

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO**

**CARRERA:
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**TEMA:
TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS RESIDUALES DEL
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN, ANÁLISIS Y MONITOREO IAM-Q
DE LA SECRETARÍA DEL AMBIENTE DEL DMQ.**

**AUTORA:
YOLANDA ESTEFANÍA MOLINA AMORES**

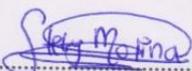
**TUTORA:
MARÍA FERNANDA GUEVARA GRANJA**

Quito, marzo del 2016

Cesión de derechos de autor

Yo Yolanda Estefanía Molina Amores, con documento de identificación N° 0502747033, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación intitulado: "Tratamiento biológico de aguas residuales del Laboratorio de Investigación, Análisis y Monitoreo IAM-Q de la Secretaría del Ambiente del DMQ", mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

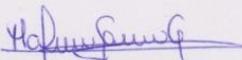


.....
Nombre: Estefanía Molina Amores
Cédula: 050274703-3
Fecha: marzo 2016

Declaratoria de coautoría del docente tutor/a

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación “Tratamiento biológico de aguas residuales del Laboratorio de Investigación, Análisis y Monitoreo IAM-Q de la Secretaría del Ambiente del DMQ”, realizado por Yolanda Estefanía Molina Amores, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, marzo del 2016



María Fernanda Guevara Granja

1002454948

Quito, 04 de marzo de 2016

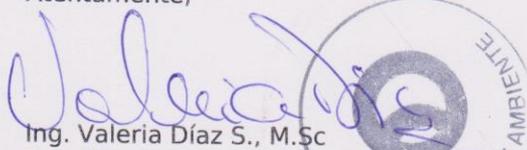
AUTORIZACIÓN

La secretaría de Ambiente, autoriza a utilizar los datos y resultados de la investigación realizada en los Laboratorios IAM-Q de la Secretaría de Ambiente por la Srta. Yolanda Estefanía Molina Amores, para ser utilizados en el Trabajo de Titulación de la Universidad Politécnica Salesiana "Tratamiento biológico de aguas residuales del Laboratorio de Investigación, Análisis y Monitoreo IAM-Q de la Secretaría de Ambiente del DMQ" de la mencionada señorita.

En todas las publicaciones que se desprendan de este estudio deberán citarse como coautor a la Unidad de Investigación, Análisis y Monitoreo de la Secretaría de Ambiente.

Adicionalmente, la Secretaría de Ambiente se reserva el derecho de seguir explotando los datos y resultados para otras investigaciones y publicaciones.

Atentamente,



Ing. Valeria Díaz S., M.Sc
Coordinadora del Laboratorio de Investigación Análisis y Monitoreo
SECRETARÍA DE AMBIENTE
MUNICIPIO DEL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO

Dedicatoria

A Dios, mi guía espiritual

A mis padres, la luz de mi vida

A mi esposo y a mi hija, mi promesa de amor

Estefanía Molina

Agradecimientos

A la Ing. María Fernanda Guevara, por su asesoramiento, predisposición y ayuda.

Al Dr. Ever Morales, por compartirme su valioso conocimiento, por su accesibilidad y colaboración en la fase experimental del proyecto.

A la Ing. Valeria Díaz MSc. Coordinadora del Laboratorio de Investigación, Análisis y Monitoreo IAM-Q de la Secretaría de Ambiente del DMQ, por su apertura y colaboración.

Índice

Introducción.....	1
1. Marco conceptual.....	4
1.1. Aguas residuales	4
1.1.1. Tipos de aguas residuales.	4
1.1.2. Principales contaminantes.....	4
1.2. Calidad del Agua	6
1.2.1. Parámetros de calidad de las aguas.	6
1.3. Descarga de Efluentes.....	10
1.3.1. Límites máximos permisibles de descarga.	11
1.4. Tratamiento primario.....	11
1.5. Tratamiento biológico.....	11
1.5.1. Ficorremediación.....	12
1.6. Microalgas.....	14
1.6.1. Nutrición.	15
1.6.2. Parámetros de cultivo.....	16
1.6.3. Cinética de crecimiento.	18
1.6.4. <i>Chlorella</i> sp.	20
1.6.5. <i>Scenedesmus</i> sp.	20
1.7. Bacteria fotosintética roja no sulfurosa	21

2.	Metodología.....	23
2.1.	Muestreo del efluente.....	23
2.2.	Tratamiento primario del efluente.....	25
2.3.	Ensayo preliminar	25
2.3.1.	Sistema de cultivo.	25
2.4.	Ensayo de factibilidad.....	26
2.4.1.	Mantenimiento y escalado del consorcio microalgal.	26
2.4.2.	Sistema de cultivo.	27
2.5.	Ensayo de Tratabilidad	28
2.5.1.	Sistema de cultivo.	28
2.6.	Evaluación del crecimiento de las microalgas	30
3.	Resultados y discusión	32
3.1.	Ensayo preliminar	32
3.2.	Ensayo de factibilidad.....	33
3.3.	Ensayo de tratabilidad.....	37
3.3.1.	Crecimiento del consorcio	37
3.3.2.	Remoción de contaminantes	39
	Conclusiones.....	51
	Recomendaciones	52
	Referencias	53

Índice de tablas

Tabla 1. Modo de nutrición de las microalgas	16
Tabla 2. Métodos de análisis para descargas líquidas	24
Tabla 3. Promedio del crecimiento celular de los consorcios microalgales a diferentes concentraciones del efluente	33
Tabla 4. Densidad celular del consorcio en la etapa de tratabilidad.....	38
Tabla 5. Porcentaje de variación de DQO por el consorcio (<i>Chlorella</i> sp.+ <i>Scenedesmus</i> sp.)	40
Tabla 6. Porcentaje de variación de DBO₅ por el consorcio (<i>Chlorella</i> sp.+ <i>Scenedesmus</i> sp.)	41
Tabla 7. Porcentaje de variación de fósforo total por el consorcio (<i>Chlorella</i> sp.+ <i>Scenedesmus</i> sp.)	42
Tabla 8. Porcentaje de variación de fenoles por el consorcio (<i>Chlorella</i> sp.+ <i>Scenedesmus</i> sp.)	44
Tabla 9. Porcentaje de variación de tensoactivos por el consorcio (<i>Chlorella</i> sp.+ <i>Scenedesmus</i> sp.)	45
Tabla 10. Porcentaje de variación de sulfatos por el consorcio (<i>Chlorella</i> sp.+ <i>Scenedesmus</i> sp.)	47
Tabla 11. Porcentaje de variación de cianuro por el consorcio (<i>Chlorella</i> sp.+ <i>Scenedesmus</i> sp.)	47
Tabla 12. Porcentaje de variación de sulfuros por el consorcio (<i>Chlorella</i> sp.+ <i>Scenedesmus</i> sp.)	49

