

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA  
VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN



**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y  
FORESTAL**

Eficiencia del uso de microalgas del río Torococha en la remoción  
de nitratos y fosfatos para el tratamiento terciario de aguas  
residuales en un fotobiorreactor a escala laboratorio, Juliaca

Investigación Experimental

Gestión, calidad y tratamiento de los recursos hídricos en la región Puno

**INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN**

Juliaca, Perú

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA**  
**VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN**

**COMISIÓN ORGANIZADORA**

Dr. Freddy Martin Marrero Saucedo  
**Presidente de Comisión Organizadora**

Dr. Percy Francisco Gutiérrez Salas  
**Vicepresidente Académico**

Dr. Domingo Jesús Cabel Moscoso  
**Vicepresidente de Investigación**

**DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN**

Dra. Ingrid Rossana Rodríguez Chokewanca

**ASESOR**

M.Sc. Edwin Huayhua Huamani

**EQUIPO DE INVESTIGACIÓN**

**Investigador principal**

Ricardo Chambi Apaza

**Co investigadores**

Fiorela Esmeralda Quispe Flores

Edwin Mamani Coyla

Reyna Gaby Quispe Acra

**Asistentes de investigación**

Winsthon Fredy Ramos Rojas

Norma Ganny Machaca Hanco

## **DEDICATORIA**

Los resultados de este trabajo de investigación están dirigido a todas las personas que continuamente están en la búsqueda de nuevos conocimientos, a toda la familia UNAJ encabezado por las autoridades de la Comisión Organizadora, docentes y administrativos y, en especial nuestros padres quienes han visto de muy cerca cada paso de nuestro porvenir y por su apoyo muy incondicional en el día a día de nuestro vivir.

A todas aquellas personas que de alguna forma son parte de la culminación de este trabajo de investigación.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos de manera muy especial a las autoridades de la Comisión Organizadora de la UNAJ, de manera muy especial al M.Sc. Gustavo Luis Vilca Colquehuanca por su comprensión, por su apoyo, paciencia y confianza en este grupo. Agradecemos también a los docentes quienes nos compartieron sus conocimientos, su paciencia y enseñanza, de la misma forma al responsable del laboratorio de Biología por facilitarnos los equipos de laboratorio y, finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa universidad que abre sus puertas a jóvenes como nosotros, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN .....	11
Antecedentes.....	12
Planteamiento del problema .....	13
Objetivos de la investigación científica.....	18
Objetivo general .....	18
Objetivos específicos .....	18
Preguntas de investigación.....	19
Justificación .....	19
Contexto de la investigación .....	20
Hipótesis y limitaciones.....	20
CAPÍTULO I.....	21
MARCO TEÓRICO .....	21
1.1. Tipos de biomasa para tratamiento de aguas.....	21
1.1.1. Bacterias.....	21
1.1.2. Algas.....	21
1.2. Microalgas.....	22
1.2.1. Características de la microalga .....	23
1.2.2. Propiedades físico químicas de microalgas.....	24
1.3. Parámetros de cultivo.....	25
1.3.1. Temperatura .....	25
1.3.2. Luz.....	26
1.3.3. Fotosíntesis en algas .....	26
1.3.4. pH.....	27
1.3.5. Oxígeno .....	27
1.4. Microalgas para tratamiento de aguas residuales.....	27
1.5. Producción industrial de microalgas .....	28
1.6. Procesos de tratamiento de aguas residuales .....	29
1.6.1. Tecnología convencional de tratamiento de aguas residuales.....	29
1.6.2. Tratamiento preliminar de aguas residuales.....	30
1.6.3. Tratamiento primario de aguas residuales .....	30
1.6.4. Tratamiento secundario de aguas residuales .....	30
1.6.5. Tratamiento terciario de aguas residuales.....	31
1.7. Desinfección de aguas residuales .....	31
1.7.1. Reducción de la demanda química y bioquímica de oxígeno .....	33
1.7.2. Eliminación de nitrógeno y fósforo .....	33

1.8. Factores que afectan el crecimiento de algas y la eliminación de nutrientes .....	35
1.9. Sistemas alternativos de cultivo de microalgas .....	35
1.9.1. Fotobiorreactores .....	35
1.9.2. Balsas .....	35
1.9.3. Reactores .....	36
1.10. Separación y secado .....	39
CAPÍTULO II.....	41
METODOLOGÍA .....	41
2.1. Lugar de ejecución .....	41
2.2. Materiales.....	41
2.2.1. Equipos y/o instrumentos.....	41
2.2.2. Materiales de vidrio y/o plástico.....	42
2.2.3. Reactivos.....	43
2.2.4. Material biológico.....	41
2.3. Métodos .....	43
2.3.1. Toma de muestras de aguas residuales.....	43
2.3.2. Aislamiento de <i>Chlorella sp</i> de muestras de agua provenientes de efluentes de aguas residuales (río Torococha y laguna de oxidación). .....	44
2.3.3. Cultivo de microalga ( <i>Chlorella sp.</i> ) en laboratorio .....	44
2.3.4. Determinación de la microalga <i>Chlorrella sp.</i> .....	44
2.3.5. Evaluación del crecimiento <i>Chlorella sp</i> en diferentes fotobiorreactores. .....	45
2.3.6. Diseño y construcción de fotobiorreactor de sistema abierto.....	45
2.3.7. Suministro de energía artificial .....	46
2.3.8. Ensayo del oxígeno disuelto mediante método Winckler.....	46
2.3.9. Ensayo de la demanda bioquímica de oxígeno. ....	47
2.3.10. Determinacion de los nitratos y fosfatos .....	48
CAPITULO III.....	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	49
3.1. Resultados .....	49
3.2. Discusiones.....	55
3.2.1. Evaluación de crecimiento de <i>Chlorella Sp</i> en diferentes Fotobiorreactores.....	55
3.2.2. Variaciones diurnas externas .....	55
3.2.3. Oxígeno .....	55
3.2.4. Rendimiento del fotobiorreactor con microalgas.....	57
3.2.4. Evaluación de remoción de NO <sub>3</sub> y PO <sub>4</sub> en los fotobiorreactores.....	57

3.2.6. Condiciones para crecimiento de biopelículas de microalga <i>Chlorella Sp.</i> .....	58
CONCLUSIONES .....	59
RECOMENDACIONES.....	60
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
ANEXOS .....	66
ANEXO 1 : Registros de parámetros.....	66
ANEXO 2: Resultados de los análisis de las muestras en laboratorio .....	69
ANEXO 3: Calculo del oxígeno disuelto en los fotobiorreactores.....	75
ANEXO 4: Cálculo de parámetros de remoción de $NO_3^-$ y $PO_4^{-3}$ .....	76
ANEXO 5: Cálculo de iluminación .....	84
ANEXO 6: Dimensiones de cada fotobiorreactor.....	85
ANEXO 7: Galería de fotos .....	86
ANEXO 8: Guía para calculo de oxígeno disuelto .....	92
ANEXO 9: Guía para el ensayo de $DBO_5$ .....	97

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Algas microscópicas.....	23
Figura 2. Microalgas observado en microscopio: a) Chlorella sp , b) Chlorella pyrenoidosa.....	24
Figura 3. Diagrama esquemático de la fotosíntesis. ....	26
Figura 4. Estanques abiertos para cultivo de microalga .....	37
Figura 5. Estanque vertical para cultivo de microalga.....	38
Figura 6. Estanques abiertos para cultivo de microalga. ....	39
Figura 7. Comparación de reducción de DBO <sub>5</sub> con respecto a los ECAs y LMPs.....	49
Figura 8. Comparación de reducción de DQO con los LMPs para las lagunas de oxidación y ECAs en el río Torococha.....	50
Figura 9. Aumento de oxígeno disuelto en fotobiorreactores respecto a los ECAs. ....	50
Figura 10. Registro de pH en cada fotobiorreactor respecto a los LMPs y ECAs. ....	51
Figura 11. Comparación de reducción de nitratos respecto a los ECAs. ....	51
Figura 12. Comparación de reducción de fosfatos respecto a los ECAs.....	52
Figura 13. Escala de conductividad eléctrica de cada fotobiorreactor. ....	52
Figura 14. Resultados de los análisis FBRT1. ....	69
Figura 15. Resultados de los análisis FBRT2. ....	70
Figura 16. Resultados de los análisis FBRT3. ....	71
Figura 17. Resultados de los análisis FBRL1. ....	72
Figura 18. Resultados de los análisis FBRL2. ....	73
Figura 19. Resultados de los análisis FBRL3. ....	74
Figura 20. Diagrama general de la estructura del fotobiorreactor. ....	84
Figura 21. Fotobiorreactor en óptimas condiciones para el cultivo de microalgas .....	86
Figura 22. Instalaciones del soporte de los focos. ....	86
Figura 23. Observación de las microalgas en microscopio. ....	87
Figura 24. Fotobiorreactor en operación.....	87
Figura 25. Muestreo de aguas en lagunas de oxidación.....	88
Figura 26. Muestra de aguas del río Torococha. ....	88
Figura 27. Seguimiento del crecimiento de las microalgas. ....	89
Figura 28. Adecuación de los focos para cada fotobiorreactor .....	89
Figura 29. Microalga proveniente del río Torococha.....	90
Figura 30. Microalga proveniente de lagunas de oxidación. ....	90
Figura 31. Biopelículas observadas en Fotobiorreactor FBRT 1.....	91
Figura 32. Ubicación de los puntos de muestreo. ....	91
Figura 33. Botellas Winckler tapadas para evaluar OD. ....	94



Figura 34. Cambio de coloración después de álcali-yoduro.....	94
Figura 35. Proceso de fijación del oxígeno disuelto.....	95
Figura 36. Reactivos utilizados para la evaluación de OD.....	95
Figura 37. Cambios de cloración en el proceso de evaluación de OD.....	96
Figura 38. Inoculación de las microalgas.....	96

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de condiciones iniciales (Torococha y lagunas de oxidación) y finales (Fotobiorreactores).....	53
Tabla 2. Porcentaje y tasa de remoción de $\text{NO}_3$ y $\text{PO}_4$ en los fotobiorreactores.....	54
Tabla 3. Datos registrados durante el ensayo en muestras de agua de las lagunas de oxidación. ....	66
Tabla 4. Registro de pH .....	66
Tabla 5. Parámetros medidos de agua residual. ....	67
Tabla 6. Definición de variables.....	67
Tabla 7. Ubicación de los puntos de muestreo .....	67
Tabla 8. Dimensiones de cada fotobiorreactor .....	68



## RESUMEN

Este estudio reporta una comprensión sobre las microalgas, en el tratamiento de las aguas residuales de la ciudad de Juliaca; para la reducción de  $\text{NO}_3$  y  $\text{PO}_4$  principalmente, para ello se construye los fotobiorreactores ,luego el muestreo de las aguas del rio Torococha y de las lagunas de oxidación, seguidamente se aisló e inoculó *Chlorella Sp* para ser cultivada en 6 reactores , iluminados durante 18 hora/día, usando 6 lámparas leds en cada fotobiorreactor , el experimento se hizo durante 12 días, para la evaluación de OD se hizo por el método winckler, se usó PCD650 en caso del pH y temperatura; la determinación de  $\text{NO}_3$  y  $\text{PO}_4$  después del tratamiento experimental son analizados por métodos HACH 8048 y HACH 8039 respectivamente, la DQO por el método APHA-AWWA-WEF 5220 y 2510-B para la conductividad; de los resultados obtenidos se estima que muchos de los parámetros evaluados in situ mejoran su calidad, a partir de los 5 días los nitratos y fosfatos empiezan a disminuir notablemente, ya a los 12 días la microalgas empiezan a fallecer por falta de nutrientes. La eficiencia de las microalgas en la remoción de nitratos es en promedio 93% en todos los fotobiorreactores, con respecto a los fosfatos en FBRT1 logra reducir en un 85%, pero en los demás fotobiorreactores la remoción es menor a los 30% por lo tanto la disminución de  $\text{NO}_3$  y  $\text{PO}_4$  en fotobiorreactores a escala laboratorio resultan ser eficientes con respecto a los nitratos, mientras que los fosfatos están más bajos en porcentaje de remoción.

Palabras Clave: *Fotobiorreactores, microalgas, nitratos, fosfatos, aguas residuales.*

## INTRODUCCIÓN

Las fuentes de agua son indispensables para la vida, no existe otra sustancia que pueda sustituir al agua y su disponibilidad influye en la distribución de la mayor biomasa de la tierra y en la existencia misma de los seres vivos. En regiones con grandes problemas de saneamiento y de escasos recursos, se requiere plantas sostenibles de tratamiento de aguas residuales domésticas y sostenibles; el mal manejo aguas residuales provocan el acelerado proceso de eutrofización (Hernández-Pérez & Labbé, 2014; WWAP, 2017b) la aplicación de sistemas de tratamiento de aguas residuales usando microalgas ha sido investigado por su capacidad de remover materia orgánica en cuerpos de agua (Hom-Díaz *et al.*, 2017). Los Fotobiorreactores están diseñados para producir microorganismos fotosintéticos acuáticos en colaboración con requerimientos óptimos de luz, pH, oxígeno, mezclado transferencia de momento masa y calor (Pulz, 2001).

Las microalgas representan una alternativa para el tratamiento de aguas residuales por su capacidad de remoción de nutrientes y alto valor comercial de la biomasa producida (Abdel-Raouf, Al-Homaidan, & Ibraheem, 2012), son un grupo de microorganismos fotosintéticos, obtienen la energía de la luz proveniente del sol y se desarrollan a partir de materia inorgánica, en general son organismos fotoautótrofos que permiten el rápido crecimiento celular por lo tanto una mayor producción de biomasa (Abdel-Raouf *et al.*, 2012); estos microorganismos tienen la capacidad de remover cantidades significativas de nitratos, fosfatos y materia orgánica (Delgadillo-López, González-Ramírez, Prieto-García, & Villagómez-Ibarra, 2011; Delgadillo-Mirquez, Lopes, Taidi, & Pareau, 2016), los cuales se encuentran entre los contaminantes peligrosos ya que constituyen una preocupación para el bienestar de los ecosistemas acuáticos; El Fosfato ( $PO_4$ ) y Nitrato ( $NO_3$ ) son elementos muy comunes en las aguas residuales y suelos altamente fertilizados, son movilizado al medio ambiente a través de una combinación de procesos que incluyen tanto procesos naturales (actividad biológica, emisiones volcánicas), así como procesos antropogénicos como la actividad industrial, uso de fertilizantes, pesticidas, herbicidas, desecantes. (Mohd Udaiyappan, Abu Hasan, Takriff, & Sheikh Abdullah, 2017)

Nuestro objetivo primordial con la investigación es demostrar la eficiencia de las microalgas del río Torocoha, también como una alternativa para su aplicación en sistemas de tratamiento como las lagunas de oxidación.

## **Antecedentes**

Según (Abdel-Raouf *et al.*, 2012) en su publicación refiere a las microalgas como un conjunto de microorganismos autótrofos que poseen una alta tasa de conversión de energía solar a biomasa, así como su uso eficiente de nutrientes inorgánicos, lo que les permite aumentar sus poblaciones rápidamente, a la par que oxigenan el medio en donde se desarrollan y capturan el CO<sub>2</sub> atmosférico; en tanto para (Hoffmann, 1998) es la capacidad de las algas de adsorber nitrógeno y fósforo del agua, las convierte sin embargo en una posibilidad real para la eliminación de nutrientes del agua residual. De hecho, se ha demostrado que en la eliminación del fósforo pueden ser tan eficientes como el tratamiento químico convencional.

Consultando estudios más anteriores, encontramos una publicación de (Fogg, 1983), el que nos indica el uso de microalgas para el tratamiento de aguas residuales data de finales de los años 50 para el tratamiento de desechos orgánicos. Su velocidad de crecimiento es tal, que permiten obtener cosechas repetitivas a intervalos muy cortos, estas características hacen de estos microorganismos los ideales para una producción de biomasa a corto plazo.

Debido a lo antes mencionado, las microalgas pueden representar una alternativa interesante como materia prima frente a otro tipo de plantas. Sin embargo, no fue hasta los años 70 que dicha idea se extendió por diferentes países de Asia y en Estados Unidos de América (Gómez Luna, 2007). Las microalgas poseen una capacidad Fitorremediadora que consiste en la eliminación o biotransformación de contaminantes de un medio líquido o gaseoso. (Hernández-Pérez & Labbé, 2014).

Para los autores (Gómez, 2007; Hernández-Pérez & Labbé, 2014), esta capacidad resulta en un sistema de cultivo con 2 propósitos: eliminación de contaminantes y producción de biomasa con fines comerciales. Ambos objetivos dependen del sistema de cultivo, la o las especies cultivadas y los factores ambientales. La utilización de medios contaminados en el cultivo impacta directamente en los costos de producción. La elección del tipo de sistema de cultivo es importante, y debe realizarse en base a factores biológicos, técnicos, ambientales y económicos, definidos previamente.

En las décadas de 1980 y 1990 se desarrolló el cultivo en fotobiorreactores de capa fina en Cuba, con la cooperación de la Academia de Ciencia Checa, este sistema permite alcanzar concentraciones de algas-bacterias diez veces superiores a las obtenidas en las lagunas de velocidad de alto crecimiento, lo que facilita la separación de los microorganismos y reduce el tiempo de residencia del sustrato orgánico a un día, (De la Noüe, Laliberté, & Proulx, 1992; Hoffmann, 1998).

En años recientes los autores (Bermeo, 2011; Orduz, 2016), nos brindan sistemas de cultivo para el desarrollo de las microalgas; así un fotobiorreactor es un término que se ha usado para canales y lagunas cerradas, con el fin de producir biomasa; sin embargo, el concepto se ha reservado para dispositivos que permitan cultivos mono-específicos, con el completo aislamiento de contaminación ambiental estos nuevos sistemas de cultivo se basan en los fundamentos que brinda (Hoffmann, 1998); donde existía dos diseños básicos para la producción de microorganismos fotoautotróficos, los sistemas abiertos en los que el cultivo está expuesto a la atmósfera y los sistemas cerrados, comúnmente denominados fotobiorreactores, en los que el cultivo tiene poco o ningún contacto con la atmósfera y a su vez generan biomasa con potencial diverso.

La mayoría de los sistemas construidos antes de los años 90 fueron esencialmente sistemas abiertos tipo carrusel, que permiten alcanzar densidades celulares de hasta 0,7 g de células por litro. Estos sistemas, constituidos por canales poco profundos (nivel de agua de 15 - 20 cm) en forma de circuito cerrado, en los que el medio de cultivo es impulsado mediante paletas rotatorias, generalmente requieren de grandes áreas de terreno 500 - 5000 m<sup>2</sup> (Contreras *et al.*, 2003; Pulz, 2001).

### **Planteamiento del problema**

Desde 1990, la contaminación del agua ha aumentado en la mayoría de los ríos de África, Asia y América Latina, debido a la creciente cantidad de aguas residuales como resultado del crecimiento demográfico, el aumento de la actividad económica y la expansión de la agricultura, así como el vertido de aguas residuales sin tratamiento (o apenas con niveles mínimos) (Bertule *et al.*, 2014; WWAP, 2017a). En promedio, los países de ingresos altos tratan cerca del 70% de las aguas residuales municipales e industriales que generan. Este promedio cae a 38% en los países de ingresos medios altos y a un 28% en los países de ingresos medios bajos. En estos países de ingresos bajos solo el 8% recibe algún tratamiento. Estas estimaciones sustentan la aproximación que se cita comúnmente que; en el mundo más de 80% de las aguas residuales son vertidas sin tratamiento alguno (WWAP, 2017b)

En La región de América y el Caribe los vertidos de aguas residuales urbanas están aumentando debido a: i) el crecimiento de la población (la población urbana pasó de 314 millones en 1990 a casi 496 millones en la actualidad y se espera que alcance los 674 millones en 2050) (Bertule *et al.*, 2014) y ii) al aumento de los servicios de abastecimiento de agua y de saneamiento. En 2015, el 88% de la población urbana tenía acceso a instalaciones de saneamiento mejoradas (OMS, 2016), de las cuales menos de un 60% estaba conectado a sistemas de alcantarillado (Bertule *et al.*, 2014;

OMS, 2016). Dado que no se ha visto un aumento equivalente en el tratamiento de aguas residuales en la mayor parte de la región, el saneamiento urbano continúa siendo una de las principales inquietudes de los gobiernos.

América Latina debería invertir más de USD 33 000 millones para aumentar la tasa de cobertura de los servicios de tratamiento de aguas residuales y así llegar a un 64% para 2030 (WWAP, 2017b). Según otro cálculo, se necesitarían unos USD 30 000 millones para reducir a la mitad el porcentaje de aguas residuales que no reciben tratamiento en la actualidad (Lentini, 2015). Además, se necesitan aproximadamente USD 34 000 millones para instalar sistemas de drenaje de aguas pluviales, que reducirían la contaminación generada por la escorrentía urbana no controlada.

América Latina está experimentando un enorme crecimiento demográfico, en el año 1950 se registraron 167 millones de habitantes, en el 2007 la población de la región se incrementó hasta 572 millones. A este crecimiento le ha acompañado un movimiento migratorio de vocación económica hacia las zonas urbanas, con un nivel de urbanización de 78% ejerce una enorme presión para cubrir las necesidades de provisión de servicios de agua y saneamiento, en las áreas urbanas existen 20 millones de pobladores sin acceso a servicios mejorados de agua potable y 65 millones sin servicios mejorados de saneamiento. (Bertule *et al.*, 2014). La población rural de América Latina se reducirá de 122 a 109 millones entre 2010 y 2030. Al mismo tiempo, la población urbana se incrementará de 471 a 603 millones (WWAP, 2017b). Se ha estimado que el déficit en infraestructura, en función de alcanzar al año 2030 una cobertura casi universal, y las demás metas en cobertura de tratamiento, incremento de servicios de drenaje pluvial, optimización de la capacidad de fuentes y demás estructuras para soportar las demandas, institucionalización de servicios en las zonas urbano-marginales, más la renovación y rehabilitación de las infraestructuras actuales, supone una inversión con erogaciones efectivas del orden de los US\$ 12,500 millones anuales, equivalentes al 0,31% del PIB global actual de la región calculado a precios del 2010 (WWAP, 2017a). El acceso a agua potable y saneamiento básico en América Latina es insuficiente y además su calidad es inadecuada. Esto repercute en impactos negativos en la salud pública. La capacidad financiera limitada de los organismos encargados de proveer estos servicios y la institucionalidad débil del sector son factores que limitan las posibilidades de mejorar el acceso y la calidad de agua potable y saneamiento en el continente; de esto se deriva que el 80% de consultas médicas externas en los centros de salud están relacionados con el consumo de agua de mala calidad (Florez, 2014).

Uno de los principales problemas ambientales en el Perú es la contaminación del agua y una de las fuentes de contaminación es el vertimiento de aguas residuales de las poblaciones sin tratamiento o con sistemas de tratamientos deficientes el mismo que requiere ser evaluado. (CEPES, 2007). Según la Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento, ente regulador del sector agua potable y saneamiento en el Perú, indica: «El tratamiento de aguas residuales se encuentra a nivel nacional en 32.7% al cierre del año 2010 con proyección al 33% al cierre del año 2011, encontrándose que no se ha relacionado directamente con el crecimiento de la cobertura de alcantarillado y lo que constituye, sin duda, una de las principales tareas pendientes. Es preciso mencionar que este indicador solo mide el volumen volcado a las plantas de tratamiento de aguas residuales, pero no la calidad del tratamiento...» (SUNASS, 2008).

En Perú, solamente se ha ejecutado el 30% de la inversión pública en tratamiento de agua, de acuerdo al Plan Nacional de Saneamiento Urbano y Rural 2006 - 2015. La contaminación del agua ocurre a niveles primario, secundario y terciario de las fuentes de agua. Las sustancias que contaminan el agua son orgánicas e inorgánicas. En todos los casos, la contaminación del agua pone a la Salud Pública en peligro. De acuerdo con la (OMS, 2016), entre las enfermedades que pueden ser transmitidas o desarrollarse por medio de las aguas residuales, especialmente de las aguas residuales domésticas, están la cólera, diarrea, tifoidea y fiebres entéricas paratifoideas, entre otras.

Actualmente existen 05 Empresas Prestadoras de Servicios de Saneamiento (EPS) como EMSAPUNO S.A., SEDAJULIACA S.A., EMAPAY SRL, EPS NORPUNO S.A y EPS AGUAS DELALTIPLANO SRL, para una población de 1 389 684 habitantes (2013) distribuidas en 13 provincias, siendo su cobertura según el IPE al 2012 de agua potable 63.2% y desagües 41.0%. Además, existen JASS4 en centros poblados para administrar solamente provisión de agua segura, la mayoría no cuentan con sistema de tratamiento básico; unas con sistema de filtración solamente, otras con agua entubada, todas sin desinfección. Según estudios del PNUMA en Puno existen más de 20 lagunas de estabilización en diferentes ciudades, los mismos presentan problemas: unas colapsadas otras con serias deficiencias de funcionamiento por recibir cargas por encima de los caudales de diseño y falta de programas de mantenimiento. Entonces todas las aguas residuales producidas por las poblaciones se vierten directamente al lago Titicaca y otras a través de los ríos por ser una cuenca endorreica (Florez, 2014).



