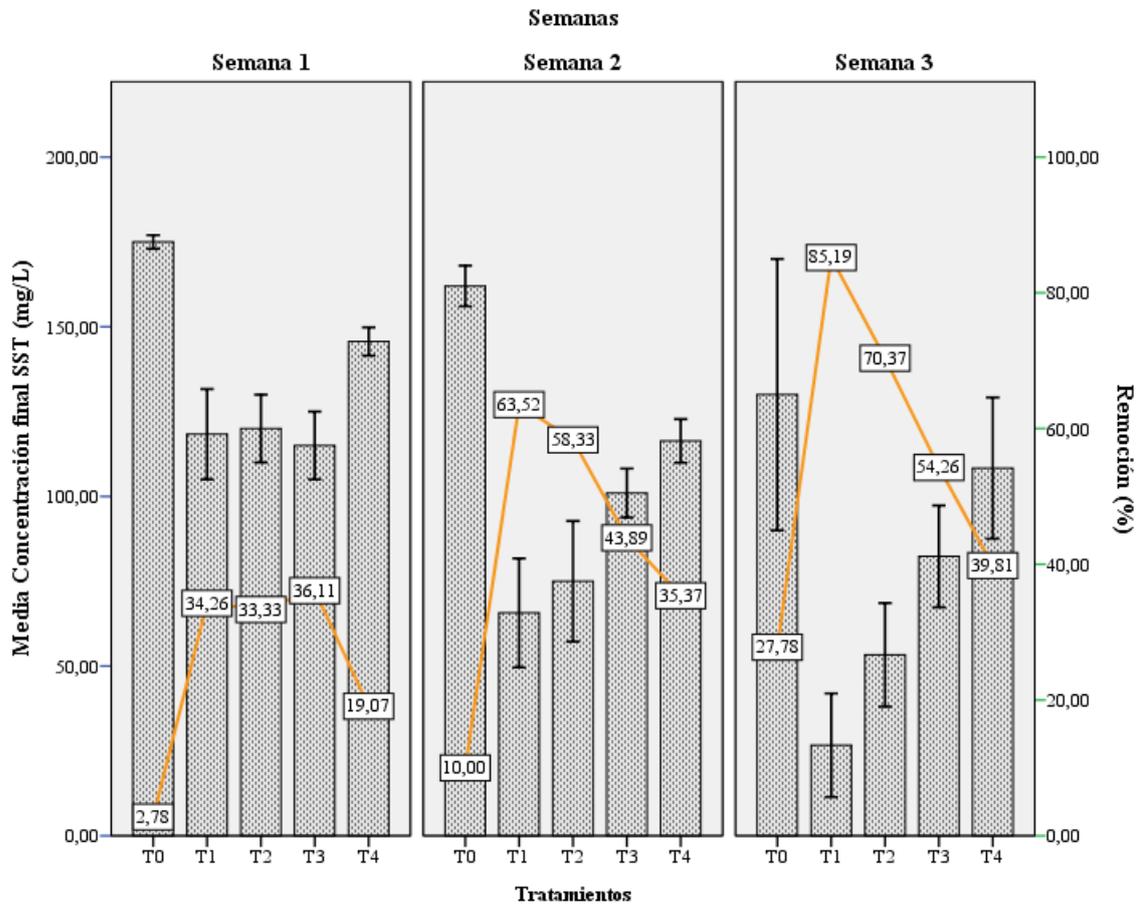
Semana	Repetición	Tratamientos				
		Control	T1	T2	T3	T4
S1	1	175,00	120,00	120,00	110,00	145,00
	2	176,00	124,00	125,00	120,00	148,00
	3	174,00	111,00	115,00	115,00	144,00
<b>Promedio</b>		175,00±1,00	118,33±6,66	120,00±5,00	115,00±5,00	145,67±2,08
S2	1	162,00	65,00	78,00	105,00	120,00
	2	159,00	58,00	65,00	100,00	115,00
	3	165,00	74,00	82,00	98,00	114,00
<b>Promedio</b>		162,00±3,00	65,67±8,02	75,00±8,89	101,00±3,61	116,33±3,21
S3	1	150,00	20,00	60,00	90,00	100,00
	2	130,00	35,00	45,00	75,00	120,00
	3	110,00	25,00	55,00	82,00	105,00
<b>Promedio</b>		130,00±20,00	26,67±7,64	53,33±7,64	82,33±7,51	108,33±10,41

*Nota.* La concentración inicial de SST fue 180,00 mg/L. Asimismo, el promedio calculado solo corresponde a la semana 3 de la evaluación.

El porcentaje de remoción de SST utilizando *Chlorella* spp. en la primera semana osciló entre 19,07 % (T4) y 36,11 % (T3). En la segunda semana, la eliminación fluctuó entre 35,37 % (T4) y 63,52 % (T1). Por último, en la tercera semana, la eliminación se situó entre 39,81 % (T4) y 85,19 % (T1) (Figura 6).

**Figura 6**

*Resultado de la variación y porcentaje de remoción de SST por Chlorella spp.*



*Nota.* El Control tuvo mayor variación y menor porcentaje de remoción.

El análisis de la varianza (ANOVA), con grado de libertad 4 y un nivel de significancia del 5,00 % ( $\alpha = 0,050$ ;  $gl = n-1$ ,  $gl = 4$ ), determinó que sí había diferencia estadística significativa entre los tratamientos ( $p$  valor  $< \alpha$ ;  $0,000 < 0,050$ ) al rechazarse la hipótesis nula de “similitud de medias entre los grupos” (Tabla 15).

**Tabla 15***Análisis de la varianza de SST*

<b>Origen</b>	<b>Suma de cuadrados tipo III</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo corregido	64 229,600	6	10 704,933	65,994	,000
Intersección	508 592,356	1	508 592,356	3135,362	,000
Tratamientos	41 696,089	4	10 424,022	64,262	,000
Semana	22 533,511	2	11 266,756	69,457	,000
Error	6 164,044	38	162,212		
Total	578 986,000	45			
<b>Total corregida</b>	<b>70 393,644</b>	<b>44</b>			

*Nota.* El grado de libertad 4 es porque en el *software* estadístico se compararon las medias de los cuatro tratamientos y del control.

La comparación de medias de SST, se realizó con Tukey ( $\alpha = 0,050$ ), el mismo que determinó que el tratamiento 1 presentó la menor concentración final promedio (70,22 mg/L); aunque estadísticamente no fue diferente al tratamiento 2 (Tabla 16). De manera general, conforme se incrementó la biomasa de *Chlorella* spp. aumentó significativamente el SST en los efluentes tratados.

**Tabla 16***Prueba HSD Tukey de SST*

<b>Tratamientos</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto</b>			
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
T1	9	70,2222			
T2	9	82,7778	82,7778		
T3	9		99,4444		
T4	9			123,4444	
T0	9				155,6667
<b>Sig.</b>		<b>,245</b>	<b>,061</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>

*Nota.* Similar comportamiento fue determinado en el porcentaje de remoción.

### 3.2.5. Variación del valor de pH en el efluente después de los tratamientos con *Chlorella* spp.

La Tabla 17 muestra los resultados de los valores de pH en los diferentes tratamientos con valores promedio decrecientes ( $7,63 \pm 0,07$  para T1;  $7,28 \pm 0,076$  para T2;  $7,11 \pm 0,08$  para T3 y  $6,75 \pm 0,27$  para T4) con respecto a la concentración inicial.

**Tabla 17**

*Valores obtenidos del pH de efluentes de PTAR Llamellin tratados con Chlorella spp.*

Semana	Tratamientos				
	Control	T1	T2	T3	T4
S3	7,70	7,65	7,30	7,05	6,45
S3	7,68	7,70	7,20	7,10	7,00
S3	7,65	7,55	7,35	7,20	6,80
<b>Promedio</b>	<b>7,67±0,025</b>	<b>7,63±0,07</b>	<b>7,28±0,07</b>	<b>7,11±0,08</b>	<b>6,75±0,27</b>

*Nota.* Todos los valores del pH se encontraron dentro del rango establecido en el LMP (6,50 – 8,50 unidades).