Índice de figuras

Figura 1. Curva representativa de crecimiento de un cultivo estático de microalgas	19
Figura 2. Esquema del ensayo preliminar.	26
Figura 3. Esquema del ensayo de factibilidad.....	28
Figura 4. Esquema del ensayo de tratabilidad. El porcentaje representa la concentración del efluente, este ensayo se realizó a pH 9.	30
Figura 5. Recuento celular en cámara de Neubauer	31
Figura 6. Promedio del crecimiento celular de los consorcios microalgales a diferentes concentraciones del efluente.	33
Figura 7. Promedio del crecimiento celular de los tratamientos a diferentes concentraciones del efluente.	34
Figura 8. Promedio del crecimiento celular de los tratamientos a diferentes concentraciones del efluente.	34
Figura 9. Comparación del crecimiento celular del Tratamiento 2 a diferentes valores de pH 7 y 9, en 5 concentraciones del efluente.	35
Figura 10. Crecimiento del consorcio <i>Chlorella</i> sp.+ <i>Scenedesmus</i> sp., en los 15 días del experimento en el tratamiento y en el control.	39
Figura 11. Porcentaje de variación de DQO (%) en el tratamiento y en el control	40
Figura 12. Porcentaje de variación de DBO ₅ (%) en el tratamiento y en el control	41
Figura 13. Porcentaje de variación de fósforo total (%) en el tratamiento y en el control	43

Figura 14. Porcentaje de variación de fenoles (%) en el tratamiento y en el control	44
Figura 15. Porcentaje de variación de tensoactivos (%) en el tratamiento y en el control	45
Figura 16. Porcentaje de variación de sulfatos en el tratamiento y en el control	47
Figura 17. Porcentaje de variación de cianuro (%) en el tratamiento y en el control	48
Figura 18. Porcentaje de variación de sulfuros (%) en el tratamiento y en el control	49

Resumen

Las microalgas constituyen una alternativa para la depuración de aguas residuales, ya que poseen una capacidad ficorremediadora. En esta investigación se evaluó a nivel de laboratorio la reducción de contaminantes presentes en las aguas residuales del Laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente, mediante el consorcio microalgal *Chlorella* sp., y *Scenedesmus* sp. Para el tratamiento se utilizó cultivos que iniciaron con una densidad celular de 2.5×10^6 cel/mL del consorcio microalgal, y 15 mL de Nitrofoska (3 mL/L), en recipientes de plástico de 5 L de capacidad, con 3 L del efluente a pH 9, además se utilizó un control que contenía el efluente sin el consorcio, el experimento se realizó por 5 repeticiones y se mantuvo con iluminación y aireación constante durante 15 días. Se evaluó el crecimiento del consorcio microalgal mediante recuento celular. Se determinó la eficiencia de remoción de contaminantes del efluente, reportando porcentajes máximos de remoción de 89,57% para Demanda Química de Oxígeno (DQO), 98,32% para Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), 77,47% para fósforo total, 99,18% para fenoles, 89,8% para tensoactivos, 18,03% para sulfatos, 99,66% para cianuros y 99,20% para sulfuro.

Palabras clave: ficorremediación, consorcio microalgal, remoción, agua residual, contaminantes.

Abstract

Microalgae are an alternative for wastewater treatment, as they have the capacity to purify through phycoremediation. This research was performed at laboratory level to reduce the contaminants in wastewater at IAM-Q Laboratory of the Department of Environment, through the consortium microalgae *Chlorella* sp., and *Scenedesmus* sp. The crops used for the treatment started with a cell density of 2.5×10^6 cell/mL microalga consortium, and 15 mL of Nitrofoska (3 mL/L), in plastic containers of 5 L capacity, 3 L of effluent was used pH 9 further control containing effluent without the consortium was used, the experiment was performed in 5 replications and maintained with constant aeration and illumination for 15 days. The growth of the consortium microalgae was evaluated by cell count. The efficiency of removal of contaminants from the effluent was determined, reporting maximum rates of 89.57% for removal Chemical Oxygen Demand (DQO), 98.32% for Biochemical Oxygen Demand (DBO₅), 77.47% for total phosphorus, 99.18% for phenol, 89.8% for surfactants, 18.03% for sulfates, 99.66% for cyanides and 99.20% for sulfur.

Key words: phycoremediation, consortium microalgae, removal, wastewater, contaminants.

Introducción

En la actualidad uno de los problemas más preocupantes en materia medioambiental es la gran cantidad de aguas residuales que son vertidas de forma indiscriminada al cauce fluvial y alcantarillado sin ningún tratamiento previo.

Según datos reportados en el primer informe de Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos del mundo, *Agua para todos, agua para la vida* (FAO, 2003), el 59% del consumo total de agua en los países desarrollados, es de uso industrial, el 30% se refiere a consumo agrícola y un 11% a gasto doméstico. Rodríguez, y otros (2006), mencionan que en el año 2025 el consumo de agua destinado a la industria alcanzará los 1.170 km³/año, cifra que en 1995 se situaba en 752 km³/año.

En los países en vías de desarrollo un 70% de los residuos, que se generan en las fábricas se vierten al agua sin ningún tipo de tratamiento previo, contaminando así el agua disponible, por tanto el sector productor además de ser el que más gasta, es el que más contamina los recursos hídricos (Rodríguez, y otros, 2006).

En el Ecuador, sólo el 8,1% de las empresas privadas realizan tratamiento de agua residual, según la *Encuesta de Información Ambiental Económica en Empresas Privadas*, realizada por el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC, 2013), (ver anexo 1).

A nivel Nacional, 25% de las Empresas Públicas realizan tratamiento de sus aguas residuales, siendo las empresas del sector suministro de electricidad quienes más lo realizan, según la *Encuesta de Información Ambiental Económica en Empresas*

Públicas, realizada por el Instituto Nacional de Estadística y Censos INEC en el 2013 (ver anexo 2).

Resulta muy preocupante constatar que a nivel nacional un reducido porcentaje de empresas que realizan actividades industriales, no realizan tratamiento de aguas residuales, debido a que dichos efluentes contienen sustancias tóxicas en elevadas concentraciones, que no se eliminan por un tratamiento convencional (Vilaseca, 2012). La mayor fuente de contaminación de agua se vincula con actividades relacionadas a la agricultura comercial, plantas manufactureras, actividades mineras y operaciones de petróleo (Cabrera, Garcés, & Paredes, 2010).

En el Ecuador más del 80% de las empresas industriales, agroindustriales, de comercio y servicios, que generan aguas residuales con alta carga orgánica, no las sanean y las descargan directamente a los cuerpos de agua, muchos de los compuestos que se han identificado en aguas residuales industriales son objeto de regulación especial debido a su toxicidad o a sus efectos biológicos a largo plazo (Jurado, 2005) (Vilaseca, 2012).