La depuración de aguas residuales toma cada vez mayor importancia debido al aumento de la población y de la actividad industrial. Además, las normativas de depuración de aguas residuales son cada vez más estrictas, por lo que son necesarias nuevas técnicas de depuración que no solo sean más eficientes sino también más sostenibles. La eliminación de la materia orgánica presente en el agua residual es uno de los aspectos más optimizados en el proceso de depuración. No ocurre lo mismo con la depuración de nitrógeno y fósforo que supone mayores gastos energéticos además de la necesidad de instalar equipos y procesos adicionales. (Alexandra *et al.*, 2014)

Los avances tecnológicos de fines del siglo XX se centran en la eliminación de nutrientes (nitrógeno y fósforo) para así poder enfrentar el problema generalizado de la eutrofización y reducir las consecuencias ambientales de las aguas residuales. Justo al comienzo del siglo XXI, con el aumento constante de los requisitos de tratamiento de las aguas residuales y de las capacidades de gestión de las instituciones, el foco de la investigación y la tecnología pasó a estar en los procesos avanzados, para poder cumplir con una reglamentación y normas de efluentes más estrictas. En el futuro, es probable que las tendencias de investigación e innovación en materia de aguas residuales se centren en la recuperación de recursos para, de esa forma, reformular el aspecto económico del tratamiento y eliminación de aguas residuales y lodos (WWAP, 2017b); Una alternativa a los métodos de tratamiento convencionales, son el uso de microalgas. El tratamiento de las aguas residuales con microalgas es eco-amigable y ofrece la ventaja de la una forma costo-efectividad para la remoción de nutrientes y la producción de biomasa (Hernández, Riaño, Coca, & García, 2013; JBARI, 2012).

Como esta alternativa a los procesos convencionales basados en fangos activos, se ha propuesto la utilización de consorcios de microalgas y bacterias. La depuración de aguas residuales con estos consorcios permite eliminar la materia orgánica, así como el nitrógeno y el fósforo presentes en el agua residual hasta niveles aptos para su vertido, en una sola etapa. La recuperación de los nutrientes contenidos en el agua residual hace el proceso más sostenible, así como el potencial aprovechamiento de la biomasa producida puede hacerlo a la vez más rentable económicamente. Sin embargo, para que esta tecnología pueda ser comercial es necesario aún optimizarla y asentarla, maximizando su rendimiento y validándola en condiciones reales de operación bajo los estándares industriales. En este sentido, la presente tesis está enfocada a esta mejora y validación de la tecnología de depuración de aguas residuales basada en consorcios de microalgas y bacterias. En concreto se persigue optimizar el fotobioreactor y su modo de operación en función de la composición del

agua residual, para maximizar la capacidad de tratamiento de agua residual y la producción de biomasa del sistema. (Alexandra *et al.*, 2014; Orlando *et al.*, 2016). En adición, se ha reportado que pueden acumular lípidos en su estructura hasta un volumen del 80% (Pires, alvim, & martins, 2017).

La eutrofización, impulsada por el exceso de nitrógeno y fósforo, puede provocar floraciones de algas potencialmente tóxicas y disminución de la biodiversidad. El vertido de aguas residuales sin tratar en mares y océanos explica en parte por qué cada vez son más las zonas muertas desoxigenadas: se estima que 245 000 km<sup>2</sup> de ecosistemas marinos están afectados, con repercusiones en la industria pesquera, medios de vida y cadenas alimenticias (García, 2011). La acumulación excesiva de nutrientes también podría aumentar los efectos perjudiciales en la salud, como el síndrome del niño azul, que puede deberse a la presencia de altos niveles de nitratos en el agua potable (OMS, 2016).

Realizar la investigación es importante porque en nuestra ciudad de Juliaca existe lagunas de oxidación, donde la eliminación de nitratos y fosfatos es ineficiente, motivo por el cual incorporar un tratamiento usando microalgas nos permitirá reducir niveles de concentración de NO<sub>3</sub> y PO<sub>4</sub>; En las últimas décadas el uso de microalgas se ha convertido en una alternativa viable para llevar a cabo este propósito, por lo que las investigaciones al respecto se han impulsado. Partiendo de ahí, es necesario realizar un recorrido bibliográfico sobre esta temática, con el fin de conocer hasta dónde han llegado los estudios y de esta manera, dar un primer paso en la formulación de nuevas ideas y conceptos sobre este punto, tan esencial en la preservación del bienestar humano. Pese a las inversiones en plantas de tratamiento secundario, muchas instalaciones se encuentran sobrecargadas y producen efluentes con una calidad inferior a la esperada debido a las cambiantes presiones demográficas y al tiempo que transcurre entre el diseño y la construcción (Hernández *et al.*, 2013; Lizarazo & Gutiérrez, 2013)

El bajísimo nivel de tratamiento secundario y avanzado de aguas residuales en los países en desarrollo refleja la necesidad urgente de contar con actualizaciones tecnológicas para el tratamiento de aguas residuales y opciones de uso seguro para así favorecer el logro de la Meta 6.3 de los ODS (objetivos de desarrollo sostenible). Es necesario transferir las tecnologías adecuadas y asequibles desde los países desarrollados a aquellos en desarrollo y proporcionar, además, apoyo en materia de transferencia de conocimiento y creación de capacidades. Sumado al aporte de la cooperación Norte-Sur, a través de la cooperación Sur-Sur también se puede brindar

respaldo a los países en desarrollo para que puedan mejorar su capacidad científica, tecnológica y de innovación. También se debe promover la transferencia de nuevas tecnologías en los casos donde su aplicación sea viable y asequible (WWAP, 2017b).

En las últimas décadas la demografía ha venido en aumento en las ciudades con esto una serie de perjuicios para el medio ambiente, mostrándose con énfasis la contaminación de las aguas de los ríos y lagos, al vertimiento directo o indirecto que se realiza a estas sin un tratamiento adecuado, el uso del agua tanto para el desarrollo normal de la vida de los habitantes de esta zona, Con llevan a la generación de aguas residuales acentuándose el problema al ser evacuados al río Coata por la topografía discurren en el lago Titicaca siguiendo un curso de contaminación, deteriorando los ecosistemas acuáticos y de las riveras del río, la contaminación y la falta de tratamiento a las aguas residuales, es un problema palpable en la actualidad en nuestra ciudad de Juliaca, ameritado realizar un estudio de las características de las microalgas y la eficiencia que estos pudieran ofrecer en condiciones controladas en la remoción de contaminantes propios de las aguas residuales. Ya que un adecuado tratamiento por microalgas podría devolver las características del agua, para ser nuevamente utilizadas y así evitar la contaminación de la cuenca hidrográfica del Titicaca y del medio ambiente, lo que resulta un severo problema tanto en el ambiente y la salud humana.

## **Objetivos de la investigación científica**

### **Objetivo general**

- Determinar la eficiencia de remoción de nitratos y fosfatos en aguas del río Torococha mediante microalgas a escala laboratorio.

### **Objetivos específicos**

- Diseñar y construir un fotobiorreactor a escala laboratorio.
- Aislar e identificar las microalgas en muestra de aguas provenientes del río Torococha.
- Evaluar la capacidad de remoción de nitratos y fosfatos dentro del fotobiorreactor.

## **Preguntas de investigación**

- ¿Cuál es el efecto del uso de microalgas en la remoción de nitratos y fosfatos dentro del fotobiorreactor?
- ¿Bajo qué parámetros dentro del fotobiorreactor las microalgas son eficientes para reducir la carga de nitratos y fosfatos de aguas del río Torococha?
- ¿Cuál es la relación entre bacterias y microalgas en el proceso de remoción de nitratos y fosfatos?

## **Justificación**

La calidad del agua, recurso de vital e imprescindible importancia para la vida humana, se ha deteriorado a través del tiempo debido a su uso en la industria, en la agricultura, como fuente de energía y en nuestras actividades diarias. Los ríos reciben y transportan aguas residuales, vertidas sin tratamiento previo, en cantidades que se han incrementado debido al crecimiento de la población y de las actividades económicas.

La eutrofización de cuerpos de agua se presenta como un problema prioritario a nivel mundial que afecta la mayoría de las aguas superficiales en la actualidad y la región Puno no es ajena a este problema, ya que las descargas más importantes provienen de la cuenca del río Torococha (Coila, 2017) que ha ocasionado un daño irreversible creando impactos negativos en esta cuenca.

En el medio ambiente, la alta concentración de nitrógeno, como nitratos, no solo favorece la eutrofización de los cuerpos de agua, sino que también produce implicaciones muy importantes para la salud pública (Burkart & Stoner, 2007). Dado que la descarga de efluentes tratados provenientes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales (PTAR) muestra una composición adecuada para el cultivo de microalgas bajo condiciones controladas de operación, además de ser permanentemente descargado a agua superficial.

El nitrógeno y el fósforo son dos elementos clave responsables del aumento excesivo de nutrientes que induce el crecimiento de plantas acuáticas. Aunque la producción de algas es necesaria como primer eslabón de la cadena alimentaria del ecosistema acuático, crecimiento excesivo bajo condiciones eutróficas podría conducir a un deterioro significativo del cuerpo de agua. Por lo tanto, el primer paso para la aceleración de la eutrofización es el ingreso de estos nutrientes en el sistema acuático (Abdel-Raouf *et al.*, 2012). Por su parte el fósforo es un elemento que ocurre

naturalmente en el agua, sin embargo, ciertas actividades humanas contribuyen significativamente a su acumulación en cuerpos de agua, (Von Sperling, 2008) expresa que el origen natural de los compuestos de fósforo se debe a la disolución de los compuestos de los suelos, la descomposición de la materia orgánica y la descomposición celular de microorganismos; su antropogénico fuente se relaciona con desechos domésticos e industriales, detergentes, excrementos de animales y fertilizantes.

El interés de realizar esta investigación en el tratamiento de aguas residuales utilizando microalgas es un recurso favorable y deberán permitir un uso más eficiente del recurso hídrico y los nutrientes contenidos en las aguas residuales, con el propósito de dar un uso adecuado del recurso hídrico. De esta forma, se contribuirá a elevar la calidad de vida de las poblaciones, con una nueva concepción de reciclaje y sostenibilidad, que permita contribuir efectivamente a reducir la contaminación ambiental de las fuentes de abastecimiento de agua y la diseminación de enfermedades.

### **Contexto de la investigación**

La investigación se realizó en la ciudad de Juliaca, que consistió en el tratamiento de aguas residuales del río Torococha, utilizando microalgas del género *Chlorella* sp., con la finalidad de comprobar la reducción de nutrientes ( $\text{NO}_3$  y  $\text{PO}_4$ ), cuyos resultados nos permitieron plantear propuestas para el mejoramiento de un sistema integrado de tratamiento y uso de las aguas residuales domésticas en tal situación.

Para este propósito se ha diseñado biorreactores, cuyo funcionamiento fue utilizando luz artificial, el proceso de experimentación ha sido desarrollado en los Laboratorios de Química, Física y Biología de la Universidad Nacional de Juliaca, durante los meses de enero, febrero y marzo del 2018.

### **Hipótesis y limitaciones**

Las microalgas como tratamiento biológico empleado en este estudio constituye una buena alternativa para la depuración de aguas residuales, ya que estas tienen la capacidad de absorber rápidamente nutrientes como nitratos y fosfatos; esto genera tasas de crecimiento altas, permitiéndoles desarrollarse en diferentes ambientes, lo cual permite que la capacidad de remoción sea eficiente.

## CAPÍTULO I

### Marco teórico

#### 1.1. Tipos de biomasa para tratamiento de aguas

A pesar de la gran cantidad de materiales biológicos que puede adsorber metales de forma natural, solamente unos pocos tienen la suficiente capacidad como para remover una gran cantidad de nutrientes de forma eficiente y presentar una alta selectividad. Numerosos materiales biológicos han sido estudiados con el fin de evaluar su potencial efectividad para la remoción de nutrientes. Entre estos materiales están consideradas la biomasa bacteriana, hongos y algas marinas que constituyen el conjunto más estudiados hasta el momento (Abdel *et al.*, 2012)

##### 1.1.1. Bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares, no poseen un núcleo bien definido tampoco presentan organelos membranosos internos. Generalmente están provistos de una pared celular compuesta por peptidoglicanos, en ocasiones se encuentran dotados de flagelos u otros sistemas de desplazamiento ya que son móviles. Una de sus características más importantes es que poseen los mecanismos necesarios para producir el material genético y la energía requerida para lograr su desarrollo y evolución, además de ser responsables de diversas patologías que el ser humano padece (Tuantet *et al.*, 2014) En microbiología estas bacterias se denominan:

**Gram +** : Peptidoglicano (polímero lineal derivado de dos azúcares, N-acetilglucosamina y N-cetilmurámico). Ácidos teicoicos, lipoteicoicos y proteínas.

**Gram -** : Peptidoglicano, lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas.

##### 1.1.2. Algas

Las algas constituyen un variado grupo de organismos Eucarióticos. Sus células presentan sistemas internos de membranas núcleo delimitado y pared celular. Obtienen su energía mediante procesos fotosintéticos. Existen algas unicelulares y pluricelulares. En su mayoría ocupan hábitats acuáticos dulces o salados;

aunque también se encuentra en el suelo y en la corteza de los árboles, algunas de ellas se hacen mención a continuación.

**Chlorophyta (algas verdes):** Componente fibrilar de celulosa y una matriz amorfa compuesta de polisacáridos como, galactosa, ribosa, xilosa, ácido glucurónico, que pueden ser sulfonados. Las proteínas representan 10 al 70% del peso seco de la pared celular. Ofrece grupos funcionales como hidroxilos, carboxilos, sulfhidrilos, aminos, iminas.

**Rhodophyta (algas rojas):** Componente fibrilar de celulosa y los principales componentes de la matriz amorfa son los polisacáridos sulfonados como fucoides, galactasas (agar, carragenanos, etc.) constituyendo hasta el 70% del peso seco de su pared celular. Las proteínas representan un 35 - 50% de la pared celular.

**Phaeophyta (algas marrones):** Componente fibrilar de celulosa y una matriz amorfa de alginato, que representa entre el 10 - 40% del peso seco. Las proteínas se encuentran presentes en un 35 - 50% (Saeid & Chojnacka, 2015).

## 1.2. Microalgas

Durante siglos, en algunas partes del mundo se han utilizado microalgas como alimento humano, producidas por una tecnología primitiva. Por ejemplo, *Spirulina máxima* era empleada por los aztecas y los nativos del Chad en alimentación, en forma de unos bizcochos de alto contenido proteico que denominaban "tecuatlatt" y "dihé", respectivamente. El género *Nostoc* (*pruriforme*, *commune* y *verrucosum*) ha sido consumido y comercializado en Asia central y oriental, en el Ecuador y en los Andes (Alexandra *et al.*, 2014).

La especie *Phylloderma sacrum*, es considerada un manjar en Japón y *Oedogonium* y *Spirogyra* son dos especies de algas filamentosas que se consumen en el sur asiático y otras dos especies microalgales, *Prasiola yunnanica* y *Prasiola japonica*, con un contenido proteico apreciablemente alto, se consumen en China y Japón, respectivamente. Según esto, la producción de microalgas se divide en:

- Fotoautótrofa: las algas obtienen la energía del sol y el carbono de compuestos inorgánicos (sales). Son a las que nos referiremos principalmente en este trabajo.
- Fotoheterótrofa: obtienen la energía del Sol y emplean compuestos orgánicos como fuente de carbono (JBARI, 2012)

Las microalgas poseen una capacidad ficorremediadora que consiste en la eliminación o biotransformación de contaminantes de un medio líquido o gaseoso. Estos

compuestos contaminantes son captados por la biomasa algal y pueden ser recuperados mediante su cosecha. Esta capacidad resulta en un sistema de cultivo con la finalidad de la eliminación de contaminantes y producción de biomasa con fines comerciales (Hernández & Labbé, 2014).

### 1.2.1. Características de la microalga

Las microalgas poseen una capacidad fitorremediadora que consiste en la eliminación o biotransformación de contaminantes de un medio líquido o gaseoso. Estos compuestos contaminantes son captados por la biomasa algal y pueden ser recuperados mediante su cosecha. Esta capacidad resulta en un sistema de cultivo con dos propósitos la eliminación de contaminantes y producción de biomasa con fines comerciales (Abdel *et al.*, 2012).

Las microalgas tienen un enorme potencial como fuente energética, pero el alto costo de la producción de biodiesel a gran escala, hace que este sistema aún no sea sustentable. Existen alternativas económicamente prometedoras que involucran cultivos auto- y heterotróficos con el fin de mejorar los rendimientos. Sin embargo, no todos los microorganismos tienen la capacidad que tiene *Chlorella protothecoides*, para crecer solo con una fuente de nitrógeno o de carbono orgánico (Pérez, Campos & Salgado, 2013).

La producción de biomasa de microalgas ha proporcionado una amplia gama de productos biotecnológicos con usos en la industria alimenticia, salud y medicina humana, alimentación animal, compuestos orgánicos y biocombustibles. Todo esto adquiere una gran importancia debido a los problemas ambientales globales existentes en la actualidad (Hernández *et al.*, 2013).

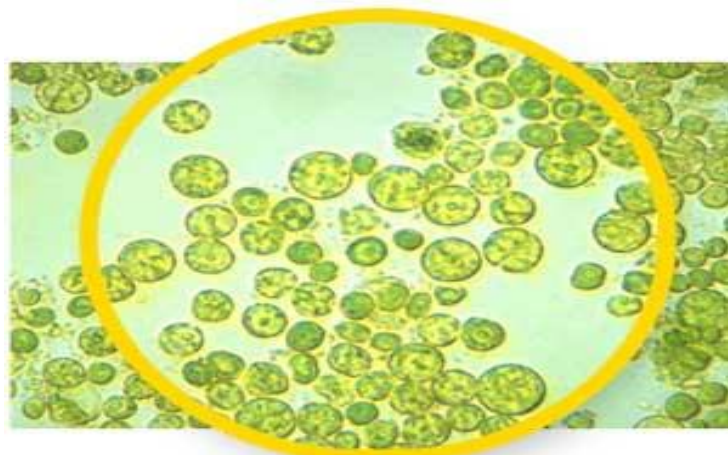


Figura 1. Algas microscópicas.



En general, como en el resto de microalgas, el hábitat y las necesidades ecológicas dependen del género o incluso de la cepa estudiada. Las cianobacterias han sido tradicionalmente conocidas como algas verde-azuladas (Peltroche, 2015) debido a que, junto a la clorofila, contienen dos pigmentos accesorios (ficocianina y ficoeritrina) que le confieren su aspecto azul-verdoso.

El término microalga, desde un punto de vista biotecnológico, se refiere a aquellos microorganismos que contienen clorofila a y otros pigmentos fotosintéticos, capaces de realizar la fotosíntesis oxigénica (Alcántara, Posadas, Guieysse, & Muñoz, 2015).

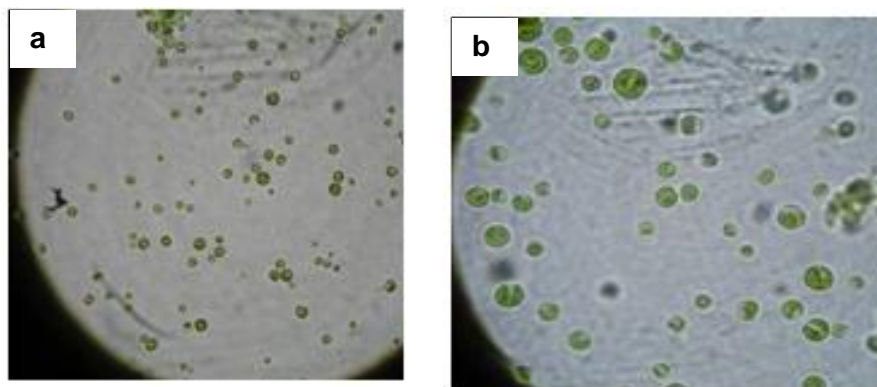


Figura 2. Microalgas observado en microscopio: a) *Chlorella* sp.; b) *Chlorella pyrenoidosa*

### 1.2.2. Propiedades físico químicas de microalgas

En cuanto a los factores físico-químicos que afectan el crecimiento de las microalgas, son principalmente reportados los estudios sobre la luz, la temperatura, la salinidad y la disponibilidad de nutrientes. La mayoría de las especies microalgas son foto autótrofas, es decir, a través de la fotosíntesis obtiene energía de la luz para fijar el carbono, necesario para la construcción de la biomasa; así mismo, la relación entre la síntesis del material orgánico como reflejo de la producción fotosintética puede ser expresada principalmente por el aumento de la población microalgal (Alcántara *et al.*, 2015; Gonçalves, Pires, & Simões, 2017; Ozkan & Berberoglu, 2013).

La condición de la luz, que debe ser considerada en términos de fotoperiodo (tiempo de exposición a la luz), la intensidad y la calidad (longitud de onda), es de fundamental importancia para las microalgas; el hecho de que la luz varíe tanto en

el espacio (profundidad y latitud) y en el tiempo (diario y estacional), implica ser un factor condicionante para el crecimiento planctónico (Ozkan & Berberoglu, 2013).

Los pigmentos fotosintetisantes microalgas pueden ser clasificados en tres grupos: la clorofila, los carotenoides y las ficobilinas, siendo que, cada uno difiere en su composición química y presenta diferente capacidad de absorción de la luz en una determinada longitud de onda.

Del mismo modo, otros diversos aspectos del metabolismo de las microalgas son también influenciados por las condiciones, la cantidad, la calidad y la movilidad de los pigmentos fotosintéticos, la distribución horizontal y vertical del fitoplancton en las masas de agua y el tamaño y la morfología de las células, entre otros, están correlacionan con las condiciones de luz, tanto cuantitativamente como cualitativamente (Martin, 2010)

En cuanto a la nutrición, para un crecimiento óptimo, las microalgas tienen la necesidad de una serie de nutrientes. Entre las especies, ocurren muchas variaciones relacionadas principalmente con la cantidad de nutrientes en el medio. Sin embargo, estas necesidades nutricionales dependen de distintas condiciones ambientales (Hernández & Labbé, 2014)

### **1.3. Parámetros de cultivo**

Un cultivo tiene tres diferentes componentes: un medio de cultivo contenido en un recipiente adecuado; las algas creciendo en el medio y aire, para permitir el intercambio de dióxido de carbono entre el medio y la atmósfera.

Los parámetros más importantes que regulan el crecimiento de las algas son principalmente la luz, el pH, la turbulencia, la salinidad y la temperatura, entre otros (Gómez, 2007).

#### **1.3.1. Temperatura**

La mayoría de las especies mde microalgas toleran temperaturas entre 16 °C y 27 °C, aunque esto puede variar de acuerdo a la composición del medio de cultivo o la especie cultivada. Un valor intermedio de 18 °C - 20 °C es frecuentemente empleado, temperaturas por debajo de los 16 °C pueden retardar el crecimiento, mientras que aquellas por arriba de los 35 °C son letales para cierto número de especies (Gómez, 2007)

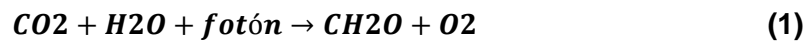
### 1.3.2. Luz

Como en las plantas, la luz es la fuente de energía que promueve las reacciones fotosintéticas en las algas, tienen mucha consideración la intensidad, la calidad espectral y el fotoperiodo (Gómez, 2007).

La intensidad de la luz es uno de los factores más importantes para el crecimiento fotosintético de las microalgas, pueden ser iluminados por luz artificial, luz solar o ambas. Los sistemas de cultivo de algas con iluminación natural con grandes áreas se encuentran los estanques abiertos, llamados platos planos o flat plates. Los sistemas de biorreactores empleados a nivel laboratorio son iluminados interna o externamente por luz artificial con lámparas fluorescentes y diodos emisores de luz (Hu, Hao, van Loosdrecht, & Chen, 2017)

### 1.3.3. Fotosíntesis en algas

La fotosíntesis es el proceso más importante en el metabolismo de las microalgas. Estas utilizan la energía solar para metabolizar el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) a metanol (CH<sub>2</sub>O) liberando oxígeno molecular (O<sub>2</sub>). Las moléculas de CH<sub>2</sub>O constituyen los bloques responsables de la formación de moléculas de glucosa en las microalgas. La Ecuación (1) describe el proceso universal de la fotosíntesis.



En este proceso de fotosíntesis el CO<sub>2</sub> se metaboliza a compuestos orgánicos como azúcares utilizando la energía solar (Alcántara *et al.*, 2015; Hernández-Pérez & Labbé, 2014). La Ecuación (2) representa este proceso de manera general.