El análisis de la varianza (ANOVA), con grado de libertad 4 y un nivel de significancia del 5,00 % ( $\alpha = 0,050$ ;  $gl = n-1$ ,  $gl = 4$ ), determinó que sí había diferencia estadística significativa entre los tratamientos ( $p$  valor  $< \alpha$ ;  $0,000 < 0,050$ ) al rechazarse la hipótesis nula de “similitud, igual u homogeneidad de medias entre los grupos” (Tabla 18).

**Tabla 18**

*Análisis de la varianza del pH*

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1,767	4	0,442	23,098	0,000
Dentro de grupos	0,191	10	0,019		
<b>Total</b>	<b>1,958</b>	<b>14</b>			

*Nota.* El grado de libertad 4 es porque en el *software* estadístico se compararon las medias de los cuatro tratamientos y del control.

La comparación de medias del pH, se realizó con Tukey ( $\alpha = 0,050$ ), el mismo que determinó que en el tratamiento control se registró el máximo valor de pH (7,67 unidades); significando

un incremento de 0,62 unidades con respecto al pH inicial (Tabla 19). De manera general, conforme se incrementó la biomasa de *Chlorella* spp. disminuyó significativamente el pH en los efluentes tratados.

**Tabla 19**

*Prueba HSD Tukey del pH*

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
Tratamiento 4	3	6,7500			
Tratamiento 3	3	7,1167	7,1167		
Tratamiento 2	3		7,2833	7,2833	
Tratamiento 1	3			7,6333	7,6333
Control	3				7,6767
<b>Sig.</b>		<b>0,054</b>	<b>0,598</b>	<b>0,067</b>	<b>0,995</b>

*Nota.* Similar comportamiento fue determinado en el porcentaje de remoción.

### 3.2.6. Variación de la temperatura

La temperatura en la presente investigación no registró una variación significativa entre los tratamientos. El intervalo que se registró de este parámetro fue de 21,5 °C como máximo y 20,6 °C como mínima. Esta baja variación estaría relacionada con los cambios de temperatura en los ambientes del laboratorio. Además, los valores de este parámetro están dentro de lo contemplado en la norma para LMP de aguas residuales y como rango óptimo para cultivo de esta microalga, propiciando una mejor adaptabilidad y captación de nutrientes del medio.

### 3.3. Evaluación de variación de la biomasa de *Chlorella* spp.

#### 3.3.1. Concentración inicial de *Chlorella* spp.

La Tabla 20 muestra el crecimiento escalar realizado a la microalga *Chlorella* spp. a través de un cultivo masivo empleando solución hidropónica. La concentración inicial para la presente investigación fue el obtenido en el día 10 del crecimiento de la microalga ( $10,9 \pm 0,001 \times 10^7$ ) cél/L.

**Tabla 20***Crecimiento escalar de Chlorella spp. mediante lecturas diarias de la concentración*

Día	Cél/ L (x10 <sup>7</sup> )
1	0,15±0,0012
2	0,50±0,0032
3	1,20±0,012
4	3,50±0,0076
5	5,52±0,001
6	6,50±0,0033
7	8,60±0,002
8	9,50±0,0041
9	10,30±0,003
10	10,90±0,001
11	11,10±0,055
12	11,00±0,001

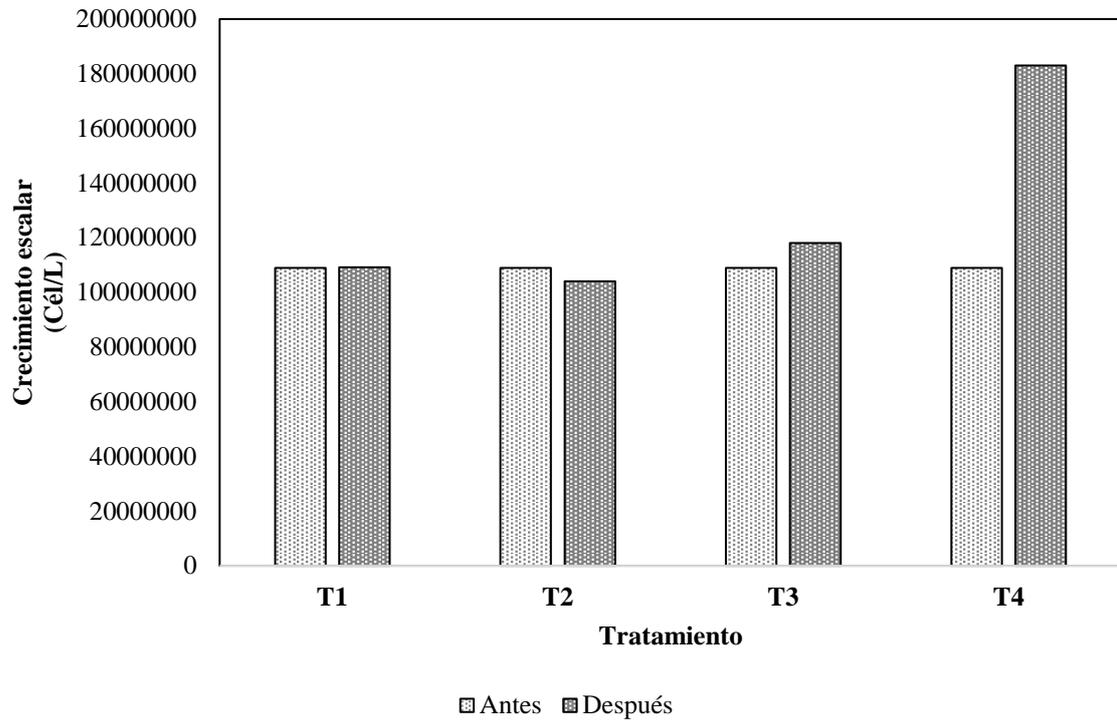
*Nota.* El conteo se determinó con la metodología descrita en el Capítulo II.

### 3.3.2. Variación de la biomasa de *Chlorella* spp.

La variación de la biomasa de *Chlorella* sp después de los tratamientos con efluentes de la PTAR Llamellin se describen en la Tabla 7. En ella se muestra un incremento de la biomasa algal con respecto al inicio  $1,09 \pm 0,036$  ( $\times 10^8$ ) cél/L para T1;  $1,14 \pm 0,14$  ( $\times 10^8$ ) cél/L para T2;  $1,18 \pm 0,076$  ( $\times 10^8$ ) cél/L para T3 y  $1,83 \pm 0,28$  ( $\times 10^8$ ) cél/L para T4. El porcentaje de incremento algal con respecto a la biomasa inicial fue de 0,15 % para T1, 4,58 % para T2, 8,25 % para T3 y 67,88 % para T4.

**Figura 7**

*Variación de la biomasa de Chlorella spp. después de los tratamientos*



*Nota.* Los valores de los tratamientos no están bajo el sistema  $\times 10^7$ .

## CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

### 4.1. Caracterización de los parámetros físico-químicos y microbiológicos de los efluentes de la PTAR de Llamellin

Las aguas residuales concentran una gran cantidad de contaminantes. En la presente investigación se reportó la presencia de coliformes termotolerantes en efluentes del PTAR Llamellin con un valor promedio de 6000 NMP/100 mL, siendo inferior y cumpliendo con la norma vigente. Este parámetro, según SUNASS (2018), es el que presenta mayor dificultad en el cumplimiento de los Límites Máximos Permisibles (LMP) en el Perú, observándose que sólo el 28 % de las Empresas prestadoras de servicios (EPS) cumplen con los LMP. Por lo que el tratamiento convencional a través de la muerte natural, que permitiría la remoción de coliformes termotolerantes, no es el más adecuado. Además, los periodos de exposición o retención del agua en las plantas de tratamiento, que ayudan a obtener el tiempo necesario para la muerte de las coliformes, algunas veces no son los recomendados, siendo purgadas mucho antes de los 20 días mínimos de retención, periodo que sí cumple el PTAR de Llamellin.