Se han desarrollado varios métodos de tratamiento de aguas residuales (Cordero, 2014), uno de ellos es el tratamiento biológico, que se basa en el utilización de microorganismos que presentan capacidad metabólica sobre ciertos compuestos contaminantes, de esta forma convierten la materia orgánica en suspensión y ya disuelta, en tejido celular nuevo y diferentes gases (Vásconez, 2010). Además aprovechan la capacidad de los microorganismos de realizar los procesos de adsorción, absorción y desorción a través de las membranas para la remoción de contaminantes, como es el caso de los metales (Varila & Díaz, 2008).

En el Laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente se realizan gran cantidad de análisis físico - químicos de agua, para el control de descargas de efluentes líquidos de industrias y de distintos puntos de los ríos que conforman la red hídrica del DMQ que monitorea la Secretaría de Ambiente, la realización de dichos análisis conlleva el uso de sustancias químicas, que generan aguas residuales contaminadas, con elevadas cantidades de reactivos químicos, en la mayoría de los casos peligrosos para la salud y el medio ambiente; siendo la Secretaria de Ambiente el ente regulador y controlador de las políticas ambientales es imprescindible implementar un sistema de tratamiento de aguas residuales, con la finalidad de que los residuos sean lo más inocuos posible, de tal manera que la descarga no sobrepase los límites de vertido.

En consideración a la información descrita, la presente investigación tiene el propósito de evaluar a nivel de laboratorio, la reducción de contaminantes presentes en las aguas residuales del Laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente, mediante la selección previa de un consorcio de microalga, para lo cual será necesario evaluar la factibilidad de crecimiento de diferentes consorcios de microalgas a distintas concentraciones del efluente, además establecer un protocolo para la producción del consorcio microalgal y por último determinar la eficiencia de remoción de contaminantes del efluente posterior al tratamiento con el consorcio microalgal. De esta manera se comprobará si el consorcio seleccionado presenta capacidad de remoción de contaminantes de las aguas residuales del Laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente.

Capítulo 1

Marco conceptual

1.1. Aguas residuales

Son aguas de composición variada, cuyas características originales han sido modificadas por actividades industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias y domésticas, que por la degradación de su calidad requieren un tratamiento previo, antes de ser reusadas, vertidas al cauce o descargadas al sistema de alcantarillado (TULAS, 2003) (OEFA, 2014).

1.1.1. Tipos de aguas residuales.

Existen tres tipos de aguas residuales; el primer tipo son las aguas residuales domésticas, que son aquellas de origen residencial, procedentes de zonas de vivienda generadas principalmente por el metabolismo humano y las actividades domésticas; el segundo tipo son las aguas residuales industriales, que resultan del desarrollo de un proceso productivo; y el último tipo son las aguas urbanas, que son las aguas residuales domésticas o la mezcla de las mismas con aguas de escorrentía pluvial o con aguas residuales industriales previamente tratadas, para ser admitidas en esta red colectora (OEFA, 2014) (Rodríguez, y otros, 2006).

1.1.2. Principales contaminantes.

Existe un gran número de contaminantes del agua, entre los principales se encuentran: los microorganismos patógenos, a este grupo pertenecen las bacterias, virus y protozoos de tipo infeccioso, que son agentes causantes de enfermedades y suponen una amenaza potencial para la salud de la población (Donald, 1998) (Echarri, 2007); los desechos orgánicos, son los restos biodegradables de plantas y

animales, incluyendo heces y otros materiales que pueden ser descompuestos por microorganismos (Echarri, 2007) (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003), este contaminante se mide en función a la cantidad de oxígeno disuelto, OD, en agua, o la Demanda Biológica de Oxígeno, DBO (Echarri, 2007); las sustancias químicas inorgánicas, son de origen mineral y de naturaleza variada, como los ácidos, sales, óxidos y metales tóxicos, se presentan en forma de disoluciones, soluciones y coloides (Félez, 2009) (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003), al encontrarse en altas cantidades pueden causar efectos negativos sobre los seres vivos y la agricultura, la principal repercusión es la toxicidad (Echarri, 2007) (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003).

Los nutrientes vegetales inorgánicos son otro tipo de contaminantes del agua, en este grupo se encuentran las sustancias que contienen elementos esenciales para la vida, para efectos de contaminación se consideran los nitratos y fosfatos, que al encontrarse en gran cantidad inducen el aumento de la vida vegetal, lo que provoca la eutrofización de las aguas (Chang, 2008) (Zambrano, 2010). Los compuestos orgánicos también son contaminantes, las moléculas más significativas son: pesticidas, plásticos, disolventes, detergentes, fenoles, aceites minerales y derivados halogenados (Contreras & Molero, 2011), que por sus características fisicoquímicas resisten la degradación y permanecen largos períodos de tiempo en el agua (Albert, 1997) (Echarri, 2007).

Las partículas de diferentes tamaños y otros materiales que hay en suspensión en las aguas, constituyen, la mayor fuente de contaminación del agua (Chang, 2008). Estas provocan la turbidez en el agua que impide el crecimiento de algunos organismos, los sedimentos que se van acumulando alteran la cadena alimenticia, ya que

destruyen el hábitat de muchas especies y sus sitios de alimentación (Chang, 2008) (Echarri, 2007). Las sustancias radiactivas son los contaminantes más tóxicos, están relacionados a las actividades de algunas plantas industriales, centros de investigación, hospitales, fuentes mineras y centrales nucleares, además tienen una vida media más prolongada (Chang, 2008) (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003). La contaminación térmica del agua se da debido a la descarga de aguas residuales con temperaturas mayores a las del ámbito permisible 40°C (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003), lo que provoca la disminución de la concentración de oxígeno del agua y con ello la mortandad de peces y vegetación (Chang, 2008) (Echarri, 2007).

1.2. Calidad del Agua

Campos (2003), define a la calidad del agua como: “el grupo de concentraciones, especificaciones, sustancias orgánicas e inorgánicas, la composición y estado de la biota encontrado en un cuerpo de agua” (pág. 48). En general, la calidad del agua se define en relación a las características físicas, químicas y biológicas, que determinan el estado del agua, en función del uso específico al que va a ser destinada (Bureau Veritas, 2008) (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003).

1.2.1. Parámetros de calidad de las aguas.

Para determinar la calidad del agua se han establecido distintos parámetros físico-químicos y biológicos, los cuales dan una información extensa de la naturaleza de las especies químicas del agua, sus propiedades físicas y los organismos patógenos presente en los cuerpos de agua (Orozco, Pérez, González, Rodríguez, & Alfayate, 2005). Para determinar dichos parámetros se realizan ensayos de laboratorio, con los

cuales se establece de manera cuantitativa y estandarizada la calidad del agua (Campos, 2003).