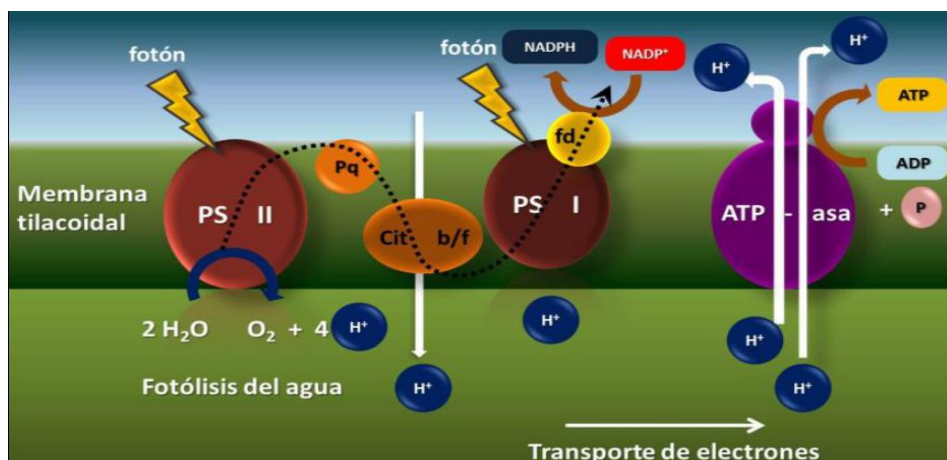


Figura 3. Diagrama esquemático de la fotosíntesis (Martin, 2010).

La luz es el nutriente que proporciona energía a las microalgas para que puedan llevar a cabo la generación de nueva biomasa y es por tanto el motor del crecimiento. La luz es siempre el nutriente limitante en un fotobiorreactor bien diseñado, ya que los demás nutrientes se pueden añadir en exceso. Sin embargo, la luz es limitada y además es difícil hacerla penetrar en el fotobiorreactor. Es difícil entender que la luz, un nutriente que llega continuamente, pueda ser un factor limitante. Para ello hay que entender que las microalgas absorben la luz muy intensamente, en mucha mayor cantidad de lo que pueden asimilar (Labbé, Ramos, Hernández, Baeza, & Hansen, 2017).

#### **1.3.4. pH**

El rango del pH para la mayoría de las especies de algas cultivadas es entre 7 y 9, siendo el rango óptimo 8,2 – 8,7. Para mantener un valor aceptable es necesario airear el medio de cultivo (Gómez, 2007).

#### **1.3.5. Oxígeno**

El nivel de oxígeno disuelto debe ser controlado, muchas especies de microalgas no son capaces de sobrevivir en un medio sobresaturado de oxígeno más de 2 o 3 horas (para algunas el 120% de saturación en el aire, para otras el 200%). Además, la producción fotosintética de oxígeno en cultivos de alta densidad puede alcanzar hasta 40 mg/L, de modo que mediante la radiación adecuada pueden llegar a desarrollarse radicales de oxígeno. La presión parcial del oxígeno en el cultivo puede disminuirse mediante aumento de la turbulencia y stripping de aire (Gómez, 2007; Pérez *et al.*, 2013).

### **1.4. Microalgas para tratamiento de aguas residuales**

La historia del uso comercial de cultivos de algas abarca aproximadamente 75 años con la aplicación al tratamiento de aguas residuales y la producción en masa de diferentes cepas, tales como *Chlorella* y *Dunaliella*. Actualmente, se desarrolla un interés significativo en algunas naciones avanzadas del mundo tales como Australia, EE. UU., Tailandia, Taiwán y México (Abdel *et al.*, 2012; Mohd *et al.*, 2017). Esto se debe a la comprensión de los biólogos de estas naciones sobre la biología y ecología de las culturas de algas a gran escala, así como a la ingeniería de sistemas de cultivo a gran escala y métodos de cosecha de algas, todos los cuales son importantes para el diseño y operación de cultivos de algas de alta tasa para producir productos de alto valor, tales como productos farmacéuticos y productos genéticamente modificados (Abdel *et al.*, 2012).

El tratamiento biológico con microalgas es particularmente atractivo debido a sus capacidades fotosintéticas, convirtiendo la energía solar en biomasa útil e incorporando nutrientes como nitrógeno y fósforo que causan eutrofización; Esta fascinante idea lanzada hace unos cincuenta y cinco años en los EE. UU. ha sido intensamente probada en muchos países (Delgadillo *et al.*, 2016).

Las microalgas tolerantes a contaminantes, la Chlorophyta era dominante tanto en variedad como en cantidad, seguida de Cyanophyta, Bascillariophyta y Euglenophyta. La lista fue compilada para 60 géneros y 80 especies. Los ocho géneros más tolerantes fueron Euglena, Oscillatoria, Chlamydomonas, Scenedesmus, Chlorella, Nitzschia, Navicula y Stigeoclonium (Abdel *et al.*, 2012)

Dado que los requisitos de espacio terrestre de los sistemas de tratamiento de aguas residuales de microalgas son sustanciales (Gonçalves *et al.*, 2017), se están realizando esfuerzos para desarrollar sistemas de tratamiento de aguas residuales basados en el uso de cultivos de algas hiperconcentrados. Esto demostró ser altamente eficiente en la eliminación de N y P en períodos muy cortos de tiempo, por ejemplo, menos de 1 h (Delgadillo *et al.*, 2016)

Los sistemas de algas pueden tratar el alcantarillado humano, los desechos del ganado, los desechos agroindustriales y desechos industriales. Además, los sistemas de microalgas para el tratamiento de otros desechos como el efluente de cerdos (De la Noüe *et al.*, 1992; Fogg, 1983; Pulz, 2001), se han estudiado los efluentes de las fábricas de procesamiento de alimentos y otros desechos agrícolas. Además, también se está desarrollando un sistema basado en algas para la eliminación de minerales tóxicos tales como plomo, cadmio, mercurio, escandio, estaño, arsénico y bromo (Alcántara *et al.*, 2015; Hernández *et al.*, 2013; Hodges, Fica, Wanlass, Van Darlin, & Sims, 2017; Mohd Udaiyappan *et al.*, 2017).

### **1.5. Producción industrial de microalgas**

Actualmente el crecimiento de la población mundial enfrenta una serie de desafíos que inevitablemente se deben abordar y solucionar en las próximas décadas; el aumento en el consumo de alimentos, la disminución en la producción de combustibles fósiles y su reemplazo por otras formas de energía más sostenibles, y finalmente en términos medioambientales se debe evitar el calentamiento global, disminuyendo de forma considerable las emisiones de CO<sub>2</sub> hacia la atmósfera, a la vez que se deben cuidar los recursos acuíferos, evitando un uso irracional y excesivo (Saeid & Chojnacka, 2015)

Las microalgas se han propuesto como microorganismos valiosos para varias aplicaciones, desde la producción de productos farmacéuticos hasta el tratamiento de aguas residuales (Saeid & Chojnacka, 2015)

La producción masiva de microalgas en el exterior se efectúa en dos tipos principales de estructuras, tanques abiertos a la atmosfera (TA), con o sin consumo energético para la agitación del medio, y fotobiorreactores cerrados (FBR), es preciso resaltar el hecho de que en la actualidad el 98 % de la biomasa de microalgas producida en el mundo con fines comerciales es obtenida mediante cultivos en TA. A destacar también el hecho de que las especies de microalgas explotadas lo son gracias a su capacidad de crecimiento en ambientes extremos. Esta característica les permite reducir al mínimo los riesgos de contaminación por otros microorganismos competidores o depredadores (Hernández, 2013).

## **1.6. Procesos de tratamiento de aguas residuales**

### **1.6.1. Tecnología convencional de tratamiento de aguas residuales**

En el sistema de tratamiento de aguas residuales, la eliminación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), los sólidos en suspensión, los nutrientes ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{PO}_4$ ), bacterias coliformes y toxicidad son el objetivo principal para obtener agua residual purificada (Benavente-Valdés, Montanez, Aguilar, & Zavala, 2012; Lizarazo & Gutiérrez, 2013). La DBO explota la capacidad de los microorganismos para oxidar la materia orgánica en  $\text{CO}_2$  y agua usando oxígeno molecular como agente oxidante. Por lo tanto, la DBO puede agotar el oxígeno disuelto del agua receptora que conduce a la muerte de los peces y la anaerobiosis, por lo que su eliminación es un objetivo principal del tratamiento de aguas residuales, los sólidos suspendidos se eliminan principalmente por sedimentación física (Orlando *et al.*, 2016).

En los sistemas de tratamiento de aguas residuales diseñadas para eliminar nutrientes, principalmente nitrógeno disuelto y fósforo, se está convirtiendo en un paso importante del tratamiento. La descarga de estos nutrientes en cuerpos de agua sensibles conduce a la eutrofización al estimular el crecimiento de plantas no deseadas como algas y macrófitas acuáticas (Orlando *et al.*, 2017; Pérez *et al.*, 2013). Otras consecuencias de los compuestos de nitrógeno en efluentes de aguas residuales son la toxicidad del amoníaco no ionizado para peces y otros organismos acuáticos, interferencia con la desinfección donde se requiere un cloro residual libre y metahemoglobinemia en influentes debido a concentraciones excesivas de nitrato (por encima de  $45 \text{ g/m}^3$ ) en el agua potable (De Morais, Vaz,

De Morais, & Costa, 2015; Hu *et al.*, 2017). Se ha llegado a la conclusión de que el proceso de unidad única no está actualmente disponible, lo que puede lograr de manera exitosa y eficiente todos estos requisitos y, en consecuencia, se requiere una combinación.

### **1.6.2. Tratamiento preliminar de aguas residuales**

El tratamiento preliminar de las aguas residuales elimina los materiales sólidos de gran tamaño entregados por las alcantarillas que podrían obstruir el flujo a través de la planta o dañar el equipo. Estos materiales están compuestos de objetos flotantes como trapos, madera, material fecal y partículas de arena más pesadas. Los grandes objetos flotantes se pueden eliminar pasando las aguas residuales a través de barras espaciadas a 20 - 60 mm, el material retenido se rastrilla de las barras a intervalos regulares (Lizarazo & Gutiérrez, 2013; Orduz, 2016).

### **1.6.3. Tratamiento primario de aguas residuales**

Después de la eliminación de los materiales gruesos, las aguas residuales pasan a los tanques de sedimentación, que tienen como objetivo eliminar los sólidos sedimentables (representan hasta el 70% del total de los sólidos sedimentables) por gravedad. Un tanque de sedimentación bien diseñado puede eliminar el 40% de la DBO en forma de sólidos sedimentables. La eliminación de patógenos durante el tratamiento primario es muy variada con diversas tasas de eliminación informadas para diferentes organismos (Aurelio, López, Meas Vong, Ortega Borges, & Olguín, 2004; De la Noüe *et al.*, 1992; Olguín, 2003).

### **1.6.4. Tratamiento secundario de aguas residuales**

El proceso de tratamiento secundario tiene como objetivo reducir la DBO ejercida al reducir la materia orgánica. Esto está mediado, principalmente, por una población mixta de bacterias heterótrofas que utilizan el constituyente orgánico para la energía y el crecimiento (Abdel *et al.*, 2012).

Una gran cantidad de operaciones de unidades biológicas están disponibles para lograr la oxidación aeróbica de DBO. Todas las operaciones pueden clasificarse en función de su población microbiana, ya sea en película fija o en procesos de crecimiento disperso. Los reactores de película fija tienen biofilms unidos a una superficie fija donde los compuestos orgánicos se adsorben en la biopelícula y se degradan aeróbicamente. En los reactores de crecimiento en suspensión (por ejemplo, lodo activado), los microorganismos se mezclan libremente con las aguas residuales y se mantienen en suspensión mediante agitación mecánica o

mezclado por difusores de aire (Abdel *et al.*, 2012; Hodges *et al.*, 2017; Ozkan & Berberoglu, 2013).

Varios investigadores han señalado que los sistemas de oxidación biológica pueden eliminar más del 90% de las bacterias patógenas de las aguas residuales, sin embargo, la eliminación de virus es mucho más variada. Se cree que el principal mecanismo de eliminación viral es la adsorción. En los reactores de crecimiento suspendido, la mezcla íntima de flóculos sólidos y aguas residuales proporciona una eliminación del 90%, mientras que las áreas superficiales más pequeñas de los sitios de adsorción biológica en reactores de película proporcionan reducciones variadas (Hodges *et al.*, 2017; Hoffmann, 1998; Ozkan & Berberoglu, 2013).

#### **1.6.5. Tratamiento terciario de aguas residuales**

El proceso de tratamiento terciario tiene como objetivo eliminar todos los iones orgánicos. Se puede lograr biológica o químicamente. El proceso de tratamiento biológico terciario tiene aceptable funcionamiento en comparación con los procesos químicos que, en general, son demasiado costosos, se estima que un proceso terciario completo dirigido a eliminar amonio, nitrato y fosfato es aproximadamente cuatro veces más costoso que el tratamiento primario (De la Noüe *et al.*, 1992).

Los tratamientos avanzados generalmente se basan en técnicas tecnológicamente complejas, como la precipitación química, la ozonización, la ósmosis inversa o la adsorción de carbono. Estas técnicas incluyen procesos diseñados para eliminar nutrientes particulares, como fósforo o nitrógeno, que pueden estimular la eutrofización en ciertas situaciones (Gómez, 2007; Montaña, 2015).

#### **1.7. Desinfección de aguas residuales**

El tratamiento primario, secundario e incluso terciario no puede eliminar el 100% de la carga de desechos entrante y, como resultado, muchos organismos aún permanecen en la corriente de desechos. Para prevenir la propagación de enfermedades transmitidas por el agua y también para minimizar los problemas de salud pública, las agencias reguladoras pueden requerir la destrucción de organismos patógenos en aguas residuales (Orduz, 2016). Si bien la mayoría de estos microorganismos no son patógenos, se debe asumir que los patógenos están potencialmente presentes. Por lo tanto, siempre que los efluentes de aguas residuales se descarguen en las aguas receptoras que pueden utilizarse para el suministro de agua (Fernando *et al.*, 2015).



La desinfección es el tratamiento del efluente para la destrucción de todos los patógenos. Otro término utilizado para describir la destrucción de microorganismos es la esterilización. Si bien la desinfección indica la destrucción de todos los microorganismos causantes de enfermedades, no se intenta en el tratamiento de aguas residuales para obtener la esterilización. Sin embargo, los procedimientos de desinfección aplicados a las aguas residuales darán como resultado una reducción sustancial de todos los microbios de modo que el número de bacterias se reduzca a un nivel seguro (Fernando *et al.*, 2015; Montaña, 2015). En general, la desinfección puede lograrse mediante cualquier método que destruya los patógenos. Una variedad de métodos físicos o químicos son capaces de destruir microorganismos bajo ciertas condiciones. Los métodos físicos pueden incluir, por ejemplo, calentamiento a ebullición o incineración o irradiación con rayos X o rayos ultravioleta. Los métodos químicos podrían incluir teóricamente el uso de ácidos fuertes, alcoholes o una variedad de sustancias químicas oxidantes o agentes de superficie activa (Abdel-Raouf *et al.*, 2012; Alcántara *et al.*, 2015). Sin embargo, el tratamiento de las aguas residuales para la destrucción de patógenos exige el uso de medidas prácticas que puedan utilizarse de forma económica y eficiente en todo momento en grandes cantidades de aguas residuales que han sido tratadas en diversos grados. El uso predominante de cloro se debe a que el cloro es un químico desinfectante excelente y, hasta hace poco, ha estado disponible a un costo razonable (Abdel *et al.*, 2012; Camacho, 2015).

El proceso de tratamiento terciario elimina todos los iones orgánicos. Se puede lograr biológica o químicamente. El tratamiento terciario biológico parece funcionar bien en comparación con los procesos químicos que, en general, son demasiado costosos para implementarse en la mayoría de los lugares y que pueden conducir a una contaminación secundaria. Sin embargo, cada paso de tratamiento adicional en un sistema de aguas residuales aumenta en gran medida el costo total. El costo relativo del tratamiento se duplica por cada paso adicional posterior al tratamiento primario (De la Noüe *et al.*, 1992; Mohd *et al.*, 2017; Olgún, 2003).

Por lo tanto, un proceso terciario completo destinado a eliminar el amoníaco, el nitrato y el fosfato será aproximadamente cuatro veces más costoso que el tratamiento primario. Los cultivos de microalgas ofrecen una solución elegante para tratamientos terciarios y quaternarios debido a la capacidad de las microalgas de usar nitrógeno inorgánico y fósforo para su crecimiento (Mohd *et al.*, 2017). Y también, su capacidad para eliminar metales pesados, así como algunos compuestos orgánicos tóxicos, por lo tanto, no conduce a la contaminación secundaria. Entre las características

beneficiosas que producen el oxígeno, tienen un efecto desinfectante debido al aumento del pH durante la fotosíntesis (Gonçalves *et al.*, 2017; Hom *et al.*, 2017).

Las microalgas se pueden utilizar en el tratamiento de aguas residuales para una variedad de propósitos, algunos de los cuales se utilizan para eliminar bacterias, coliformes, reducir la demanda química y bioquímica de oxígeno, eliminar N y/o P y también eliminar metales pesados (Palma, Killoran, Sheehan, Berner, & Heimann, 2017).

### **1.7.1. Reducción de la demanda química y bioquímica de oxígeno**

Como se mencionó anteriormente, hay muchos compuestos y microorganismos que se pueden detectar en las aguas residuales, que es capaz de causar la contaminación de un curso de agua. La contaminación de las aguas residuales puede manifestarse en tres grandes categorías, a saber, los materiales orgánicos, los materiales inorgánicos y los contenidos microbianos (Orduz, 2016; Pérez *et al.*, 2013). Los compuestos orgánicos de aguas residuales comprenden una gran cantidad de compuestos, que tienen al menos un átomo de carbono. Estos átomos de carbono se pueden oxidar tanto química como biológicamente para producir dióxido de carbono. Si se emplea la oxidación biológica, la prueba se denomina Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), mientras que, para la oxidación química, la prueba se denomina Demanda Química de Oxígeno (DQO) (Pérez *et al.*, 2013).

El exceso de DBO puede agotar el oxígeno disuelto del agua receptora que conduce a la muerte de los peces y la anaerobiosis, por lo que su eliminación es un objetivo principal del tratamiento de aguas residuales (Gonçalves y Hom, 2017) investigaron las posibilidades del tratamiento biológico de aguas residuales por algas donde descubrieron que en el tratamiento de aguas residuales domésticas, la eliminación de DBO y DQO era del 68.4% y el 67.2%, respectivamente.

### **1.7.2. Eliminación de nitrógeno y fósforo**

El nitrógeno en aguas residuales surge principalmente de las interconversiones metabólicas de compuestos extra derivados, mientras que el 50 % o más de fósforo provienen de detergentes sintéticos. Las principales formas en que ocurren en las aguas residuales son  $\text{NH}_4^+$  (amoníaco),  $\text{NO}_2^-$  (nitrito),  $\text{NO}_3^-$  (nitrato) y  $\text{PO}_4^{3-}$  (orto-fosfato). En conjunto, estos dos elementos se conocen como nutrientes y su eliminación se conoce como eliminación de nutrientes (Fogg, 1983).

Las aguas residuales se tratan principalmente mediante degradación biológica aeróbica o anaeróbica; sin embargo, el agua tratada aún contiene compuestos inorgánicos como los iones de nitrato, amonio y fosfato, lo que conduce a la eutrofización en los lagos y causa floraciones de microalgas nocivas, han considerado que P y N son la clave de la eutrofización. Por lo tanto, es necesario un tratamiento adicional para evitar la eutrofización del ambiente acuático (Beltrán, 2014; Olguín, 2003).

Los efectos adversos del enriquecimiento de nutrientes en la recepción de cuerpos de agua sensibles pueden causar eutrofización al estimular el crecimiento de plantas no deseadas como algas y macrófitas acuáticas. Otras consecuencias de los compuestos de nitrógeno en los efluentes de aguas residuales son la toxicidad del amoníaco no ionizado para peces y otros organismos acuáticos, la interferencia con la desinfección cuando se requiere un cloro residual libre y la metahemoglobinemia en influentes debido a concentraciones excesivas de nitrato (más de  $45 \text{ g m}^{-3}$ ) en agua potable (Lv *et al.*, 2018; Olguín, 2003).

El cultivo de microalgas ofrece un enfoque rentable para eliminar los nutrientes de las aguas residuales terciarias debido a su alta capacidad de absorción de nutrientes inorgánicos y se pueden cultivar en cultivos de masas en biorreactores solares al aire libre (Benavente *et al.*, 2012; Unc, Monfet, Potter, Camargo & Smith, 2017).

El interés en los cultivos de microalgas se debe al hecho de que los procesos de tratamiento convencionales adolecen de algunas desventajas importantes: (a) la eficacia variable depende del nutriente a eliminar; (b) costoso para operar; (c) los procesos químicos a menudo conducen a contaminación secundaria; y (d) pérdida de nutrientes potenciales valiosos (N, P) (De la Noüe *et al.*, 1992). La última desventaja es especialmente grave, porque los procesos de tratamiento convencionales conducen a una utilización incompleta de los recursos naturales (Fogg, 1983).

Muchos estudios demostraron el éxito del uso de cultivos de algas para eliminar nutrientes de aguas residuales ricas en compuestos nitrogenados y de fósforo. (Orlando *et al.*, 2016, 2017; Velásquez Vásquez & Brenes, 2015) señalaron que *Chlorella sp.* es muy común en todo tipo de cuerpos de agua, que juegan un papel importante como productores primarios y contribuye a la purificación de aguas eutróficas. La presencia o ausencia de ciertas especies de *Chlorella* puede ser utilizado para la evaluación de la calidad del agua y así evitar el reciclado de

nutrientes en las aguas receptoras, y para recuperar la biomasa producida, la cosecha o recuperación física de las células de algas también es esencial, y representa una de las dificultades técnicas y económicas importantes a superar (Velásquez & Brenes, 2015).

La remoción biológica de nitrógeno generalmente aparece como una opción válida y ofrece algunas ventajas sobre los tratamientos químicos y fisicoquímicos. (Orlando et al. 2016) utilizó cultivos de *Chlorella sp* para la eliminación de nitratos.

### **1.8. Factores que afectan el crecimiento de algas y la eliminación de nutrientes**

El crecimiento de algas y la absorción de nutrientes no solo se ven afectados por la disponibilidad de nutrientes, también dependen de interacciones complejas entre factores físicos como la intensidad de la luz, el pH, la temperatura y factores bióticos (Orlando *et al.*, 2016; Velásquez Vásquez & Brenes, 2015). El primer factor biótico que influye significativamente en el crecimiento de las algas es la densidad inicial, se espera que a mayor densidad de algas, mayor crecimiento y mayor eficiencia de eliminación de nutrientes.

### **1.9. Sistemas alternativos de cultivo de microalgas**

#### **1.9.1. Fotobiorreactores**

Un fotobiorreactor es un sistema cerrado forzado al máximo para la obtención de un mayor crecimiento de la microalga que se quiere cultivar. Estos sistemas de fotobiorreactores se caracterizan por el control y regulación de la mayoría de los parámetros de crecimiento de la microalgas (temperatura, CO<sub>2</sub>, pH, etc.), así que a su vez se reducen el riesgo de contaminaciones y las pérdidas de CO<sub>2</sub>. Las luces no inciden directamente en las células, sino que atraviesa unas paredes transparentes para llegar a ellas. En estos fotobiorreactores cerrados el intercambio de gases entre el cultivo y la atmósfera está muy limitado, y suele producirse acumulación de oxígeno en su interior que con un sencillo burbujeo de aire en el interior se libera (Pulz, 2001; Saeid & Chojnacka, 2015).

#### **1.9.2. Balsas**

Las balsas abiertas son piscinas artificiales de agua con una profundidad limitada donde las microalgas crecen sin ningún elemento de mezclado, por lo tanto, no son considerados fotobiorreactor estrictamente al no manipular las condiciones naturales (Saeid & Chojnacka, 2015).

Los fotobiorreactores cerrados se pueden clasificar según su diseño y su modo de operación. Desde el punto de vista del diseño se clasifican en:

- Planos o tubulares horizontales.
- Verticales, inclinados o espirales.
- Serpentes (tubos acodados con circulación en serie).
- Múltiples (circulación en paralelo desde un colector repartidor a uno recogedor).

Desde el punto de vista del modo de operación se clasifican:

- Impulsado o agitados por aire o bombas.
- Reactores de una fase (el intercambio de gases se realiza en una cámara separada).
- Reactores en dos fases, el intercambio de gases se realiza a lo largo de todo el reactor.

La elección del tipo de fotobiorreactor debe realizarse haciendo un estudio previo de la especie a cultivar, donde se debe saber la resistencia de esa alga a las condiciones ambientales o hidrodinámicas, costes de operación, la necesidad de esterilidad, el valor del producto final y de la disponibilidad de recursos como el agua y suelo (Hom-Díaz *et al.*, 2017).