En el Perú las PTAR, a través del análisis de sus efluentes, no cumplen los LMP para DBO en un 52 % y para la DBO en un 79 % (SUNASS, 2018). Por otro lado, Pineda (2017) informó que los sistemas de tratamiento del PTAR de Boyaca presentan efluentes con proporciones constantes de 1/3 (cociente=0,3) para DBO y DQO. En la presente investigación el efluente de la PTAR Llamellin, la DBO (120 mg/L) y la DQO (420 mg/L) no cumplieron con la LMP presentando un cociente (DBO/DQO) de 0,27. El Decreto Supremo N.º 003-2010-MINAM establece el valor de 100 mg/L como LMP para la DBO y de 200 mg/L para la DQO, lo que significa una relación entre la DBO y DQO de 1 a 2. Sin embargo, algunas PTAR sólo logran cumplir con la DBO conllevando al incumplimiento del LMP de la DQO ya que en el efluente proveniente de tratamientos convencionales se espera las relaciones DBO: DQO de 3 a 4. Por lo tanto, no deberían diseñarse las PTAR con LMP

para DBO de 100 mg/L, sino para una concentración de DBO menor de 50 mg/L, a fin de cumplir el LMP de DQO de 200 mg/L. Si en la operación de una PTAR se verifica el cumplimiento del LMP de la DQO, es muy probable que también cumpla el LMP de la DBO5.

Los resultados de la caracterización físico-química realizada a los efluentes muestra a un 50 % de los parámetros evaluados con valores superiores a la norma. La totalidad de estos efluentes de la PTAR Llamellin son vertidos para riego, por lo que se sugiere que su uso se realice con restricciones.

#### **4.2. Variación y porcentaje de remoción de los parámetros físico-químicos y microbiológicos del efluente de la PTAR Llamellin**

En cuanto a la presencia de coliformes termotolerantes (fecales), Chuchón y Aybar (2008) reportaron remociones de coliformes fecales hasta un 99,98 %, expulsando efluentes con presencia de coliformes en el orden de  $1,3 \times 10^5$  NMP/100 mL. Por otro lado, Méndez *et al.* (2011) obtuvo altas remociones de hasta un 84,78 % de coliformes presentes en aguas cloacales, las que fueron sometidas a la acción de la microalga *Scenedesmus quadricauda* en un periodo de 12 días. En la presente investigación se logró una alta remoción significativa ( $p < 0,05$ ) de coliformes termotolerantes, presentando el valor máximo de remoción de 96,50 % en el tratamiento 4 (100 mL de cultivo inmovilizado + 350 mL de agua residual). Esta alta remoción de este contaminante puede justificarse principalmente por la alta biomasa algal, que actuaron como competidores de las coliformes fecales. Asimismo, Muñoz y Guieysse (2006), mencionan que esta alta remoción de enterobacterias en cultivos microalgales esta atribuida a la modificación de ciertas características del medio como resultado de su metabolismo y su actividad fotosintética, demostrando el potencial de la microalga *Chlorella* spp. en la remoción de coliformes fecales, sugiriendo su aplicación en el tratamiento de aguas residuales domésticas y una alternativa para el problema de contaminación fecal por vertimientos.

En el presente estudio el pH fue uno de los factores que mostraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los tratamientos, obteniendo valores de 7,67 a 6,75 asociados a una alta

remoción de coliformes fecales. Similar resultado fue reportado por Wahyuni (2015) quien determinó que un valor de 7,5 de pH impacta en la disminución de bacterias coliformes. Esta variación del pH del medio es consecuencia de la captación del CO<sub>2</sub> y otros compuestos por parte de la microalga que hacen que el pH tienda a la acidez; además, estas microalgas presentan un crecimiento significativo en rangos de pH de 7,0 a 9,0 tal como refieren Difusa *et al.* (2015). En comparación con los resultados obtenidos en esta investigación los valores están en el umbral de este rango y estarían determinados por las características propias del efluente. Así mismo, la variación del pH obtenida podría ser usada como metodología para eliminar bacterias coliformes en efluentes de plantas de tratamiento.

El presente estudio se observó un incremento significativo ( $p < 0,05$ ) en la remoción de la DBO conforme se incrementaba la biomasa de *Chlorella* spp. (T1=27,78 %, T2=55,56 %, T3=77,50 % y T4=77,50 %) en las aguas residuales. Estas eficiencias de reducción sustancial de DBO son muy parecidas a las reportadas por Das *et al.* (2017) para aguas residuales sometidas a la acción de *Chlorella* spp. al día 20 del tratamiento (93,40 %); así mismo, son mucho más altos que los informados por Nanda *et al.* (2010) para *Nostoc* spp., donde la DBO se redujo en un 57,5 % en un período de 28 días. Altos resultados de remoción de la DBO de aguas residuales fueron reportados por Choi y Lee (2012) usando la microalga *Chlorella vulgaris*, obteniendo valores con rangos de 80,41 a 82,3 % en tratamientos a diferente biomasa algal, sometidas a ocho días de exposición. Estos altos valores de remoción de la DBO están dados porque las microalgas Chlorofíceas son conocidos organismos autotróficos que tienen la capacidad de utilizar compuestos orgánicos como fuente de carbono, por lo que *Chlorella* pudo utilizar parte de la materia orgánica, presente en las aguas, llevando a una disminución significativa de la DBO, cumpliendo con los Límites Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales.

En la presente investigación la máxima capacidad de remoción de la DQO fue de 83,89 % para el tratamiento T1. Este resultado fue superior al reportado por Barrantes y Pittman (2018), quienes usaron la microalga *Botryococcus* sp. para la remoción de contaminantes de aguas residuales durante 15 días, logrando una eficiencia de remoción de 79,88 % de DQO. Altos valores de remoción han sido reportados por Li *et al.* (2011) y por López *et al.* (2016) en aguas residuales municipales usando las microalgas libres de *Chlorella* spp. y consorcios

algales respectivamente, obteniendo remociones de la DQO de un 90 % a los 14 días de exposición y 97,7 % a 18 días de exposición. Por otro lado, Ajayan *et al.* (2015) reportaron remociones de 40 % usando a la microalga *Scenedesmus* inmovilizadas durante 12 días, mientras que Rosales *et al.* (2018) lograron que la misma microalga lograra remociones de 98 % en periodos de exposición de 33 días. Por lo tanto, queda demostrado que las microalgas, en especial *Chlorella* spp., presenta un alto potencial para eliminar nutrientes de las aguas residuales expresados en la DQO.

Altas concentraciones de los sólidos suspendidos totales pueden ser perjudiciales para organismos vivos, por lo que es importante que el SST del efluente sea reducido a sus niveles de descarga seguros antes de que el efluente sea dejado en cuerpos de agua abiertos. Así, en la presente investigación se pudo obtener remociones significativas ( $p < 0,05$ ) de SST para T1 con 85,19 %. De igual manera Cartagena y Malo (2017) reportaron altas remociones de este parámetro (89,91 %) utilizando *Chlorella vulgaris* en concentraciones de  $2,9 \times 10^6$  cel/L por un periodo de 15 días. A su vez Das *et al.* (2017) reportaron remociones de SST al 51,37 % para *Chlorella* spp. en aguas residuales, por lo que esta disminución de los SST por *Chlorella* pone en evidencia la alta tolerancia de esta microalga a las aguas residuales y la capacidad de absorción de este contaminante logrando que *Chlorella* capte los sólidos suspendidos, teniendo en cuenta que estos sólidos podrían estar constituidos por material en suspensión orgánica e inorgánica, tal como refieren Cartagena y Malo (2017). Además, los resultados de este estudio permiten destacar la utilidad de estos organismos en el retiro de sólidos suspendidos presentes en estas aguas residuales.

