



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
PEDRO RUIZ GALLO  
ESCUELA DE POST GRADO**



**“Aislamiento, Cultivo de la microalga *Ankistrodesmus falcatus*  
y Biorremediación de los malos olores de las aguas residuales  
del Dren 3100 Chiclayo – Pimentel, del departamento de  
Lambayeque, enero - agosto de 2017”**

**TESIS**

Presentada:

Bach.: Roxana del Pilar Aguirre Tocas

Asesora:

Msc. Clara Aurora Cueva Castillo

**LAMBAYEQUE - PERÚ**

2018

“Aislamiento, Cultivo de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* y Biorremediación de los malos olores de las aguas residuales del Dren 3100 Chiclayo – Pimentel, del departamento de Lambayeque, enero - agosto de 2017”.

---

Bach. Roxana del Pilar Aguirre Tocas  
AUTOR

---

Msc. Clara Aurora Cueva Castillo  
ASESOR

Presentada a la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo para optar el Grado de: MAESTRO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN INGENIERIA AMBIENTAL

APROBADO POR:

---

Dr. Cesar Estela Campos  
PRESIDENTE

---

Dr. Cesar Vargas Rosado  
SECRETARIO

---

M.Sc. Consuelo Rojas Idrogo  
VOCAL

MAYO, 2018

## INDICE

DESCRIPCIÓN	Pág.
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT .....	viii
I INTRODUCCIÓN .....	01
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	03
2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN .....	03
2.2 BASE TEÓRICA .....	09
2.2.1 Biorremediación .....	09
2.2.2 Características generales de algas y microalgas .....	10
2.2.3 Aguas residuales .....	13
2.2.4 Malos olores .....	14
<b>CAPÍTULO III MARCO METODOLOGICO .....</b>	<b>16</b>
3.1 Tipo de estudio y contrastación de hipótesis .....	16
3.2 Población y muestra .....	16
3.3 Ubicación .....	16
3.4 Obtencion de la muestra .....	17
3.4.1 Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	17
A. Técnica de aislamiento de <i>Ankistrodesmus falcatus</i> .....	17
1. Colecta de la muestra .....	17
2. Mantenimiento de la muestra .....	18
3.5 Metodología .....	19
3.5.1 Técnica de aislamiento microalgal con micropipeta.....	19
3.5.2 Técnica de cultivo de <i>Ankistrodesmus falcatus</i> .....	21
3.5.3 Identificación de la especie.....	24
3.5.4 Medición de la densidad poblacional con cámara de Neubauer .....	24
3.5.5 Métodos y procedimientos para la recolección de datos .....	25

A. Determinación de la capacidad de la microalga <i>Ankistrodesmus falcatus</i> en la eliminación de malos olores de aguas residuales ...	25
B. Medida de demanda de Oxígeno en Aguas residuales .....	27
C. Método para determinación de demanda bioquímica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> ) en aguas residuales .....	27
3.6 Análisis estadístico de los datos .....	30
<b>CAPITULO IV RESULTADOS</b> .....	31
4.1 Identificación taxonómica de la especie .....	31
4.1.1. <i>Ankistrodesmus</i> .....	31
4.1.2. <i>Ankistrodesmus falcatus</i> (Corda) Ralfs .....	32
4.1.3. Aislamiento de microalga .....	34
4.1.4. Cultivo microalga <i>Ankistrodesmus falcatus</i> en sistema Guillard .....	34
4.1.5 Determinación del crecimiento .....	35
4.1.5.1 Diferencia de medias (T-Student) .....	36
1. Prueba de normalidad (Shapiro) .....	36
2. Prueba de hipótesis para diferencias de Medias T Student. ...	37
3. Análisis de varianza ANOVA .....	38
4.2. Biorremediación de la microalga <i>Ankistrodesmus falcatus</i> sobre las aguas residuales del Dren 3100 .....	39
4.2.1. Medida de demanda de Oxígeno en Aguas residuales .....	43
<b>CAPITULO V. DISCUSIÓN</b> .....	43
5.1 Presentación del modelo teórico .....	47
<b>CAPITULO VI. CONCLUSIONES</b> .....	48
<b>CAPITULO VII. RECOMENDACIONES</b> .....	49
<b>CAPITULO VIII. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	50
<b>Anexos</b> .....	55

### Índice de tablas

Tabla 1: Formula del medio de cultivo M1.....	22
Tabla 2. Porcentajes para la preparación de diluciones .....	28
Tabla 3. Promedio del crecimiento de la microalga <i>Ankistrodesmus falcatus</i> durante 8 días .....	35
Tabla 4. Prueba de Shapiro – Wilk para determinar la normalidad .....	36
Tabla 5. Prueba de hipótesis para diferencias de Medias T Student .....	37
Tabla 6. Prueba de análisis de varianza de un factor ANOVA .....	38
Tabla 7. Resultados de la evaluación de la biorremediación de los malos olores por <i>Ankistrodesmus falcatus</i> en los tres ensayos .....	39
Tabla 8. Resultado de Prueba de DBO <sub>5</sub> realizada en el Laboratorio de ensayo acreditado.....	43

### Índice de figuras

Figura 1. Mapa de la ubicación del área de estudio (Dren 3100) .....	17
Figura 2. Foto del interior del laboratorio de Ficología – UNPRG .....	18
Figura 3. Cámara de cultivo del Laboratorio de Ficología .....	19
Figura 4. Aislamiento microalgal con la técnica de micropipeta .....	20
Figura 5. Siembra de la microalga aislada con la técnica de micropipeta .....	21
Figura 6. Transferir el monocultivo después de siete días de aislada, para iniciar el cultivo en el sistema Guillard .....	23
Figura 7. Cultivo de <i>Ankistrodesmus falcatus</i> en el Sistema Guillard .....	24
Figura 8. Vista del Dren 3100 Chiclayo Pimentel. ....	26
Figura 9. Microalga <i>Ankistrodesmus falcatus</i> formando colonias .....	33
Figura 10. Curva del crecimiento de <i>Ankistrodesmus falcatus</i> evaluada durante 8 días .....	35
Figura 11. Evaluación de la biorremediación de los malos olores por <i>Ankistrodesmus falcatus</i> en Agua residual con 50 ml de cultivo .....	40

Figura 12. Evaluación de la biorremediación de los malos olores por <i>Ankistrodesmus falcatus</i> en Agua residual con 100 ml de cultivo ....	41
Figura 13. Evaluación de la biorremediación de los malos olores por <i>Ankistrodesmus falcatus</i> en Agua residual con 150 ml de cultivo ....	42
Figura 14. Aplicando la encuesta Cha con evaluadores humanos .....	43

Anexo 1. Mapa físico - político de la región Lambayeque .....	56
Anexo 2. Para iniciar el ensayo de biorremediación .....	57
Anexo 3. Encuesta en la escala de S. Cha utilizada para determinar la intensidad del olor. ....	58
Anexo 4. Decreto supremo 003-2010 MINAM .....	59

## RESUMEN

A nivel mundial y en la región existen escasos trabajos de buen manejo de residuos sólidos generados principalmente por el crecimiento demográfico debido a ello se realizó el presente trabajo de investigación con el objetivo de mitigar el problema de emisión de malos olores generados por las aguas residuales del Dren 3100 que tiene el recorrido Chiclayo – Pimentel, en el Distrito de Pimentel, provincia Chiclayo, del departamento de Lambayeque, para lograr este propósito de Biorremediar estos los malos olores de las aguas residuales con la microalga *Ankistrodesmus falcatus*, primero se colectó la muestra de agua que contenga la microalga de la laguna Boro II, se llevó al laboratorio de Ficología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, para luego aislar el alga con la técnica de micropipeta y cultivarla por siete días en un Matraz Erlenmeyer en el medio M1 en condiciones adecuadas de Luz y Temperatura; pasado este tiempo que permitió su crecimiento adecuado se procedió a cultivar el alga *Ankistrodesmus falcatus* con el sistema Guillard, que consiste en realizar el cultivo en 4 botellas: la primera botella en medio estéril con agua y  $H_2SO_4$ , la segunda de grupo control sin medio de cultivo M1, la tercera y cuarta con medio de cultivo M1, todas ellas unidas a un sistema de aireación, a Temperatura ambiente y con iluminación de 4 fluorescentes en la cámara de cultivo, realizando el controlando el de crecimiento diariamente por 8 días; dicho cultivo fue utilizado para el trabajo de biorremediación de malos olores de las aguas residuales del Dren 3100 Chiclayo – Pimentel, con evaluadores humanos aplicando la técnica sensorial de la olfatometría, determinándose que *Ankistrodesmus falcatus* biorremedia los malos olores de las aguas residuales concluyéndose que la utilización de la mencionada microalga redujo los valores de 352 mg/l a 74,3mg/l siendo 100mg/l el límite máximo permisible para efluentes de aguas residuales domésticas y la eficacia del tratamiento nos permite recomendarlo para reducir los problemas de malos olores de las aguas residuales.

Palabras clave: Biorremediación, *Ankistrodesmus falcatus*, aguas residuales.

## ABSTRACT

Around the world and in our region there are less works about solid waste management generated mainly by the demographic growth due to of that; the present research work was carried out with this goal of mitigating the emission problem of bad sewage smells, generated by the wastewater of the Drain 3100 that has the route Chiclayo - Pimentel, in the District of Chiclayo in the department of Lambayeque, to achieve the purpose of Bio remediate the bad sewage smells of these wastewater with the microalga *Ankistrodesmus falcatus*, first the sample of water containing the microalga was collected from the Boro II lake, we took it to the Ficology laboratory, of the Faculty of Biological Sciences of the Pedro Ruiz Gallo National University, then we isolated the alga with the micropipette technique and cultivate it for seven days in an Erlenmeyer flask in the middle M1 in the right conditions of Light and Temperature; After that time that allowed its proper growth, we cultivated the *Ankistrodesmus falcatus* alga with the Guillard system, which consists in make the culture in 4 bottles: the first bottle in a sterile medium with water and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, the second of control group without medium of culture M1 culture, the third and the fourth with culture medium M1, all of them joined to an aeration system, at a room temperature and with illumination of 4 fluorescents in the culture chamber, performing the daily growth control for 8 days; This culture was used for the bioremediation work of bad sewage smells of the wastewater of the Drain 3100 Chiclayo - Pimentel, with human evaluators applying the sensory technique of the olfactometry, the results allow us to affirm that *Ankistrodesmus falcatus* biorremedia the bad sewage smells and the effectiveness of the treatment allows us to recommend it to reduce the problems of bad sewage smells of wastewater.

Key words: Bioremediation, *Ankistrodesmus falcatus*, wastewater.



## I. INTRODUCCIÓN

El planeta en los últimos tiempos ha sufrido cambios ambientales como consecuencia de la contaminación generada principalmente por el ser humano, debido al crecimiento demográfico trayendo problemas de pérdida de terrenos de cultivo y crecimiento de las ciudades, lo que contribuye, al incremento de la producción de residuos sólidos sin ningún tipo de manejo, la mala disposición y falta de canalización de aguas residuales, en muchos casos se encuentran cerca de las ciudades, generando una serie de problemas en la población que mayormente se encuentra en contacto directo; las posibilidades de saneamiento, alcantarillado y disposición de las aguas residuales en la mayor parte del mundo, América latina y específicamente el Perú, son muy limitados; el uso de tecnología para el tratamiento de aguas residuales en nuestro país en comparación con otros países es muy reducida, estos producen malos olores, algunos contaminantes que generan malos olores pueden ser evitados, otras por la naturaleza misma del tratamiento y del agua residual, son difícilmente controlables si no se considera un sistema de control, el control de malos olores en una planta de tratamiento de aguas residuales hace viable su instalación prácticamente en cualquier lugar ya que junto con el ruido y la contaminación visual es en menor grado, uno de los problemas más importantes asociados con el rechazo de la población a estos sistemas de saneamiento básico. Los malos olores se producen por la descomposición microbiológica de la materia orgánica contenida en el agua residual; muchos de los compuestos responsables de los malos olores son: gases inorgánicos que incluyen al sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ) y al amoníaco ( $NH_3$ ); los ácidos como el acético, láctico y butírico; los altamente tóxicos como el indole, skatole, fenoles y mercaptanos; las aminas como la cadaverina y la putrescina. El  $H_2S$  con un olor característico predominante, es uno de los principales compuestos responsables de la generación de malos olores; los sistemas de tratamiento para la eliminación de  $H_2S$  y en general para compuestos que generen malos olores son los tratamientos fisicoquímicos o biológicos; dentro de los sistemas de tratamiento fisicoquímicos más importantes orientados al control de olores se encuentran la absorción, la adsorción, la

oxidación térmica, química o catalítica, la centrifugación que eliminan partículas y/o aerosoles, la filtración etc.; eventualmente, se han utilizado agentes enmascaradores como las fragancias de perfumes para ocultar un olor desagradable, teniendo una aplicación muy limitada como sistema de tratamiento de gases, muchos investigadores coinciden en afirmar que los tratamientos fisicoquímicos son más costosos que los biológicos, por tal razón los procesos biológicos son favorables sobre los procesos fisicoquímicos, una de las ventajas más importantes de los tratamientos biológicos para el aire sobre los procesos fisicoquímicos es que se pueden realizar a temperaturas ambiente, sobretodo que transforman los contaminantes a sustancias no peligrosas sin acumulación de subproductos o desechos de difícil manejo, costos de operación bajos debido principalmente a las condiciones suaves de operación (T, P, pH, etc.) además de poseer un balance energético adecuado (Revah y Noyola, 1996). Los tratamientos biológicos de aguas residuales se basan en la utilización de organismos vivos: microorganismos tales como bacterias, hongos e incluso vegetales superiores y microalgas, los cuales son capaces de bioerremdiar diversos contaminantes orgánicos presentes en las aguas, ya que los utilizan como fuente de carbono y/o energía para su propio desarrollo. Perú es un país con alto índice de problemas de contaminación por malos olores de sus aguas residuales, una solución es el uso de las algas como biorremediadoras de los malos olores que contaminan el aire.