### **1.9.3. Reactores**

Varias técnicas para el cultivo de microalgas fueron propuestas por investigadores y productores comerciales. Varias revisiones enumeran las soluciones tecnológicas. Estos métodos como piscinas, tanques, estanques abiertos, estanques redondos con brazo móvil, estanques de tipo raceway (pistas), sistemas de cascada con deflectores, bolsas grandes, fermentadores (para cultivos heterotróficos y mixotróficos), sistemas de dos etapas (Pires *et al.*, 2017).

Un parámetro importante del diseño de reactores para el crecimiento de organismos fotosintéticos es la relación de la superficie iluminada al volumen de solución de cultivo. Mediante la selección apropiada del volumen y la relación de la superficie irradiada, es posible reducir los efectos indeseables del sombreado automático o limitar el acceso a la luz por parte de la célula a otras células (Hom-Díaz *et al.*, 2017; Pulz, 2001; Tuantet *et al.*, 2014). Los cultivos internos (cerrados) permiten el cultivo en condiciones controladas de luz, temperatura y concentración de nutrientes.

El uso de estanques abiertos está limitado por la gran área requerida y la dificultad de mantener la esterilidad, otro problema de esta solución es el impacto de las condiciones climáticas. Otros sistemas utilizados menos frecuentemente para el

cultivo de microalgas en sistemas internos brindan oportunidades a mantener las condiciones de crecimiento apropiadas para cultivos, debido a los altos costos y las construcciones complicadas, estas soluciones no se usaron en la práctica industrial hasta el momento, todos los fotobiorreactores a escala de laboratorio se iluminan con luz artificial, donde la fuente de luz se coloca dentro o fuera del reactor (Hodges *et al.*, 2017; Tuantet *et al.*, 2014).

El grupo de sistemas abiertos llamados también estanques abiertos, incluye reservorios naturales como lagos, lagunas o estanques. A los efectos de las granjas comerciales, generalmente se construyen estanques poco profundos con gran superficie, diques y estanques de alcantarillas. La mayoría de los reactores son planos (denominados placas planas), reactores horizontales o inclinados, reactores cilíndricos y están hechos de vidrio u otro material permeable a los rayos de luz, y la suspensión de células de algas en circulación forzada por la bomba o mezcla que es forzada por aire (Contreras *et al.*, 2003).

#### **Estanques abiertos**

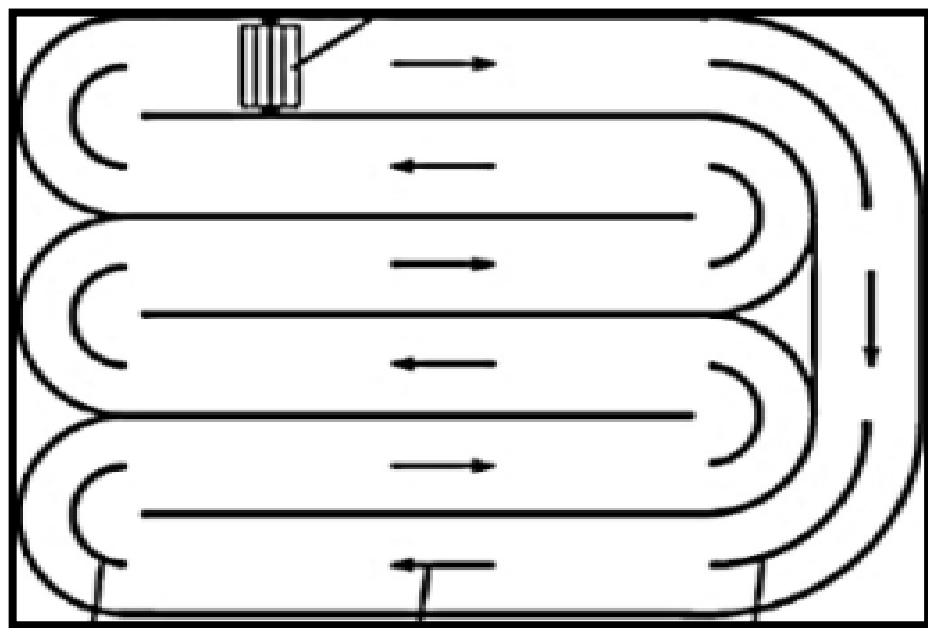


Figura 4. Estanques abiertos para cultivo de microalga.

**Ventajas** : Relativamente barata facilidad para limpiar bien para el cultivo en masa.

**Desventajas** : Poco control de condiciones de cultivo dificultades en cultivos a largo plazo baja productividad requerido para grandes áreas

de uso limitado a unas pocas cepas fáciles descontaminar (Saeid & Chojnacka, 2015).

### La columna vertical fotobiorreactor

*Ventajas* : Buen transporte masivo buena mezcla, no destructivo para células de baja potencia facilidad de consumo de la esterilización puede ser utilizado para la célula inmovilización reducido fotooxidación y foto inhibición fenómeno

*Desventajas* : pequeña iluminada área difícil de diseño con aumentando la escala superficie iluminada esta reducido (Saeid & Chojnacka, 2015).

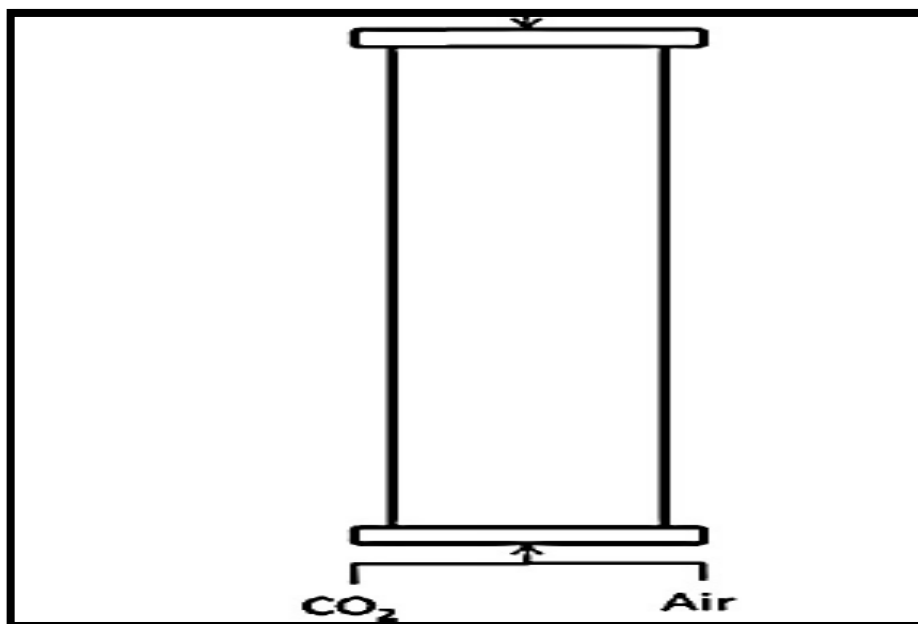


Figura 5. Estanque vertical para cultivo de microalga.

### Fotobiorreactores Planos

*Ventajas* : Piso grande superficie iluminada adecuado para al aire libre el cultivo puede ser utilizado para la célula inmovilización trayectoria de haz corto muy bien productividad relativamente barato fácil limpiar

*Desventajas* : pequeña iluminada área difícil de diseño con aumentando la escala superficie iluminada esta reducido Aumentando la escala requiere múltiples particiones y materiales de apoyo dificultades en controlando el muro de temperatura problema de ensuciamiento (Saeid & Chojnacka, 2015).

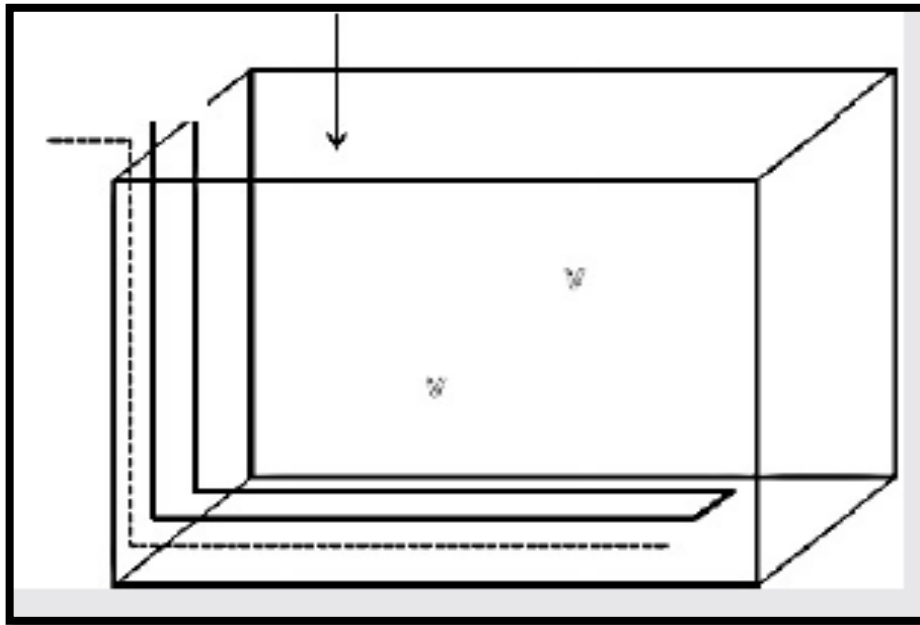


Figura 6. Estanques abiertos para cultivo de microalga.

#### 1.10. Separación y secado

En cualquier proceso de producción, la selección de los métodos apropiados de separación es un paso importante que debe darse en la etapa de diseño. Entre los principales factores que influyen en la elección de la clasificación del sistema de separación incluye la capacidad del rendimiento del sistema, el tamaño del producto o las impurezas y la concentración final deseada del producto. Dado que los procesos biotecnológicos se han utilizado ampliamente, es necesario elegir un método apropiado que permita obtener el producto de manera selectiva y efectiva, y así asegurar un proceso más eficiente (Saeid & Chojnacka, 2015). De manera similar, como la mayoría de los procesos microbianos, el paso de recuperación del producto representa el 20 - 30% de todos los costos de producción. Por lo tanto, la economía del cultivo de biomasa de microalgas depende principalmente de este método de separación. La separación de la biomasa microalgas del medio es un problema significativo debido al pequeño tamaño de las células de algas (3 - 30 micras de diámetro) y la baja densidad de la suspensión (ligeramente más alta que la densidad del agua), lo que en la práctica significa que el cultivo es muy diluir (200 - 600 mg/L, o 0.02 - 0.06% en peso seco), mientras que el contenido de materia seca en el filtrado representa 5 - 20% (Hernández & Labbé, 2014; Labbé *et al.*, 2017; Hernández, 2013).

Para someter la biomasa concentrada de microalgas a un tratamiento adicional, independientemente de la aplicación, las células deben contener menos del 10 % de



agua. La humedad es la causa de la descomposición del producto. Existe una diferencia entre el agua ligada al material biológico en forma de capa molecular (<2 % de humedad), que no es suficiente para mantener la actividad metabólica de las bacterias, los hongos o el moho y el agua por encima de este nivel, que está disponible para organismos de descomposición en la biomasa de algas. La humedad de hasta el 7% es tecnológicamente alcanzable y proporciona una protección contra el deterioro (Hernández *et al.*, 2013; Pulz, 2001; Saeid & Chojnacka, 2015)

## CAPÍTULO II

### METODOLOGÍA

Para el desarrollo de la investigación se realizó el aislamiento e identificación de la microalga *Chlorella sp* de muestras de agua provenientes de efluentes de aguas residuales (río Torococha y lagunas de oxidación), para después evaluar su crecimiento en distintos reactores, en función del tiempo, mediante la implementación de un sistema de luz artificial con reactores, a los que denominaremos fotobiorreactores; con *Chlorella sp* se evaluó la capacidad de remoción de nitrato y fosfato, en efluente de laguna de oxidación y en la trayecto del río Torococha (puente santa Mónica, carretera Escallani y la desembocadura hacia el río Coata), durante el periodo de ensayo de crecimiento de la microalga, se realizó monitoreo de OD, DBO, DQO, pH, Conductividad y Temperatura; finalmente para ver la eficiencia del sistema implementado se realizó un análisis de los porcentajes de nitratos y fosfatos de cada fotobiorreactor.

#### 2.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la Universidad Nacional de Juliaca. Los cultivos de la microalga se llevaron a cabo en los meses de enero-marzo, en las instalaciones del laboratorio del área de química de la escuela profesional de Ingeniería Ambiental y Forestal.

#### 2.2. Materiales

Para la ejecución del trabajo se utilizó material biológico, químico, equipos, entre otros, que a continuación se detalla:

##### 2.2.1. Equipos y/o instrumentos

- Microscopio, 10X, 20X, 40X y 100X
- Microscopio estéreo
- Medidor de pH
- Termómetro de -10 °C a 100°C
- Estufa

- Autoclave
- Matraz de 0,5 y 1,0 L
- Manguera de 3/16 pulgadas de diámetro
- Balanza analítica de 0.1 mg - 3000 g
- Cámara de Newbauer
- Centrífuga de 400 mil rev/min
- Espectrofotómetro de absorción atómica (laboratorio Bhios)
- Papel filtro para destilar de 1 micra
- Fuente alimentador de energía
- Focos de 9 Watts
- Cables
- Soquetes
- Interruptores
- Soportes de madera de 3.5 cm de grosor
- Clavos
- Pernos
- Sierra de uso manual
- Martillo
- Triplay para la cubierta del fotobiorreactor
- Pintura
- Tubo corrugado
- Bureta plástica de 10 mL o Micro bureta de 10 mL

### **2.2.2. Materiales de vidrio y/o plástico**

- Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- Pipetas de 1 mL, 2mL y 10 mL
- Probeta de 100 mL, 250 mL y 500 mL
- Tubos de ensayo 12x75 mL borosilicato
- Vasos de precipitado de 500 mL
- Fotobiorreactores de capacidad de 5 L y 12 L
- Envases de plástico de 7 L y 20 L
- Botellas Winckler de 300 mL
- Balones aforados de 1 L clase A para la preparación de reactivos

### 2.2.3. Reactivos

- Agua destilada
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- $\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- HCL 0,1 N
- KCl
- $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- $\text{Na}_2\text{HAsO}_3$
- $\text{NaHCO}_3$
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

### 2.2.4. Material biológico

Para la eliminación de nitratos y fosfatos se utilizó la microalga *Chlorella sp.*, las que han sido cultivadas en el laboratorio de química bajo condiciones controladas, estas microalgas, a fin de coleccionar la mejor representación.

## 2.3. Métodos

### 2.3.1. Toma de muestras de aguas residuales

No hay un método universal que permita la captura de todas las formas de microalgas por la gran diversidad de tamaño entre los diferentes taxones; por las pronunciadas diferencias en la densidad poblacional que obliga en algunos casos a concentrar las muestras y por la diferente movilidad de las especies (González, Buitrago, & Frontado, 1999). Por lo tanto, en este trabajo de investigación se realizó un muestreo puntual; en donde la colección de los puntos de muestreo 1, 2 y 4 fueron homogenizados en un mismo colector de muestra; en caso del muestreo del punto 3 fue recolectado en la última laguna de oxidación, donde se entiende que todas las aguas son homogenizadas las características fisicoquímicas son descritas en la tabla 6 (anexo 1).

#### Puntos de muestreo

Previamente se realizó el reconocimiento de campo para la identificación de los puntos de muestreo, el periodo de muestreo fue realizado en la época de lluvias. Estos puntos de muestreo fueron determinados de manera estratégica considerando las características del lugar (Tabla 8 y Figura 34, anexos 1 y 7).

### **2.3.2. Aislamiento de *Chlorella sp* de muestras de agua provenientes de efluentes de aguas residuales (río Torococha y laguna de oxidación)**

Existen varios métodos de aislamiento, que dependen de las dimensiones de las microalgas, de su movilidad y de su morfología. Los más utilizados son el aislamiento con micropipeta, en placas de agar y con diluciones sucesivas y es recomendable combinar dos o más de estas técnicas, que frecuentemente permite lograr más fácilmente el aislamiento de un solo organismo. (Schmidt, 2007). En todos los casos, el aislamiento que realizamos fue a través de diluciones en tubos de ensayo, verificando los resultados de la secuencia de operaciones con la ayuda de un microscopio.

Para el aislamiento de la microalga *Chlorella sp*, se coleccionarán muestras de agua proveniente de los efluentes de la planta de tratamiento de Juliaca (lagunas de oxidación), en 2 envases debidamente rotulados y esterilizados de 2500 mL de capacidad, las muestras serán trasladadas inmediatamente al laboratorio para ser observadas a microscopio para comprobar la presencia de la microalga y ser incubada a condiciones de cultivo (aireación 20°C y 16 horas luz) en laboratorio. A partir de las muestras coleccionadas se realizarán diluciones hasta la obtención del cultivo puro de *Chlorella sp* que se utilizará como inóculo. Para evitar el crecimiento de otros microorganismos en el aislamiento de *Chlorella sp*, se aplicará ampicilina 25 µg/mL (Rehman & Shakoori, 2004).

### **2.3.3. Cultivo de microalga (*Chlorella sp.*) en laboratorio**

El cultivo de microalgas en pequeños volúmenes (de 0,5 L a 250 L) a partir de inóculos de 0,25 L se realiza mediante la técnica del cultivo de microalgas utilizando recipientes de diferentes volúmenes. Este cultivo se basa en trasvasar de un matraz de menor capacidad a otro de mayor capacidad, una determinada cantidad de cultivo celular, de manera tal, que el número de células por mililitros (capacidad de carga) aumente en un determinado periodo de tiempo. En este nivel se usan nutrientes químicamente puros de 0,5 L a 1,0 L e industriales a partir de 7 L; esta técnica es aplicada en cultivos de microalgas mantenidos en laboratorio, sometidos a condiciones controladas de luz, temperatura, nutrientes y CO<sub>2</sub> (Aguilar *et al.*, 2011).

### **2.3.4. Determinación de la microalga *Chlorrella sp.***

Para el crecimiento de la microalga *Chlorella sp* se emplearon dos medios de cultivo: 1) una descarga de agua residual cruda del río Torococha (FBRT), 2) agua residual tratada en un sistema de lagunas de oxidación (FBRL); para la obtención

de la biomasa de *Chlorella sp.*, se preparó el medio de cultivo con las mismas aguas muestreadas, para ambos tipos de aguas residuales, a partir de un de ello se inoculó en los mismos fotobiorreactores, éste fue distribuido en seis recipientes de vidrio; tres recipientes contienen agua residual del Torococha y los otros tres de la laguna de oxidación. Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente de laboratorio (22 °C) y en presencia de luz durante 12 días, fotoperíodo de 12:12 horas, para favorecer el crecimiento del microorganismo (Sánchez, Garza, Cantú, Del Carmen & Montes, n.d.). La iluminación fue suministrada con lámparas fluorescentes a todos los cultivos. Asimismo, se eligió el tiempo y el espacio que garanticen mejor el desarrollo de *Chlorella sp.*

### **2.3.5. Evaluación del crecimiento *Chlorella sp.* en los fotobiorreactores**

Para el análisis cuantitativo del crecimiento en microalgas consistirá en realizar un recuento de los organismos presentes en las muestras, dado mediante evaluaciones sucesivas, se evaluará mediante microscopía óptica y el uso de una cámara cuadrículada, en la cual se hará el recuento de organismos por cada campo, considerándose dentro del cálculo los organismos que estén sobre las ranuras de la derecha y arriba más no las de la izquierda y abajo, muchas veces las muestras se someten a diluciones para facilitar el recuento de microalgas (Serrano B., *et al*, 2011).

### **2.3.6. Diseño y construcción de fotobiorreactor de sistema abierto**

El proceso de bioabsorción se llevará a cabo por diferentes mecanismos dependientes: factores ambientales externos, tipo de metal, formación iónica en disolución y tipo de sitio activo responsable de captar cada metal. Delgadillo, 2016 evaluó la contribución de grupos funcionales de la biomasa de *Chlorella sp* y reportaron que los grupos carboxílicos, aminos y tioles tienen la mayor influencia sobre la remoción de nitrógeno y fósforo. Siendo así, se diseñará un sistema que favorezca la bioabsorción de nitratos y fosfatos, se implementará un sistema de contenedores de vidrio de 0,2 m x 0,4 m de base y su altura variable de 10 cm (dos reactores), 15 cm (dos reactores) y 20 cm (dos reactores), estas dimensiones corresponden a la longitud promedio esperada para el cultivo de *Chlorella sp*; el sistema estuvo montado en una estructura de melamina a modo de escalones para los respectivos focos de 9 watts y cada reactor no presentará un ángulo de inclinación ya que la iluminación será directa de 90° en todos los fotobiorreactores, los efluentes las aguas residuales (Torococha y laguna de oxidación) se colocarán en 2 secciones con 3 reactores para cada agua residual, en un volumen de 5 L,

6 L y 7 L respectivamente. Para la construcción del sistema se considerarán las medidas precisadas en el Anexo 6.

### **2.3.7. Suministro de energía artificial**

La energía suministrada para cada fotobiorreactor es como sigue:

- Para la iluminación se usó focos de 9 watts, los cuales son distribuidos 6 focos para cada reactor, en total 36 focos, esto de acuerdo a la cantidad de lux empleado por el área requerido.
- Posteriormente se hizo las instalaciones de la estructura de soporte para los focos, en el cual se cortaron las maderas y se fijaron, en seguida se hicieron perforaciones para empernar los brazos de madera, los cuales sostendrán los focos en cada biorreactor.
- Para el recubrimiento se hizo con triplay, esto para controlar más adecuada de la temperatura y la iluminación más efectiva.
- Para finalizar se pintó las estructuras, y se puso en comprobación los focos, para luego ser encendida y así poner en marcha nuestro experimento.

En la observación con microscopio se observa crecimiento de *Chlorella* sp por medio de microscopio óptico, con un rango de 10X a 40X de las aguas residuales de las lagunas de oxidación y aguas del río Torococha.

### **2.3.8. Ensayo del oxígeno disuelto mediante método Winckler**

El oxígeno disuelto (OD) es necesario para la respiración de los microorganismos aerobios, así como para otras formas de vida aerobia, siguiendo el procedimiento siguiente:

- Llenar con muestra una botella Winckler hasta que rebose y la tapamos en todas las muestras.
- Se destapo la botella y se agregó 1 mL o 20 gotas de solución de  $MnSO_4$  a la muestra, seguido de 1 mL o 20 gotas del reactivo de álcali-yoduro-azida; el mismo fue tapado cuidadosamente para evitar burbujas de aire y su correspondiente homogenización por inversión de la botella.
- Cuando el precipitado se decante aproximadamente hasta la mitad del volumen de la botella, para dejar un sobrenadante claro sobre el hidróxido de manganeso, se agregó 1,0 mL o 20 gotas de  $H_2SO_4$  concentrado, luego

fue tapado y homogenizado por inversión, hasta disolución completa para fijar el oxígeno.

- Medir con una probeta 100 mL de solución y trasváselos a un Erlenmeyer de 250 mL.
- Titular con solución 0,025M de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  agregándolo gota a gota y agitando el Erlenmeyer hasta obtener un color amarillo pajizo pálido; en ese punto agregar de 3 a 5 gotas de solución de almidón en donde vira a color azul y continúe la titulación hasta la desaparición del color azul. Este es el punto final de la titulación. Si el color azul reaparece no se debe agregar más tiosulfato, ignore subsecuentes reapariciones del color mayor (Anexo 8).

Para titular un volumen correspondiente a 100 mL de la muestra original, se calcula la corrección por la pérdida de muestra desplazada por los reactivos, así para un total de 2 mL de reactivos de  $\text{MnSO}_4$  y álcali-yoduro-azida (1 mL de cada uno) en una botella de 300 mL.

$$\text{mg de OD/L} = \frac{\text{V. de Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times \text{Nor. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 8000 \times \text{Volumen de botella}}{\text{mL de muestra valorada} \times (\text{V. de botella})}$$

### **2.3.9. Ensayo del demanda bioquímica de oxígeno**

Uno de los ensayos más importantes para determinar la concentración de la materia orgánica de aguas residuales es el ensayo de DBO a cinco días. Esencialmente, la DBO es una medida de la cantidad de oxígeno utilizado por los microorganismos en la estabilización de la materia orgánica biodegradable, en condiciones aeróbicas a 20 °C (Anexo 9), para medir esta se realizó el siguiente procedimiento:

- Se llenó la garrafa con agua destilada, la necesaria para el análisis, teniendo en cuenta que el gasto aproximado es de 300 mL por botella Winckler y van a utilizar, 3 botellas para blanco, 3 botellas para cepa más agua de dilución, 3 botellas para estándar, 4 botellas para muestras y 1,5 L adicionales.
- Reserve el volumen de agua destilada desde el día anterior.
- Airear el agua por dos horas mínimo, utilizando la bomba de los acuarios.
- Verificar que la temperatura del agua de dilución sea de 20 °C a 30 °C.