#### **4.3. Variación de la biomasa de *Chlorella* spp. después de los tratamientos**

En la presente investigación se realizaron conteos de la densidad de la microalga después de los tratamientos, obteniendo como resultado un incremento de la biomasa de *Chlorella* spp. inmovilizada con alginato de sodio, registrándose para la semana 3 de evaluación un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de su población en todos los tratamientos (T1=0,15 %, T2=4,58 %, T3= 8,25 % y para T4=67,88 %), evidenciando que el crecimiento no fue inhibido o retardado por la matriz de alginato. Estos resultados son parecidos a los reportados por Ávila (2015), el cual reportó crecimiento en las poblaciones inmovilizadas de *Chlorella* sometidas a aguas residuales durante 10 días de exposición, mencionando que los reducidos

poros de la matriz de alginato permitieron el paso de pequeñas moléculas solubles logrando sostener su metabolismo y el crecimiento de estos organismos. Otro de los factores que pudieron contribuir sería las condiciones similares de este microambiente, generado por las esferas de alginato, con el medio externo; así mismo, estos resultados son reales y consistentes con la dinámica del crecimiento, en la que a mayor cantidad de nutrientes en el medio se obtiene mayor crecimiento. Indicar, además que las perlas de alginato pudieron dar una activa difusión de nutrientes, generando menor daño físico a las células. Por otro lado, el tamaño de las esferas de las esferas es un factor para considerar; por ejemplo, Zhang *et al.* (2008) lograron remociones significativas de contaminantes con superficies de rango de 2-3 mm usando microalgas, mientras en esta investigación el tamaño fue de 5,00 mm, cuyo espesor pudo haber permitido una mayor remoción de contaminantes. Por lo tanto, la microalga *Chlorella* usada en esta investigación pueden ser utilizada inmovilizada de manera eficiente para realizar un tratamiento de aguas residuales, sin afectar su capacidad de absorción y crecimiento.

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

1. La hipótesis planteada, que los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de los efluentes de la PTAR de Llamellin, antes de los tratamientos con la microalga *Chlorella* spp. inmovilizada en alginato, son superiores a los valores/concentraciones establecidas en los Límites Máximos Permisibles (LMP), fue parcialmente respaldada por los resultados obtenidos. El análisis físico-químico inicial de los efluentes mostró que los valores de tres parámetros (coliformes termotolerantes, pH y temperatura) de la PTAR Llamellin cumplieron con los Límites Máximos Permisibles (LMP) para aguas residuales. Sin embargo, el otro 50,00 % de los parámetros (DBO, DQO y SST) no cumplieron con la norma del LMP. Por lo tanto, se concluye que los efluentes de la PTAR Llamellin, que son vertidos para riego, deben tener restricciones en su uso debido a la presencia de estos parámetros que exceden los límites permitidos.
2. La hipótesis planteada, que los parámetros físico-químicos (DQO, DBO, Sólidos suspendidos totales) y microbiológicos (coliformes termotolerantes) del efluente de la PTAR de Llamellin sometida a la actividad remediadora de *Chlorella* spp., se reducen por encima del 70 % y resultan por debajo del LMP, fue respaldada por los resultados obtenidos. La aplicación de la microalga *Chlorella* spp. a los efluentes del PTAR logró remociones significativas en los parámetros: coliformes termotolerantes, la DQO, DBO y Sólidos suspendidos totales con valores máximos de 96,50; 83,89 %; 77,50 y 85,19 % respectivamente. Esto resultados permitieron que estas aguas cumplan con la norma para LMP para aguas residuales, sugiriendo el uso de esta microalga en el tratamiento de aguas residuales domésticas y una alternativa para el problema de contaminación fecal por vertimientos.
3. La hipótesis planteada, que la variación mayor de la biomasa de *Chlorella* spp. antes y después de los tratamientos se obtiene con el tratamiento 4 (100 mL de cultivo inmovilizado + 350 mL de agua residual), con un incremento algal superior al 60 % con respecto a la biomasa inicial, fue respaldada por los resultados obtenidos. La microalga

*Chlorella* inmovilizada en alginato logró un incremento de su biomasa en todos los tratamientos, siendo mayor en T4 con un aumento del 67,88 %. El alginato pudo facilitar una activa difusión de nutrientes, generando menor daño físico a las células, sin afectar su capacidad de absorción y crecimiento.

## CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

1. Realizar el análisis de otros parámetros químicos como nitrógeno total y fósforo, que permitiría realizar una mejor interpretación de los resultados de la investigación.
2. Aplicar en aguas residuales, a mayor escala, biomásas de *Chlorella* que contribuyan a verificar la eficiencia de remoción de contaminantes obtenida a nivel de laboratorio, sabiendo que la tecnología usada es de bajo costo y amigable con el ambiente.
3. Probar la eficiencia de remoción de contaminantes por *Chlorella* a temperatura semejante a la registrada en la localidad de Llamellin.

## REFERENCIAS

- Agencia de Cooperación Internacional del Japón. (2002). *El estudio sobre el mejoramiento del sistema de alcantarillado y el medio ambiente de la ciudad de Santiago en la República Dominicana*. Informe final. Volumen III. [https://openjicareport.jica.go.jp/pdf/11685211\\_09.PDF](https://openjicareport.jica.go.jp/pdf/11685211_09.PDF)
- Aguilar, J. (2020). *Tratamiento de aguas residuales con el uso de microalgas*. [Tesis de grado, Universidad Científica del Sur]. Repositorio Institucional Científica. <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/1417>
- Ajayan, K., Selvaraju, M., Unnikannan, P. y Sruthi, P. (2015). Phycoremediation of tannery wastewater using microalgae *Scenedesmus* species [Ficorremediación de aguas residuales de tenerías utilizando microalgas de la especie *Scenedesmus*]. *International Journal of Phytoremediation*, 17(10), 907–916. 10.1080/15226514.2014.989313
- Alejos, I. (2018). *Aislamiento y caracterización molecular de cepas de Escherichia coli y Salmonella spp. en 6 ambientes acuáticos de la bahía de Sechura, Piura*. [Tesis de maestría, Universidad Peruana Cayetano Heredia]. Repositorio Institucional UPCH. [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/3793/Aislamiento\\_AlejosTapia\\_Ines.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/3793/Aislamiento_AlejosTapia_Ines.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- American Public Health Association [APHA] (1992). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington, USA.
- Arocutipa, J. (2013). *Evaluación y propuesta técnica de una planta de tratamiento de aguas residuales en Massiapo del distrito de alto Inambari-Sandía*. [Tesis de grado, Universidad Nacional del Altiplano]. Repositorio Institucional Uchile. <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3275552>
- Aslan, S. y Kapdan, I. (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae [Cinética por lotes de eliminación de nitrógeno y fósforo de aguas residuales sintéticas por algas]. *Ecological Engineering*, 28(1), 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2006.04.003>
- Ávila, J. (2015). *Evaluación de la remoción de nitratos y fosfatos a nivel laboratorio por microalgas libres e inmovilizadas para el Tratamiento Terciario de Aguas Residuales Municipales*. [Tesis de grado, Universidad Ricardo Palma]. Repositorio Institucional URP. <https://repositorio.urp.edu.pe/handle/20.500.14138/899>