Por lo cual surge el interés y se plantea el siguiente problema ¿la microalga *Ankistrodesmus falcatus* podría biorremediar los malos olores de las aguas residuales del Dren 3100 ubicado en el distrito de Pimentel del departamento de Lambayeque 2017?. Para dar solución a este problema se realiza el presente trabajo de investigación enfocándonos como objetivo principal biorremediar los malos olores de las aguas residuales del Dren 3100 Chiclayo – Pimentel, al que confluyen en todo su recorrido vertidos de diferentes orígenes, como aguas residuales domesticas en mayor porcentaje y aguas residuales industriales.

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN:**

Las microalgas solucionan grandes problemas ambientales con ayuda de la técnica de biorremediación brinda aportes como la definición de biorremediación en que se utilizan seres vivos para solucionar un problema ambiental del suelo o agua subterránea contaminados, y/o malos olores. En un ambiente no contaminado, las bacterias, los hongos, las algas, y otros microorganismos heterotróficos degradan constantemente la materia orgánica disponible, para obtener energía, cuando un agente contaminante orgánico, combustible, petróleo u otro es accidentalmente liberado en un ambiente dado, algunos de los microorganismos autóctonos morirán, mientras que sobrevivirían algunos, otros capaces de degradar estos compuestos orgánicos; estos organismos degradan el agente contaminante orgánico a una velocidad mayor, proporcionando una técnica para limpiar la contaminación, realizando los mismos procesos de biodegradación que ocurren naturalmente en el medio ambiente, dependiendo del sitio y de sus contaminantes, la biorremediación puede ser más segura y menos costosa que soluciones alternativas tales como la incineración o el enterramiento de los materiales contaminados (Cortón, E. y Viale, A. 2006).

En la remoción de metales pesados Mercurio, Zinc, Cadmio, Cromo y Níquel Plaza en el 2012 empleó las algas marinas *Macrocystis pyrifera* y *Undaria pinnatifida*, concluyendo que es necesario la aplicación de un pretratamiento adecuado para la estabilización de la biomasa como paso previo a su empleo en un ensayo de biosorción, debido que ambas especies pertenecen a la misma familia, presentan diferencias en sus características físicas (estructura, morfología, porosidad) y químicas (contenido de alginato, proteínas, grupos funcionales), que influyen en sus propiedades como biosorbente. Los tiempos necesarios para lograr el equilibrio de adsorción de los diferentes metales ensayados fueron iguales para ambos biosorbentes siendo el menor para Ni(II)

(1h), le siguieron Zn(II) (2 h), Cd(II) (2h), Cr(III) (6h) y finalmente Hg(II) (24 h). *U. pinnatifida* tuvo mayor capacidad de adsorción que *M. pyrifera*. Estos biomateriales podrían ser usados exitosamente en la adsorción y recuperación selectiva de los metales estudiados, ajustando adecuadamente los parámetros experimentales, los investigadores eligieron estos dos materiales biológicos: por ser algas marrones cuyo componente principal es el alginato importante desde el punto de vista de la biosorción (tecnologías biológicas de remoción de metales, de las más prometedoras, no solamente por su bajo costo, sino porque se trata de un proceso rápido que permite tratar grandes volúmenes de agua con bajas concentraciones de metal en forma eficaz. Además, la posibilidad de emplear biomasa muerta o productos derivados de su metabolismo, supera problemas de toxicidad e incluso permite la regeneración y reutilización del biomaterial por varios ciclos de adsorción/desorción). Por otro lado, Potera, C. en el 2011 hace un reporte sobre desechos peligrosos, en el que sostiene que Algas de los estanques aíslan el estroncio 90, tomando como referencia a *Closterium moniliferum*, de color verde brillante, en el que indica que los compuestos de estroncio, bario y sulfato forman cristales. Estas algas en forma decreciente almacenan los cristales en vacuolas pequeñísimas. El Bario es necesario para que el organismo deposite el estroncio, y el equipo de la Universidad del Noroeste descubrió que una variación en la proporción entre el Bario y el Estroncio en el agua incrementa hasta 150 veces la cantidad de estroncio capturada en los cristales; esto mejoró la selectividad en el proceso del estroncio; se utilizó Estroncio no radiactivo para los experimentos de prueba de concepto en el laboratorio, aún queda por determinarse si *C. moniliferum* tolera el Estroncio 90 radiactivo, pero los autores señalan que estos organismos “han demostrado ser resistentes a ambientes inhóspitos tales como las temperaturas extremas, el pH ácido, la escasa disponibilidad de nutrientes y la limitación de la luz.” además, *C. moniliferum* prefiere el Estroncio al Calcio, esto es importante porque en los desechos nucleares se encuentra junto con el estroncio el calcio, un mineral inofensivo; las plantas que han sido sometidas a pruebas de biorremediación no diferencian entre el Estroncio y el Calcio,

de manera que se saturan de este último sencillamente porque es más abundante, pero *C. moniliferum* sí los diferencia: “Las algas no presentan este problema porque excretan activamente el Calcio durante la formación de los cristales”, las algas podrían llegar a convertirse en agentes directos de biorremediación. Para la eliminación de cromo presente en aguas subterráneas galvánicas utilizaron la microalga *Scenedesmus obliquus*, estudiando su comportamiento frente al Cr(VI) y Cr(III), las concentraciones de Cromo utilizadas en estas experiencias fueron tóxicas para la microalga en estado libre, afectando la morfología; en condiciones de inmovilización se logró mejores resultados, entre 95% y 99,8% de eliminación de Cr(III) (Pellón, A. et al. 2003). Roa y Cañizares en 2012 realizaron trabajos de Biorremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado, comprobaron que esta microalga es elegida en la aplicación de procesos de Biorremediación de aguas residuales ricas en fosfatos y nitratos, debido al poder de remoción de estos compuestos en tiempos relativamente cortos.

Como alternativa de tratamiento de aguas residuales para solucionar los problemas ambientales del municipio de Santiago de Cali, utilizando microalgas Hurtado, C. 2014 confirma que estos procesos naturales son de menor costo en comparación con otros procesos químicos; es un estudio de pre-factibilidad del proyecto, el cual realiza descripción del proyecto, funcionamiento, estimación detallada de los costos, identificación de los beneficios potenciales, comparación entre la efectividad del proyecto y la Fase II de la planta de tratamiento de aguas residuales, en base a la carga orgánica removida por cada uno de los proyectos y el costo de su implementación; dejando planteado las bases para la realización de un análisis costo-efectividad de datos más precisos, además identifican las limitantes del proyecto, sus posibles inconvenientes y soluciones.

Arriagada, M. el 2008 propone dos sistemas de tratamiento de olores, para realizar una comparación entre dos alternativas que utilizan tecnologías

distintas, el primero corresponde a un sistema de absorción mediante una columna empacada, que utiliza un principio físico-químico para el tratamiento de olores, y el segundo corresponde a un biofiltro con medio orgánico, que se basa en la degradación biológica para el control de olores, entregando algunas recomendaciones de diseño para las alternativas más comunes como biofiltros, columnas de adsorción y remoción en Carbón activado. Márquez, J. F., Morgan, J. M. y Noyola, A. en 2012 realizan un sistema de Biofiltración de gases para controlar malos olores de aguas residuales domésticas, como una fosa séptica, una planta anóxica-aerobia, un filtro de lecho de raíces en condiciones convencionales (sin agitar y agregando agua) y agitando el medio filtrante, y una cisterna que adicionan hipoclorito para desinfectar; la agitación del medio permitió un mejor control del biofiltro, demostrando un control eficaz de los malos olores. Morgan, J. M.; Revah, S. y Noyola A., en su trabajo de malos olores en plantas de tratamiento de aguas residuales, realizan su control a través de procesos biotecnológicos, efectuando una revisión bibliográfica sobre el tratamiento de gases asociado con malos olores en plantas de tratamiento de aguas residuales a través de procesos biotecnológicos describen las características técnicas importantes de los biofiltros, biolavadores y biofiltros de lecho escurrido, así como costos comparativos, ventajas y desventajas, finalizan al puntualizar las tendencias de investigación y desarrollo en este campo. Aparicio, J. el 2011 en su investigación de la microalga *Chlorella pyrenoidosa*, utilizó el medio de cultivo AS-87, aisló y cultivó esta microalga en el medio AS-87, determinó la cantidad de proteína y la capacidad de eliminar los malos olores de aguas residuales urbanas; siguió los procedimientos desde su colección de la microalga en la laguna Boro II, aislamiento con la técnica de micropipeta y su cultivo en el medio de cultivo AS-87, que fue creado para dicha investigación; para la eliminación de malos olores utilizó el método sensorial, que le permitió trabajar con evaluadores humanos, concluyendo que el medio AS-87 favoreció el crecimiento de la microalga *Chlorella pyrenoidosa*.

Barrera M. y colaboradores en el año 2015, evaluarón el crecimiento poblacional de *Ankistrodesmus sp.* sometida a Codornaza y Remital como medios de cultivo, afirmando que el cultivo de micro algas es uno de los procesos que dan buenos resultados demostrando que *Ankistrodesmus falcatus* ha sido eficiente como alimento vivo para larvas de peces y como biorremediador de cuerpos de agua contaminados, esta especie fotoautófica puede ser cultivada en el laboratorio y es una alternativa como factor de biorremediación. Este trabajo contrapone dos medios de crecimiento para *Ankistrodesmus sp.* evaluando la eficiencia de la codornaza y el remital usando volúmenes de 400ml con 1ml de cepa, 3Lt con 60ml de cepa y 40Lts con 400ml de cepa, bajo condiciones controladas de luz, temperatura y agitación continua. El cultivo de *Ankistrodesmus sp.* en condiciones tanto controladas como no, usando como medio la Codornaza es altamente eficaz y una buena alternativa para producir esta especie de microalga con su posterior uso biológico en campo; tasas de crecimiento de 1,14 g/día en comparación con 0,9 g/día de Remital lo hacen postularse como una potencial alternativa de medio de cultivo para *Ankistrodesmus sp.*

Con una micropipeta se tomó 0.1ml de subcultivo de la muestra algal colectada de la laguna Boro II, haciendo una dilución de 1:4 en una placa Petri, tomo y aisló 6-7 microalgas observando al microscopio, para luego colocarlo a tubos de ensayo con 3ml de medio de cultivo M-1 y M-2, consiguiendo así el cultivo monoalgal de *Nannochloris sp.*; posteriormente se cultivó en agar para conservar la cepa (Arana, J. 2009). Con el método de diluciones seriadas ( $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ ) y sembradas en placas Petri, obtuvieron protocolos para aislar la microalga *Chlorella vulgaris* de estructuras fúngicas de *Acremonium sp.* lo que permitió posteriormente la toma de muestras algales sin contaminante para realizar nuevas siembras de la microalga (Montes J. y Pulido J. 2012).