- Controle la temperatura midiéndola con el oxímetro a una muestra que se toma en una botella Winkler, repita el proceso hasta llegar a 19 °C.

Efectúe el cálculo por medio de la ecuación:

$$\text{mg de } \frac{\text{O}_2}{\text{L}} = \frac{\text{ODConsumido ODConsumocep}}{V_m} * v$$

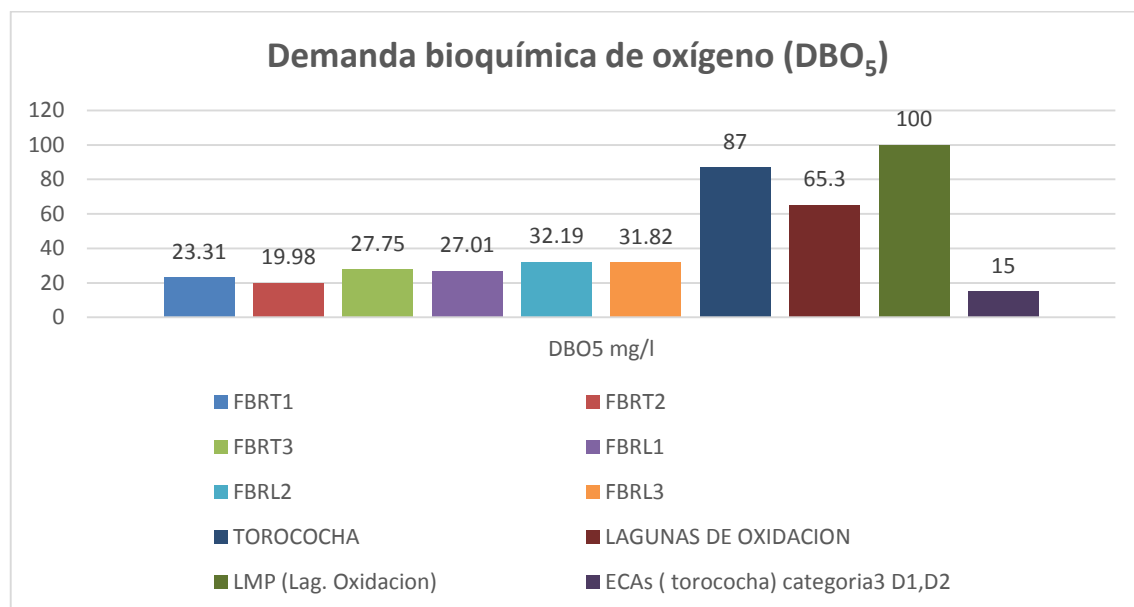
### **2.3.10. Determinación de los nitratos y fosfatos**

Se tomaron 100 mL de cada muestra, para obtener la concentración de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{-3}$  de cada tratamiento durante los 10 días de duración del experimento. En cultivos de microalgas las muestras se filtraron para separar la biomasa microalgal, seguidamente se procedió a la determinación de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{-3}$  mediante las técnicas de espectrofotómetro de absorción atómica en BHIOS LABORATORIOS S.R.L. con estos datos, se calculó el porcentaje de remoción (Wood *et al.*, 2005). En el Anexo 1 se detallan las fórmulas utilizadas para calcular dichos parámetros. Asimismo, se registraron los valores de pH y temperatura diariamente; valores de DBO, DQO y OD. En el Anexo 2 se detallan las condiciones de envío requerido por parte de laboratorio.

## CAPITULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

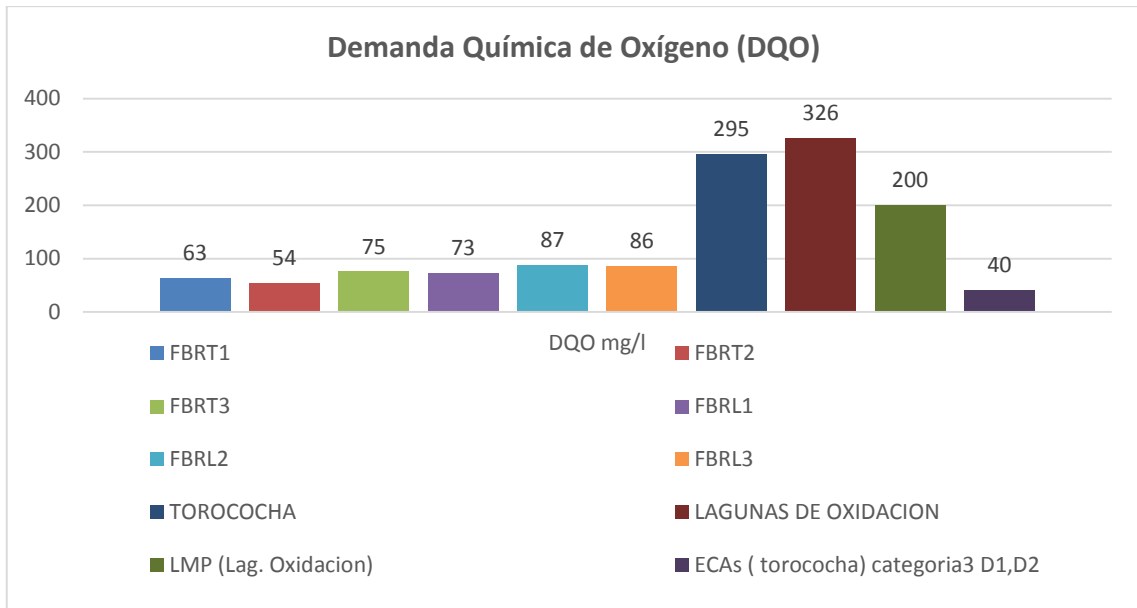
#### 3.1. Resultados



**Figura 7.** Comparación de reducción de DBO<sub>5</sub> con respecto a los ECAs y LMPs.

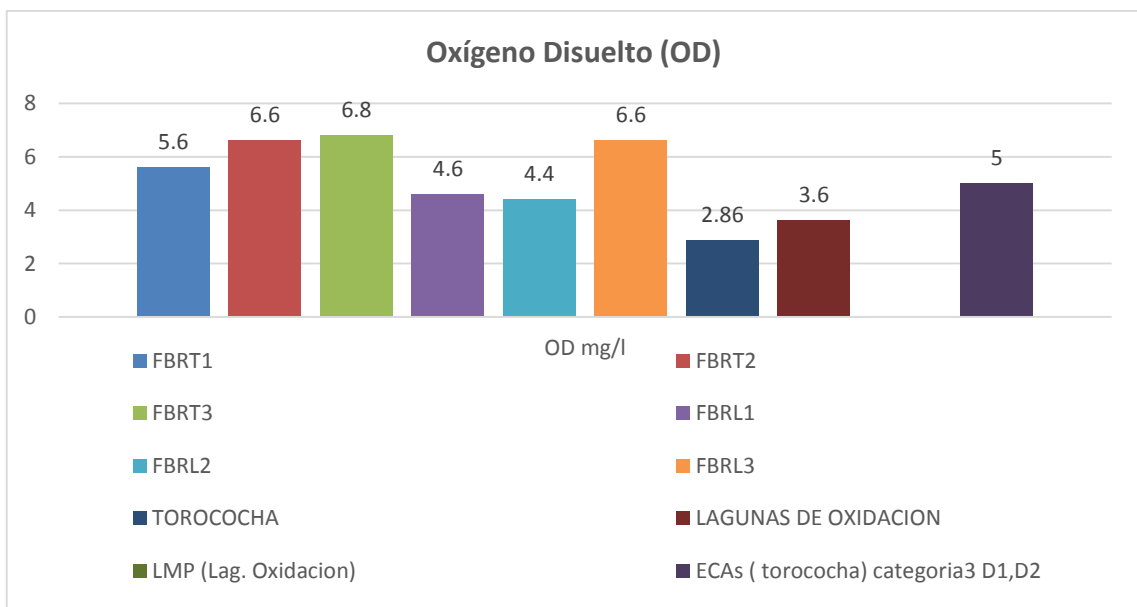
El río Torococha, presenta un alto valor de DBO<sub>5</sub> o materia orgánica presente con 87 mg/L, excediendo así el ECA-3 (15 mg/L); la presencia de este parámetro es debido a la influencia del vertimiento de aguas residuales de la ciudad de Juliaca.

Según (Aznar, 2000), el valor de la DQO debe ser menor a la DBO<sub>5</sub> pues no toda la materia oxidable químicamente ha de ser bio-oxidable. En general se puede decir que cuando la  $DBO_5/DQO < 0,5$  estamos ante un efluente fácilmente biodegradable, mientras que si es inferior a 0,2 será escasamente biodegradable.



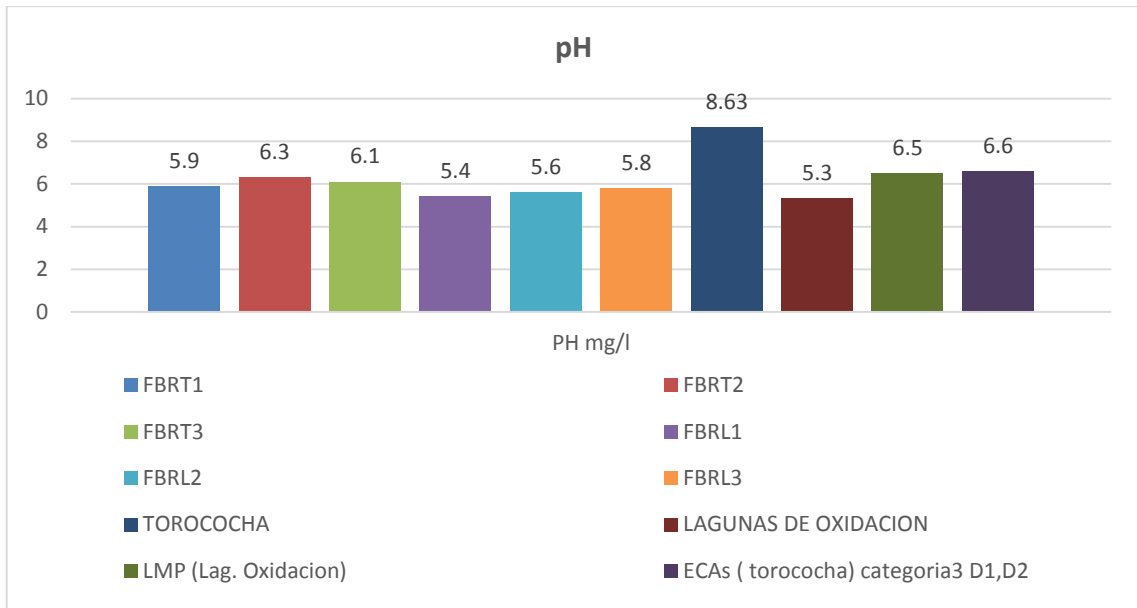
**Figura 8.** Comparación de reducción de DQO con los LMP para las lagunas de oxidación y ECA en el río Torococha.

Del mismo modo que la  $DBO_5$ , presenta un valor alto en lo que refiere a la DQO, además sobrepasa tanto los ECA como los LMP, este parámetro refleja el grado de contaminación por la concentración de materia orgánica.

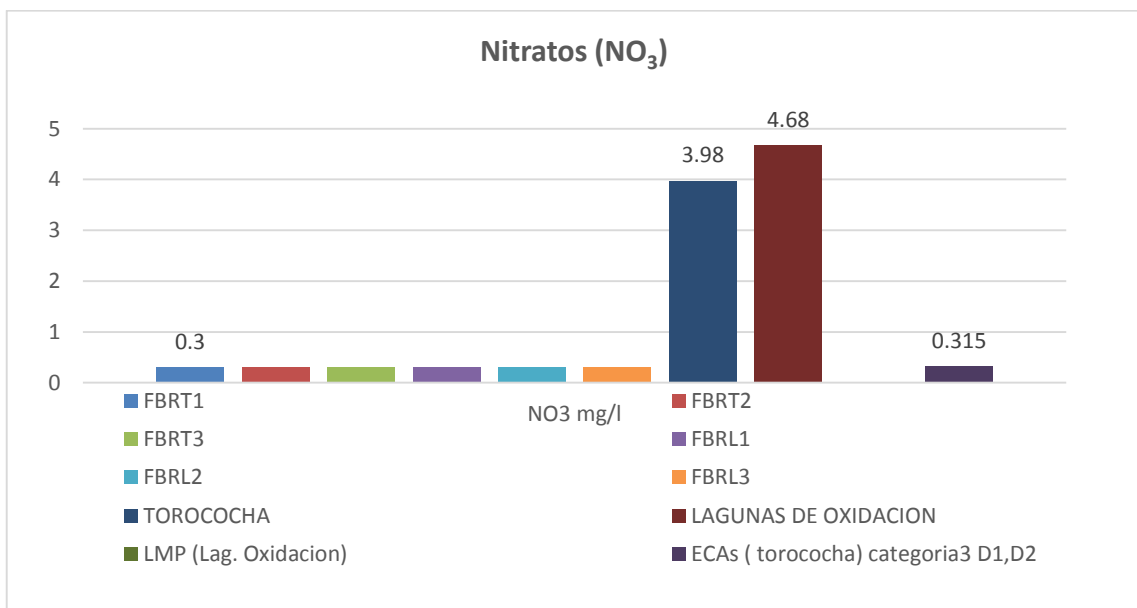


**Figura 9.** Aumento de oxígeno disuelto en fotobiorreactores respecto a los ECA.

El oxígeno disuelto cumple en la mayoría de los fotobiorreactores; esto debido a la presencia de microalgas durante todo el proceso de experimentación, esta condición de oxígeno disuelto es necesario para toda forma de vida, en especial la interacción de microorganismos aerobios los cuales aceleran la degradación de la materia orgánica.

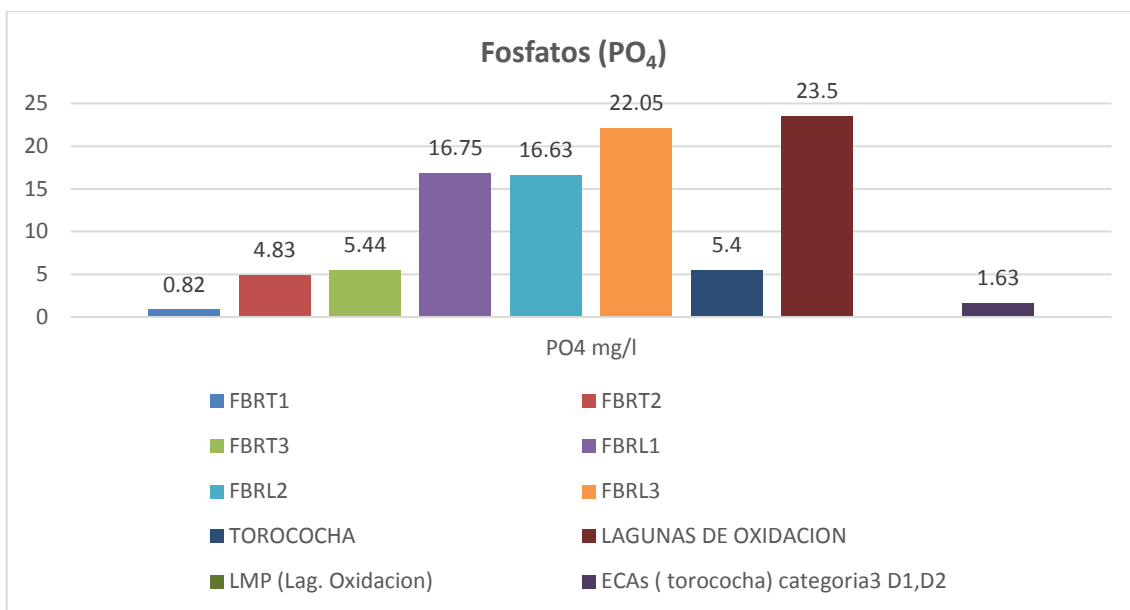


**Figura 10.** Registro de pH en cada fotobiorreactor respecto a los LMPs y ECAs.



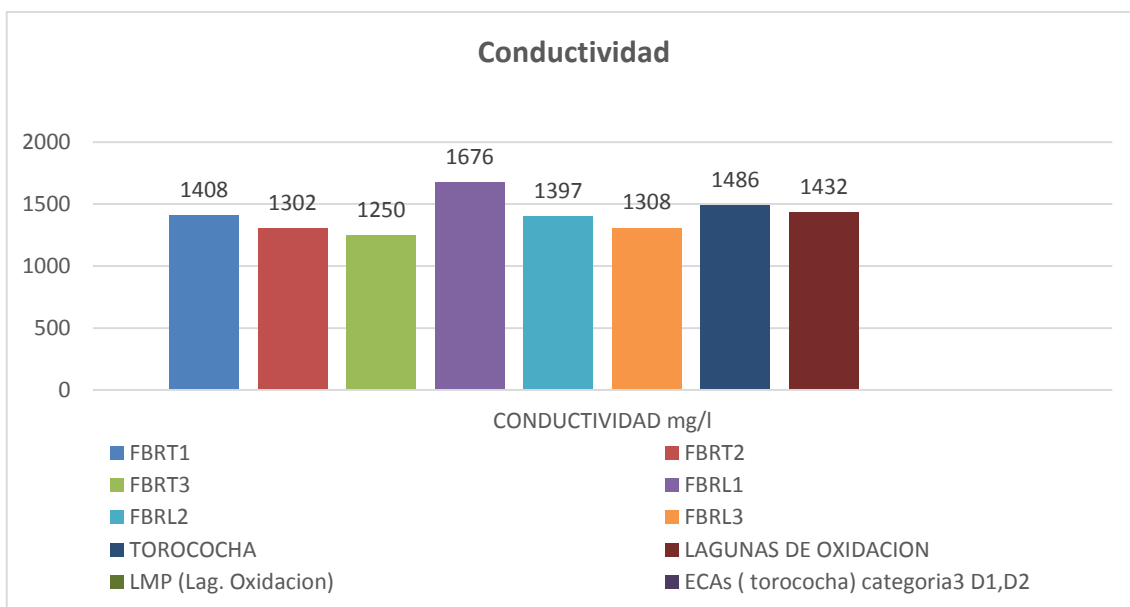
**Figura 11.** Comparación de reducción de nitratos respecto a los ECAs.

El nitrógeno total en las aguas residuales se encuentra en su forma oxidada de nitratos ( $\text{NO}_3$ ), el cual en el río Torococha se encuentra por encima de 0,315 mg/L ECA-3, dicho comportamiento probablemente relacionado con la agricultura y el vertimiento de las aguas residuales de Juliaca, ya que según (Manaham, 2007) el nitrógeno proviene de la descomposición, contaminantes minerales (fosfato); también se observa que respecto a los LMPs no existe un valor de  $\text{NO}_3$  para plantas de tratamiento de aguas residuales.



**Figura 12.** Comparación de reducción de fosfatos respecto a los ECAs.

Los fosfatos son la forma más habitual de encontrar el fósforo en agua residual, el río Torococha sobrepasa dichos valores permitidos en el ECA-3, esto está relacionado con las agrícolas, el uso de fertilizantes y también el vertimiento de las aguas residuales de Juliaca; de igual forma los LMP de vertimiento de las plantas de tratamiento de aguas residuales no existe.



**Figura 13.** Escala de conductividad eléctrica de cada fotobiorreactor.

**Tabla 1**

Comparación de condiciones iniciales (Torococha y lagunas de oxidación) y finales (Fotobiorreactores).

Parámetros	FBRT1	FBRT2	FBRT3	FBRL1	FBRL2	FBRL3	río Torococha	Lagunas de oxidación
DQO mg/L	63,00	54,00	75,00	73,00	87,00	86,00	295,00	326,00
DBO <sub>5</sub> mg/L	23,31	19,98	27,75	27,01	32,19	31,82	87,00	65,30
OD mg/L	5,60	6,60	6,80	4,60	4,40	6,60	2,86	3,60
PH mg/L	5,90	6,30	6,10	5,40	5,60	5,80	8,63	5,30
NO <sub>3</sub> mg/L	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	3,98	4,68
PO <sub>4</sub> mg/L	0,82	4,83	5,44	16,75	16,63	22,05	5,40	23,50
Conductividad mg/L	1408,00	1302,00	1250,00	1676,00	1397,00	1308,00	1486,00	1432,00

\*Se hace una comparación con lagunas de oxidación y río Torococha

**FBR** : Fotobiorreactor**DQO** : Demanda química de oxígeno**DBO** : Demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días**NO<sub>3</sub>** : Nitratos**PO<sub>4</sub>** : Fosfatos

Se observa diferencia tanto en las lagunas de oxidación y aguas el río Torococha, el FBRT1 demuestra mayor eficiencia, respecto a los demás ya que en ella se genera biopelículas que favorecen la mayor remoción de nitratos y fosfatos.

**Tabla 2**Porcentaje y tasa de remoción de NO<sub>3</sub> y PO<sub>4</sub> en los fotobiorreactores.

<b>NITRATO/FOSFATOS</b>	<b>FBRT1</b>	<b>FBRT2</b>	<b>FBRT3</b>	<b>FBRL1</b>	<b>FBRL2</b>	<b>FBRL3</b>
NO <sub>3</sub> mg/l (CI)	3,98	3,98	3,98	4,68	4,68	4,68
NO <sub>3</sub> mg/l (CF)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
PO <sub>4</sub> mg/l (CI)	5,70	5,70	5,70	23,50	23,50	23,50
PO <sub>4</sub> mg/l (CF)	0,82	4,83	5,44	16,75	16,63	22,05
Porcentaje de remoción NO <sub>3</sub>	93,00	93,00	93,00	94,00	94,00	94,00
Porcentaje de remoción PO <sub>4</sub>	85,00	28,00	26,00	25,00	25,00	21,00
Tasa de remoción NO <sub>3</sub>	1,84	1,84	1,84	2,19	2,19	2,19
Tasa de remoción PO <sub>4</sub>	2,44	0,41	0,13	3,37	3,43	0,72

**CI:** Condiciones iniciales**CF:** Condiciones finales después del tratamiento

## 3.2. Discusiones

### 3.2.1. Evaluación de crecimiento de *Chlorella Sp.* en los fotobiorreactores

Una vez aislada *Chlorella Sp.*, se inoculó en 6 fotobiorreactores FBRT1, FBRT2, FBRT3, FBRL1, FBRL2, FBRL3 ; así Saeid, (2015) menciona que para la producción óptima de microalgas es determinante a la altura que se encuentra la luz artificial con respecto a cada reactor, esto debido a la distancia, ya que en nuestro caso los reactores de 10 cm y 15 cm de altura recibieron menos cantidad de iluminación a la superficie, lo cual induce a una baja fotosíntesis, también se observó que a los 3 días el crecimiento de microalgas ya era notorio; para cada fotobiorreactor se usó iluminación de focos de 9 watts, con una duración de 36 horas, con su respectiva suspensión de 12 horas en todo el ensayo; para hacer el seguimiento del crecimiento de la microalga se usó microscopio de 10X a 40X ver figuras 29, 31 y 32 (Anexo 7).

El crecimiento de *Chlorella Sp.* en cada fotobiorreactor fue distinto, esto debido a las características de las muestras de agua utilizadas del río Torococha y lagunas de oxidación, según (Yang, Cheng, Yang, Zhou & Cen, 2016) influyen factores como; la iluminación, el oxígeno disuelto, temperatura, pH, la conductividad y el contenido de materia orgánica (DBO y DQO); esto es muy concordado a lo mencionado de (Tuantet *et al.*, 2014) quien dice que el crecimiento de microalgas es dependiente a las condiciones que propiciamos para su óptimo crecimiento en fotobiorreactores.

### 3.2.2. Variaciones diurnas externas

Los resultados del presente estudio indican que las variables influenciadas por la fotosíntesis (OD y pH) han tenido variaciones significativas durante el día, ya que la iluminación del sol influye a la iluminación artificial, así como la temperatura interna de cada fotobiorreactor es influenciada por la temperatura externa o ambiente, la influencia del sol tanto en la iluminación y temperatura han sido previamente reportados por (Orlando *et al.*, 2016). Durante la noche, la ausencia de la actividad fotosintética en conjunción con la continua respiración de las microalgas y otros microorganismos, resultado de esa actividad los valores de oxígeno disuelto y pH son más bajos , la actividad fotosintética de las microalgas comienza a la salida del sol ,produciendo el incremento de pH y oxígeno disuelto, algunos autores como Hernández y García (2012) y Berberoglu (2013) sugieren que los fotobiorreactores deben estar aislados de la iluminación solar.