- Ávila, J., Laos, A. y Verano, R. (2018). Remoción de nitratos y fosfatos por cepas nativas de *Chlorella* sp. (Chlorellaceae) y *Chlamydomonas* sp. (Chlamydomonadaceae) libres e inmovilizadas en aguas residuales municipales. *ARNALDOA*, 25(2), 499-514. <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v25n2/a10v25n2>
- Baeza, E. (2018). *Técnicas y métodos de tratamiento para diferentes tipos de aguas residuales*. Congreso Nacional de Chile. Asesoría Técnica Parlamentaria. [https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/25552/2/Informe\\_Tratamiento\\_Aguas\\_Residuales.pdf](https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/25552/2/Informe_Tratamiento_Aguas_Residuales.pdf)
- Barrantes, E. y Pittman, R. (2018). *Efectos de la microalga Botryococcus sp. en la remoción de nitrato y fosfato en aguas residuales en la Empresa Municipal de agua y alcantarillado de Coronel Portillo-Ucayali, marzo 2018*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de Ucayali]. Repositorio Institucional UNU. <http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/3856/000003500T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Becker, E. (1994). *Microalgae, biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press.
- Beltrán, J., Guajardo, C., Barceló, I. y López, U. (2017). Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO<sub>2</sub>. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(3), 417-427. 10.4067/S0718-19572017000300001
- Borowitzka, M. (1998). Limits to growth, in wastewater treatment with algae [Límites al crecimiento, en depuración de aguas residuales con algas]. *Biotechnology Intelligence Unit*, 12, 203-226. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-10863-5\\_12](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-10863-5_12)
- Buades, J., Sanchís, P., Perelló, J. y Grases, F. (2017). Fosfatos de origen vegetal, fitato y calcificaciones patológicas en la enfermedad renal crónica. *Nefrología*, 37(1), 20-28. <https://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2016.07.001>
- Buxens, M. (2011). *Sustitución del gen nirA entre cianobacterias termofílicas. Clonación, expresión y purificación de la nitrito reductasa de Thermosynechococcus elongatus BP-1*. [Tesis de doctorado, Universidad del País Vasco]. Repositorio Institucional EHU. <https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/12221/BuxensAzcoaga.pdf?sequence=3>
- Camacho, A. y Ariosa, L. (2000). *Diccionario de términos ambientales*. Publicaciones Acuario.

- Campos, C. y Saconi, A. (2014). *Gestión del agua en América del Sur: el estado de los recursos hídricos en Argentina, Brasil y Colombia*. 1ra edición. Editorial Pontificia.
- Candela, R. (2016). *Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones. Una revisión bibliográfica*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente. Bucaramanga. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/12170/91541023.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Capa, W. (2022). *Mixotrofia fotosintética inducida en Dunaliella salina: rendimiento y rutas de biosíntesis de isoprenoides,  $\beta$ -caroteno y carotenogénesis*. [Tesis de doctorado, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada]. Repositorio Institucional CICESE. [https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3699/1/tesis\\_Willian%20Robert%20Capa%20Robles\\_09%20marzo%202022\\_BIB.pdf](https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3699/1/tesis_Willian%20Robert%20Capa%20Robles_09%20marzo%202022_BIB.pdf)
- Cárdenas, C. y Sánchez, O. (2013). Nitrógeno en aguas residuales: orígenes, efectos y mecanismos de remoción para preservar el ambiente y la salud pública. *Revista Universidad y Salud*, 15(1), 72-88. <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v15n1/v15n1a07>
- Cartagena, J. y Malo, B. (2017). *Evaluación del uso de la microalga Chlorella vulgaris en la remoción de materia orgánica de las aguas residuales de la PTAR el Salitre a nivel laboratorio* [Tesis de grado, Fundación Universidad de América. Colombia]. Repositorio Institucional FUA. <https://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/6035>
- Choi, H. y Lee, S. (2012). Effects of microalgae on the removal of nutrients from wastewater: various concentrations of *Chlorella vulgaris* [Efectos de las microalgas en la remoción de nutrientes de las aguas residuales: diversas concentraciones de *Chlorella vulgaris*]. *Environmental Engineering Research*, 17(1), 3-8. <https://www.eeer.org/upload/eeer-17-s1-3-2>
- Chuchón, S. y Aybar, C. (2008). Evaluación de la capacidad de remoción de bacterias coliformes fecales y demanda bioquímica de oxígeno de la planta de tratamiento de aguas residuales “La Totorá”. Ayacucho, Perú. *Ecología Aplicada*, 7(1-2), 165-171. <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v7n1-2/a20v7n1-2.pdf>
- Das, C., Ramaiah, N., Pereira, E. y Naseera, K. (2017): Efficient bioremediation of tannery wastewater by monostrains and consortium of marine *Chlorella* sp. and *Phormidium* sp. [Biorremediación eficiente de aguas residuales de curtiduría por monocepas y consorcio de *Chlorella* sp marina. y *Phormidio* sp.]. *International Journal of Phytoremediation*, 20 (3), 284-292. DOI: 10.1080/15226514.2017.1374338

- De la Noüe, J., Laliberté, G. y Proulx, D. (1992). Algae and waste water. *Journal of Applied Phycology*, 4, 247–254. <https://doi.org/10.1007/BF02161210>
- Decreto Supremo N°003-2010-MINAM. Aprueban los Límites Máximos Permisibles (LMP) para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales (2010, 17 de marzo). Diario Oficial El Peruano N° 415675. <https://sinia.minam.gob.pe/normas/limites-maximos-permisibles-lmp>
- Den, C., Mann, D. y Jahns, H. (1995) *Algae: An Introduction to Phycology*. Cambridge University Press. <https://books.google.com.pe/books?id=xuUoiFesSHMC&prints>
- Díaz, C., Alvarado, G. y Camacho, K. (2012). El tratamiento de agua residual doméstica para el desarrollo local sostenible: el caso de la técnica del sistema unitario de tratamiento de aguas, nutrientes y energía (SUTRANE) en San Miguel Almaya, México. *Quivera. Revista de Estudios Territoriales*, 14(1), 78-97. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=40123894005>
- Díaz, L. (2020). *Chlorella como endosimbionte, importancia, características y filogenia*. [Monografía de grado, Universidad de los Andes]. Repositorio Institucional Uniandes. <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/51238/23781.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Difusa, A., Talukdar, J., Kalita, M., Mohanty, K. y Goud, V. (2015). Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae *Scenedesmus* species [Efecto de la intensidad de la luz y la condición de pH sobre el crecimiento, la biomasa y el contenido de lípidos de la especie de microalgas *Scenedesmus*]. *Biofuels*, 6(1-2), 37–44. <https://doi.org/10.1080/17597269.2015.1045274>
- Feachem, R., Bradley, D., Garelick, H. y Mara, D. (1983). *Sanitation and disease. health aspects of waste water and excreta management [Saneamiento y enfermedad. aspectos sanitarios de la gestión de aguas residuales y excretas]*. John Wiley y Sons. <https://documents1.worldbank.org/curated/en/704041468740420118/>
- Fernandez, J. (2014). *Ingeniería de procesos aplicada a la biotecnología de microalgas. Nutrientes y medios de cultivo de microalgas*. <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-3-nutrientes.html>
- Fernández, J. y Curt, M. (2013). *Métodos Analíticos para aguas residuales*, <https://es.slideshare.net/LuisMachaca/mtodos-analticos-para-aguas-residuales>

- Fernández, Y. y Ruiz, C. (2020). Tratamiento de agua residual mediante aplicación de sulfato de aluminio y biopolímero natural de tamarindo (*Tamarindus indica*). *Revista de Investigación: Ciencia, Tecnología y Desarrollo*, 6(2), 28-34. <https://doi.org/10.17162/rictd.v6i2.1455>
- García, J. (2010). *Captura de CO<sub>2</sub> mediante algas unicelulares*. [Tesis de grado, Universidad Politécnica de Madrid]. Repositorio Institucional UPM. [https://ceigram.upm.es/wp-content/uploads/2020/07/2010\\_TFC\\_Garc%C3%ADa\\_MJ.pdf](https://ceigram.upm.es/wp-content/uploads/2020/07/2010_TFC_Garc%C3%ADa_MJ.pdf)
- García, Z. (2012). *Comparación y evaluación de tres plantas acuáticas para determinar la eficiencia de remoción de nutrientes en el tratamiento de aguas residuales domésticas*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de Ingeniería]. Repositorio Institucional UNI. <http://hdl.handle.net/20.500.14076/1292>
- Garzón, J., Rodríguez, M. y Hernández, G. (2017). Revisión del aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Revista Universidad y Salud*; 19(2), 309-318. <http://dx.doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Gómez, L., Ortega, Y. y Tormos, L. (2021). Efecto del pH sobre el crecimiento y viabilidad celular de una cepa local de *Chlorella vulgaris* Beijerinck. *Tecnología Química*, 41(2), 252-276. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-61852021000200252&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852021000200252&lng=es&tlng=es)
- González, A. (2016). *Producción de biogás a partir de Microalgas y Cianobacterias: Efecto de los pretratamientos térmico y alcalino*. Memoria. Universidad Politécnica de Catalunya. [https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/106149/Memoria%20TFM\\_Gonzalez\\_Calzada\\_Alejandro.pdf](https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/106149/Memoria%20TFM_Gonzalez_Calzada_Alejandro.pdf)
- Hernández, A. y Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157-173. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>
- Hernández, C., Rodríguez, M., Arvizu, H., Reyes, T., Murillo, A. y Muñoz, O. (2012). Avances tecnológicos en la producción de alginatos en México. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, 13(2), 155-168. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-77432012000](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-77432012000)
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la investigación* (6a. ed.). McGraw-Hill.