1.2.1.1. Parámetros físicos.

Estos parámetros están determinados en relación a las propiedades organolépticas del cuerpo de agua, ya que responden a los sentidos del tacto, vista, olfato y gusto (Campos, 2003).

Los parámetros físicos son: color, la presencia de color en el agua es indicativo de contaminación por descargas de residuos, arrastre de sólidos o debido a la descomposición de material vegetal y microorganismos (Bureau Veritas, 2008) (Campos, 2003) (Rigola, 1990); sabor y olor, estos dos parámetros están muy relacionados entre sí, ya que provocan una respuesta sensorial similar, generalmente se deben a los gases liberados como producto del proceso de biotransformación de la materia orgánica, también por la presencia de minerales, metales, sales del suelo y sustancias volátiles (Campos, 2003) (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003) y temperatura, este parámetro mide la cantidad de calor contenida en el agua, la existencia de la vida acuática depende directamente de esta propiedad termodinámica que determina la evolución o tendencia de las propiedades físicas, químicas y biológicas del cuerpo de agua (Bureau Veritas, 2008) (Campos, 2003) (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003).

1.2.1.2. Parámetros químicos.

Para la determinación de estos parámetros es necesario el uso de ciertos instrumentos de medición y la realización de ensayos en laboratorios, dado que se necesitan

métodos más sensibles para determinar la presencia y concentración de las sustancias disueltas en el agua (Campos, 2003).

Los principales parámetros químicos que determinan la calidad del agua son:

- pH, Rigola (1990), define al potencial de hidrógeno como: “una medida de la concentración de iones hidrógeno” (pág. 29), este parámetro expresa la naturaleza ácida o alcalina de una solución acuosa (Bureau Veritas, 2008), la determinación del pH se realiza por medio de electrometría de electrodo selectivo con el uso del pHmetro (Aznar, 2000), o con cintas especiales que, por coloración, indican el valor (Rigola, 1990, pág. 29).
- Fósforo total está constituido por fósforo reactivo (ortofosfato), fósforo hidrolizable (orto y polifosfato) y fósforo orgánico (Sánchez J. , 2001, pág. 5), la determinación de fósforo total consiste en digerir la muestra para convertir a ortofosfato las diferentes formas de fósforo presentes y posteriormente cuantificar el ortofosfato en solución (Instituto Nacional de Normalización, 2009), generalmente por espectrofotometría (Aznar, 2000).
- Fenoles son todas aquellas sustancias derivadas del hidroxibenceno y de compuestos aromáticos polinucleares (Aznar, 2000) (Vitores, 2005), se determinan espectrofotométricamente, mediante la extracción previa con cloroformo, o directamente a partir de compuestos de condensación del fenol (Aznar, 2000).
- Cianuros son compuestos químicos que presentan el grupo (CN-) en su estructura (ATSDR, 2006), presentan una elevada toxicidad, ya que pueden liberar ácido cianhídrico al experimentar un cambio de pH, se determina

cómo ion cianuro, generalmente mediante espectrofotometría (Chávez , Dioses, & Nakaya, 2013).

- Sulfatos son minerales que contienen como unidad estructural el ion sulfato $(\text{SO}_4)^{-2}$, corresponden a sales con ciertos grados de solubilidad (Rigola, 1990). La determinación analítica se realiza por gravimetría con cloruros de bario siendo el método más seguro (Rigola, 1990), ya que el ion sulfato precipita en medio ácido con cloruro de bario formando cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme, cuya concentración es proporcional a la concentración de sulfatos en la muestra (Severiche & González, 2012).
- Sulfuros son sales derivadas de azufre, estos compuestos se caracterizan por contener el ion sulfuro (S^2) en su estructura. Los sulfuros por modificación del pH se pueden transformar en ácido sulfhídrico, lo cual otorga muy mal olor al agua y las convierte en potencialmente tóxicas (Rigola, 1990). Su determinación se la realiza generalmente por espectrofotometría (Sanz, Cabredo, de Marcos, & Galbán, 1992).
- Demanda Química de Oxígeno (DQO) es la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar la materia orgánica contenida en el agua mediante un oxidante químico, que generalmente es el dicromato de potasio, la determinación se la realiza en medio ácido con una duración de aproximadamente tres horas, los resultados se expresan en mg de oxígeno por L del efluente (Aznar, 2000) (Ramalho, 2003).
- Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5) este parámetro mide la cantidad de oxígeno requerido para la oxidación de la materia orgánica biodegradable mediante procesos biológicos aerobios (Bureau Veritas, 2008) (Ramalho, 2003). El ensayo para la determinación del DBO se realiza en cinco días

(Rigola, 1990), esta prueba permite detectar la contaminación orgánica de acuíferos y prever cuanto oxígeno será necesario para el saneamiento de esas aguas (Echarri, 2007) (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003).

- Surfactantes son compuestos formados por una cadena polar y una no polar que le otorga propiedades hidrofóbicas, pueden ser de naturaleza aniónica, catiónica, neutra o biológica (Aznar, 2000) (Ramos, Sepúlveda, & Villalobos, 2003). La determinación se hace por espectroscopia UV-visible, ya que se usa azul de metileno para la formación de complejos estables que se extraen con cloroformo (Aznar, 2000).

1.2.1.3. Parámetros biológicos.

Este parámetro se refiere al grupo de microorganismos patógenos presentes en los efluentes, que poseen efectos adversos para la salud humana, por lo cual representan un riesgo biológico, ya que pueden transmitir un sinnúmero de enfermedades entre las más importantes la fiebre tifoidea, disentería y cólera (Bureau Veritas, 2008) (Campos, 2003). Mediante este parámetro se puede determinar la contaminación fecal de los cuerpos de agua, siendo los principales indicadores la bacteria *Escherichia coli* y el grupo coliforme en su conjunto (Rigola, 1990).

1.3. Descarga de Efluentes

El Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria del Ministerio de Ambiente TULAS (2003), define la descarga como: “la acción de verter, infiltrar, depositar o inyectar aguas residuales a un cuerpo receptor o a un sistema de alcantarillado en forma continua, intermitente o fortuita” (pág. 4).

Existen dos tipos de descargas, la puntual que se refiere a la descarga de efluentes en lugares específicos (Autoridad Ambiental Distrital, 2013) y la no puntual que es aquella en la cual no se puede obtener información precisa del punto exacto de vertimiento al cuerpo receptor (TULAS, 2003).