Los resultados del presente estudio indican que las variables influyeron, especialmente por fotosíntesis de las microalgas (OD y pH) tienen variaciones significativas durante el día el fotobiorreactor (FBR) en relación al ritmo diurno de la iluminación artificial. La temperatura dentro del FBR se ve afectada por la temperatura exterior, esta tendencia también ha sido previamente informada por algunos autores Benavente (2012) y Lu (2016).

La figura 10 y tabla 5 (Anexo 1), ilustra las variaciones diarias de pH durante los días que se puso en marcha experimental, con la respiración continua de microalgas y otros microorganismos da como resultado valores bajos de pH y OD durante la noche; pero por la actividad fotosintética de la microalga después de la iluminación, así produciendo un pH y OD más altos valores. Las diferencias medias en pH después de los ciclos de oscuridad y luz, fueron aproximadamente 0,5 unidades de pH durante el día y 1 unidad de pH durante la noche. También se observaron diferencias entre el día y la noche. Los valores de pH más altos se midieron durante el día que durante la noche; Por la mayor actividad fotosintética de las microalgas, que el pH no presenta mayores cambios el cual favorece al crecimiento de las microalga, Ozkan (2013) menciona que una pequeña variación de pH durante el día dificultaría el óptimo desarrollo de las microalgas.

### **3.2.3. Oxígeno**

La acumulación de oxígeno en el cultivo es un problema importante para el crecimiento de microalgas (Pulz, 2001); como el oxígeno es un subproducto de la fotosíntesis y su concentración puede alcanzar más de cuatro veces la saturación de aire en el cultivo (Rosales & Morales, 2007) lo que restringe la tasa de fotosíntesis. Esto puede suceder tanto en fotobiorreactores cerrados y estanques abiertos; sin embargo, debido a la difusión en la atmósfera y el área de contacto, alta concentración de disueltos, el oxígeno es menos prominente en los estanques abiertos (Hernández *et al.*, 2013; Mohd *et al.*, 2017). Este efecto fue descubierto por Warburg en 1920, quien observó que la fotosíntesis de *Chlorella* sp. se redujo significativamente cuando el cultivo se expuso a puro oxígeno (Alcántara *et al.*, 2015; Hom-Díaz *et al.*, 2017), también otros investigadores han reportado una disminución en la productividad cuando un alto la concentración de oxígeno estaba presente en los cultivos de algas (Almeida *et al.*, 2017). Rosales & Morales (2007) demostraron una disminución en la productividad cuando el oxígeno disuelto se incrementó del 120% de la saturación del aire al 300%; cuando el cultivo fue despojado de oxígeno, la tasa de fotosíntesis de *Chlorella* sp. se expuso a puro oxígeno, la tasa de fotosíntesis se redujo en un 35%. Es por ello

que creemos que la alta concentración de oxígeno causa sensibilidad a la fotoinhibición y por lo tanto disminuye la productividad de microalgas, lo cual trae consigo el bajo porcentaje de remoción de nitratos y fosfatos.

#### **3.2.4. Rendimiento del fotobiorreactor con microalgas**

Varios estudios como Hernández (2012) y Hom-Díaz (2017) han explorado cómo consorcios de microalgas y bacterias puede ser eficaz para la eliminación de nutrientes en aguas residuales, las microalgas demostraron alta eficiencia en DQO, DBO<sub>5</sub> y N-NH<sub>4</sub>; y menores eficiencias en la eliminación de compuestos fosforados. La eficiencia de eliminación de DQO fue mayor en aguas de procedencia del Torococha que las lagunas de oxidación figuras 7 y 8. La disminución se atribuye a una menor actividad fotosintética por microalgas, así como una disminución en la concentración de biomasa de microalgas, esto es consecuencia de la irradiación de la luz artificial. Los compuestos de nitrógeno en particular nitratos en porcentajes de remoción fueron similares en todos los fotobiorreactores mayores al 93%; no se obtuvieron buenos porcentajes de remoción para el fósforo en la mayoría de los fotobiorreactores es menor 30%, excepto en el FBRT 1, siendo en esta el porcentajes de remoción de 85%. ANA (2017) menciona que las eficiencias de eliminación de N y P dependen de las especies de microalgas; la relación N/P puede variar significativamente, la presencia de especies de microalgas capaces de absorber el fósforo ha sido reportado previamente en estanques que tratan aguas residuales (Bermeo *et al.*, 2011).

#### **3.2.5. Evaluación de remoción de NO<sub>3</sub> y PO<sub>4</sub> en los fotobiorreactores**

La oxidación presenta mayor remoción de nitratos en todos los fotobiorreactores, mientras que el PO<sub>4</sub> solo se logra observar con mayor eficiencia en el FBRT1, ya que en este reactor hubo condiciones para la formación de biopelículas que ayudaron a una mayor remoción de fosfatos, esto también lo firman los autores Hom-Díaz *et al.* (2017) y Hodges *et al.* (2017) quienes mencionan la generación de biopelículas un zonas con microalgas presentan mayor ventaja a la microalgas que no lo hacen, y una de esas ventajas es la mayor eficiencia en remoción de nutrientes, es también claro que para ello se debe considerar otras condiciones propuestas por Palm (2017) quien propone las condiciones para que las biopelículas generadas por la microalgas sea mucho más eficiente en la reducción de nitratos y fosfatos de aguas residuales; en nuestro experimento, específicamente en el FBRT1, se observa la generación de dichas películas por

*Chlorella Sp*; el cual indica que bajo condiciones establecidas como el tipo de agua residual, la temperatura, la iluminación, son factores claves para el desarrollo de biopelículas, debido a ello en dicho fotobiorreactor la remoción de  $\text{NO}_3$  y  $\text{PO}_4$  son más efectivas, más detalle se presenta la tabla 1.

### **3.2.6. Condiciones para crecimiento de biopelículas de microalga *Chlorella Sp*.**

Según Sukačová, Trtílek & Rataj (2015) las biopelículas generadas por la microalga es mucho más eficiente en la reducción de nitratos y fosfatos de aguas residuales; en nuestro experimento, específicamente en el FBRT3 se observa la generación de dichas películas por *Chlorella Sp.*; autores como Palma *et al.*, (2017) señalan que la mayor eficiencia se hace usando especies endémicas de microalgas, el cual indica que bajo condiciones establecidas como el tipo de agua residual, la temperatura, al iluminación, son factores claves para el desarrollo de biopelículas, debido a ello en dicho fotobiorreactor la remoción de  $\text{NO}_3$  y  $\text{PO}_4$  son más efectivas.

## CONCLUSIONES

Se logró diseñar un sistema de reactores y construir el sistema de iluminación a escala laboratorio, con el fin de poder mantener el cultivo de microalgas durante 12 días, en donde se observó factores de diseño, como la profundidad, el volumen usado.

El Nitrato y Fosfato son un contaminante químico significativo para la eutrofización de lagos, lagunas y ríos, su alta concentración y estabilidad de los contaminantes ( $NO_3^-$  y  $PO_4^{3-}$ ), dan como resultado la eliminación complicada del contaminante en una planta de tratamiento de aguas residuales con tratamiento secundario. El método biológico que utilizamos, son microalgas autóctonas del río Torococha, que ha presentado una técnica prometedora para la eliminación de ( $NO_3^-$  y  $PO_4^{3-}$ ). En esta investigación, las microalgas autóctonas (*Chlorella* Sp) dentro de un sistema de fotobiorreactores a escala de laboratorio logran la remoción de  $NO_3$  y  $PO_4$  los cuales resultan ser eficientes frente a los nitratos, la remoción en todos los fotobiorreactores fue 93 %, mientras los fosfatos están más bajo en < 30 % de remoción; excepto en el FBRT1, una de las razones es la formación de biopelículas en la etapa experimental, debido a las condiciones óptimas como la temperatura, pH y la iluminación. Los resultados indicaron que las microalgas autóctonas (*Chlorella* Sp) crecieron y se eliminaron los iones de Nitrato y Fosfato del efluente de las lagunas de oxidación de la ciudad de Juliaca.

Las microalgas (*Chlorella* Sp.) dentro de un sistema de fotobiorreactores logran la remoción de  $NO_3$  y  $PO_4$  los cuales resultan ser eficientes con respecto a los nitratos ya que la remoción en todos los fotobiorreactores es en un 93%, mientras que la remoción de fosfatos fue menor al 30%; excepto en el FBRT1, una de las razones es por la formación de biopelículas en la etapa experimental, también debido a las condiciones óptimas como la temperatura, pH e iluminación.

## RECOMENDACIONES

El equipo semilleros sugiere que el proyecto se lleve a una escala de banco para tener una mayor comprensión acerca de la remoción de  $\text{PO}_4$ ; así también se debe considerar para futuras investigaciones la cantidad de volumen requerido en la que puede ser removido los nitratos y fosfatos

De acuerdo al estudio realizado se sugiere realizar un estudio más detallado sobre remoción del fosfato, debido a que ésta no tiene una remoción eficiente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A. & Ibraheem, I. B. M. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- Aguilar, C., Chang, A., Tenorio, G., Ynga, H., Oscanoa, H., Flores, R., Tenorio, L. García, L. (2011). *Compendio metodológico para la extracción de lípidos totales a partir de biomasa microalgal proyecto imarpe-fincyt "Determinación de la biomasa microalgal potencialmente acumuladora de lípidos para la obtención de combustible"* Lima, Perú. Retrieved from <http://www.imarpe.pe>
- Alcántara, C., Posadas, E., Guieysse, B. & Muñoz, R. (2015). Microalgae based Wastewater Treatment. *In Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*.
- Alexandra, M., Cabrera, C., Fernanda, M., Tenemaza, P., Andrés, I. & Alvarado Martínez, O. (2014). *Línea base para el aprovechamiento de microalgas de sistemas de tratamiento de agua residual*. Universidad de Cuenca.
- Aurelio, R., López, N., Meas Vong, Y., Ortega Borges, R. & Olguín, E. J. (2004). Fitorremediación: Fundamentos y aplicaciones. *Fitorremediación*, 4, 15.
- Aznar, J. A. (2000). *Determinación de los parámetros físico-químicos de calidad de las aguas*. Madrid, España.
- Benavente, R., Montanez, J. C., Aguilar, C. N. & Zavala, A. M. (2012). *Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores*. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 4, 13. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/262560081>.
- Beltrán, J. (2014). *Desarrollo de un proceso de remoción de nutrientes de efluentes eutróficos por un consorcio de microalgas nativas de nuevo león, méxico cultivadas en un nuevo fotobiorreactor*. universidad autónoma de nuevo león. Universidad Autónoma de Nuevo León. México.
- Bermeo. (2011). *Estudio del cosechado de cultivos de microalgas en agua residual mediante técnicas de centrifugado*. CENESCYT, Cadiz, España.
- Bertule, M., Lloyd, J., Korsgaard, L., Dalton, J., Welling, R., Barchiesi, S. & Smith, M. (2014). *Nations Environment Programme Publication: Green Infrastructure Guide for Water Management: Ecosystem-based management approaches for water-related infrastructure projects*.

- Burkart, M. R., & Stoner, J. D. (2007). *Nitrate in aquifers beneath agricultural systems*. In *Water Science and Technology*.
- Camacho, J. C. (2015). *Cosechado de microalgas cultivadas en lagunas de alta carga para el tratamiento de aguas residuales: efecto del almidón sobre la floculación y la producción de biogás*. UPC.
- CEPES. (2007). *Evaluación de la contaminación del lago Titicaca*.
- Coila, J. C. (2017). *Evaluación de la concentración de metales pesados en las aguas superficiales del río Coata*. Universidad Nacional del Altiplano.
- Contreras, C., Peña, J., Flores, L., ... Olivia. (2003). Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, 28(8), 8.
- De la Noüe, J., Laliberté, G. & Proulx, D. (1992). Algae and waste water. *Journal of Applied Phycology*. <https://doi.org/10.1007/BF02161210>
- De Morais, M. G.; Vaz, B.; De Morais, E. & Costa, J. (2015). Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. *BioMed Research International*.
- Delgadillo, E., González, A., Prieto, F. & Villagómez, R. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14, 597–612.
- Delgadillo, L., Lopes, F., Taidi, B. & Pareau, D. (2016). Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotechnology Reports*, 11, 18 – 26.
- Fernando, J., González, C., Taranco, Y., & Morales, O. (2015). Las aguas residuales y sus consecuencias en el Perú. *Saber y Hacer Revista Revista de La Facultad de Ingeniería de La USIL*, 2, 18.
- Florez, O. (2014). *Análisis del problema del agua potable y saneamiento: ciudad de Puno: Situación actual y realidad*. *Rev. Investig. Altoandín* (Vol. 16). Retrieved from <http://www.unap.edu.pe/oui/ria/>
- Fogg, E. (1983). *The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis* *Botánica Marina* (Vol. XXVI).
- Gómez, L. M. (2007). *Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos* (Vol. XIX).
- Gonçalves, L., Pires, M. & Simões, M. (2017). A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>

- González, B., Buitrago, E., & Frontado, K. (1999). *Evaluación de medios nutritivos para el crecimiento de tres microalgas marinas de uso común en acuicultura* (número 151). Venezuela.
- Hernández, A. & Labbé, I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*.
- Hernández, D., Riaño, B., Coca, M., & García, M. (2013). Treatment of agro-industrial wastewater using microalgae-bacteria consortium combined with anaerobic digestion of the produced biomass. *Bioresource Technology*.
- Hodges, A., Fica, Z., Wanlass, J., VanDarlin, J. & Sims, R. (2017). Nutrient and suspended solids removal from petrochemical wastewater via microalgal biofilm cultivation. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.107>
- Hoffmann, P. (1998). Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *Journal of Phycology*.
- Hom, A., Jaén, A., Bello, I., Rodríguez, S., Vicent, T., Barceló, D. & Blánquez, P. (2017). Performance of a microalgal photobioreactor treating toilet wastewater: Pharmaceutically active compound removal and biomass harvesting. *Science of the Total Environment*.
- Hu, Y., Hao, X., Van Loosdrecht, M., & Chen, H. (2017). Enrichment of highly settleable microalgal consortia in mixed cultures for effluent polishing and low-cost biomass production. *Water Research*.
- Jbari, N. (2012). *Utilización secuencial de microalgas icroalgas en depuración y adsorción de Cr(VI)*. Universidad de Granada.
- Labbé, I., Ramos, L., Hernández, A., Baeza, A., & Hansen, F. (2017). Microalgae growth in polluted effluents from the dairy industry for biomass production and phytoremediation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*.
- Lentini. (2015). *El futuro de los servicios de agua y saneamiento en America Latina*. (B. I. de desarrollo, Ed.).
- Lizarazo, M., & Gutiérrez, M. (2013). *Sistemas de plantas de tratamiento de aguas residuales*. Universidad Nacional de Colombia.
- Lv, J., Liu, Y., Feng, J., Liu, Q., Nan, F., & Xie, S. (2018). Nutrients removal from undiluted cattle farm wastewater by the two-stage process of microalgae-based wastewater treatment. *Bioresource Technology*.



- Martin, F. (2010). *Optimization of photobioreactor for astaxanthin production in chlorella zofingiensis*. national university of singapore. Retrieved from <http://scholarbank.nus.sg/bitstream/10635/23745/1/MartinFPH.pdf>
- García, M. (2011). *Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos acoplada a la eliminación fotosintética de CO<sub>2</sub>*. Universidad de Sevilla.
- Mohd, F., Abu Hasan, H., Takriff, S., & Sheikh Abdullah, R. (2017). A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. *Journal of Water Process Engineering*.
- Montaño, S. A. (2015). *Microalgas: Aplicaciones e innovaciones en el tratamiento de aguas contaminadas y la producción de biocombustibles*. Universidad de los Andes.
- Sánchez, T., Garza, M., Almaguer, V., Del Carnea, I., & Liñán, A. (n.d.). *Art. La2*.
- Olguin, E. J. (2003). Phycoremediation: Key issues for cost-effective nutrient removal processes. In *Biotechnology Advances*.
- OMS. (2016). *Preventing disease through healthy environments*. (Editorial consultant: Vivien Stone, Ed.). Switzerland.
- Orduz, R.. (2016). *Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones. Una revisión bibliográfica*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
- Orlando, M., Alfaro, G., Roger, I., Proenza, A., li, R., Ajani, I., & Li. (2016). *Dynamic model of a thin layer photobioreactor, used for the cultivation of the microalga Chlorella sp. and bacteria in wastewater of high organic load* (Vol. XXXVII).
- Orlando, M., Alfaro, G., Roger, I., Proenza, A., Ajani, I., & Li, R. (2017). *Modelo dinámico de un fotobiorreactor de capa fina, utilizado para el cultivo de la microalga Chlorella sp. y bacterias en aguas residuales de alta carga orgánica* *Dynamic model of a thin layer photobioreactor, used for the cultivation of the microalga Chl*. Cuba.
- Ozkan, A., & Berberoglu, H. (2013). Physico-chemical surface properties of microalgae. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*.
- Palma, H., Killoran, E., Sheehan, M., Berner, F., & Heimann, K. (2017). Assessment of microalga biofilms for simultaneous remediation and biofuel generation in mine tailings water. *Bioresource Technology*, 234, 327–335.
- Peltroche, 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*. Universidad Ricardo Palma.
- Pérez, C., María, J., Campos, C., & Salgado Silva, V. (2013). Tratamiento de aguas residuales con tecnologías alternativas en una pequeña unidad doméstica–

- productiva. *UNICIENCIA*, 27(1), 2013. Retrieved from [www.revistas.una.ac.cr/uniciencia](http://www.revistas.una.ac.cr/uniciencia)
- Pires, J. C. M., Alvim-Ferraz, M. C. M., & Martins, F. G. (2017). Photobioreactor design for microalgae production through computational fluid dynamics: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- Pulz, O. (2001). Photobioreactors: Production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Rehman, A., & Shakoori, A. R. (2004). *Tolerance and Uptake of Cadmium and Nickle by Chlorella sp., Isolated from Tannery Effluents. Pakistan J. Zool* (Vol. 36).
- S. E. Manaham. (2007). *Hidden page*. (Reverte, Ed.) (primera ed). México.
- Saeid, A., & Chojnacka, K. (2015). Toward production of microalgae in photobioreactors under temperate climate. *Chemical Engineering Research and Design*.
- Sukačová, K., Trtílek, M., & Rataj, T. (2015). Phosphorus removal using a microalgal biofilm in a new biofilm photobioreactor for tertiary wastewater treatment. *Water Research*.
- SUNASS. (2008). *Diagnóstico situacional de los sistemas de tratamiento de aguas residuales en las eps del Perú y propuestas de solución*. Lima, Perú.
- Tuantet, K., Temmink, H., Zeeman, G., Janssen, M., Wijffels, R. H., & Buisman, C. J. N. (2014). Nutrient removal and microalgal biomass production on urine in a short light-path photobioreactor. *Water Research*.
- Unc, A., Monfet, E., Potter, A., Camargo, M., & Smith, S. (2017). Note to Editor: Microalgae cultivation for wastewater treatment and biofuel production: a bibliographic overview of past and current trends. *Algal Research*.
- Velásquez, S., & Brenes, A. U. (2015). Diseño, construcción y puesta en marcha de un fotobiorreactor tubular para producir la microalga chlorella sp. *Ciencia y Tecnología*, 30(1), 28–49.
- Von Sperling, M. (2008). Basic principles of wastewater treatment. In I. Publishing (Ed.), *Choice Reviews Online* (p. 208). Brazil: London SW1H 0QS.
- WWAP. (2017a). *Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas*. Paris, Francia. Retrieved from <http://unesdoc.unesco.org/images/0024/002476/247647s.pdf>
- WWAP. (2017b). *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2017. Aguas residuales: El recurso desaprovechado*. París, paris. Retrieved from [www.unesco.org/open-access/terms-use-ccbysa-en](http://www.unesco.org/open-access/terms-use-ccbysa-en).

## ANEXOS

### ANEXO 1. Registros de parámetros

**Tabla 3**

Datos registrados durante el ensayo en muestras de agua de las lagunas de oxidación

Muestras	Demanda química de oxígeno (DBO <sub>5</sub> )
FBRT1	23,31 mg/L
FBRT2	19,98 mg/L
FBRT3	27,75 mg/L
FBRL1	27,01 mg/L
FBRL2	32,19 mg/L
FBRL3	31,82 mg/L

**Tabla 4**

Registro de pH

Registro de pH							
Fecha	Hora	FBRT1	FBRT2	FBRT3	FBRL1	FBRL2	FBRL3
26/02/18	9:00 am	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5
27/02/18	10:00 am	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
28/02/18	9:00 am	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9
01/03/18	10:00 am	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
02/03/18	9:00 am	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
03/03/18	10:00 am	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
04/03/18	9:00 am	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
05/03/18	10:00 am	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5
06/03/18	9:00 am	5,4	5,4	5,4	5,4	5,4	5,4
07/03/18	10:00 am	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2
08/03/18	9:00 am	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
09/03/18	10:00 am	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6

**Tabla 5**

Parámetros medidos de muestras de agua residual

Parámetros fisicoquímicos	Río Torococha	Lagunas de oxidación	Unidad de medida
OD	2.86	3.6	mg/L
PH	8.63	5.3	mg/L
DBO <sub>5</sub>	87	65.3	mg/L
DQO	295	326	mg/L
NO <sub>3</sub>	3.98	4.68	mg/L
PO <sub>4-3</sub>	5.4	23.5	mg/L
Temperatura	21.5	21.5	°C
Conductividad	1486	1452	uS/cm

**Tabla 6**

Definición de variables

Variabes	Indicadores
concentraciones de NO <sub>3</sub> y PO <sub>4</sub>	Concentración de NO <sub>3</sub> y PO <sub>4</sub> (mg/l)
Velocidad de flujo	(ml/min)
Tiempo de retención	Días /horas
Crecimiento de microalgas	Número de células de microalgas /ml
Remoción de nitrato	Concentración residual de NO <sub>3</sub> (ppm)
Remoción de fosfato	Concentración residual de PO <sub>4</sub> (ppm)

**Tabla 7**

Ubicación de los puntos de muestreo

N°	Denominación	Ubicación geográfica		Cantidad de muestra (L)
		Latitud	Longitud	
1	Puente Santa Mónica ubicado en la urbanización de San Isidro - Juliaca	15° 29' 34.9" S	70° 07' 06.2" W	5
2	Laguna de oxidación de aguas residuales del distrito de Juliaca	15° 29' 58.7" S	70° 06' 01.4" W	7
3	Zona media del río Torococha ubicado a la altura del km6 de la carretera Escallani	15° 29' 37.3" S	70° 05' 05.4" W	7
4	Desembocadura del río Torococha ubicado en la salida hacia Coata.	15° 30' 21.3" S	70° 04' 13.9" W	20

**Tabla 8**

Dimensiones de cada fotobiorreactor

<b>Reactor</b>	<b>Origen de la muestra</b>	<b>Cantidad de agua residual</b>	<b>Dimensiones</b>
<b>FBRT1</b>	río Torococha	5 L	0,2 m x 0,4 m x 10 cm
<b>FBRT2</b>	río Torococha	6 L	0,2 m x 0,4 m x 15 cm
<b>FBRT3</b>	río Torococha	7 L	0,2 m x 0,4 m x 20 cm
<b>FBRL1</b>	laguna de oxidación	5 L	0,2 m x 0,4 m x 10 cm
<b>FBRL2</b>	laguna de oxidación	6 L	0,2 m x 0,4 m x 15 cm
<b>FBRL3</b>	laguna de oxidación	7 L	0,2 m x 0,4 m x 20 cm

Anexo 2. Resultados de los análisis de las muestras en laboratorio



**BHIOS**  
LABORATORIOS



**INFORME DE ENSAYOS N° 0883- 2018**  
**PÁGINA 2 DE 2**

**RESULTADOS**

LAB	DETERMINACIÓN	Agua residual	
		FBRT1	UNIDADES
FQ	Conductividad (25°C)	1408	µS/cm
FQ	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	63	mg/L
FQ	Nitrato (NO <sub>3</sub> -)	<0.3	mg/L
FQ	Elemento P/Fosfato (PO <sub>4</sub> -3)	0.82	mg/L

**ABREVIATURAS:**  
 mg/L : Miligramos por litro  
 µS/cm : Microsiemens por centímetro

**OBSERVACIONES :**  
 \* Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA  
 \*\*Estos métodos quedan fuera del alcance de la acreditación del INACAL-DA debido a las siguientes observaciones a la aptitud de la muestra al momento de la recepción (Autorizado y aceptado por el cliente):  
 Conductividad: Max. 28 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.  
 Demanda Química de Oxígeno: Max. 7 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.