- Jiménez, B., Torres, L., Aldana, J. y Hurtado, C. (1995). *Adaptación de un empaque de origen volcánico para su empleo en el tratamiento de agua*. Instituto de Ingeniería, UNAM.
- Jimenez, M. y Castillo, A. (2021). Biomasa microalgal con alto potencial para la producción de biocombustibles. *Scientia Agropecuaria*, 12(2), 265-282. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.030>
- Ladino, G. (2010). Dinámica del Carbono en estanques de peces. *Orinoquia*, 15(1), 48-61. <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v15n1/v15n1a06.pdf>
- Lahera, R. (2010). Infraestructura sustentable: las plantas de tratamiento de aguas residuales. *Quivera. Revista de Estudios Territoriales*, 12(2), 58-69. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=40115676004>
- Larios, J., Gonzales, T. y Morales, Y. (2015). Las aguas residuales y sus consecuencias en el Perú. *Saber y Hacer*, 2(2), 9-5. <https://revistas.usil.edu.pe/index.php/syh/article/view/115>
- Larrea, J., Rojas, M., Romeu, B., Rojas, N. y Heydrich, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC*, 44 (3), 24-34. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181229302004.pdf>
- Li, Y., Chen, Y., Chen, P., Min, M., Zhou, W., Martínez, B., Zhu, J. y Ruan, R. (2011). Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production [Caracterización de una microalga *Chlorella* sp. bien adaptado a aguas residuales municipales altamente concentradas para la eliminación de nutrientes y la producción de biodiesel]. *Bioresour Technol*, 102(8), 5138-5144. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21353532/>
- Lizarazo, B. y Orjuela, M. (2013). *Sistemas de planta de tratamiento de aguas residuales en Colombia*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio Institucional UNAL. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/20486>
- López, C., Buitrón, G., García, H. y Cervantes, F. (2017). *Tratamiento biológico de aguas residuales: Principios, modelación y diseño*. Cambridge University Press. <https://library.oapen.org/bitstream/id/49b8f6c8-201c-44c4-8f05-964967e4ebf2/640701.pdf>

- López, I., Vásquez, J. y Álvarez, V. (2016). Remoción biológica de nutrientes en aguas residuales urbanas con fotobiorreactores utilizando microalgas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 17, 3569-3580. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263149506015>
- Markou, G. y Georgakakis, D. (2011). Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review [Cultivo de cianobacterias filamentosas (algas verdeazuladas) en desechos y aguas residuales agroindustriales: una revisión]. *Applied Energy*, 88(10), 3389-3401. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.042>
- Márquez, K., Vega, L. y Alvarez, L. (2021). Glosario de términos agronómicos. Biblioteca Nacional del Perú. <https://www.unheval.edu.pe/portal/wp-content/uploads/2021/03/Libro-GLOSARIO-DE-TERMINOS-AGRONOMICOS.pdf>
- Méndez, L., Albarracín, I., Cravero, M. y Salomón, R. (2011). Crecimiento de *Scenedesmus quadricauda* en efluentes cloacales de la ciudad de Trelew, Chubut, Argentina. *Revista cubana de investigaciones pesqueras*, 28(1), 36-41. <https://aquadocs.org/handle/1834/4630>
- Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento. (2013). *Protocolo de monitoreo de la calidad de los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas o municipales*. OMA. <https://www3.vivienda.gob.pe/direcciones/Documentos/>
- Morales, J. A. (2019). *Inmovilización de la microalga Chlorella peruviana para remover nitratos y fosfatos en aguas residuales del colector principal del AA.HH. San Gabriel – Comas 2019*. [Tesis de pregrado, Universidad Cesar Vallejo]. Archivo digital. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/78243>
- Mostert, E. y Grobbelaar, J. (1987). The influence of nitrogen and phosphorus on algal growth and quality in outdoor mass algal cultures [La influencia del nitrógeno y el fósforo en el crecimiento y la calidad de las algas en cultivos masivos de algas al aire libre]. *Biomass*, 13(4), 219-233. [https://doi.org/10.1016/0144-4565\(87\)90061-8](https://doi.org/10.1016/0144-4565(87)90061-8)
- Muñoz, C. A. (2008). *Caracterización y tratamiento de aguas residuales*. [Tesis de grado, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo]. Repositorio Institucional UAEH. <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/514/>
- Muñoz, R. y Guieysse, B. (2006). Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review [Procesos de algas y bacterias para el tratamiento de contaminantes peligrosos: una revisión]. *Water Research*, 40(15), 2799–2815. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.011>

- Nanda, S., Sarangi, P. y Abraham, J. (2010). Cyanobacterial remediation of industrial effluents I. Tannery effluents [Remediación por cianobacterias de efluentes industriales I. Efluentes de curtiduría]. *New York Science J*, 3(12), 32-36. [https://www.researchgate.net/publication/265920759\\_Cyanobacterial\\_remediation\\_of\\_industrial\\_effluents\\_I\\_Tannery\\_effluents](https://www.researchgate.net/publication/265920759_Cyanobacterial_remediation_of_industrial_effluents_I_Tannery_effluents)
- Narváez, S., Gómez, M. y Acosta, J. (2008). Coliformes termotolerantes en aguas de las poblaciones costeras y palafíticas de la Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 115-121. <https://www.redalyc.org/pdf/3190/319028004009>
- Natividad, L. A. (2022). *Remoción Bacteriana de aguas residuales domiciliarias con Microalgas Chlorella sp. en el Distrito de Oxapampa-Pasco*. [Tesis de posgrado, Universidad Nacional del Centro del Perú]. Archivo digital. <http://hdl.handle.net/20.500.12894/8341>
- Ñaupari, J. y Rojas, I. (2017). *Remoción de nitrógeno total empleando la microalga Chlamydomona reinhardtii en el efluente de un camal avícola*. [Tesis de pregrado, Universidad del Centro del Perú]. Archivo digital. <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/2401548>
- Oliver, R.L., Ganf, G.G. (2000). Freshwater Blooms. Whitton, B.A., Potts, M. (eds) *The Ecology of Cyanobacteria*. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/0-306-46855-7\\_6](https://doi.org/10.1007/0-306-46855-7_6)
- Ome, Ó. y Zafra, C. (2018). Factores clave en procesos de biorremediación para la depuración de aguas residuales. Una revisión. *Revista de Ciencias Aplicadas y Ambientales*, 21(2), 573-585. <https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n2.2018.1037>
- Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental. (2014). *Fiscalización Ambiental en aguas residuales*. Gobierno Regional de Lambayeque. <http://siar.minam.gob.pe/lambayeque/tematica/vertimiento-agua-residual>
- Organismo Mundial de la Salud. (2017). *Agua para consumo humano: Datos y cifras*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y Cultura. (2017). *Informe Mundial sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas 2017: Las aguas residuales: el recurso desaprovechado, resumen ejecutivo*. Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos. [https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247552\\_spa](https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247552_spa)