1.3.1. Límites máximos permisibles de descarga.

La Secretaría de Ambiente mediante la Resolución N°. 002-SA-2014, establece la norma técnica para el control de descargas líquidas que regula el vertido de aguas en el Distrito Metropolitano de Quito. En el anexo 3 se encuentran los límites permisibles de concentración de los contaminantes referidos en esta investigación en los efluentes líquidos, vertidos al sistema de alcantarillado y cauces de aguas, con el fin de prevenir y controlar la contaminación ambiental, en lo relativo al recurso agua.

1.4. Tratamiento primario

El tratamiento primario es la etapa inicial en el tratamiento de aguas residuales, está diseñado para eliminar los materiales sólidos sedimentables y flotantes, que se encuentran en los efluentes, principalmente por procesos físicos (Tchobanoglous, Burton, Stensel, & Eddy, 2003). El objetivo es producir un efluente clarificado, con una concentración baja de sólidos que permita su fácil manejo (Ramírez & Mendoza, 2005).

1.5. Tratamiento biológico

Este tratamiento se basa en la conversión biológica de la materia orgánica (Campos, 2003), tanto soluble como coloidal, en biomasa y la eliminación de nutrientes como nitrógeno y fósforo (Osorio, Torres, & Sánchez, 2010), mediante la actividad de los

microorganismos que se nutren de diferentes contaminantes de las aguas (Bureau Veritas, 2008) y degradan los sólidos disueltos o los orgánicos coloidales por bioxidación (Campos, 2003), reduciendo los valores de DBO₅ y DQO (Rigola, 1990), de ésta manera se aprovecha la actividad metabólica de los microorganismos sobre determinados componentes indeseables del agua (Rodríguez, y otros, 2006).

El tratamiento antes mencionado presenta grandes ventajas, ya que al aplicarlo se obtienen altos rendimientos optimizando los costos de explotación y mantenimiento, además destruye completamente los contaminantes, transformándolos en sustancias inocuas (Arnáiz, Isac, & Lebrato, 2000).

Según Rodríguez, y otros (2006), existen diversos sistemas para la aplicación de los tratamientos biológicos, siendo los más utilizados los sistemas aerobios, cuya característica principal es la presencia de oxígeno (O₂), que es el aceptor de electrones en este caso; también se usan los sistemas anaerobios, es decir en ausencia de oxígeno por lo cual el aceptor de electrones puede ser el dióxido de carbono (CO₂) o parte de la propia materia orgánica; y por último pueden ser utilizados los sistemas anóxicos en los que existe ausencia de O₂ y presencia de nitrato (NO₃) siendo este último elemento el aceptor de electrones.

1.5.1. Ficorremediación.

La ficorremediación se basa en el uso de sistemas biológicos para la remoción o biotransformación de compuestos contaminantes de las aguas residuales, mediante el uso específico de consorcios de microorganismos fotosintéticos, donde predominan las microalgas (Olguín, 2003) (Pellón, y otros, 2005). Por consiguiente se determina

a esta técnica como un tipo de biorremediación, con la particularidad de que los organismos utilizados, son específicamente algas (Pérez, 2009).

Las microalgas que intervienen en el tratamiento de aguas residuales representan un alto potencial biotecnológico, puesto que tienen la capacidad de eliminar contaminantes y producir biomasa como producto del proceso, permitiendo el reciclaje eficiente de los nutrientes (Hernández & Labbé, 2014) (González, Cañizares, & Baena, 1997).

La ficorremediación está orientada principalmente a los procesos de depuración de aguas contaminadas, ya que puede ser aplicada para la remoción de nutrientes con elevados contenidos de materia orgánica, la retención de CO₂, la biotransformación de xenobióticos (Olguín, 2003), la eliminación de metales pesados, el control de patógenos y el monitoreo de compuestos tóxicos (Muñoz & Guieysse, 2006).

Las especies de diversos géneros de microalgas como *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Phormidium*, *Spirulina*, han sido ampliamente usadas en ficorremediación (Pérez, 2009), dado que poseen características importantes para este fin, como son: alta tasa de crecimiento, alta tolerancia a contaminantes, adaptabilidad a condiciones extremas, alta capacidad de absorción de xenobióticos y buena capacidad para formar agregados (Hernández & Labbé, 2014) (Muñoz & Guieysse, 2006) (Park, Craggs, & Shilton, 2011).

La ficorremediación presenta diversas ventajas como son: el mejoramiento de la calidad del efluente, el aprovechamiento de nutrientes, la producción de biomasa de interés comercial, la oxigenación del agua, la acción bactericida, la recuperación de CO₂ y un alto rendimiento en la bioconversión de la energía solar (Kojima & Lee, 2001) (Pérez, 2009).

1.6. Microalgas

Son organismos microscópicos que forman parte del fitoplancton, pueden ser unicelulares o pluricelulares, procariotas o eucariotas, contienen pigmentos fotosintéticos en su estructura, por lo que son capaces de transformar la energía luminosa en energía química con una alta eficiencia (Abalde, 1995) (Del Pozo, 2010) (Gómez & Ramírez, 2004). Estos organismos son de muy variada morfología y fisiología, crecen naturalmente en los diversos cuerpos de agua, tales como ríos, lagos o mares (Loy Chu, 2012) (Posten & Feng Chen, 2016).

Las microalgas son consideradas recursos biológicos importantes, debido al gran número de aplicaciones biotecnológicas que tienen, dentro de su interés comercial se encuentra la capacidad de aprovechar los residuos y compuestos inorgánicos como fuente de nutrientes, adicionalmente poseen genes catabólicos para degradar contaminantes, que facilitan su utilización por la adaptabilidad a distintas condiciones ambientales, la alta tasa de crecimiento y la elevada actividad metabólica que presentan (Andrade, Chacón, Cárdenas, & Morales, 2006) (Forero, 2014) (Loy Chu, 2012).

En términos de biotecnología ambiental, las microalgas son ampliamente utilizadas para la biorremediación de aguas residuales, además son usadas como indicadores de contaminación en ecosistemas acuáticos y como biomonitores para la evaluación y seguimiento de agentes contaminantes presentes en los distintos cuerpos de agua (Gómez & Ramírez, 2004) (Loy Chu, 2012).

En los últimos años, las microalgas han sido de mucha utilidad por su potencial uso en biorremediación, debido a la obtención de resultados favorables en la calidad de los efluentes tratados, esto se debe a la eficiente bioconversión de la energía solar, en la utilización y eliminación de materia orgánica y por último al interés comercial de la biomasa generada en el proceso, que puede ser aplicada en sistemas de producción (Andrade M. , 2013) (Salazar, 2005).