Cualquier valor precedido por "<" indica menor al límite de detección del método

**MÉTODOS UTILIZADOS :**  
 Conductividad (25°C) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Part 2000 Method 2510-B Conductivity. Laboratory Method. Pag. 1-4. 22nd Ed. 2012  
 Demanda Química de Oxígeno (DQO) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Pa 5000 Method 5220 D Chemical Oxygen Demand(COD).Closed Reflux,Colorimetric Method. Pag. 5-6 22nd Ed. 2012  
 Elemento P/Fosfato (PO<sub>4</sub>-3) : Water Analysis Handbook HACH. Phosphorus, Reactive (Orthophosphate). Method 8048: PhosVer 3 (Ascorbic Acid) Method. Pag.865. 4th Ed. Rev.2.  
 Nitrato (NO<sub>3</sub>-) : Water Analysis Handbook HACH. Nitrate. Method 8039: Cadmium Reduction Method. Pag.591. 4th Ed. Rev.2.

**FECHAS DE EJECUCIÓN DE LOS ENSAYOS :** FQ 12/03/2018 al 17/03/2018  
**FECHA DE EMISIÓN DEL PRESENTE INFORME DE ENSAYOS :** 20/03/2018



**Bigo. Miguel Valdivia Martínez**  
Gerente Técnico

Fin del Informe



PRT-10-F-05-IE Versión: 03 Fecha de Emisión: 02/01/18 Elaborado por: GT / Revisado por: CAC / Aprobado por: GG Pagina 01 de 01

Av. Quiñones B-6 (2do. Piso) - Urb. Magisterial II Etapa - Yanahuara - Arequipa - Perú  
 Teléfono: ++51 (0)54 273320 / 274515 RPC 983768883 RPM #954068110  
 e-mail: bhios@bhioslabs.com y operaciones@bhioslabs.com

BHIOS LABORATORIOS ...calidad a su servicio

Figura 14. Resultados de los análisis FBRT1.



### RESULTADOS

LAB	DETERMINACIÓN	Agua residual		UNIDADES
			FBRT2	
FQ	Conductividad (25°C)		1302	µS/cm
FQ	Demanda Química de Oxígeno (DQO)		54	mg/L
FQ	Nitrato (NO <sub>3</sub> -)		<0.3	mg/L
FQ	Elemento P/Fosfato (PO <sub>4</sub> -3)		4.82	mg/L

**ABREVIATURAS:**

mg/L

µS/cm

: Miligramos por litro

: Microsiemens por centimetro

**OBSERVACIONES :**

\* Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA

\*\*Estos métodos quedan fuera del alcance de la acreditación del INACAL-DA debido a las siguientes observaciones a la aptitud de la muestra al momento de la recepción (Autorizado y aceptado por el cliente):

Conductividad: Max. 28 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.

Demanda Química de Oxígeno: Max. 7 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.

Cualquier valor precedido por "<" indica menor al límite de detección del método

**MÉTODOS UTILIZADOS :**

Conductividad (25°C)

: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Part 2000 Method 2510-B Conductivity. Laboratory Method. Pag. 1-4. 22nd Ed. 2012

: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Pa 5000 Method 5220 D Chemical Oxygen Demand(COD).Closed Reflux,Colorimetric Method. Pag. 5-6. 22nd Ed. 2012

: Water Analysis Handbook HACH. Phosphorus, Reactive (Orthophosphate). Method 8048: PhosVer 3 (Ascorbic Acid) Method. Pag.865. 4th Ed. Rev.2.

: Water Analysis Handbook HACH. Nitrate. Method 8039: Cadmium Reduction Method. Pag.591. 4th Ed. Rev.2.

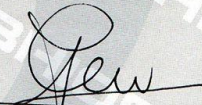
Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Elemento P/Fosfato (PO<sub>4</sub>-3)

Nitrato (NO<sub>3</sub>-)

FECHAS DE EJECUCIÓN DE LOS ENSAYOS : FQ 12/03/2018 al 17/03/2018

FECHA DE EMISIÓN DEL PRESENTE INFORME DE ENSAYOS : 20/03/2018

Blgo. Miguel Valdivia Martínez  
Gerente Técnico

Fin del Informe

Figura 15. Resultados de los análisis FBRT2.



**RESULTADOS**

LAB	DETERMINACIÓN	Agua residual		UNIDADES
		FBRT3		
FQ	Conductividad (25°C)	1250		µS/cm
FQ	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	75		mg/L
FQ	Nitrato (NO <sub>3</sub> -)	<0.3		mg/L
FQ	Elemento P/Fosfato (PO <sub>4</sub> -3)	5.44		mg/L

**ABREVIATURAS:**

mg/L : Miligramos por litro  
µS/cm : Microsiemens por centímetro

**OBSERVACIONES :**

\* Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA  
\*\*Estos métodos quedan fuera del alcance de la acreditación del INACAL-DA debido a las siguientes observaciones a la aptitud de la muestra al momento de la recepción (Autorizado y aceptado por el cliente):  
Conductividad: Max. 28 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.  
Demanda Química de Oxígeno: Max. 7 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.  
Cualquier valor precedido por "<" indica menor al límite de detección del método

**MÉTODOS UTILIZADOS :**

Conductividad (25°C) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Part 2000 Method 2510-B Conductivity. Laboratory Method. Pag. 1-4. 22nd Ed. 2012  
Demanda Química de Oxígeno (DQO) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Pa 5000 Method 5220 D Chemical Oxygen Demand(COD).Closed Reflux,Colorimetric Method. Pag. 5-6 22nd Ed. 2012  
Elemento P/Fosfato (PO<sub>4</sub>-3) : Water Analysis Handbook HACH. Phosphorus, Reactive (Orthophosphate). Method 8048: PhosVer 3 (Ascorbic Acid) Method. Pag.865. 4th Ed. Rev.2.  
Nitrato (NO<sub>3</sub>-) : Water Analysis Handbook HACH. Nitrate. Method 8039: Cadmium Reduction Method. Pag.591. 4th Ed. Rev.2.

FECHAS DE EJECUCIÓN DE LOS ENSAYOS : FQ 12/03/2018 al 17/03/2018

FECHA DE EMISIÓN DEL PRESENTE INFORME DE ENSAYOS : 20/03/2018



  
Bigo, Miguel Valdivia Martínez  
Gerente Técnico

Fin del Informe

Figura 16. Resultados de los análisis FBRT3.



**RESULTADOS**

LAB	DETERMINACIÓN	Agua residual	
		FBRL1	UNIDADES
FQ	Conductividad (25°C)	1676	µS/cm
FQ	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	73	mg/L
FQ	Nitrato (NO3-)	<0.3	mg/L
FQ	Elemento P/Fosfato (PO4-3)	16.75	mg/L

**ABREVIATURAS:**

mg/L : Miligramos por litro  
µS/cm : Microsiemens por centímetro

**OBSERVACIONES :**

\* Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA  
\*\*Estos métodos quedan fuera del alcance de la acreditación del INACAL-DA debido a las siguientes observaciones a la aptitud de la muestra al momento de la recepción (Autorizado y aceptado por el cliente):  
Conductividad: Max. 28 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.  
Demanda Química de Oxígeno: Max. 7 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.  
Cualquier valor precedido por "<" indica menor al límite de detección del método

**MÉTODOS UTILIZADOS :**

Conductividad (25°C) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Part 2000 Method 2510-B Conductivity. Laboratory Method. Pag. 1-4. 22nd Ed. 2012  
Demanda Química de Oxígeno (DQO) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Pa 5000 Method 5220 D Chemical Oxygen Demand(COD).Closed Reflux,Colorimetric Method. Pag. 5-6. 22nd Ed. 2012  
Elemento P/Fosfato (PO4-3) : Water Analysis Handbook HACH. Phosphorus, Reactive (Orthophosphate). Method 8048: PhosVer 3 (Ascorbic Acid) Method. Pag.865. 4th Ed. Rev.2  
Nitrato (NO3-) : Water Analysis Handbook HACH. Nitrate. Method 8039: Cadmium Reduction Method. Pag.591. 4th Ed. Rev.2

**FECHAS DE EJECUCIÓN DE LOS ENSAYOS :** FQ 12/03/2018 al 17/03/2018

**FECHA DE EMISIÓN DEL PRESENTE INFORME DE ENSAYOS :** 20/03/2018



*Miguel Valdía Martínez*  
**Bigo, Miguel Valdía Martínez**  
**Gerente Técnico**

Fin del informe

Figura 17. Resultados de los análisis FBRL1.



**RESULTADOS**

LAB	DETERMINACIÓN	Agua residual	
		FBRL2	UNIDADES
FQ	Conductividad (25°C)	1397	µS/cm
FQ	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	87	mg/L
FQ	Nitrato (NO <sub>3</sub> -)	<0.3	mg/L
FQ	Elemento P/Fosfato (PO <sub>4</sub> -3)	16.63	mg/L

**ABREVIATURAS:**

mg/L : Miligramos por litro  
µS/cm : Microsiemens por centímetro

**OBSERVACIONES :**

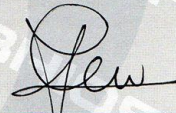
\* Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA.  
\*\*Estos métodos quedan fuera del alcance de la acreditación del INACAL-DA debido a las siguientes observaciones a la aptitud de la muestra al momento de la recepción (Autorizado y aceptado por el cliente):  
Conductividad: Max. 28 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.  
Demanda Química de Oxígeno: Max. 7 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.  
Cualquier valor precedido por "<" indica menor al límite de detección del método

**MÉTODOS UTILIZADOS :**

Conductividad (25°C) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Part 2000 Method 2510-B Conductivity. Laboratory Method. Pag. 1-4. 22nd Ed. 2012  
Demanda Química de Oxígeno (DQO) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Pa 5000 Method 5220 D Chemical Oxygen Demand(COD).Closed Reflux,Colorimetric Method. Pag. 5-6. 22nd Ed. 2012  
Elemento P/Fosfato (PO<sub>4</sub>-3) : Water Analysis Handbook HACH. Phosphorus, Reactive (Orthophosphate). Method 8048: PhosVer 3 (Ascorbic Acid) Method. Pag.865. 4th Ed. Rev.2.  
Nitrato (NO<sub>3</sub>-) : Water Analysis Handbook HACH. Nitrate. Method 8039: Cadmium Reduction Method. Pag.591. 4th Ed. Rev.2.

FECHAS DE EJECUCIÓN DE LOS ENSAYOS : FQ 12/03/2018 al 17/03/2018

FECHA DE EMISIÓN DEL PRESENTE INFORME DE ENSAYOS : 20/03/2018

**Bigo. Miguel Valdivia Martínez**  
Gerente Técnico

Fin del Informe

**Figura 18.** Resultados de los análisis FBRL2.



## RESULTADOS

LAB	DETERMINACIÓN	Agua residual		UNIDADES
		FBRL3		
FQ	Conductividad (25°C)	1308		µS/cm
FQ	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	86		mg/L
FQ	Nitrato (NO <sub>3</sub> -)	<0.3		mg/L
FQ	Elemento P/Fosfato (PO <sub>4</sub> -3)	22.05		mg/L

### ABREVIATURAS:

mg/L : Miligramos por litro  
µS/cm : Microsiemens por centímetro

### OBSERVACIONES :

\*\*Estos métodos quedan fuera del alcance de la acreditación del INACAL-DA debido a las siguientes observaciones a la aptitud de la muestra al momento de la recepción (Autorizado y aceptado por el cliente):

\* Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA

Conductividad: Max. 28 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.

Demanda Química de Oxígeno: Max. 7 días después de la toma de muestra a una T° 2-6°C. Muestra recepcionada a una T° >6°C.

Cualquier valor precedido por "<" indica menor al límite de detección del método

### MÉTODOS UTILIZADOS :

Conductividad (25°C) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Part 2000 Method 2510-B Conductivity. Laboratory Method. Pag. 1-4. 22nd Ed. 2012

Demanda Química de Oxígeno (DQO) : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA-AWWA-WEF. Pa 5000 Method 5220 D Chemical Oxygen Demand(COD).Closed Reflux,Colorimetric Method. Pag. 5-6 22nd Ed. 2012

Elemento P/Fosfato (PO<sub>4</sub>-3) : Water Analysis Handbook HACH. Phosphorus, Reactive (Orthophosphate). Method 8048: PhosVer 3 (Ascorbic Acid) Method. Pag.865. 4th Ed. Rev.2.

Nitrato (NO<sub>3</sub>-) : Water Analysis Handbook HACH. Nitrate. Method 8039: Cadmium Reduction Method. Pag.591. 4th Ed. Rev.2.

FECHAS DE EJECUCIÓN DE LOS ENSAYOS : FQ 12/03/2018 al 17/03/2018

FECHA DE EMISIÓN DEL PRESENTE INFORME DE ENSAYOS : 20/03/2018




Bigo, Miguel Valdivia Martínez  
Gerente Técnico

Fin del Informe

Figura 19. Resultados de los análisis FBRL3.

### **ANEXO 3. Cálculo del oxígeno disuelto en los fotobiorreactores**

#### **Fotobiorreactor Torococha 1 (FBRT1)**

$$\text{mg de OD/L} = \frac{2.8 \text{ mg/l} \times 0.025 \times 8000 \times 300\text{ml}}{100\text{ml} \times (300\text{ml})}$$

$$\text{mg de OD/L} = 5.6$$

#### **Fotobiorreactor Torococha 2 (FBRT2)**

$$\text{mg de OD/L} = \frac{3.3 \text{ mg/l} \times 0.025 \times 8000 \times 300\text{ml}}{100\text{ml} \times (300\text{ml})}$$

$$\text{mg de OD/L} = 6.6$$

#### **Fotobiorreactor Torococha 3 (FBRT3)**

$$\text{mg de OD/L} = \frac{2.8 \text{ mg/l} \times 0.025 \times 8000 \times 300\text{ml}}{100\text{ml} \times (300\text{ml})}$$

$$\text{mg de OD/L} = 6.8$$

#### **Fotobiorreactor Laguna 1 (FBRL1)**

$$\text{mg de OD/L} = \frac{2.3 \text{ mg/l} \times 0.025 \times 8000 \times 300\text{ml}}{100\text{ml} \times (300\text{ml})}$$

$$\text{mg de OD/L} = 4.6$$

#### **Fotobiorreactor Laguna 2 (FBRL2)**

$$\text{mg de OD/L} = \frac{2.2 \text{ mg/l} \times 0.025 \times 8000 \times 300\text{ml}}{100\text{ml} \times (300\text{ml})}$$

$$\text{mg de OD/L} = 4.4$$

#### **Fotobiorreactor Laguna 3 (FBRL3)**

$$\text{mg de OD/L} = \frac{3.3 \text{ mg/l} \times 0.025 \times 8000 \times 300\text{ml}}{100\text{ml} \times (300\text{ml})}$$

$$\text{mg de OD/L} = 6.6$$

#### ANEXO 4. Cálculo de parámetros de remoción de $NO_3^-$ y $PO_4^{-3}$

##### 1) Porcentaje de remoción

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

Donde:

$\%R$  : Porcentaje de remoción del nutriente

$C_0$  : La concentración inicial del nutriente en el agua residual

$C$  : Concentración del nutriente luego del tratamiento

##### Fotobiorreactor Torococha 1 (FBRT1)

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 3.98 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 5.7 \frac{mg}{L}$$

$$C = 0.82 \text{ mg/L}$$

- Para Nitratos

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

$$\%R = 92.46$$

- Para Fosfatos

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

$$\%R = 85.61$$

##### Fotobiorreactor Torococha 2 (FBRT2)

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 3.98 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 5.7 \frac{mg}{L}$$

$$C = 4.83 \text{ mg/L}$$

- Para Nitratos

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

$$\%R = 92.46$$

- Para Fosfatos

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

$$\%R = 15.26$$

### **Fotobiorreactor Torococha 3 (FBRT3)**

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 3.98 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 5.7 \frac{mg}{L}$$

$$C = 5.44 \text{ mg/L}$$

- Para Nitratos

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

$$\%R = 92.46$$

- Para Fosfatos

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

$$\%R = 4.56$$

### **Fotobiorreactor Laguna 1 (FBRL1)**

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 4.68 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 23.5 \frac{mg}{L}$$

$$C = 16.75 \text{ mg/L}$$

- Para Nitratos

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

$$\%R = 93.58$$

- Para Fosfatos

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

$$\%R = 28.72$$

### **Fotobiorreactor Laguna 2 (FBRL2)**

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 4.68 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 23.5 \frac{mg}{L}$$

$$C = 16.63 \text{ mg/L}$$

- Para Nitratos

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

$$\%R = 93.58$$

- Para Fosfatos

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

$$\%R = 28.41$$

### Fotobiorreactor Laguna 3 (FBRL3)

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 4.68 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 23.5 \frac{mg}{L}$$

$$C = 22.05 \text{ mg/L}$$

- Para Nitratos

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

$$\%R = 93.58$$

- Para Fosfatos

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

$$\%R = 6.17$$

### 2) Tasa de remoción:

$$R_i = \left( \frac{C_0 - C_t}{t_0 - t_t} \right)$$

Donde:

$R_i$ : Tasa de remoción en  $mg/(l \times \text{día})^{-1}$

$C_t$ : Concentración del nutriente en  $t_t$

$t_0$ : Tiempo inicial en días

$t_t$ : Tiempo en días, cuando la concentración del nutriente no varía significativamente

### Fotobiorreactor Torococha 1 (FBRT1)

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 3.98 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$



Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 5.7 \frac{mg}{L}$$

$$C = 0.82 \text{ mg/L}$$

$$t_0 = 3 \text{ dias}$$

$$t_t = 1 \text{ dia}$$

- Para Nitratos

$$R_t = \left( \frac{3.68}{2} \right)$$

$$R_t = 1.84$$

- Para Fosfatos

$$R_t = \left( \frac{4.88}{2} \right)$$

$$R_t = 2.44$$

### Fotobiorreactor Torococha 2 (FBRT2)

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 3.98 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 5.7 \frac{mg}{L}$$

$$C = 4.83 \text{ mg/L}$$

$$t_0 = 3 \text{ dias}$$

$$t_t = 1 \text{ dia}$$

- Para Nitratos

$$R_t = \left( \frac{3.68}{2} \right)$$

$$R_t = 1.84$$

- Para Fosfatos

$$R_t = \left( \frac{0.87}{2} \right)$$

$$R_t = 0.41$$

### **Fotobiorreactor Torococha 3 (FBRT3)**

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 3.98 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 5.7 \frac{mg}{L}$$

$$C = 5.44 \text{ mg/L}$$

$$t_0 = 3 \text{ dias}$$

$$t_t = 1 \text{ dia}$$

- Para Nitratos

$$R_t = \left( \frac{3.68}{2} \right)$$

$$R_t = 1.84$$

- Para Fosfatos

$$R_t = \left( \frac{0.26}{2} \right)$$

$$R_t = 0.13$$

### **Fotobiorreactor Laguna 1 (FBRL1)**

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 4.68 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 23.5 \frac{mg}{L}$$

$$C = 16.75 \text{ mg/L}$$

$$t_0 = 3 \text{ dias}$$

$$t_t = 1 \text{ dia}$$

- Para Nitratos

$$R_t = \left( \frac{4.38}{2} \right)$$

$$R_t = 2.19$$

- Para Fosfatos

$$R_t = \left( \frac{6.65}{2} \right)$$

$$R_t = 3.37$$

### **Fotobiorreactor Laguna 2 (FBRL2)**

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 4.68 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 23.5 \frac{mg}{L}$$

$$C = 16.63 \text{ mg/L}$$

$$t_0 = 3 \text{ dias}$$

$$t_t = 1 \text{ dia}$$

- Para Nitratos

$$R_t = \left( \frac{4.38}{2} \right)$$

$$R_t = 2.19$$

- Para Fosfatos

$$R_t = \left( \frac{6.87}{2} \right)$$

$$R_t = 3.43$$

### Fotobiorreactor Laguna 3 (FBRL3)

Datos de Nitratos presentes al inicio y final

$$C_0 = 4.68 \frac{mg}{L}$$

$$C = < 0.3 \text{ mg/L}$$

Datos de Fosfatos presentes al inicio y final

$$C_0 = 23.5 \frac{mg}{L}$$

$$C = 22.05 \text{ mg/L}$$

$$t_0 = 3 \text{ dias}$$

$$t_t = 1 \text{ dia}$$

- Para Nitratos

$$R_t = \left( \frac{4.38}{2} \right)$$

$$R_t = 2.19$$

- Para Fosfatos

$$R_t = \left( \frac{1.45}{2} \right)$$

$$R_t = 0.72$$

## ANEXO 5. Cálculo de iluminación

La iluminación se puede calcular como:

$$I = \frac{Li \cdot Cu \cdot Lf}{A_i}$$

Donde:

*I*: Iluminación (lux; lumen/m<sup>2</sup>)

*Li*: Lúmenes por ampolleta (lumen)

*Cu*: Coeficiente de utilización

*Lf*: Factor de pérdida de luz

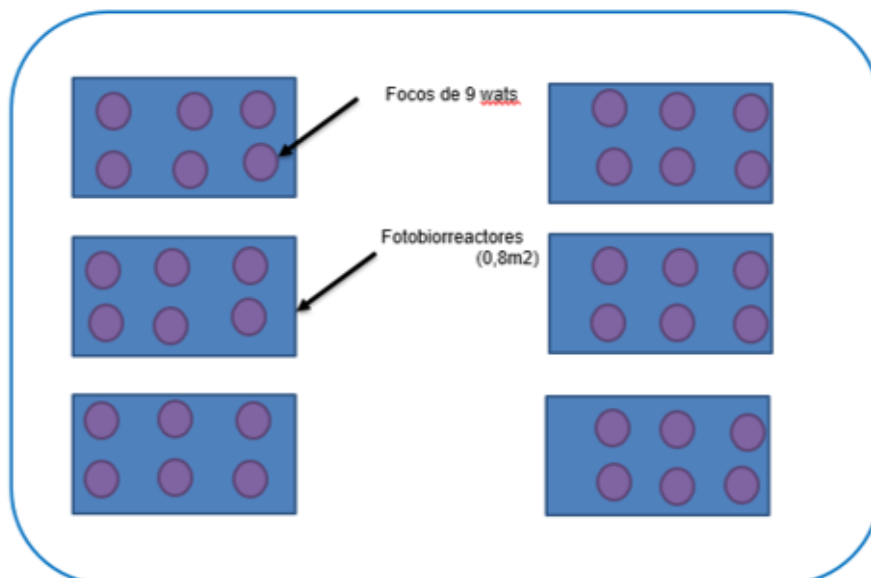
*A<sub>i</sub>*: Área (m<sup>2</sup>)

Para nuestro caso de iluminación 36 focos de 9 W (660 lúmenes por foco) son utilizadas en un área de 0,8 m<sup>2</sup>, Cu = 0,6 y Lf = 0,8

La iluminación:

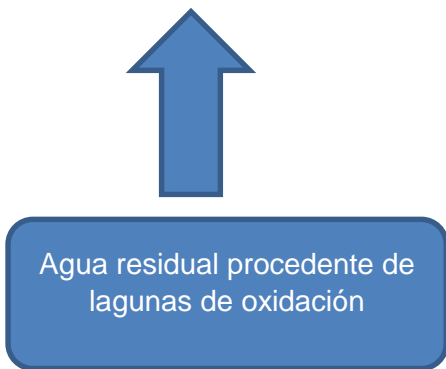
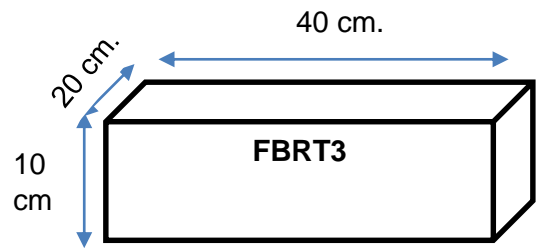
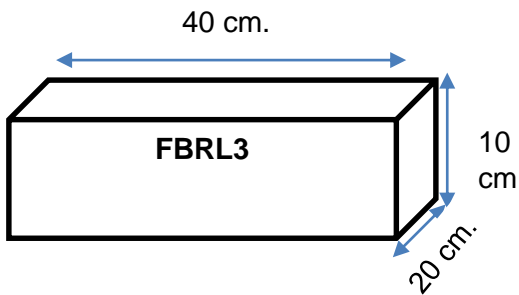
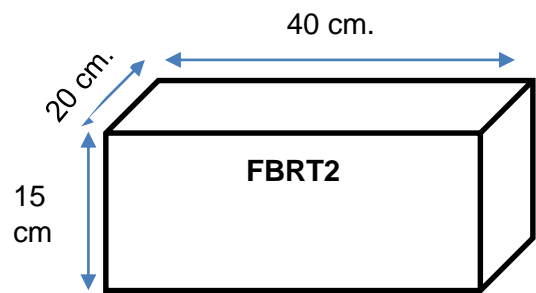
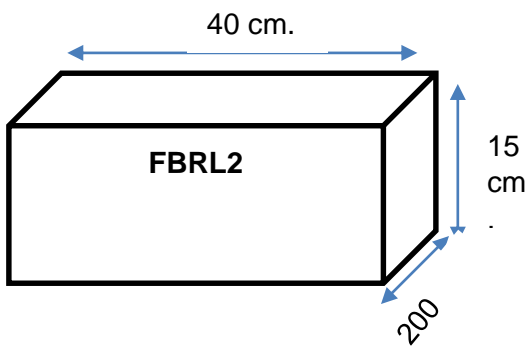
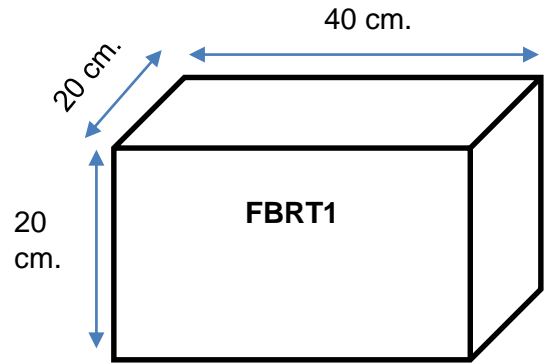
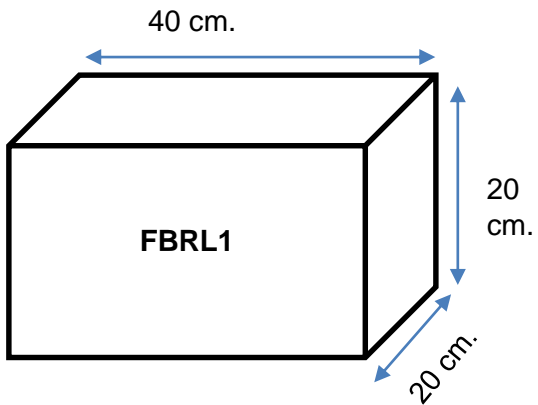
$$I = \frac{36 \times 660 \text{ lumen} \times 0,6 \times 0,8}{0,8 \text{ m}^2} = 14256 \text{ lux}$$

Según la teoría cada fotobiorreactor debe tener 400 lux aproximadamente, realizando el cálculo correspondiente resulta 14256 lux y dividido entre los 36 focos es 396 lux, siendo ésta el óptimo para cada fotobiorreactor.