- Oscanoa, A., Cervantes, M., Flores, L. y Ruiz, A. (2021). Evaluación del potencial de *Desmodesmus asymmetricus* y *Chlorella vulgaris* para la remoción de nitratos y fosfatos de aguas residuales. *Revista Peruana de Biología*, 28(1), 1-12. <https://dx.doi.org/10.15381/rpb.v28i1.18082>
- Oswald, W. J. (1988). Micro-algae and waste-water treatment, in *Micro-algal biotechnology* [Tratamiento de microalgas y aguas residuales, en biotecnología de microalgas]. *Cambridge University press*, 5, 305–328. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1583387448948115968>
- Paredes, M. C. 2013. *Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas* [Tesis de grado, Universidad Católica Argentina]. Repositorio Institucional UCA. <https://repositorio.uca.edu.ar/bitstream/123456789/393/1/doc.pdf>
- Pérez, F., Armenteros, T., y Hernández, J. (2016). Sistema de tratamiento para las aguas residuales en la Empresa de Aprovechamiento Hidráulico Villa Clara. *Centro Azúcar*, 43(2), 68-75. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2223-48612016000200007&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612016000200007&lng=es&tlng=es).
- Pérez, F. y Camacho K. (2011). *Tecnologías para el tratamiento de aguas servidas*. [Tesis de grado, Universidad Veracruzana]. Archivo digital. <https://es.scribd.com/document/151816818/Perez-Alarcon->
- Pineda, L. (2017). *Diagnóstico de la planta de tratamiento de agua residual (PTAR) de Tunja - Boyacá*. [Tesis de grado, Universidad Católica de Colombia]. Repositorio Institucional RIUCaC. <https://repository.ucatolica.edu.co/entities/publication/f24a7c8a-8fc8-421e-8f8d-e89f076cf67e>
- Puente, E. (2021). *Efecto de diferentes densidades de cultivo en el crecimiento y comportamiento de juveniles de lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) bajo condiciones de laboratorio*. [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio Institucional IMARPE. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/bitstream/20.500.12958/4867/1/puente-aquije-engler.pdf>
- Raffo, E. y Ruiz, E. (2014). Caracterización de las aguas residuales y la demanda bioquímica de oxígeno. *Industrial data*, 17(1), 71-80. <https://www.redalyc.org/pdf/816/81640855010>
- Rivera, O., Rivera, L., Andrade, L., Rodríguez, H., Garza, R. y Castro, M. (2018). Bioestimulación y biorremediación de recortes de perforación contaminados con

hidrocarburos. *Revista Internacional Contaminación Ambiental*, 34 (2), 249-262.  
<https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.02.06>

Rodríguez, M. y Flórez, V. (2004). *Elementos esenciales y beneficiosos*. Repositorio Institucional de la Universidad de Almería.  
<https://core.ac.uk/download/pdf/143458034.pdf>

Rosales, A., Rodríguez, C. y Ballen, M. (2018). Remoción de contaminantes y crecimiento de alga *Scenedesmus* sp. en aguas residuales de curtiembres, comparación entre células libres e inmovilizadas. *Ingeniería y Ciencia*, 14(28), 11 - 34.  
<https://doi.org/10.17230/ingciencia.14.28.1>

Ruiz, A. (2011). *Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente*. [Tesis de maestría, Universidad Politécnica de Valencia]. Repositorio Institucional UPV.  
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12831/Ruiz%20Martinez%20Ana%20-%20Tesina%20Fin%20Master%20-%202011.pdf?sequence=1>

Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. y Vaca, G. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review [Morfología, composición, producción, procesamiento y aplicaciones de *Chlorella vulgaris*: una revisión]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35(1), 265-278.  
<https://hal.science/hal-02064882>

Solomon E., Berg L. y Martin D. (1999). *Biology*. Saunders College Publishing.

Steller, D., Hernández, J., Riosmena, R. y Cabello, A. (2007). Efecto de la temperatura sobre las tasas de fotosíntesis, crecimiento y calcificación del alga coralina de vida libre *Lithophyllum margaritae*. *Ciencias marinas*, 33(4), 441-456.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-38802007000400009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802007000400009&lng=es&tlng=es).

Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento. (2018). *Diagnóstico de las plantas de tratamientos de aguas residuales en el ámbito de operación de las entidades prestadoras de servicio de saneamiento*. Cooperación alemana y SUNASS.

Tante, J. (2018). *Evaluación de la capacidad depuradora de Chlorella vulgaris Beyerinck inmovilizada en alginato para el tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Huaura-Lima*. [Tesis de pregrado, Universidad Católica Sedes Sapientiae]. Archivo digital. <https://hdl.handle.net/20.500.14095/552>

- Torres, D. (2003). El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. *Ecosistemas*, 12(2), 1-5. <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/350>
- Troconis, A. (2010). *Tratamiento de aguas residuales*. Ed. Belzona Inc. <https://www.belzona.com/es/solution>
- Vacca, V., Angulo, E., Puentes, D., Torres, J. y Plaza, M. (2017). Uso de la microalga *Chlorella* sp. Viva en suspensión en la decoloración del agua residual de una empresa textil. *Prospect*, 15(1), 93-99. <http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692>
- Valenzuela, E., Lafarga, F., Millán, R. y Núñez, F. (2005). Crecimiento, consumo de nutrientes y composición proximal de *Rhodomonas* sp. cultivada con medio f/2 y fertilizantes agrícolas. *Ciencias marinas*, 31(1a), 79-89. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-38802005000100007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802005000100007&lng=es&tlng=es)
- Valera, J. (2018). *Estudio de viabilidad técnico – económica de una planta de producción de microalgas con fines de valoración energética*. [Tesis de grado, Universidad Politécnica de Madrid]. Repositorio Institucional UPM. [https://oa.upm.es/49715/1/TFG\\_JAIME\\_VALERA\\_CALLEJO.pdf](https://oa.upm.es/49715/1/TFG_JAIME_VALERA_CALLEJO.pdf)
- Wahyuni, A. (2015). The influence of ph characteristics on the occurrence of coliform bacteria in Madura Strait [La influencia de las características del ph en la ocurrencia de bacterias coliformes en el estrecho de Madura]. *Procedia Environmental Sciences*, 23, 130 - 135. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.01.020>
- Windevoxhel, R., Sanchez, N. y Bastardo, H. (2011). Bioaumentación y sustancias húmicas en la biodegradación de hidrocarburos del petróleo. *Ingeniería*, 18(1), 23-27. <https://www.redalyc.org/pdf/707/70723245004>
- Yepes, A. y Silveira, M. (2011). Respuestas de las plantas ante los factores ambientales del cambio climático global (revisión). *Colombia Forestal*, 14(2), 213-232. <https://www.redalyc.org/pdf/4239/423939616005.pdf>
- Zhang, E., Wang, B., Wang, Q., Zhang, S. y Zhao, B. (2008). Ammonia-nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Scenedesmus* sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment [Eliminación de nitrógeno amoniacal y ortofosfato mediante inmovilización de *Scenedesmus* sp. aislado de aguas residuales municipales para su uso potencial en el tratamiento terciario]. *Bioresource Technology*, 99(9), 3787-3793. DOI: [10.1016/j.biortech.2007.07.011](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.011)