Trabajando con un cultivo mixto de *Chlorella vulgaris* y *Sphaerocystis sp.* y un cultivo monoalgal de *Chlorella sp.* en sistemas abiertos de 500 L, con el

efluente doméstico del reactor anaerobio de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa y evaluando los parámetros de: luminosidad, temperatura, pH, densidad óptica, biomasa, concentración de oxígeno, clorofila, amonio y fosfatos, lograron como resultados que en ambos cultivos que trabajaron en sistema semicontinuo durante 114 días, se dio una sucesión poblacional por *Ankistrodesmus sp.* y *Scenedesmus sp.* con valores promedio de: 18.21°C, 9.34 pH, 32073.23 intensidad luminosa, 7.375 mg/l clorofila, 0.602 g/l biomasa y 0.374 mg/l de amonio. Los porcentajes de remoción para amonio estuvieron entre 99.537% y 99.690% por lo que concluyeron a) que es factible el desarrollo de cultivos microalgales en efluentes anaerobios domésticos; b) en sistemas abiertos se presenta la sucesión poblacional y estacional sin que este afecte la eficiencia del proceso, c) este tipo de sistemas son altamente eficiente en la remoción de compuestos inorgánicos mejorando la eficiencia de los efluentes de la Planta de tratamiento de Aguas Residuales (Aguilar, R. y Salazar. 2015). Con el objetivo de hacer una revisión bibliográfica sobre el uso de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales, además de reseñar los pronunciamientos internacionales y la legislación nacional sobre el tratamiento de aguas residuales que debe hacerse en Colombia, en el que propuso tres objetivos específicos: (1) describir qué es el agua residual, características y sus principales conceptos relacionados; (2) realizar una apropiación teórica y conceptual sobre el concepto de microalga; (3) exponer estudios de casos llevados a cabo en diferentes contextos, en los que se exponga el uso de microalgas en el tratamiento de aguas residuales, para ello realizó una búsqueda de publicaciones académicas hechas tanto en Colombia como en América Latina, España y Portugal, en bases de datos digitales y en bibliotecas como la biblioteca de la Universidad de Educación Abierta y a Distancia (UNAD) y en la Biblioteca Luis Ángel Arango, primando investigaciones que se hayan llevado a cabo después del año 2000, libros y artículos científicos con importancia muy relevante para el tema (Candela, R. 2016).



LEY N° 28611.- LEY GENERAL DEL AMBIENTE “Artículo 121°.- Del vertimiento de aguas residuales. El Estado emite en base a la capacidad de carga de los cuerpos receptores, una autorización previa para el vertimiento de aguas residuales domésticas, industriales o de cualquier otra actividad desarrollada por personas naturales o jurídicas, siempre que dicho vertimiento no cause deterioro de la calidad de las aguas como cuerpo receptor, ni se afecte su reutilización para otros fines, de acuerdo a lo establecido en los estándares de calidad ambiental (ECA) correspondientes y las normas legales vigentes.”

## **2.2 BASE TEÓRICA**

### **2.2.1 Biorremediación**

El incremento de las diferentes actividades de la población como industria, agricultura, ganadería va acrecentando día con día el volumen de los desechos que son vertidos en los diferentes ecosistemas, muchos de ellos son sumamente tóxicos, de difícil degradación ya que provienen de pesticidas, herbicidas, de metales pesados, residuos domiciliarios, aguas servidas que producen malos olores y enfermedades; convirtiéndose en una gran problemática para las ciudades, aunque las autoridades tratan de mitigar este problema con alternativas como el reciclaje de los desechos.

Otra alternativa que va a tomando más importancia en los últimos tiempos es el uso de los métodos biológicos como la biorremediación que se utiliza para eliminación de contaminantes del suelo, agua o gases, en esta nueva herramienta incluye la fitorremediación; en el cual se utilizan vegetales para eliminar o recuperar áreas contaminadas; este método a diferencia de otros que se utilizan para el tratamiento de desechos es uno de los de menor costo, fácil manejo y no contaminan el ambiente. La Biorremediación es una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos (fundamentalmente microalgas, bacterias, hongos y levaduras) y plantas para transformar contaminantes orgánicos en

compuestos más simples poco o nada contaminantes, y por tanto, se puede utilizar para limpiar terrenos o aguas contaminadas. Su ámbito de aplicabilidad es muy amplio, pudiendo considerarse cómo objeto cada uno de los estados de la materia.

### **2.2.2 Características generales de algas y microalgas.**

Las algas son organismos de naturaleza vegetal que viven en ambientes acuáticos, tanto en mares como ríos o lagos, son los vegetales más simples y autónomos que existen, se diferencian de los terrestres porque carecen de raíces o aparato de absorción, de savia o sistema de conducción del alimento, de flores, semillas y frutos, para reproducirse lo hacen por esporas, por división de su talo o por gametos que se fecundan mientras flotan en el agua. Son alimento para los animales acuáticos e incluso para los seres humanos, se fijan a las rocas o al sustrato con un disco basal, semejante a una ventosa. La mayoría de las algas son capaces de elaborar sustancias orgánicas a partir del dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y de sustancias inorgánicas disueltas en el agua, mediante la fotosíntesis a través de la clorofila, un pigmento verde presente en las células, que actúa transformando la energía luminosa en energía química, gracias a la luz solar producen inicialmente glucosa y posteriormente sustancias más complejas; viven por lo tanto en la zona "fótica", donde llega la luz que se estima como máximo hasta doscientos metros de profundidad en el agua.

Las microalgas son organismos unicelulares eucariotas y fotosintéticos, esenciales en la producción primaria dentro de la cadena trófica, que es al mismo tiempo, la formadora de materia orgánica, poseen un tamaño promedio de entre 5 y 50  $\mu\text{m}$ , lo que las hace fácilmente digeribles por muchos organismos cuya principal fuente alimenticia es el fitoplancton, poseen clorofila por lo cual necesitan de la luz para desarrollarse y crear materia orgánica; además las microalgas son fuente de una buena cantidad de compuestos utilizados en diferentes industrias, entre los

principales pueden contarse: los carotenoides, ficobiliproteínas, lípidos, polisacáridos, y compuestos con actividad biológica provenientes de los géneros más utilizados tales como *Dunaliella*, *Spirulina*, *Porphyridium*, *Chlorella* y *Hematococcus*, las microalgas pueden sobrevivir en condiciones aisladas o en colonias en forma de agregados celulares, se han encontrado aproximadamente treinta mil especies, que pueden tener formas esféricas, elípticas, cilíndricas o en espiral, todas ellas contribuyendo de manera activa con el balance del oxígeno en el planeta Tierra representando casi el 50% de la fotosíntesis del mundo, de igual manera, las microalgas son la base de la cadena alimenticia global, con alrededor del 70% de la producción total de materia orgánica, las microalgas, por tanto, pueden crecer y desarrollarse en casi todos los ambientes, aunque la mayoría pertenecen a sistemas marinos o de agua dulce, en zonas maderables o húmedas (Candela R., 2016).

En el planeta, las algas forman una inmensa población de individuos de estructura celular simple, se conocen aproximadamente 110 mil especies, reunidas en cuatro grandes grupos, que son:

- Chlorophytas (Chlorophyceae) o algas verdes o algas verdes, con el color de la clorofila sin enmascarar.
- Phaeophytas (Phaeophyceae) o algas pardas, con el pigmento fucoxantina.
- Rhodophytas (Rhodophyceae) o algas rojas, con el pigmento ficoeritrina.
- Cyanophytas (Cyanophyceae) o algas azul-verdosas, con el pigmento ficocianina.

## **Cultivo de microalgas**

En el cultivo masivo el rendimiento alcanzado depende tanto de la concentración de las células en el cultivo como del grado en que las células pueden desarrollar su potencial de crecimiento por tanto para conseguir un cultivo de microalgas en crecimiento activo es necesario un inóculo viable de tamaño mínimo suministro de nutrientes, microelementos, adecuadas condiciones químicas y físicas, luz, aireación, temperatura, salinidad y energía, al igual que como cualquier otro organismo vivo las condiciones físicas tienen gran influencia en el crecimiento de la microalga, cada especie presenta un particular intervalo de temperatura, intensidad de luz, preferencias espectrales, salinidad, bióxido de carbono y oxígeno, para la producción de un máximo crecimiento también se debe mencionar que más que la influencia de un solo parámetro es el conjunto de parámetros lo que crea determinadas respuestas en el crecimiento de las microalgas, como físicos se consideran La luz, las microalgas son fotoautótrofas encargadas de convertir la energía luminosa en metabólica por medio de la fotosíntesis y sus periodos de exposición a esta pueden ser continuos mediante luz artificial, discontinuos, periodos de iluminación alternados con periodos de oscuridad, también con luz artificial o el ciclo natural día y noche; la aireación asegura la distribución homogénea de las células y los nutrientes dentro del cultivo dejándolos disponibles para su mayor aprovechamiento, mejora la distribución de la luz a las células asegurando que permanezcan fotosintéticamente activas; en el caso de la temperatura las microalgas en las que se está interesado generalmente para su cultivo son las consideradas como especies tropicales debido a que su crecimiento no sufre alteraciones en un intervalo de 16 a 27C° presentando un óptimo de 24C°, bajas temperaturas en referencia con el intervalo anterior no matan a la microalga sin embargo puede provocar una disminución de

crecimiento, temperaturas por encima de 35C° provocaran que la mayoría de las microalgas colapsen (Romo, A. 2001).

### **Otros usos de las algas**

- En cosmética son muy estimadas como anticelulíticas, hidratantes y tonificantes de la piel (para disminuir las arrugas), depurativas y rejuvenecedoras.
- Como fertilizantes por su gran aporte de minerales y oligoelementos, nitrógeno orgánico, y hormonas vegetales (auxinas, citoquinas), que las convierten en un abono orgánico de calidad superior al estiércol, ya que están libres de restos de tóxicos y medicaciones que hayan podido recibir los animales que lo generan (Rodenas, 2003).

### **2.2.3 Aguas residuales.**

Las aguas residuales son esencialmente aquellas aguas de abastecimientos cuya calidad se ha deteriorado por diferentes usos, combinación de agua y residuos, procedentes de las viviendas, instituciones públicas y establecimientos industriales, agropecuarios y comerciales, a los que pueden agregarse de manera eventual determinados volúmenes de aguas subterráneas, superficiales y pluviales (Metecalf y Eddy, 1995).

Se denomina aguas servidas a aquellas que resultan del uso doméstico o industrial del agua, se les llama también aguas residuales, aguas negras o aguas cloacales, son residuales pues, habiendo sido usada constituyen un residuo, algo que no sirve para el usuario directo; son negras por el color que habitualmente tienen; algunos autores hacen una diferencia entre aguas servidas y aguas residuales en el sentido que las primeras

solo provendrían del uso doméstico y las segundas corresponderían a la mezcla de aguas domésticas e industriales, en todo caso están constituidas por todas aquellas aguas que son conducidas por el alcantarillado e incluyen, las aguas de lluvia y las infiltraciones de agua del terreno. Para cuantificar el grado de contaminación y poder establecer el sistema de tratamiento más adecuado, se utilizan varios parámetros expresados de forma oficial:

**Aguas residuales domésticas:** Aquellas procedentes de zonas de vivienda y de servicios generadas principalmente por el metabolismo humano y las actividades domésticas.

**Aguas residuales industriales:** Todas las aguas residuales vertidas desde locales utilizados para efectuar cualquier actividad comercial o industrial, que no sean aguas residuales domésticas ni aguas de escorrentía pluvial.

#### **2.2.4. Malos olores**

A pesar de que el ácido sulfhídrico o sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ) es considerado el compuesto odorífero que predomina en aguas servidas, no en todos los casos que existen problemas de olores, éstos son causados exclusivamente por el ácido sulfhídrico; otros compuestos odoríferos como los mercaptanos, sulfuros orgánicos y aminas también pueden contribuir significativamente a la emisión de olores, los compuestos odoríferos como los ácidos orgánicos, aldehídos y cetonas están relacionados a compuestos químicos presentes en descargas industriales y/o a la generación de lodos, provenientes del tratamiento de éstos.