**Figura 20.** Diagrama general de la estructura del fotobiorreactor.

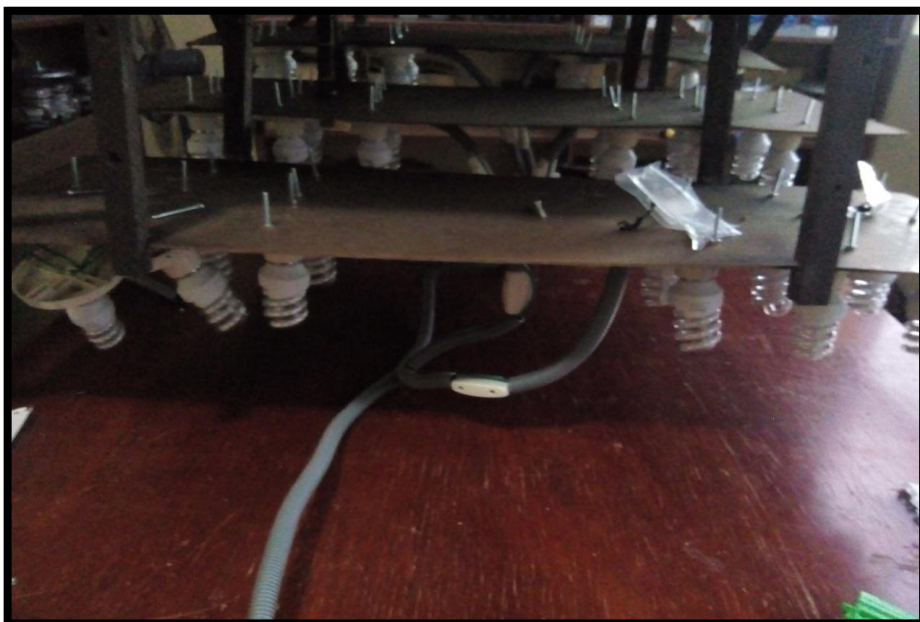
**ANEXO 6.** Dimensiones de cada fotobiorreactor



**ANEXO 7.** Galería de fotos



**Figura 21.** Fotobiorreactor en óptimas condiciones para el cultivo de microalgas.



**Figura 22.** Instalaciones del soporte de los focos.



**Figura 23.** Observación de las microalgas en microscopio.



**Figura 24.** Fotobiorreactor en operación.

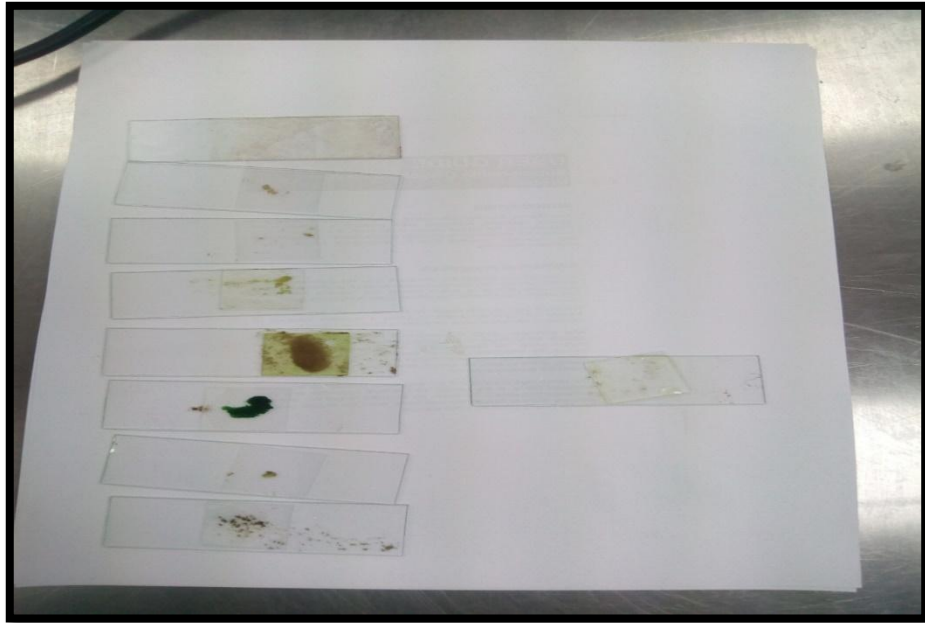




**Figura 25.** Muestreo de aguas en lagunas de oxidación.



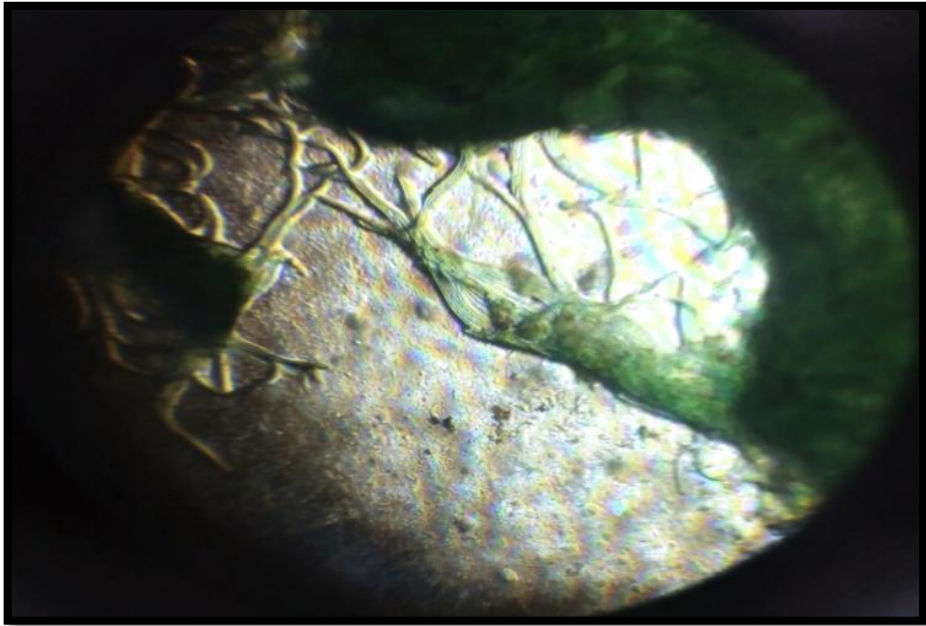
**Figura 26.** Muestra de aguas del río Torococha.



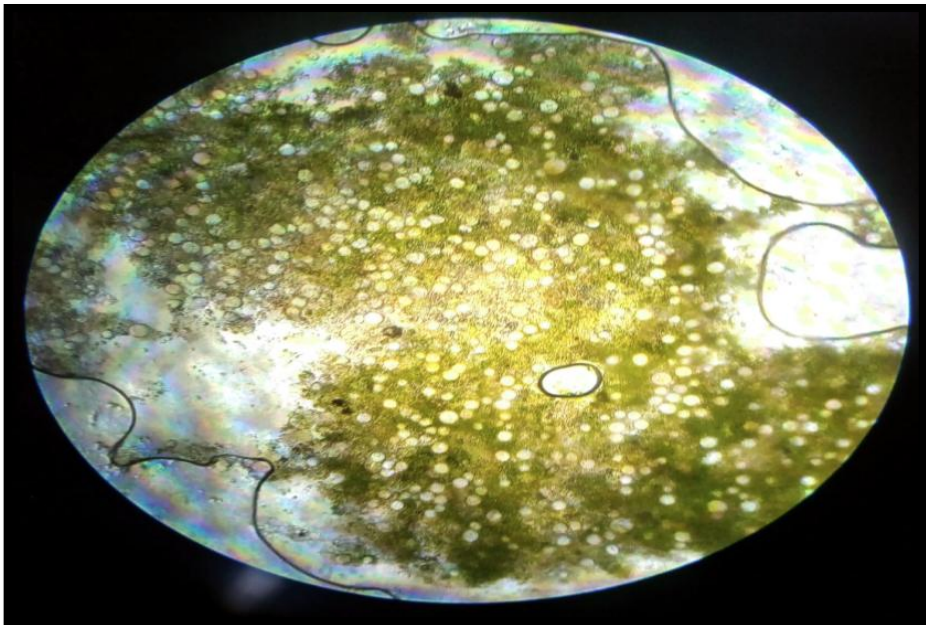
**Figura 27.** Seguimiento del crecimiento de las microalgas.



**Figura 28.** Adecuación de los focos para cada fotobiorreactor.



**Figura 29.** Microalga proveniente del río Torococha.

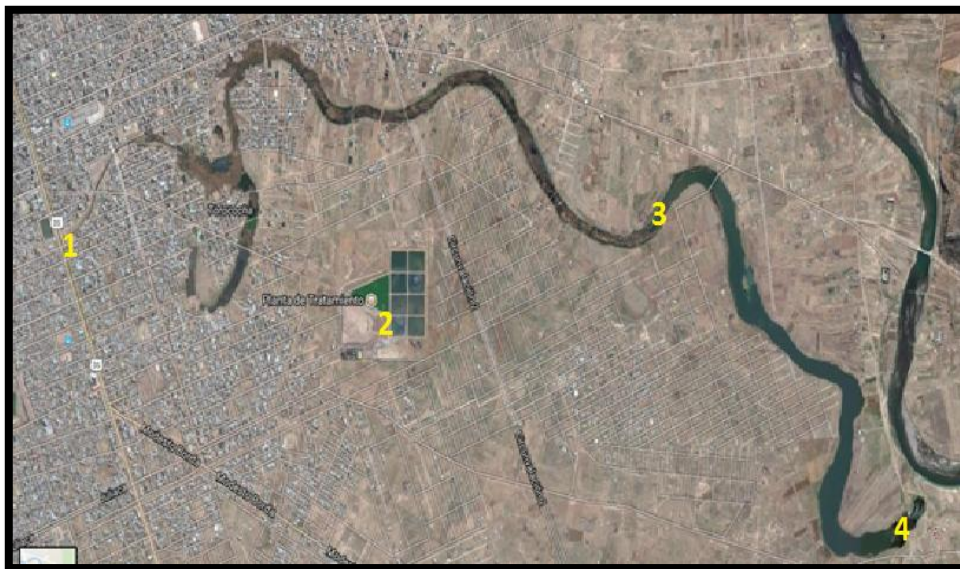


**Figura 28.** Microalga proveniente de lagunas de oxidación.





**Figura 29.** Biopelículas observadas en Fotobiorreactor (FBRT) 1.



**Figura 30.** Ubicación de los puntos de muestreo.

## **ANEXO 8.** Guía para el cálculo del oxígeno disuelto

No obstante, el oxígeno es ligeramente soluble en el agua; la cantidad real de oxígeno que puede estar presente en la solución y está determinada por:

- a) La solubilidad del gas
- b) La presión parcial del gas en la atmósfera
- c) La temperatura
- d) La pureza del agua (salinidad, sólidos suspendidos)

Las concentraciones de OD en aguas naturales dependen de las características fisicoquímicas y la actividad bioquímica de los organismos en los cuerpos de agua. El análisis del OD es clave en el control de la contaminación en las aguas naturales y en los procesos de tratamiento de las aguas residuales industriales o domésticas.

En el Laboratorio de la UNAJ se aplica este método para analizar muestras de agua superficial, residual doméstica e industrial, en un rango de medida de 0.0 a 19.99 mg/L aplicando el método recomendado en el Standard Methods 19ed. 1995.

La muestra obtenida se trata con sulfato manganoso ( $MnSO_4$ ), hidróxido de sodio (NaOH) y yoduro de potasio (KI), estos dos últimos reactivos combinados en una solución única, y finalmente se acidifica con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). Inicialmente se obtiene un precipitado de hidróxido manganoso,  $Mn(OH)_2$ , el cual se combina con el OD presente en la muestra para formar un precipitado carnalito de hidróxido mangánico,  $MnO(OH)_2$ ; con la acidificación, el hidróxido mangánico forma el sulfato mangánico que actúa como agente oxidante para liberar yodo del yoduro de potasio. El yodo libre es el equivalente estequiométrico del OD en la muestra y se valora con una solución estándar de tiosulfato de sodio 0.025N. Para minimizar el efecto de los materiales interferentes existen algunas modificaciones del método yodométrico. La modificación de la azida elimina la interferencia causada por los nitritos (esta es la más común en efluentes tratados biológicamente y en muestras incubadas para la prueba de la DBO); se emplea en el análisis del OD en la mayoría de aguas residuales, efluentes y aguas superficiales, especialmente si las muestras tienen concentraciones mayores de  $50 \mu g NO_2^- N/L$  y no más de 1 mg de hierro ferroso/L. Los compuestos oxidantes y reductores interfieren en la determinación.

## Equipos

Botellas winckler, de 250 a 300 mL de capacidad, con boca angosta de reborde ancho y tapa de vidrio esmerilado terminada en punta.

## Reactivos

Solución de sulfato manganoso. Disolver 480 g de  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 400 g de  $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , o 364 g de  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  en agua destilada, filtrar y diluir a 1 L. Cuando se adicione la solución de  $\text{MnSO}_4$  a una solución acidificada de yoduro de potasio (KI), no debe producir color con el indicador de almidón.

Reactivo álcali-yoduro-azida

- Para muestras saturadas o sin saturar. Disolver 500 g de NaOH (o 700 g de KOH) y 135 g de Na (o 150 g de KI) en agua destilada y diluir a 1 L. Agregar 10 g de  $\text{NaN}_3$  disuelto en 40 mL de agua destilada. Las sales de potasio y de sodio pueden usarse alternadamente. Cuando se diluya y acidifique, el reactivo no debe dar color con la solución de almidón.
- Para muestras súper saturadas. Disolver 10 g de  $\text{NaN}_3$  en 500 mL de agua destilada. Agregar 480 g de hidróxido de sodio (NaOH) y 750 g de yoduro de sodio (Na), y agitar hasta disolver. Puede presentarse turbidez blanca debido al carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), pero esto no es perjudicial. PRECAUCIÓN: No acidificar esta solución porque se pueden producir vapores tóxicos de ácido hidrazoico.

Ácido sulfúrico,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , concentrado. 1 mL es equivalente a aproximadamente 3 mL del reactivo de álcali-yoduro-azida.

Solución de Almidón. Para preparar una solución acuosa, disuelva 2 g de almidón soluble grado analítico y 0,2 g de ácido salicílico como preservativo, en 100 mL de agua destilada caliente.

Tiosulfato de sodio titulante estándar, 0.025N

Disuelva 6,205 g de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en agua destilada, agregar 1,5 mL de NaOH 6N o 0,4 g de NaOH sólido y diluir a 1000 mL.

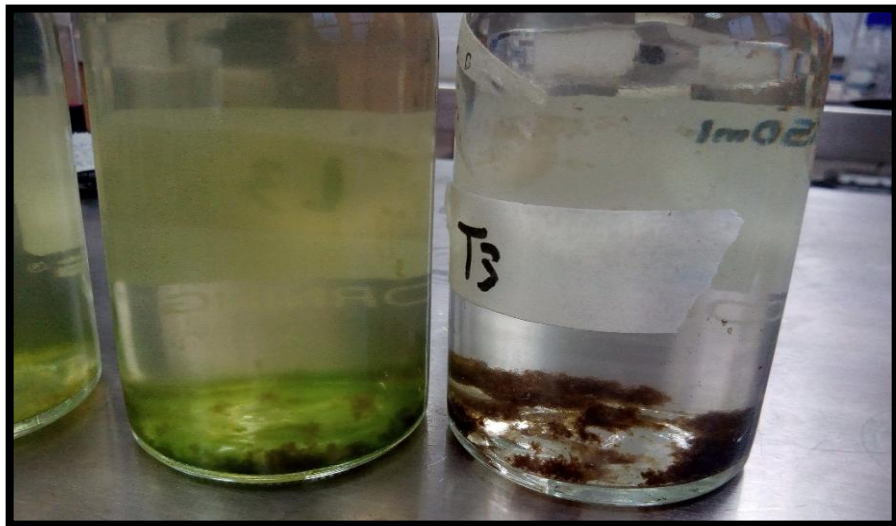
## Materiales

- Botellas winckler de 300 mL
- Probeta en vidrio o plástica de 100 mL
- Erlenmeyer de 250 mL
- Balones aforados de 1L clase A para la preparación de reactivos

- Pipeta graduada de 1 mL o gotero plástico
- Bureta plástica de 10 mL o micro bureta de 10 mL de capacidad



**Figura 33.** Botellas Winckler tapadas para evaluar OD.



**Figura 31.** Cambio de coloración después de álcali-yoduro.





Figura 32. Proceso de fijación del oxígeno disuelto.



Figura 33. Reactivos utilizados para la evaluación de OD.





Figura 34. Cambios de cloración en el proceso de evaluación de OD.

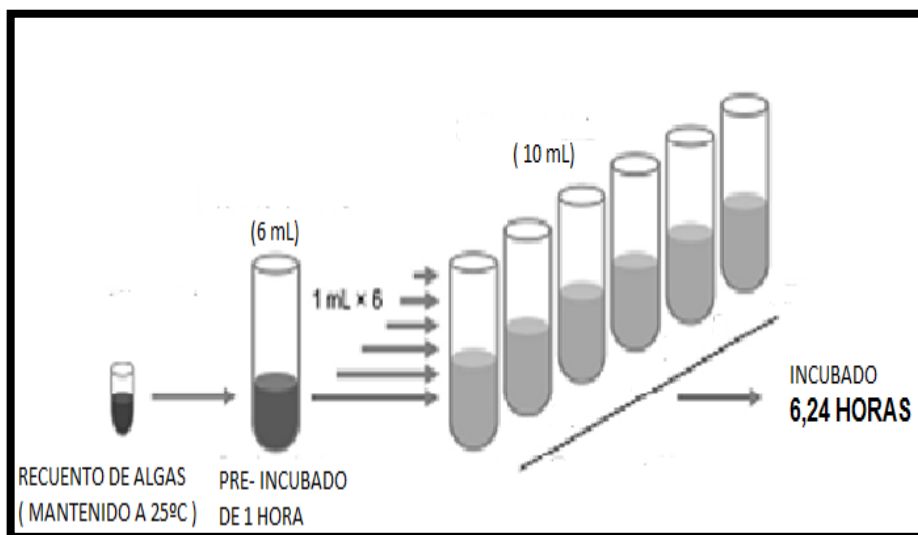


Figura 35. Inoculación de las microalgas

## **ANEXO 9.** Guía para el ensayo de DBO<sub>5</sub>

La oxidación microbiana o mineralización de la materia orgánica es una de las principales reacciones que ocurren en los cuerpos naturales de agua y constituye una de las demandas de oxígeno, ejercida por los microorganismos heterotróficos, que hay que cuantificar. Uno de los ensayos más importantes para determinar la concentración de la materia orgánica de aguas residuales es el ensayo de DBO a cinco días. Esencialmente, la DBO es una medida de la cantidad de oxígeno utilizado por los microorganismos en la estabilización de la materia orgánica biodegradable, en condiciones aeróbicas, en un periodo de cinco días a 20 °C. En aguas residuales domésticas, el valor de la DBO a cinco días representa en promedio un 65 a 70% del total de la materia orgánica oxidable. La DBO, como todo ensayo biológico, requiere cuidado especial en su realización, así como conocimiento de las características esenciales que deben cumplirse, con el fin de obtener valores representativos confiables. El ensayo supone la medida de la cantidad de oxígeno consumido por organismos vivos en la utilización de la materia orgánica presente en un residuo; por tanto, es necesario garantizar que durante todo el periodo de ensayo exista suficiente oxígeno disuelto para ser utilizado por los organismos. Además, debe garantizarse que se suministran las condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo y trabajo de los microorganismos, así que hay que proporcionar los nutrientes necesarios para el desarrollo bacterial, tales como N y P y eliminar cualquier sustancia tóxica de la muestra. Es también necesario que exista una población de organismos suficiente en cantidad y en variedad de especies, llamada "Cepa" o "semilla", durante la realización del ensayo, para la degradación de la materia orgánica. El método se aplica en este laboratorio para la matriz aguas naturales superficiales y residuales industriales. Es empleado para el intervalo de 2 a 5000 mg/L. Es un método electrométrico, en el que se determina el oxígeno disuelto consumido, en sus procesos metabólicos, por los microorganismos, en la degradación de la materia orgánica, incubando la muestra en la oscuridad a  $20 \pm 30$  °C, por cinco días.

### **Toma y preservación de muestras**

Tome la muestra de tal manera que sea representativa del vertimiento en estudio. Utilice frascos plásticos de polipropileno de 2000 mL de capacidad. Refrigerando la muestra a 4 °C hasta el momento del análisis. Lleve las muestras a temperatura ambiente. Efectúe el análisis dentro de las 24 horas siguientes a la toma de la muestra

## Materiales

- Botellas de Polipropileno de 2000 mL
- Botellas Winkler de aproximadamente 300 mL de capacidad
- Garrafa con llave de 20 L de capacidad y con dispensador o mangueras.
- Microespátula metálica
- Balón aforado de 1L
- Balones aforados de 100 mL
- Pipetas graduadas de 10 mL
- Pipetas graduadas de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100 mL boca ancha
- Probetas de 250, 500 mL

## Reactivos

- Agua destilada
- Solución tampón de fosfato: Disuelva 8,5 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 21,75 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 33,4 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , y 1,7 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  en aproximadamente 500 mL de agua ultra pura y diluya a 1 L. El pH del buffer preparado debe ser 7,2 sin posteriores ajuste, permitiendo un intervalo entre 7.1 – 7.3 y verificar el pH de cada preparación. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- Solución de sulfato de magnesio: Disuelva 22,5 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en agua ultra pura y diluya a 1L. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- Solución de cloruro de calcio: Disuelva 27,5 g de  $\text{CaCl}_2$  en agua ultra pura y diluya a 1L. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- Solución de cloruro de hierro (III): Disuelva 0,25 g de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en agua ultra pura, diluya a 1L. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- Ácido Sulfúrico 1 M. En un vaso de precipitados coloque alrededor de 300 mL de agua ultra pura y agregue muy lentamente y mientras agita, 28 mL de ácido sulfúrico concentrado; diluya a 1 L.
- Hidróxido de Sodio 1M. Disuelva 40 g de hidróxido de sodio en agua ultra pura y diluya a 1 L.
- Solución de glucosa: Seque a 103 °C por 1 h glucosa (grado analítico).
- Cepa o Semilla: Agua superficial contaminada, tomada en el río Torococha en la desembocadura, se toma los martes y los viernes, se alimenta en la tarde después de haber realizado los análisis del día porque de lo contrario queda

muy concentrada. Antes de alimentar la cepa, agitar para homogenizar el contenido del Erlenmeyer que la contiene, se encuentra en el cuarto de máquinas en aireación continua, desechar el 50% de la almacenada allí, agregar la misma cantidad que se eliminó y mezclar. Al día siguiente ya puede ser utilizada, mezclar antes de transferir a un vaso de precipitados el volumen necesario de acuerdo al número de muestras, dejar decantar en el vaso y tomar el sobrenadante, adicionar 2 mL a cada botella Winkler.