## TERMINOLOGÍA

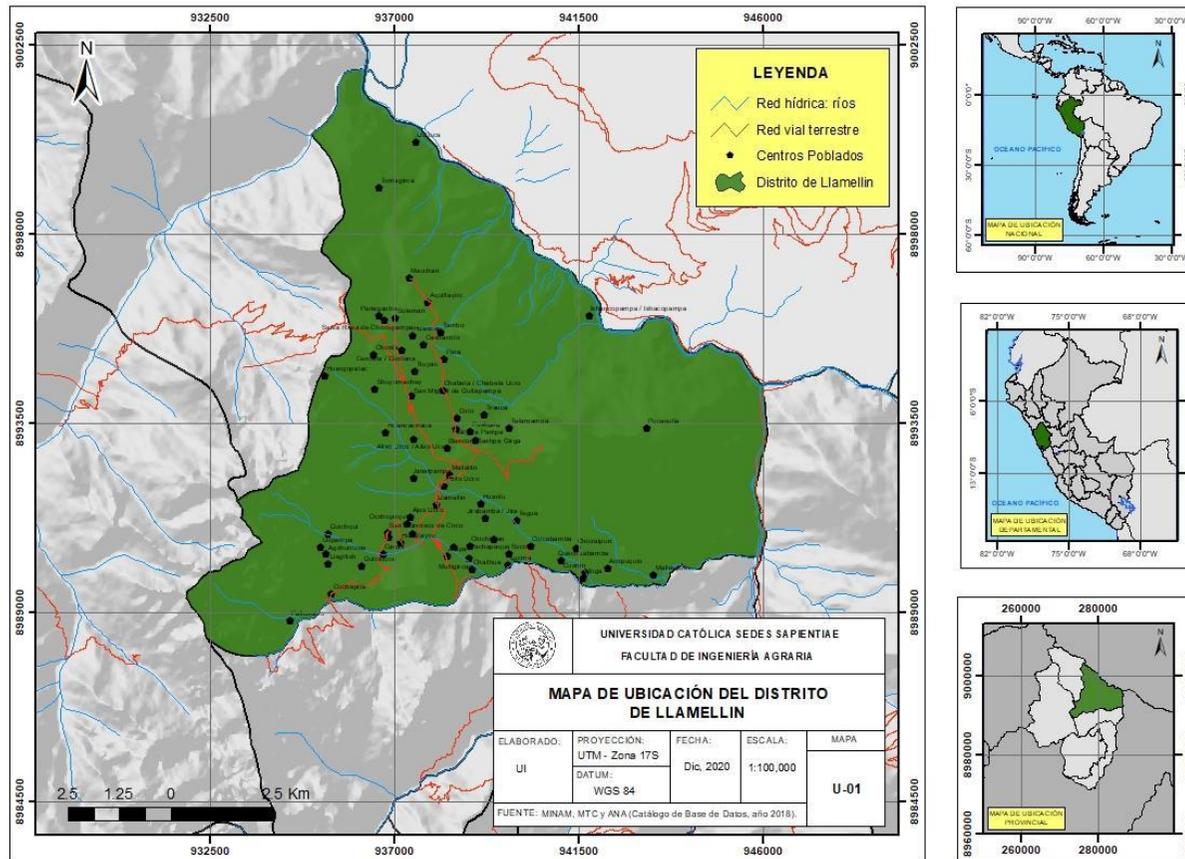
- **Agua destilada.** Agua obtenida por destilación es decir por condensación de vapor de agua obtenido por la ebullición o evaporación (Márquez *et al.*, 2021).
- **Alginato.** Son polisacáridos que se obtienen de las algas cafés, con capacidad de formar geles y soluciones viscosas, para luego precipitar con una solución de  $\text{CaCl}_2$  y adquirir fibras insolubles que posteriormente se tratan con HCL produciendo el ácido algínico y finalmente se neutralizan con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  para obtener el alginato de sodio (Hernández *et al.*, 2012).
- **Bioacumulación.** Proceso por el cual se acumula sustancias químicas en el cuerpo de un organismo, alcanzando niveles considerablemente más altos que los presentes en el medio (Camacho y Ariosa, 2000).
- **Bioensayo:** Es un método en el cual se potencia (mediante reacción aplicativa) a una sustancia para estimar el efecto observado en un ser biótico (López *et al.*, 2016).
- **Biomasa.** Es el peso vivo o el peso total de la materia viva en una superficie o área determinada, se expresa en unidades de peso/superficie (Camacho y Ariosa, 2000).
- **Biotecnología.** Uso, manipulación de organismos vivos para los diferentes actividades sociales, ambientales y económicas (Camacho y Ariosa, 2000).
- **Eutrofización.** Proceso por el cual la vegetación acuática o de ribera se desarrolla excesivamente al contener el agua grandes cantidades de nitrógeno y fósforo, principalmente (Márquez *et al.*, 2021).
- **Fotoinhibición:** Es la inhibición de la fotosíntesis generada a partir de un alto grado de radiación, aumentando con ello los niveles de estrés de la planta y afectando tanto su correcto desarrollo como su producción (Camacho y Ariosa, 2000).

- **Fotoperiodo.** Duración relativa de los períodos de luz y oscuridad a que está sometido un organismo (López *et al.*, 2016).
- **Intensidad.** Grado de energía de un agente. [-] de aplicación, [-] de infiltración (Márquez *et al.*, 2021).
- **Materia en suspensión.** Toda materia particulada que queda en la atmósfera o en una corriente de agua o de gas en chimeneas durante largos períodos debido a que el tamaño de las partículas es demasiado pequeño para tener una velocidad de caída apreciable (Camacho y Ariosa, 2000).
- **Metabolismo.** Cambios químicos que se efectúan dentro de los organismos; incluyendo la síntesis de los materiales biológicos y la transformación de sustancias para producir energía (Camacho y Ariosa, 2000).
- **Nitrificación:** Es la oxidación del amonio (de forma biológica), la cual puede verse favorecida por el O<sub>2</sub> y la alcalinidad del pH hasta convertirse en nitritos y posteriormente a nitratos. Dicha oxidación se subdivide en nitratación y nitritación (García, 2012).

# APÉNDICES

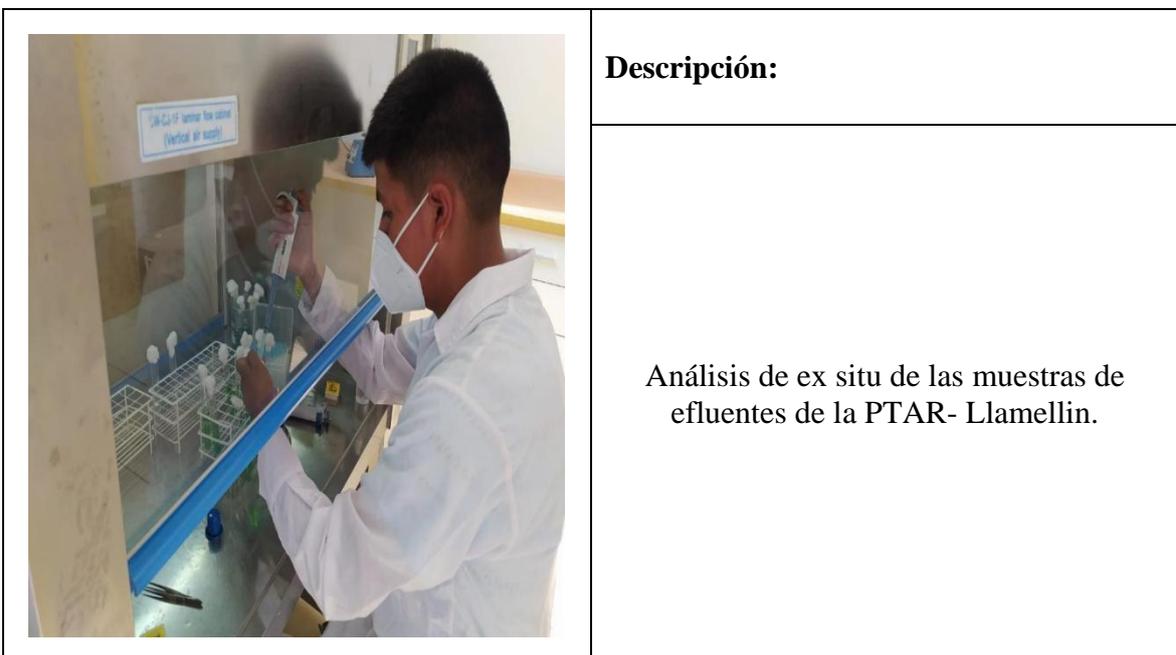
## Apéndice 1

### Mapa de ubicación del distrito de Llamellin



## Apéndice 2

### Dossier fotográfico





**Descripción:** Materiales usados en la inmovilización de *Chlorella* spp. (Superior: microalga, Inferior: Alginato y Cloruro de calcio).



**Descripción:**

Análisis de ex situ de las muestras de efluentes de la PTAR- Llamellin.