Los olores más asociados a plantas de tratamiento de aguas servidas (PTAS) se generan por ácido sulfhídrico y compuestos sulfurosos orgánicos (mercaptanos, dimetildisulfuro y dimetilsulfuro). La existencia de diferentes compuestos odoríferos asociados a las PTAS genera

problemas cuando se utilizan compuestos individuales como base para evaluar olores y dar soluciones a partir de esa información. Las aguas servidas frescas contienen muchos compuestos odoríferos como ácidos orgánicos, indol, skatole, éteres, alcoholes y aldehídos, cuando el oxígeno es consumido y se generan condiciones anaeróbicas, los olores en aguas servidas se vuelven más intensos y generan mayores concentraciones de compuestos odoríferos, por ello, la discusión sobre la generación de olores se enfoca principalmente en las condiciones anaeróbicas en sistemas colectores y en algunas etapas del tratamiento de las aguas servidas, como clarificadores primarios, espesadores gravitacionales y estanques de almacenaje de lodos (Arriagada, A. 2008).

## **CAPITULO III**

### **MARCO METODOLOGICO**

#### **3.1 Tipo de estudio y contrastación de hipótesis.**

El estudio fue experimental y el diseño para contrastar la hipótesis fue con estímulo creciente en la cual se tomó un grupo control con 500ml de aguas residuales y tres grupos experimentales cada uno con 500ml de agua residual, al primero se agregó 50 ml, al segundo 100ml y al tercero 150ml del cultivo de microalga, que determinó la diferencia en el tratamiento de Biorremediación de malos olores en las aguas residuales del Dren 3100 Chiclayo-Pimentel.

#### **3.2 Población y muestra.**

**Población:** Aguas Residuales del Dren 3100 Chiclayo - Pimentel

**Muestra:** 500ml de agua Residual del Dren 3100 de Chiclayo – Pimentel.

**Variable independiente:** Microalga *Ankistrodesmus falcatus*

**Variable dependiente:** Malos olores.

#### **3.3 Ubicación**

La ubicación del objeto de estudio se encuentra en el Dren 3100 Chiclayo – Pimentel, latitud 6°48'17.55"S, longitud 79°53'2.26"O en el distrito de Pimentel, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque (Anexo 1), con una longitud de 10.92km., al frente de la Universidad Señor de Sipán, a un costado del camposanto Jardines de la Paz, Lambayeque, a la altura del colegio particular Algarrobos, donde se realizó el trabajo de investigación de biorremediación (Fig. 1).



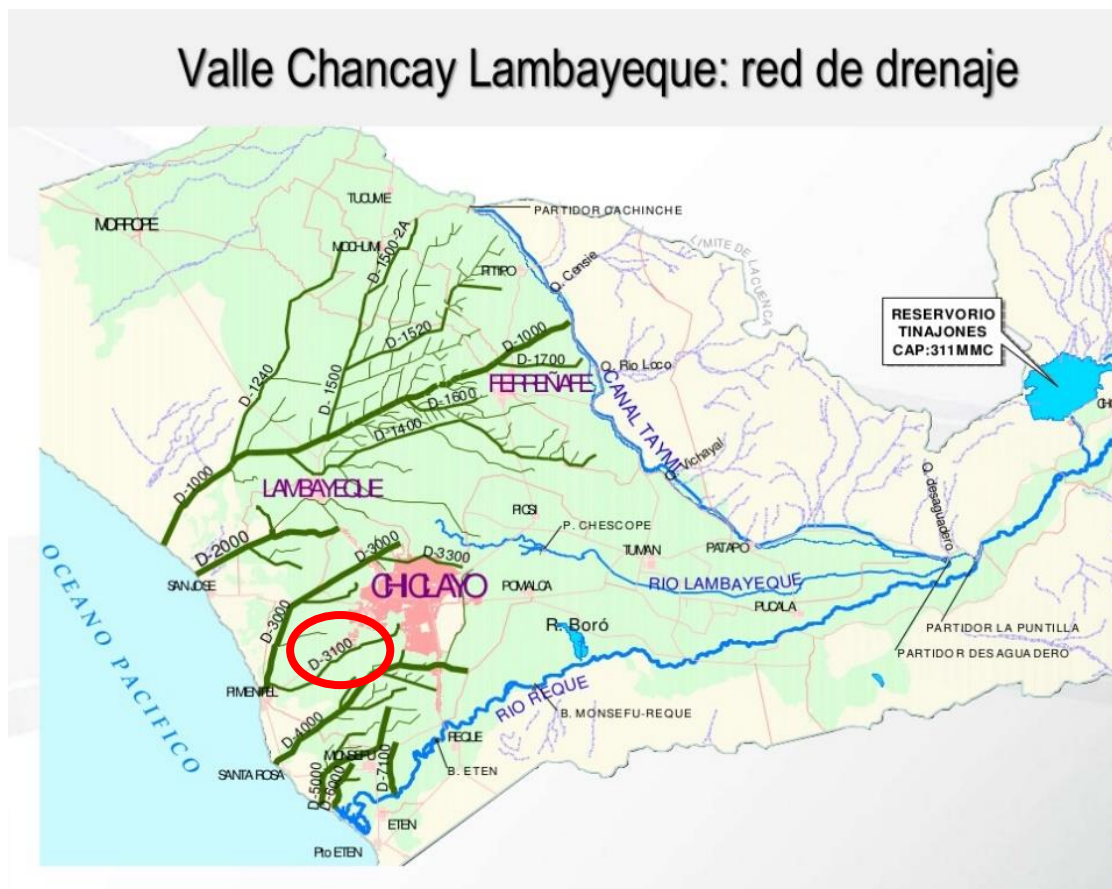


Figura 1. Mapa de la ubicación del área de estudio (Dren 3100 Chiclayo Pimentel).

Fuente: sistema de drenaje de Chiclayo

### 3.4 Obtención de la muestra.

#### 3.4.1. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

##### A. Técnica de aislamiento de *Ankistrodesmus falcatus*.

##### 1. Colecta de la muestra.

La colecta de la muestra de microalga se realizó en el mes de setiembre del 2017 de la laguna Boro II, ubicada entre las coordenadas latitud  $6^{\circ}47'23.01''$  S, y longitud  $79^{\circ}45'26.86''$  O a la cual llega aguas del río Chancay, ubicada en el distrito de Pomalca, Provincia Chiclayo, departamento Lambayeque; la muestra se recogió en frascos de vidrio de boca ancha de 750ml.

## 2. Mantenimiento de la muestra.

La muestra colectada se llevó al laboratorio de Ficología (Fig. 2), de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, donde se agregó nutrientes, se mantuvo con iluminación de fotoperiodo de 12 horas luz/12 horas oscuridad, con luz blanca de cuatro fluorescentes de 40 watts durante 7 días, a temperatura ambiente, para adaptar a las microalgas a su nuevo ambiente y estimular su crecimiento, dejándola en la cámara de cultivo (Fig. 3).



Figura 2. Foto del interior del laboratorio de Ficología – UNPRG - LAMBAYEQUE.

Fuente: registro fotográfico propio



Figura 3. Cámara de cultivo del laboratorio de Ficología.  
Fuente: registro fotográfico propio

### 3.5 Metodología.

#### 3.5.1 Técnica de aislamiento microalgal con micropipeta.

- El aislamiento de la microalga se realizó con la técnica de la micropipeta en el laboratorio de Ficología (Fig. 4), posteriormente se colocó a un medio líquido con las condiciones de nutrición, aireación, luz y Temperatura ambiente.
- Con una micropipeta se tomó 1 gota de la colección natural cultivada los 7 días previos, colocándolo en una placa Petri.
- Agregamos 2 gotas de agua destilada para que en esta mayor dilución se distancien más entre si las especies existentes en la muestra.
- Se observó al microscopio con aumentos de 100X y 400X, reconociendo la microalga *Ankistrodesmus falcatus*, luego se extrajo con una micropipeta esterilizada, la que se llevó al medio líquido en un matraz Erlenmeyer en 500 ml del medio M1 (Fig. 5), se trasladó a la cámara de cultivo del laboratorio de Ficología durante un período de 7 días.



Figura 4. Aislamiento microalgal con la técnica de micropipeta.  
Fuente: registro fotográfico propio



Figura 5. Siembra de la microalga aislada con la técnica de micropipeta.

Fuente: registro fotográfico propio

### 3.5.2 Técnica de cultivo de *Ankistrodesmus falcatus*.

- Para el cultivo de la microalga utilizamos el Sistema Guillard, 1973.
- Se utilizó un volumen de 70ml de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* aislada y cultivada por 7 días previos, agregado a la botella de vidrio control y a las dos botellas de vidrio experimentales con 630ml de medio de cultivo M1: (Fig. 6).
- La botella filtro contiene 0.5ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 0.5% y 700ml de agua esterilizada cubierta con cartulina negra para evitar que otros microorganismos pudieran contaminar el sistema.

- En la botella 2 que es el grupo control colocamos 630ml de agua esterilizada, sin medio de cultivo M1, siempre considerando trabajar en medio aséptico con la ayuda de un mechero y con una pipeta se agregó 70 ml de cultivo de la microalga.
- En las botellas 3 y 4 con 630 ml del medio de cultivo M1, de la misma forma aséptica se agregó 70 ml de cultivo de la microalga a cada una.
- A las 4 botellas del sistema Guillard (Fig. 7) se las colocó en la cámara de cultivo, con un sistema continuo de aireación, a Temperatura ambiente e iluminación continua con 4 fluorescentes de 40 watts; se evaluó el crecimiento poblacional durante 8 días.
- Se utilizó el medio de cultivo M-1.

Tabla 1. Formula del medio de cultivo M1.

MEDIO M-1	
Componentes	mg/lt.
NH <sub>2</sub> -CO-NH <sub>2</sub>	591
(NH <sub>4</sub> )HPO <sub>4</sub>	520
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	500
CaCO <sub>3</sub>	23.55
MgO	6.27
FeSO <sub>4</sub>	13.93
ZnO	0.18

Fuente: J. Arana





Figura 6. Transferir el monocultivo después de siete días de aislada, para iniciar el cultivo en el sistema Guillard.  
Fuente: registro fotográfico propio



Figura 7. Cultivo de *Ankistrodesmus falcatus* en el Sistema Guillard.  
Fuente: registro fotográfico propio.

### 3.5.3 Identificación de la especie.

La identificación de la especie *Ankistrodesmus falcatus* se realizó utilizando las claves de investigación para algas y comparando, y consultando con el Dr. Alejandro Fernández Honores, catedrático de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

### 3.5.4 Medición de la densidad poblacional con cámara de Neubauer.

Se evaluó diariamente durante 8 días el cultivo monoalgal con la finalidad de determinar la densidad poblacional y utilizando la cámara de Neubauer, se realizó lecturas cada 24 horas, tomando muestras de los cultivos y con una pipeta se extrajo 1 ml de cultivo para colocarlo en la cámara y realizar el conteo celular, con estos valores determinar la densidad poblacional aplicando la siguiente formula:

$$\text{N}^{\circ} \text{ cel/ml} = \text{Numero de células contadas} \times 10^4$$



### 3.5.5 Métodos y procedimientos para la recolección de datos

#### A. Determinación de la capacidad de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* en la eliminación de malos olores de aguas residuales.

En la remediación por efecto de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* sobre las aguas residuales del Dren 3100 (Fig. 8), se aisló y cultivó el alga para posteriormente realizar el experimento de biorremediación agregando diferentes volúmenes del cultivo a frascos que contengan 500ml de agua residual y se utilizó evaluadores humanos con los cuales se aplicó la escala de Cha (S. Cha, 1998) que sirve para determinar la intensidad del olor.

- Se colectaron en 3 frascos de vidrio de boca ancha, previamente rotulado, cada uno con 500 ml de aguas residuales del Dren 3100 Chiclayo-Pimentel.
- En un primer frasco se colocó 500ml de aguas residuales, posteriormente con la ayuda de una probeta se agregó 50ml de cultivo de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* (Anexo. 02).
- En un segundo frasco se colocó 500ml de aguas residuales, posteriormente con la ayuda de una probeta se agregó 100ml de cultivo de la microalga *Ankistrodesmus falcatus*.
- En un tercer frasco se colocó 500ml de aguas residuales, y con la ayuda de una probeta se agregó 150ml de cultivo de la microalga *Ankistrodesmus falcatus*.
- Cada tratamiento de agua residual con cultivo de microalga luego de esperar 10 días para que produzca el efecto de biorremediación contra los malos olores, se evaluó usando la técnica sensorial, esta técnica faculta trabajar con evaluadores humanos para medir el olor mediante la olfatometría.
- Los evaluadores humanos fueron en total 150 personas que gentilmente aceptaron colaborar y participaron respondiendo las preguntas realizadas en la encuesta para este experimento utilizando la escala de Cha.