1.6.1. Nutrición.

Los distintos modos de nutrición de las microalgas están relacionados con la utilización de energía luminosa y CO₂, además de la asimilación de compuestos orgánicos (Bermúdez, Sánchez, Fuenmayor, & Morales, 2003). El modo de nutrición determina las rutas metabólicas empleadas en el anabolismo y catabolismo (Pérez, 2009).

En general las microalgas son organismos fotoautótrofos, ya que se desarrollan a partir de la materia inorgánica y obtienen energía a partir de la luz solar. No obstante, determinadas especies tienen la capacidad de emplear la materia orgánica como fuente de energía o de carbono, denominándose a éste tipo de nutrición como heterótrofa (Soriano, 2014). Además existen microalgas que se desarrollan en condiciones mixotróficas, es decir utilizando simultáneamente luz y compuestos orgánicos como fuente de energía, como fuente de carbono CO₂ y sustratos orgánicos (Bermúdez, y otros, 2003). En la tabla 1 se presentan los distintos modos de nutrición en base a las características metabólicas. (Kaplan, Richmond, Dubinsky, & Aaranson, 1986).

Tabla 1.

Modo de nutrición de las microalgas

Modo de nutrición (Regímenes)		CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS				
		Requerimiento de luz	Fuente de Energía	Donador de e ⁻	Fuente de Carbono	Respiración
Autótrofo	Quimioautótrofo	Nulo	N,S y Fe Inorgánicos	H ₂ H ₂ S	CO ₂	Anaerobia
	Fotoautótrofo Anaxogénico	Facultativo	Luz	H ₂ H ₂ S	CO ₂	Anaerobia
	Fotoautótrofo Oxigénico	Obligado	Luz	H ₂ O	CO ₂	Aerobia
Heterótrofo	Quimioheterotrófico	Nulo	C-orgánico	C-orgánico	C-orgánico	Aerobia
	Fotoheterotrófico	Obligado	Luz	C-orgánico	CO ₂ C-orgánico	Aerobia
	Mixotrófico	Facultativo	Luz C-orgánico	C-orgánico	CO ₂ C-orgánico	Aerobia

Nota: Adaptado de Kaplan y otros, (1986) por Molina E., (2015)

1.6.2. Parámetros de cultivo.

Para la supervivencia y proliferación de las microalgas es importante aportar los requerimientos necesarios al cultivo (Del Pozo, 2010), que están dados por una serie de parámetros, los cuales presentan niveles óptimos y rangos tolerables según cada especie (Barsanti & Gualtieri, 2014).

1.6.2.1. Luz.

Es uno de los principales parámetros a considerar en un cultivo microalgal (Contreras, Peña, Flores, & Cañizares, 2003), debido a que es la fuente principal de energía para la fotosíntesis (González A. , 2000) y tanto la duración de la irradiación, la intensidad luminosa, la superficie expuesta, la densidad celular, la profundidad del

cultivo y los mecanismos de agitación determinan el crecimiento y metabolismo algal (De la Lanza & Arredondo, 1990, pág. 279).

La intensidad lumínica óptima varía en función de cada especie, alcanzando la máxima tasa de crecimiento en el punto de saturación por luz (Park, Craggs, & Shilton, 2011), pasado este punto, se da lugar a la fotoinhibición, lo que provoca la muerte celular, pérdida de eficiencia fotosintética y productividad del cultivo (Richmond, 2004, pág. 126).

1.6.2.2. Temperatura.

Las especies de microalgas comúnmente cultivadas toleran temperaturas entre 16°C y 27°C, sin embargo esto pueda variar según la composición del medio de cultivo, la especie y la cepa cultivada (Barsanti & Gualtieri, 2014). Temperaturas bajas en referencia con el intervalo anterior ocasionarían una disminución del crecimiento, mientras que temperaturas superiores a 35°C provocarían que la mayoría de las microalgas colapsaran (Hoff & Snell, 2001).

1.6.2.3. pH.

El rango de pH para la mayoría de microalgas es de 7-9 dependiendo de la especie (Sánchez M. , 1993, pág. 314), un descenso del pH podría ser letal, mientras que podrían soportar un incremento de pH (Richmond, 2004, pág. 128). El pH del cultivo varía según la actividad metabólica, la respiración, la composición iónica del medio de cultivo y la eficiencia del sistema de adición de CO₂ (Martínez L. , 2008). El pH incrementa conforme la edad del cultivo, a causa de la oxidación de nutrientes y la acumulación de minerales (Benavente, Montañez, Aguilar, Méndez, & Valdivia, 2012).

1.6.2.4. Aireación.

La aireación del cultivo produce el movimiento del agua, lo que asegura una distribución homogénea de las células y los nutrientes dentro del cultivo, mejora el suministro de luz y CO₂, asegurando que las microalgas permanezcan fotosintéticamente activas, evita que las células se sedimenten y previene la variación de temperatura dentro del cultivo (Richmond, 1986, pág. 72). El incremento exagerado de la turbulencia, disminuye drásticamente el crecimiento de las microalgas (Contreras, Peña, Flores, & Cañizares, 2003).

1.6.2.5. Nutrientes.

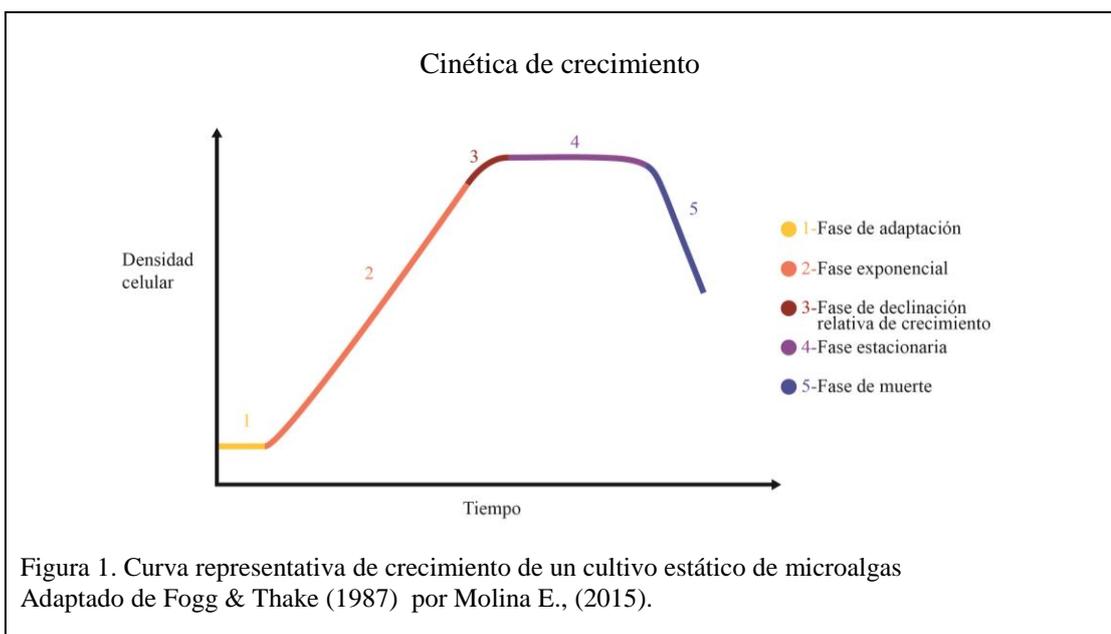
Los requerimientos nutritivos varían entre cada especie y según distintas condiciones ambientales, la concentración de un nutriente está relacionado directamente con el crecimiento celular y la tasa fotosintética de la población (González A. , 2000). En general, los nutrientes de mayor importancia son el nitrógeno y el fósforo (Benavente, Montañez, Aguilar, Méndez, & Valdivia, 2012), el nitrógeno se incorpora como nitrato (NO₃⁻) o como amonio (NH₄⁺) (Grobbelaar, 2004) y el fósforo proviene de los fosfatos de manera inorgánica (Sánchez M. , 1993).