Figura 8. Vista del Dren 3100 Chiclayo Pimentel.  
Fuente: registro fotográfico propio

## **B. Medida de demanda Biológica de Oxígeno en aguas residuales.**

Previo al tratamiento de las aguas residuales con las microalgas *Ankistrodesmus falcatus* se realizó la prueba de demanda Biológica de Oxígeno para conocer la cantidad de Oxígeno que necesita para degradar la materia orgánica presente en las aguas residuales, luego del tratamiento con las microalgas se volvió a tomar medida de estas aguas residuales para comprobar la cantidad de Oxígeno que proporcionarón las microalgas a las aguas residuales biorremediadas.

## **C. Método para determinación de demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>) en aguas residuales.**

La DBO se determinó según la metodología de “American Public Health Association, Apha” (1992).

La muestra se almacenó y conservó en frascos especiales para este tipo de análisis a  $\leq 6^{\circ}\text{C}$  desde que fue colectada, para luego ser transportada al laboratorio de ensayo, e iniciar el análisis después de las 6 horas de colección. Previendo no realizarse el análisis con más de 24 horas de colectada la muestra.

### **○ Procedimiento de Análisis.**

#### **➤ Preparación del agua de dilución**

- Tomar el volumen deseado (1L.) de la fuente de agua, según la cantidad de muestras a trabajar. La concentración de oxígeno disuelto debe ser al menos 7.5 mg/L (o hasta la saturación de  $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$  de acuerdo a la altitud del lugar) antes de usar agua para la prueba de DBO, sino añadir OD agitando las botellas vigorosamente o aireando (30 min. a 1h) libre de compuestos orgánicos, idealmente pH 6.5 – 7.5.

- Añadir 1 ml de cada una de las siguientes soluciones:  
Tampón fosfato,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ , y  $\text{FeCl}_3$  por litro de agua de dilución a preparar. Mezclar completamente y llevar a temperatura de  $20 \pm 3^\circ\text{C}$ .
- Preparar agua de dilución inmediatamente antes de usar.

➤ **Ajuste de Temperatura de la muestra**

Llevar muestras a  $20 \pm 3^\circ\text{C}$  antes de hacer las diluciones.

➤ **Preparación de diluciones**

Hacer diversas diluciones preparadas a la muestra, al menos 3 diluciones para muestras residuales y dos diluciones para otras matrices, con el fin de obtener un OD final de al menos de 1.0mg/L y una diferencia de OD de al menos 2.0mg/L después de los 5 días de incubación.

Un análisis rápido de DQO puede relacionarse con el DBO y servir de guía en la selección de diluciones. A falta de conocimiento de datos previos o en el caso de muestras nuevas, utilizar los siguientes porcentajes para la preparación de diluciones (tabla 2):

Tabla 2: Porcentajes para la preparación de diluciones.

0.01 a 1.0 %	Para residuos industriales fuertes
1 a 5%	Para aguas residuales crudas y estabilizadas
5 a 25%	Para efluentes tratados biológicamente
25 a 100%	Para aguas superficiales contaminadas

Fuente: Manual de técnicas de demanda Bioquímico de Oxígeno ( $\text{DBO}_5$ ) en aguas.

➤ **Determinación de OD inicial**

Después de preparar la dilución determinar el OD inicial dentro de los 30 minutos. Preparar una botella extra por cada dilución para la determinación del OD inicial. Realizar la lectura de OD inicial en agitación magnética a una velocidad de 400 rpm.

➤ **Incubación de las muestras**

Incubar a  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  las botellas tapadas y selladas que contienen las diluciones deseadas, los controles de semilla, los blancos de agua de dilución y los patrones de glucosa-ácido glutámico. Evitar la luz para evitar el crecimiento de algas en las botellas durante la incubación.

➤ **Determinación del OD final**

Después de 5 días  $\pm$  6 horas de incubación, determinar el OD de todas las muestras.

➤ **Cálculos de demanda bioquímica de oxígeno**

Para cada prueba de botella que tiene una reducción en OD de 2,0 mg/L y al menos 1,0 mg / L de OD final, calcular de la siguiente manera:

$$\text{DBO}_5, \text{ mg/L} = \frac{(\text{D}_1 - \text{D}_2) - (\text{S}) \text{ Vs}}{\text{P}}$$

Donde:

$\text{D}_1$  = OD inicial de la muestra diluida después de la preparación, mg/L

$\text{D}_2$  = OD final de la muestra después de 5 días de incubación a  $20^\circ\text{C}$ , mg/L

S = Consumo de oxígeno de las semillas, si es necesario

utilizarlas  $\Delta$  OD / ml de suspensión de semilla añadida por botella. (S = 0 si la muestra no es sembrada)

Vs= Volumen de semilla en la respectiva botella, mL

P = Fracción volumétrica decimal de la muestra usada;

1/P= Factor de dilución

### **3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS**

Se utilizó el Software SPSS para el procesamiento estadístico y la prueba de ANOVA en el análisis estadístico para diferenciar el crecimiento poblacional de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* en los diferentes medios de cultivo.

## **CAPITULO IV**

### **RESULTADOS**

#### **4.1 Identificación taxonómica de la especie.**

División: Chlorophyta

Clase: Chlorophyceae

Orden: Chlorococcales

Familia: Selenastraceae

Género: *Ankistrodesmus*

Especie: *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs.

##### **4.1.1 Ankistrodesmus Corda.**

El género *Ankistrodesmus* es una clorofícea, alga verde de cuerpo alargado fusiforme y extremos afilados, gradualmente o abruptamente cónicos, más largas que anchas, pueden ser rectas, curvadas en forma de media luna o sigmoideas; células raramente solitarias, que viven formando colonias con un número variable de individuos que permanecen unidos por la parte central, formando grupos, ramilletes o fascículos sueltos a densos, paralelos o a veces dispuestos en espiral uno alrededor del otro, otras construyen haces o también dibujan figuras estrelladas, pared celular lisa; cada una de las células de *Ankistrodesmus* presenta un cloroplasto alargado que permanece pegado a la pared celular, sin pirenoides. Reproducción asexual con 2-16 autosporas, dispuestas en paralelo dentro de la célula madre, que se liberan después de la ruptura de la pared celular (Comas 1996), o a través de divisiones simples, en las que los individuos nuevos quedan solapados a los progenitores, formando así un apretado grupo que permanece unido sin mucílago ni ningún otro compuesto adherente. Las especies del género son aproximadamente 66. *Ankistrodesmus* vive formando parte del

plancton en cuerpos de agua, lagunas o lugares en los que el agua se estanca.

*Ankistrodesmus* es resistente a muchos contaminantes y se han hecho numerosos estudios de toxicidad con ella. Se han empleado también sus cultivos para alimentar a pequeños crustáceos cladóceros que son la base de la alimentación de algunos alevines de peces empleados en piscicultura.

#### **4.1.2 *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs.**

Es un alga relativamente común que se asocia formando colonias con 1-4 fascículos de cuatro células, hasta varias decenas de individuos que unidos por el centro y con los extremos curvados dan lugar a la formación de colonias estrelladas con las células largas, fusiformes, ligeramente curvadas, falcadas, 26-30 veces más largas que anchas, unidas por la región medial convexa, gradualmente cónica hacia el ápice; solo un cloroplasto parietal sin pirenoides. Dimensiones de la celda: 40-78.5  $\mu\text{m}$  de longitud, 1.5-2.5  $\mu\text{m}$  de ancho (Fig. 09).

Según Hindák (1984), cuando hay desplazamiento de las dos células centrales de *Ankistrodesmus falcatus* formando ángulos cercanos o iguales a 90°, la colonia tiene una morfología similar a la de *A. fusiformis*; sin embargo, esta especie se distingue por sus tamaños de células más pequeños.

*Ankistrodesmus falcatus* forma parte del plancton de los lagos, lagunas, litorales e incluso ríos y constituye una importante fuente de alimentación para algunos crustáceos microscópicos.

John y Tsarenko (2002) y Comas (1996) consideran que *A. falcatus* es cosmopolita, de aguas calmas y oligotróficas comunes, y que se presenta tanto en ambientes planctónicos como perifíticos.



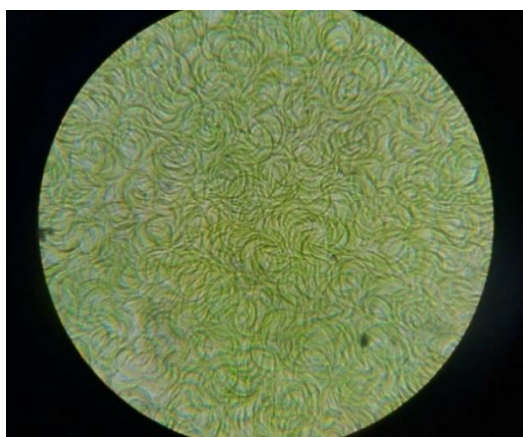


Figura 9. microalga *Ankistrodesmus falcatus* formando colonias.  
Fuente: registro fotográfico propio

#### **4.1.3 Aislamiento de microalga.**

El material colectado de la laguna Boro II y cultivada por siete días en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas - UNPRG, agregándole nutrientes, con iluminación de fotoperiodo de 12 horas luz/12 horas oscuridad, con 4 fluorescentes de 40 watts y a temperatura ambiente para que no les afecte el cambio de hábitat, se observó crecimiento de diferentes microalgas. Posteriormente se procedió a reconocer y aislar la microalga *Ankistrodesmus falcatus*, según la técnica de la micropipeta descrita anteriormente, obteniendo así el monocultivo que posteriormente fue cultivado para realizar la biorremediación, observándose crecimiento del alga desde las 24 horas de iniciado el cultivo, esto se identifica a simple vista por el color verde que toma el medio de cultivo, hecho que fue confirmado con observaciones al microscopio, corroborando que en el cultivo solamente existía la microalga *A. falcatus*.

#### **4.1.4 Cultivo microalga *Ankistrodesmus falcatus* en sistema Guillard.**

El monocultivo de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* en el sistema Guillard respondió satisfactoriamente.

Después de 24 horas de iniciado el monocultivo se empezó a observar su crecimiento ganando el color verde que lo caracteriza, alcanzando su máximo crecimiento entre el cuarto y sexto día, decayendo a partir del séptimo día (fig. 10).

#### 4.1.5 Determinación del crecimiento.

Tabla 3. Promedio del crecimiento de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* durante 8 días.

Días de control	Control (cel/ml)	Cultivo Experimental (cel/ml)
0	1550000	1945000
1	2610000	4165000
2	3610000	9815000
3	6150000	12060000
4	6360000	14605000
5	9940000	19675000
6	5380000	16120000
7	2930000	11000000

Fuente: Elaboración propia.

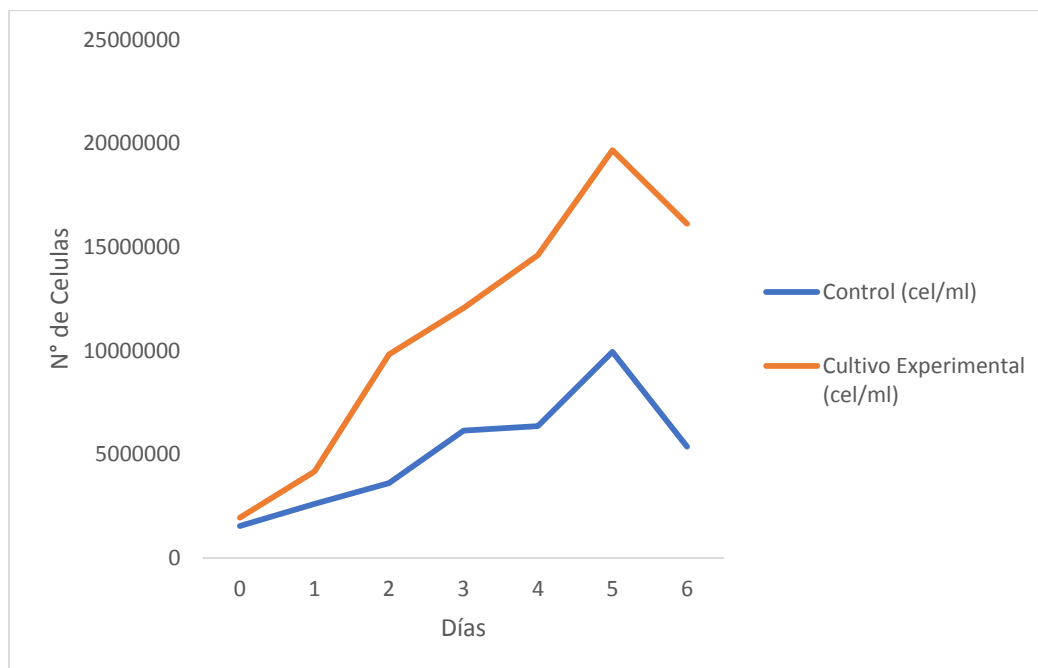


Figura 10. Curva del crecimiento de *Ankistrodesmus falcatus* evaluada durante 8 días.

Fuente: Elaboración propia

#### 4.1.5.1 Diferencia de medias (T-Student).

##### 1. Prueba de normalidad (Shapiro).

###### a. Prueba de hipótesis

H0: El número de células *Ankistrodesmus falcatus* siguen una distribución normal

H1: El número de células *Ankistrodesmus falcatus* no siguen una distribución normal

###### b. Criterios para determinar la normalidad

Pvalor (Sig.)  $\Rightarrow \alpha$ , Se acepta H0

Pvalor (Sig.)  $< \alpha$ , Acepta H0

$\alpha = 0.05$

###### c. Prueba Estadística

Tabla 4. Prueba de Shapiro – Wilk para determinar la normalidad.

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
control	0.172	8	,200 <sup>*</sup>	0.936	8	<b>0.568</b>
experimental	0.159	8	,200 <sup>*</sup>	0.967	8	<b>0.875</b>

Fuente: Elaboración propia

###### d. Conclusión

Pvalor (Control) = 0.568 > 0.05

Pvalor (Experimental) = 0.875 > 0.05

Como en ambos casos el Pvalor es mayor a 0.05, entonces aceptamos H0, Es decir que el Numero de células del grupo Control y Experimental siguen una distribución normal

## 2. Prueba de hipótesis para diferencias de Medias T Student.

### a. Prueba de hipótesis

H0: No existe diferencia significativamente en los numero de células de los grupos control y experimental

H1: Existe diferencia significativamente en los numero de células de los grupos control y experimental

### b. Criterios para la Prueba T Student

Pvalor  $\leq \alpha$ , Se Rechaza H0

Pvalor  $> \alpha$ , Acepta H0

$\alpha = 0.05$

### c. Prueba Estadística

Tabla 5. Prueba de hipótesis para diferencias de Medias T Student.

Prueba de muestras independientes					
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias	
		F	Sig.	t	gl Sig. (bilateral)
control	Se asumen varianzas iguales	2.900	0.111	-2.762	14 0.015
	No se asumen varianzas iguales			-2.762	9.803 0.020

Fuente: Elaboración propia

### d. Conclusión

Pvalor (T Studen) = 0.015 < 0.05

Como el Pvalor de la prueba T de Student es menor a 0.05, entonces rechazamos H0, Es decir que estadísticamente a un 95% de confianza podemos decir que si existe diferencias entre los números de células de los grupos control y experimental.

### 3. Análisis de varianza ANOVA.

Tabla 6. Prueba de análisis de varianza de un factor ANOVA

#### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<b>CUENTA</b>	<b>SUMA</b>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Control	8	38530000	4816250	7.3259E+12
Experimental	8	89385000	11173125	3.5066E+13

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1.6164E+14	1	1.6164E+14	7.62589099	0.01529553	4.60010994
Dentro de los grupos	2.9675E+14	14	2.1196E+13			
Total	4.5839E+14	15				

Fuente: Elaboración propia

$$0.015 < 0.05$$

Esto confirma que si existen diferencias significativas entre los grupos.

#### 4.2. Biorremediación de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* de las aguas residuales del dren 3100.

Tabla 7. Resultados de la evaluación de la biorremediación de los malos olores por *Ankistrodesmus falcatus* en los tres ensayos.

ESCALA	Agua Residual		AR+ 50ml de cultivo		AR+ 100ml de cultivo		AR+ 150ml de cultivo	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
<b>Inodoro</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Muy Leve</b>	0	0	0	0	15	10	140	93.33
<b>Leve</b>	0	0	25	16.67	130	86.67	10	6.67
<b>Fácilmente Notable</b>	0	0	125	83.33	5	3.33	0	0
<b>Fuerte</b>	150	100	0	0	0	0	0	0
<b>Muy Fuerte</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	150	100	150	100	150	100	150	100

Fuente: elaboración propia

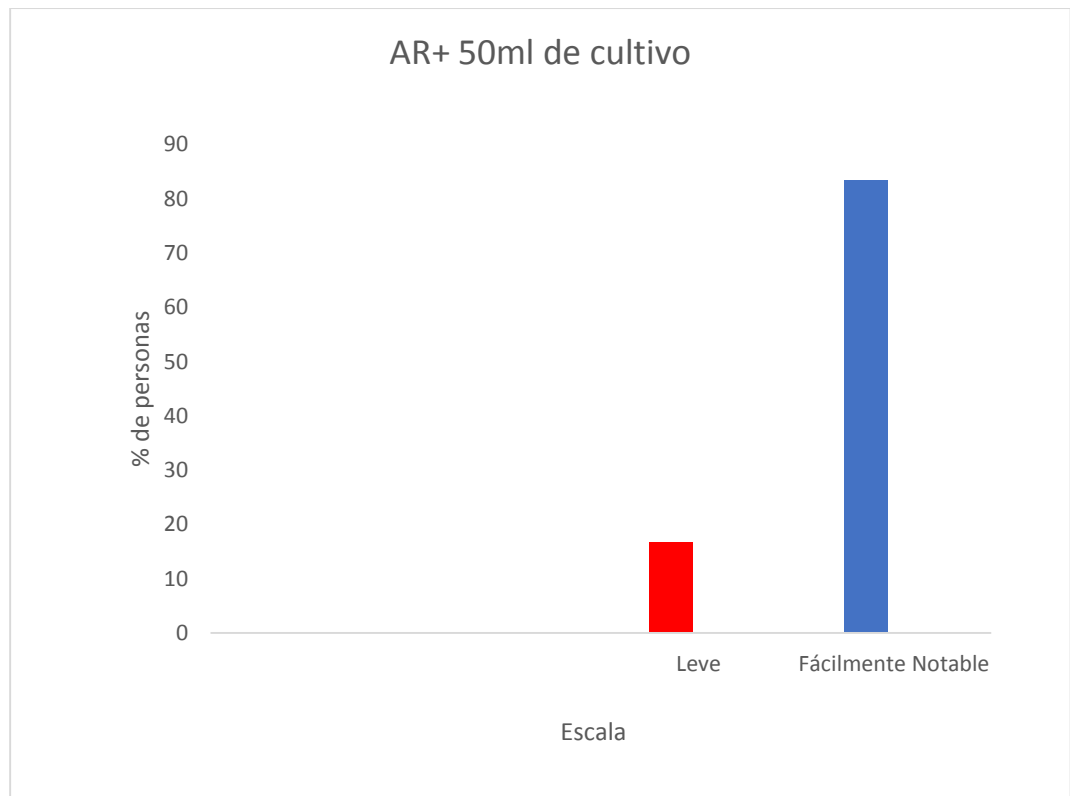


Figura 11. Evaluación de la biorremediación de los malos olores por *Ankistrodesmus falcatus* en Agua residual con 50 ml de cultivo.

Fuente: elaboración propia.



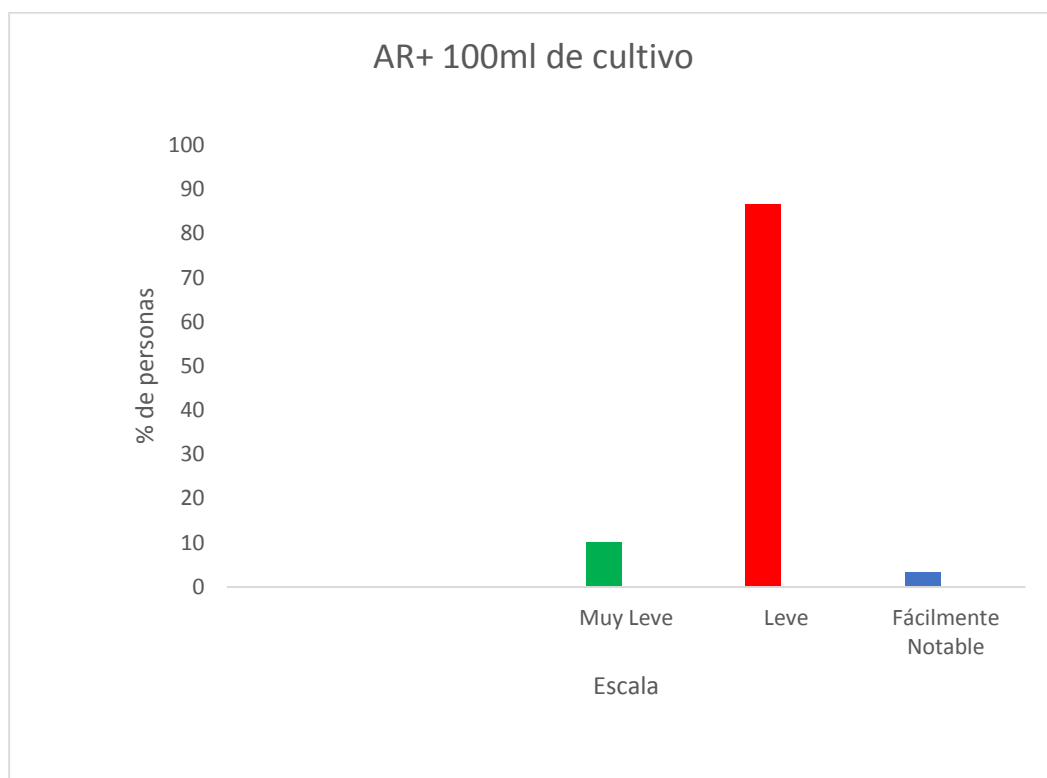


Figura 12. Evaluación de la biorremediación de los malos olores por *Ankistrodesmus falcatus* en Agua residual con 100 ml de cultivo.

Fuente: elaboración propia.



Figura 13. Evaluación de la biorremediación de los malos olores por *Ankistrodesmus falcatus* en Agua residual con 150 ml de cultivo.

Fuente: elaboración propia.



Figura 14. Aplicando la encuesta Cha con evaluadores humanos.  
Fuente: registro fotográfico propio

#### 4.2.1. Medida de demanda de oxígeno en aguas residuales.

Tabla 8. Resultado de prueba de DBO<sub>5</sub> realizada en el Laboratorio de ensayo acreditado por el organismo peruano de acreditación INACAL- DA con registro N° LE-084.

Parámetro	LMP de efluentes para vertidos de cuerpos de agua	Afluente del Dren 3100	Efluente /agua tratada con cultivo
DBO <sub>5</sub>	100 mg/L	352	74.3

Fuente: Elaboración propia

## CAPITULO V

### DISCUSIÓN

Lograr el aislamiento de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* luego de ser colectada y cultivada con otras especies en el medio de cultivo M1, mediante la técnica de la micropipeta resultó muy eficaz para conseguir el monocultivo. Igualmente Arana, J. el 2009 aisló a la microalga *Nannochloris sp.* utilizando la misma técnica obteniendo buenos resultados. Coincidimos con Montes J. & Pulido J. 2012 que para lograr el aislamiento puro de la cepa de *Chlorella vulgaris* utilizaron una micropipeta y realizaron siembra en placa de Petri de diluciones 1:10 seriadas ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ ) preparadas en BBM (Medio Basal Bold) líquido de un inóculo que presentaba una alta concentración de *C. vulgaris* y *Acremonium sp.*

El cultivo de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* se realizó en el sistema Guillard, con el medio de cultivo M1 el cual resulto eficaz, económico y potenció el crecimiento algal rápidamente. Por otro lado, Barrera M. et al. 2015 obtuvo buenos resultados, al evaluar el crecimiento poblacional de *Ankistrodesmus sp.* utilizando la Codornaza y Remital como medios de cultivo, afirmando que el cultivo de micro algas es uno de los procesos que han dado muy buenos resultados y abarata los costos de los medios de cultivo, dentro de las microalgas utilizadas como alimento vivo para peces y biorremediación como removedor de compuestos contaminantes en cuerpos de agua cita a *Ankistrodesmus falcatus*. Guillard es sistema de cultivo cerrado barato y fácil de limpiar.