1.6.3. Cinética de crecimiento.

Uribe (1994) describe cinco fases de crecimiento en un cultivo de microalgas, las cuales se establecen en relación a la densidad celular generada en un determinado tiempo (González A. , 2000).

Durante la primera fase denominada lag o fase de latencia o adaptación, las células se ajustan al medio (Montes, 2010) y se preparan metabólicamente para crecer (Ingraham & Ingraham, 1998), esta etapa puede durar de 1 a 3 días, dependiendo del

tamaño y el estado del inóculo (Romo, 2002). La siguiente fase es la exponencial también llamada log o logarítmica, ya que en esta etapa las microalgas comienzan a multiplicarse, dando lugar a un crecimiento exponencial (Ingraham & Ingraham, 1998), éste es el período de más rápido crecimiento bajo condiciones óptimas (Montes, 2010). A continuación sigue la fase de declinación relativa de crecimiento, ocurre cuando la disponibilidad de nutrientes decrece conforme la población incrementa y se alteran varios factores dentro del cultivo, como el pH del medio (Romo, 2002), esta etapa puede durar de 1 a 2 días (González A. , 2000). La fase siguiente es la estacionaria, en la cual se crea un balance entre la natalidad y la mortalidad que presenta la población en cultivo (Romo, 2002), es decir, la densidad celular se mantiene relativamente constante en un cierto período de tiempo (González A. , 2000). Por último sigue la fase de muerte o declinación, durante esta fase las células mueren a una determinada tasa exponencial (Ingraham & Ingraham, 1998), debido a que las células sufren una completa limitación por escasez de nutrientes (González A. , 2000). En la figura 1 se presenta la curva de crecimiento en un cultivo de microalgas.



1.6.4. *Chlorella* sp.

Infante y otros, (2012) describen a *Chlorella* sp., como un alga verde de forma elipsoidal, que crece a manera de células simples, las cuales presentan una pared celular delgada y cloroplastos en forma de copa que pueden contener o no un pirenoide y se reproducen formando células hijas o autoesporas idénticas a la célula madre (Angulo, Castellar, Morales, & Barrios, 2012) (Sze, 1998). El género *Chlorella* pertenece a la división Chlorophyta, a la clase de las Chlorophyceae; orden Chlorococcales (Chlorellales) y familia Oocystaceae (Gómez L. , 2007).

El rápido crecimiento de *Chlorella* sp., en medios hostiles, permite una fácil adaptación a cambios bruscos de pH y temperatura, por lo que su uso en biorremediación se ha extendido, usándola en forma suspendida o inmovilizada, como cepa pura o en asociación con otros microorganismos (Acurio & Arciniegas, 2015).

Este género se ha cultivado de forma intensiva con fines de alimentación y obtención de metabolitos, además ha sido aplicado al tratamiento biológico de aguas residuales, probando su efectividad en la remoción de fósforo, nitrógeno, DQO y metales (Infante, Angulo, Zárate , Florez, Barrios, & Zapata , 2012).

1.6.5. *Scenedesmus* sp.

Scenedesmus es un alga cenobial, que comúnmente se presenta como un cultivo puro en el plancton (González L. , 2010). Las células son pequeñas e inmóviles, se encuentran formando colonias en las que se alinean en forma de plato, organizadas en múltiplos de dos (Lee, 2008) (Olivares, 2010), presentan distintas formas, pueden ser: ovoides, periformes, alargadas o esféricas con una papila apical cuando se trata

de células pequeñas, mientras que los individuos grandes son ovoides o elípticos con un estrechamiento en la parte central y una papila apical muy pequeña o ausente (Olivares, 2010).

Su estructura contiene un único núcleo, la pared celular es lisa y no presenta espinas, el cloroplasto es parietal y usualmente tiene un pirenoide simple embebido en la parte basal, que está rodeado de gránulos de polisacárido que son el producto de reserva (González L. , 2010) (Olivares, 2010). La reproducción, puede ser sexual y asexual mediante la formación de autocolonias en el interior de cada célula adulta (Lee, 2008).

Según Hoek, Mann y Jahns (1995), la microalga *Scenedesmus* pertenece a la división Chlorophyta, a la clase de las Chlorophyceae; orden Chlorococcales y familia Scenedesmaceae.

El género *Scenedesmus* se utiliza en el tratamiento de aguas residuales por su capacidad de remover nutrientes y metales pesados con gran eficiencia y rapidez (Martínez, y otros, 2005), demostrando su efectividad en estudios anteriores reportando una eficiencia del 78% para la remoción de fosfato y del 36% para materia orgánica (Acurio & Arciniegas, 2015).

1.7. Bacteria fotosintética roja no sulfurosa

Las bacterias fotosintéticas no sulfúreas (Rhodospirzllacede) se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, principalmente en aguas estáticas, donde existe una rápida producción y descomposición de materia (Mondragón, Vicente, & Guillenea, 1984) (Romero, 2003). Su crecimiento contribuye a la purificación del

agua altamente contaminada, la cual es expuesta a la luz solar (Selvakumar & Dhevendaran, 2011).

Estos microorganismos presentan pigmentos como los carotenoides y bacterioclorofilas, que al combinarse forman los colores rojo, café y púrpura (Shabed, Azim, & Shoreit, 2008).

Estas bacterias son únicas por la gran versatilidad metabólica que presentan, ya que pueden combinar condiciones fototróficas y heterotróficas, además están muy bien adaptadas a diferentes entornos (Kiriratnikorn, 2006), puesto a que pueden desarrollarse en la oscuridad y en la luz, en condiciones anaeróbicas o aeróbicas, reduciendo compuestos inorgánicos u orgánicos (Clayton & Sistrom, 1978) (Stanier, 1961). Asimismo, pueden usar compuestos orgánicos como fuente de carbono y donadores de electrones (Stanier, 1961).