La biorremediación es un proceso para recuperar ambientes contaminados, en el tratamiento de las aguas residuales se puede lograr, utilizando plantas, microorganismos, como hongos, bacterias; las microalgas son muy buenos remediadores y a muy bajo costo, *Ankistrodesmus falcatus* en el presente trabajo se ha demostrado la capacidad de eliminar los malos olores de las aguas residuales del Dren 3100 Chiclayo – Pimentel, e igualmente biorremedió los afluentes de cuerpos de agua contaminados de tal manera que al estar más limpios dichos cuerpos de agua necesitan menos cantidad de Oxígeno, según

los resultados de nuestro trabajo el afluente alcanzo 352 mg/L superando los límites máximos permisibles, pero al agregarle el alga el resultado 74,3 mg/L cumple con la norma legal vigente (anexo 4). Por lo tanto, se comprueba también que en el tratamiento con *Ankistrodesmus falcatus* existe degradación de materia orgánica, estos datos nos permiten confirmar que el experimento realizado responde positivamente para mejorar no solo los malos olores también la calidad del agua residual y así poder ser reutilizada. Igualmente, Aguilar F., et al. 2015; trabajando con *Ankistrodesmus sp.* comprobaron que es factible limpiar las aguas en efluentes anaeróbicos domésticos, mostrando que este tipo de sistemas son altamente eficiente en la remoción de compuestos orgánicos e inorgánicos perfeccionando la aplicación de los efluentes. Los sistemas abiertos a largo plazo representan la valorización del tratamiento integral biotecnológico. Arriagada M. 2008, propone dos sistemas de tratamiento de olores, para el caso analizado, con el objetivo de realizar una comparación entre dos alternativas que utilizan tecnologías distintas. El primero de ellos corresponde a un sistema de absorción mediante una columna empacada, que utiliza un principio físico - químico para el tratamiento de olores, y el segundo corresponde a un biofiltro con medio orgánico, que se basa en la degradación biológica para el control de olores, entregando algunas recomendaciones de diseño para las alternativas más comunes como biofiltros, columnas de adsorción y remoción en carbón activado, siendo un proceso más complicado y más costoso que el nuestro. Por otro lado Marquez, J. F., Morgan, J. M. y Noyola, A. en 1996 realizan un sistema de Biofiltración de gases para controlar malos olores de aguas residuales domésticas, como una fosa séptica, una planta anóxica-aerobia, un filtro de lecho de raíces comparándolo entre las condiciones convencionales (sin agitar y agregando agua) y agitando el medio filtrante, y una cisterna que adicionan hipoclorito para desinfectar; la agitación del medio permitió un mejor control del biofiltro, demostrando un control eficaz de los malos olores lo cual toma más tiempo y es más caro que el realizado por nosotros. Morgan, J. M., Revah, S. y Noyola A., en 1999 trabajaron con malos olores en plantas de tratamiento de aguas residuales: su control a través de procesos biotecnológicos, realizando una revisión bibliográfica sobre el tratamiento de gases asociado con malos

olores en plantas de tratamiento de aguas residuales a través de procesos biotecnológicos, describen las características técnicas más importantes de los biolavadores y biofiltros de lecho escurrido, así como costos comparativos, ventajas y desventajas, finalizan al puntualizar las tendencias de investigación y desarrollo en este campo, que deben ser con microorganismos propios del país, especialmente las microalgas, evitando las tecnologías físico químicas por ser costosas. Es importante destacar que en la región Lambayeque y en nuestro país existe deterioro en la calidad ambiental por lo que se calcula que la demanda de una tecnología para el control de olores es amplia y será mayor conforme la legislación especifique un mayor control en la emisión de olores a la atmósfera. Realizando en su investigación aislamiento y cultivo de la microalga *Chlorella pyrenoidosa*, utilizando el medio de cultivo AS-87, determinó la cantidad de proteína y la capacidad de eliminar los malos olores de aguas residuales urbanas; manifestando que la utilización de dicha microalga fue competente para biorremediar, en lo que coincidimos que es preferible el uso de microalgas porque el proceso se realiza en forma natural (Aparicio, J. 2011).

### **5.1 Presentación del modelo teórico.**

El presente trabajo de forma experimental nos generará muchas posibilidades de solución para los problemas ambientales que generan las aguas residuales, del Dren 3100 Pimentel; aplicando esta técnica de Biorremediación, eficiente y económicamente cómoda mejorará la calidad de los efluentes y se acrecienta la posibilidad de volver a utilizar el agua con menor riesgo para la población. Asimismo, los resultados de la investigación servirán para buscar financiamiento o conseguir proyectos para ejecutar este proyecto de tratamiento de las aguas residuales, eliminando los malos olores y mejorar de esta manera la calidad de vida de la población aledaña.

De acuerdo con lo planteado en esta investigación, es un aporte para mitigar en parte los problemas ambientales generados en este caso en particular por las aguas residuales, siendo responsables de ello estos maravillosos seres microscópicos como son las microalgas, las que realizan el importante papel de biorremediar las aguas residuales, eliminando los malos olores de estas. En este contexto, para fortalecer el trabajo se realizó el análisis de DBO<sub>5</sub> como parámetros que determinan la calidad del agua por contaminación de aguas residuales, antes y después de aplicado el ensayo. Este estudio tiene gran importancia porque permitirá ser un modelo o protocolo de trabajo para otras investigaciones que se puedan realizar en la región y en otras regiones.

## **CAPITULO VI**

### **CONCLUSIONES**

Con la realización del estudio se llegó a las siguientes conclusiones:

- Se demostró que la microalga *Ankistrodesmus falcatus*, actuó como biorremediador para eliminar los malos olores de las aguas residuales del Dren 3100 Chiclayo - Pimentel 2017 mediante la evaluación del parametro DBO<sub>5</sub>, del antes y después del tratamiento obteniendo valores de 352 mg/L (antes) y 74,3 mg/L (después); siendo el valor máximo permisible de 100mg/L, establecido por el Decreto Supremo N° 003-2010-MINAM: Límite Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domesticas o Municipales.
- La microalga *Ankistrodesmus falcatus* biorremedió los malos olores del agua residual del Dren 3100 Chiclayo – Pimentel 2017.
- Se cultivó la microalga *Ankistrodesmus falcatus*, en medio M1 con el sistema Guillard 1973, la máxima densidad poblacional fue de 19'675,000 cel/ml.



## **CAPITULO VII**

### **RECOMENDACIONES**

- Utilizar la biorremediación con la microalga *Ankistrodesmus falcatus* para eliminar los malos olores de las aguas residuales ya que es un microorganismo muy efectivo, de alta producción y la técnica es práctica y de muy bajo costo, lo cual podría ser una respuesta para los problemas de malos olores en los drenes de nuestra región.
- Realizar trabajos similares en los diferentes orígenes de aguas residuales en la región y en el país.
- Implementar programas de sensibilización a fin de que la población adquiera buenos hábitos de cuidado del agua y explicando el peligro de las aguas residuales para la salud de la población.

## CAPITULO VIII

### BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar F., Rosales D. & Salazar M. (2015). *Tratamiento de Efluentes Anaerobios en Sistemas Abiertos con Cultivos Microalgales*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Departamento de Biotecnología. México D.F.
- American Public Health Association. (1992). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18 ed. Washington: APHA, AWWA, WWCF.
- Añi, L. (1990). *Identificación de Alga en el Sistema de distribución y Abastecimiento de Agua Potable en la ciudad de Chiclayo*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque. Perú.
- Aparicio, J. (2011). *Aislamiento y cultivo de la microalga Chlorella pyrenoidosa utilizando el medio de cultivo AS-87*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque. Perú.
- Arana, J. (2009). *Aislamiento y cultivo de Nannochloris sp. en dos medios nutritivos*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque. Perú.
- Arriagada, A. (2008). *Tecnologías para el Tratamiento de Olores en Aguas Servidas*. Santiago de Chile, Universidad de Chile. Chile.
- Barrera, M. et al. (2015). *Evaluación del crecimiento poblacional de Ankistrodesmus sp. sometida a Codornaza y Remital como medios de cultivo*. Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.
- Bohórquez-Echeverry P. & Campos-Pinilla C. (2007). *Evaluación de Lactuca sativa y Selenastrum capricornutum como indicadores de toxicidad en aguas*. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Universitas Scientiarum Revista de la Facultad de Ciencias. Vol. 12 N° 2, 83-98. Colombia.

- Candela, R. (2016). *Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones*. Una revisión bibliográfica. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bucaramanga. Colombia.
- Chavesta, G. & Espinoza, D. (2013). *Efecto in vitro de la acción de la microalga Chlorella pyrenoidosa sobre la remoción de Cobre y Plomo presente en soluciones acuosas sintéticas, en Lambayeque*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque. Perú.
- Comas, G.A. (1996). Las Chlorococcales dulciacuícolas de Cuba. *Bibliotheca Phycologica*, J. Cramer, Berlin.
- Cortón E. & Viale A. (2006). Solucionando grandes problemas ambientales con la ayuda de pequeños amigos: las técnicas de biorremediación. *Ecosistemas* 15 (3): 148-157. Argentina.
- Decreto Supremo N° 003-2010-MINAM. Aprueba Límites Máximos Permisibles (LMP) para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domesticas o Municipales. 17 - 03 - 2010.
- Fernández A. (1982). Guía para el estudio de las Algas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.
- Guillard, R. (1973). Handbook of Phycological Methods: Culture methods and growth measurements. USA: Cambridge University Press.
- Haley MV, Johnson Dw, Hart Gs, Muse Wt, Landis Wg. (1986). The toxicity of brass dust to the microalgae *Ankistrodesmus falcatus* and *Selenastrum capricornutum*. *J Appl Toxicol*. 6(4):281-5.
- Hindák, F. (1984). Studies on the Chlorococcal algae Chlorophyceae. III, *Biologické Práce*, 30. Veda, Bratislava.

- Hurtado, C. (2014). Estudio de Pre-fractibilidad de la planta regional de biorremediación de aguas residuales, Universidad del Valle, Santiago de Cali. 81 pag. Colombia.
- John, D. M. & Tsarenko, P. M. (2002). Order Chlorococcales. In: D.M. John, B.A. Whitton & A.J. Brook (eds.). The Freshwater Algal Flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae. Cambridge University Press, New York, *Cambridge*, pp. 327-409.
- Lambers H., Neeteson J. J. and I. Stu Len. (1986). The influence of the form and concentration of inorganic nitrogen supplied on nitrogen uptake by *Ankistrodesmus falcatus*. In: Fundamental, ecological and agricultural aspects of nitrogen metabolism in higher plants. ISBN. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster.
- Ley N° 28611, Ley General del Ambiente, (2005). Publicada el 15 de octubre de Artículo 25.- De los Estudios de Impacto Ambiental.
- Marquez, J. F., Morgan, J. M. & Noyola, A. (2012). Control de malos olores en un sistema integral de tratamiento de aguas residuales para casas habitación. Seminario internacional sobre métodos naturales para el tratamiento de aguas residuales. [https://www.researchgate.net/publication/265269290\\_CONTROL\\_DE\\_MALOS\\_OLORES\\_EN\\_UN\\_SISTEMA\\_INTEGRAL\\_DE\\_TRATAMIENTO\\_DE\\_AGUAS\\_RESIDUALES\\_PARA\\_CASAS\\_HABITACION](https://www.researchgate.net/publication/265269290_CONTROL_DE_MALOS_OLORES_EN_UN_SISTEMA_INTEGRAL_DE_TRATAMIENTO_DE_AGUAS_RESIDUALES_PARA_CASAS_HABITACION)
- Mendoza, J. (2004). Estado actual del conocimiento de la Biorremediación en México. Centro de investigaciones Económicas, Administrativas y Sociales. México.
- Metecalf y Eddy. (1995). Ingeniería de Aguas residuales, redes de alcantarillado y bombeo. 2da edición. España.

- Montes, J. & Pulido, J. (2012). Obtención de protocolos para el aislamiento, cultivo y extracción de ADN de *Chlorella vulgaris* beyerinck [beijerinck]. *El Astrolabio*. Revista de Investigación y Ciencia del Gimnasio Campestre. Universidad Pedagógica Nacional. Bogotá. COLOMBIA.
- Morgan J., Revah S. & Noyola A. (1999). Malos olores en plantas de tratamiento de aguas residuales: su control a través de procesos Biotecnológicos. Coordinación de Bioprocesos Ambientales, Instituto de Ingeniería, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa UNAM, Coyoacan, México D.F., México.  
<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/impactos/mexicon/R-0032.pdf>
- Morgan, j. M., Revah, S. & Noyola, A. (1996). Malos olores en plantas de tratamiento de aguas residuales: su control a través de procesos biotecnológicos. Coordinación de Bioprocesos Ambientales, Instituto de Ingeniería, UNAM, Ciudad Universitaria, Coyoacan, México D.F., Departamento de Procesos e Hidráulica de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México.
- NOGUEIRA, I. S. (1991). Chlorococcales sensu lato Chlorophyceae do Município do Rio de Janeiro e arredores, Brasil: inventário e considerações taxonômicas. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Pellón, A. et al. (2003). Empleo de microalga *Scenedesmus obliquus* en la eliminación de cromo presente en aguas subterráneas galvánicas. *Rev. Metal*. Madrid 39: 9-16. España.
- Peixoto, G. et al. (2012). *Monoraphidium* and *Ankistrodesmus* (Chlorophyceae, Chlorophyta) from Pantanal dos Marimbus, Chapada Diamantina, Bahia State, Brazil. Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Botânica. *Hoehnea* 39(3): 421-434. Brasil.

- Plaza, C. J. (2012). "Remoción de metales pesados empleando algas marinas". Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Exactas. Departamento de Química. Argentina.
- Potera, C. (2011). Desechos Peligrosos. Algas de los Estanques aíslan el Estroncio 90. *Salud Pública de México*, Instituto Nacional Salud Pública de Mexico. Vol 53, Num 4, pag. 363-364. Mexico.
- Revah S. y Noyola A. (1996) "El mercado de la biotecnología ambiental en México y las oportunidades de vinculación Universidad-Industria" *Galindo E.* Ed. Fronteras de la biotecnología y Bioingeniería, SMBB, pp. 121-133
- Roa, A. y Cañizares, R. (2012). Biorremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*. 10(1), 71-77.
- Rodenas, J. (2003). Las Algas en la dieta. *Natura Medicatrix*, España. 21(5). 286-292.
- Romo, A. (2001). Manual para el cultivo de microalgas Memoria técnica profesional UABCS 50pp.
- Westermeyer H., R. (2013). *Uso de algas pardas de cultivo para la Biorremediación del Ambiente Costero en la Bahía de Chañaral*. Universidad Austral de Chile – Puerto Mont., Chile.

# **ANEXOS**

anexo 1. Mapa físico - Político del departamento de Lambayeque.





anexo 02. Para iniciar el ensayo de biorremediación.



Fuente: registro fotográfico propio

Anexo 3. Encuesta en la escala de S. Cha utilizada para determinar la intensidad del olor.

ESCALA	SIGNIFICADO
0	<b>Inodoro</b> No hay olores detectados
1	<b>Muy Leve</b> Olor que no percibirá una persona promedio, pero que podría ser detectado por una persona con experiencia o un individuo muy sensible.
2	<b>Leve</b> Olor que es tan débil que una persona promedio podría detectarlo si se le dice que ponga atención, pero que de otra manera no atraería su atención.
3	<b>Fácilmente Notable</b> Olor de moderada intensidad que podría ser detectado inmediatamente y podría considerarse negativa (posible malestar en áreas habitadas)
4	<b>Fuerte</b> Olor que llama la atención y que puede convertir el aire limpio en un aire muy desagradable (probable malestar si se encuentra en áreas habitadas)
5	<b>Muy Fuerte</b> Olor de tal intensidad que el aire sería absolutamente no apropiado para respirar (término que se debe usar en casos extremos).

Fuente: S. CHA, 1998.

#### Anexo 4.

##### **Aprueba Límites Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales**

**DECRETO SUPREMO N° 003-2010-MINAM EL**

**PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA**

**CONSIDERANDO:**

Que, el artículo 3 de la Ley N° 28611, Ley General del Ambiente, dispone que el Estado, a través de sus entidades y órganos correspondientes, diseña y aplica, las políticas, normas, instrumentos, incentivos y sanciones que sean necesarias para garantizar el efectivo ejercicio de los derechos y el cumplimiento de las obligaciones y responsabilidades contenidas en dicha ley;

Que, el numeral 32.1 del artículo 32 de la Ley General del Ambiente define al Límite Máximo Permissible - LMP, como la medida de concentración o grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a un efluente o una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. Su determinación corresponde al Ministerio del Ambiente. Su cumplimiento es exigible legalmente por el Ministerio del Ambiente y los organismos que conforman el Sistema Nacional de Gestión Ambiental. Los criterios para la determinación de la supervisión y sanción serán establecidos por dicho Ministerio;

Que, el numeral 33.4 del artículo 33 de la Ley N° 28611 en mención dispone que, en el proceso de revisión de los parámetros de contaminación ambiental, con la finalidad de determinar nuevos niveles de calidad, se aplique el principio de la gradualidad, permitiendo ajustes progresivos a dichos niveles para las actividades en curso;

Que, el literal d) del artículo 7 del Decreto Legislativo N° 1013, Ley de Creación, Organización y Funciones del Ministerio del

Ambiente - MINAM, establece como función específica de dicho Ministerio, elaborar los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) y Límites Máximos Permisibles (LMP), de acuerdo con los planes respectivos. Deben contar con la opinión del sector correspondiente, debiendo ser aprobados mediante Decreto Supremo;

Que, mediante Resolución Ministerial N° 121-2009-MINAM, se aprobó el Plan de Estándares de Calidad Ambiental (ECA) y Límites Máximos Permisibles (LMP) para el año fiscal 2009 que contiene dentro de su anexo la elaboración del Límite Máximo Permissible para los efluentes de Plantas de Tratamiento de fuentes domésticas;

Que el artículo 14 del Reglamento de la Ley del Sistema Nacional de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA) aprobado mediante Decreto Supremo N° 019-2009-MINAM, establece que el proceso de evaluación de impacto ambiental comprende medidas que aseguren, entre otros, el cumplimiento de los Estándares de Calidad Ambiental, los Límites Máximos Permisibles y otros parámetros y requerimientos aprobados de acuerdo a la legislación ambiental vigente; del mismo modo, en su artículo 28 el citado reglamento señala que, la modificación del estudio ambiental o la aprobación de instrumentos de gestión ambiental complementarios, implica necesariamente y según corresponda, la actualización de los planes originalmente aprobados al emitirse la Certificación Ambiental;

De conformidad con lo dispuesto en el numeral 8) del artículo 118 de la Constitución Política del Perú, y el numeral 3 del artículo 11 de la Ley N° 29158, Ley Orgánica del Poder Ejecutivo;

**DECRETA:**

**Artículo 1.- Aprobación de Límites Máximos Permisibles (LMP) para efluentes de Plantas de Tratamiento de Agua Residuales Domésticas o Municipales (PTAR)**

Aprobar los Límites Máximos Permisibles para efluentes de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales, los que en Anexo forman parte integrante del presente Decreto Supremo y que son aplicables en el ámbito nacional.

## **Artículo 2.- Definiciones**

Para la aplicación del presente Decreto Supremo se utilizarán los siguientes términos:

- Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales (PTAR): Infraestructura y procesos que permiten la depuración de las aguas residuales Domésticas o Municipales.
- Límite Máximo Permissible (LMP).- Es la medida de la concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. Su cumplimiento es exigible legalmente por el MINAM y los organismos

que conforman el Sistema de Gestión Ambiental.

- Protocolo de Monitoreo.- Procedimientos y metodologías establecidas por el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento en coordinación con el MINAM y que deben cumplirse en la ejecución de los Programas de Monitoreo.

## **Artículo 3.- Cumplimiento de los Límites Máximos Permisibles de Efluentes de PTAR**

3.1 Los LMP de efluentes de PTAR que se establecen en la presente norma entran en vigencia y son de cumplimiento obligatorio a partir del día siguiente de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

3.2 Los LMP aprobados mediante el presente Decreto Supremo, no serán de aplicación a las PTAR con tratamiento preliminar avanzado o tratamiento primario que cuenten con disposición final mediante emisario submarino.

3.3. Los titulares de las PTAR que se encuentren en operación a la dación del presente Decreto Supremo y que no cuenten

con certificación ambiental, tendrán un plazo no mayor de dos (02) años, contados a partir de la publicación del presente Decreto Supremo, para presentar ante el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento su Programa de Adecuación y Manejo Ambiental; autoridad que definirá el respectivo plazo de adecuación.

3.4 Los titulares de las PTAR que se encuentren en operación a la dación del presente Decreto Supremo y que cuenten con certificación ambiental, tendrán un plazo no mayor de tres (03) años, contados a partir de la publicación del presente Decreto Supremo, para presentar ante el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, la actualización de los Planes de Manejo Ambiental de los Estudios Ambientales; autoridad que definirá el respectivo plazo de adecuación.

## **Artículo 4.- Programa de Monitoreo**

4.1 Los titulares de las PTAR están obligados a realizar el monitoreo de sus efluentes, de conformidad con el Programa de Monitoreo aprobado por el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento. El Programa de Monitoreo especificará la ubicación de los puntos de control, métodos y técnicas adecuadas; así como los parámetros y frecuencia de muestreo para cada uno de ellos.

4.2 El Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento podrá disponer el monitoreo de otros parámetros que no estén regulados en el presente Decreto Supremo, cuando existan indicios razonables de riesgo a la salud humana o al ambiente.

4.3 Sólo será considerado válido el monitoreo conforme al Protocolo de Monitoreo establecido por el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, realizado por Laboratorios acreditados ante el Instituto Nacional de Defensa del Consumidor y de la Propiedad Intelectual - INDECOPI.

## **Artículo 5.- Resultados de monitoreo**

5.1 El Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento es responsable de la administración de la base de datos del monitoreo de los efluentes de las

PTAR, por lo que los titulares de las actividades están obligados a reportar periódicamente los resultados del monitoreo de los parámetros regulados en el Anexo de la presente norma, de conformidad con los procedimientos establecidos en el Protocolo de Monitoreo aprobado por dicho Sector.

5.2 El Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento deberá elaborar y remitir al Ministerio del Ambiente dentro de los primeros noventa (90) días de cada año, un informe estadístico a partir de los datos de monitoreo presentados por los Titulares de las PTAR, durante el año anterior, lo cual será de acceso público a través del portal institucional de ambas entidades.

#### **Artículo 6.- Fiscalización y Sanción**

La fiscalización del cumplimiento de los LMP y otras disposiciones aprobadas en el presente Decreto Supremo estará a cargo de la autoridad competente de fiscalización, según corresponda.

#### **Artículo 7.- Refrendo**

El presente Decreto Supremo será refrendado por el Ministro del Ambiente y por el Ministro de Vivienda, Construcción y Saneamiento.

#### **DISPOSICIÓN COMPLEMENTARIA FINAL**

Única.- El Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, en coordinación con el MINAM, aprobará el Protocolo de Monitoreo de Efluentes de PTAR en un plazo no mayor a doce (12) meses contados a partir de la vigencia del presente dispositivo.

Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los dieciséis días del mes de marzo del año dos mil diez.

**ALAN GARCÍA PÉREZ**

Presidente Constitucional de la República

**ANTONIO JOSÉ BRACK EGG**

Ministro del Ambiente

**JUAN SARMIENTO SOTO**

Ministro de Vivienda, Construcción y Saneamiento

**LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA LOS EFLUENTES DE  
PTAR**

<b>PARÁMETRO</b>	<b>UNIDAD LMP DE EFLUENTES PARA VERTIDOS A CUERPOS DE AGUAS</b>
Aceites y grasas	mg/L 20
Coliformes Termotolerantes	MP/10010,000mL
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L100
Demanda Química de Oxígeno	mg/L 200
PH	unidad 6.5-8.5
Sólidos Totales en Suspensión	mg/L150
Temperatura	°C<35