Capítulo 2

Metodología

La presente investigación se realizó en los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana - Campus El Girón, Bloque B, ubicado en la Av. Isabel La Católica N23-52 y Madrid; y en el Laboratorio de Investigación Análisis y Monitoreo IAM-Q de la Secretaría de Ambiente del DMQ, ubicado en la calle Río Coca E6 – 85 e Isla Genovesa, en la provincia de Pichincha, cantón Quito.

2.1. Muestreo del efluente

Se empleó un efluente proveniente del Laboratorio de Investigación, Análisis y Monitoreo IAM-Q de la Secretaría de Ambiente del DMQ. El efluente resulta de los análisis, que se efectúan en la institución a diferentes muestras de agua que provienen de los ríos que abarca la Red Hídrica del DMQ y de algunas empresas a las cuales se les realiza Control Público.

Se preparó una muestra compuesta en el transcurso de un mes, recolectando en un tanque de 50 L de capacidad, todos los residuos líquidos procedentes de las actividades realizadas en el laboratorio, se homogenizó el efluente y se tomó la cantidad necesaria para cada ensayo, en envases de plástico, etiquetados y estériles.

Cada muestra fue caracterizada, determinándose los siguientes parámetros: pH, color, fósforo total, cianuro, sulfato, sulfuro, fenoles, tensoactivos, DQO y DBO₅, mediante métodos normalizados para el análisis de agua adoptados por el Laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente, en la tabla 2 se indica los métodos usados para la determinación de cada parámetro. Finalmente cada muestra fue

transportada al Laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, para la ejecución de los respectivos ensayos.

Tabla 2.
Métodos de análisis para descargas líquidas

PARÁMETRO	EXPRESADO COMO	MÉTODO APHA O PROCEDIMIENTOS NORMADOS / VALIDADOS
Potencial de Hidrógeno	pH	APHA 4500 H ⁺
Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO ₅	mg/L	PEE/IAM-Q/27 APHA 5210 B
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	PEE/IAM-Q/03 APHA 5220 D
Color	Unidades	APHA 2120
Cianuro	CN	APHA 4500 E
Compuestos Fenólicos	Fenol	PEE/IAM-Q/13 APHA 5530
Fósforo total	P	APHA 4500-P
Tensoactivos	Substancias activas al azul de metileno	PEE/IAM-Q/08 APHA 5540-C
Sulfato	SO ₄	PEE/IAM-Q/06 APHA 4500-SO ₄
Sulfuro	S ⁻²	APHA 4500-S

Nota: Adaptado de Dirección Metropolitana Ambiental (2005) por Molina E., (2016)

2.2. Tratamiento primario del efluente

Se realizó un tratamiento primario para preparar el efluente previo a la inoculación microalgal, el método utilizado fue la filtración, técnica en la que se hace pasar el agua a través de un medio poroso, con el objetivo de retener la mayor cantidad posible de materia en suspensión (Rodríguez, y otros, 2006). En este caso se utilizó papel filtro y un embudo de filtración. Además se neutralizó el pH de la muestra con carbonato de calcio.

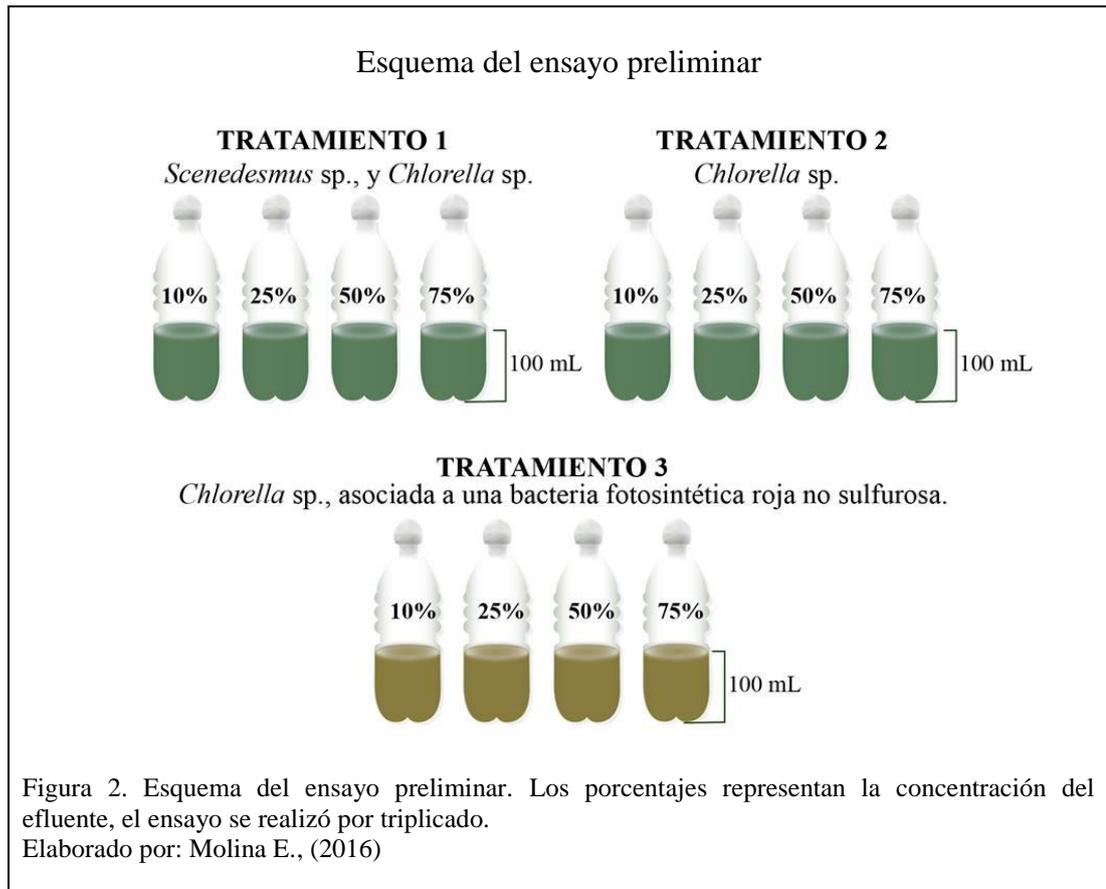
2.3. Ensayo preliminar

Mediante este ensayo se evaluó la capacidad de crecimiento de 3 consorcios distintos de microalgas en diferentes concentraciones del efluente.

2.3.1. Sistema de cultivo.

El inóculo de las microalgas usadas en esta investigación se obtuvo de la colección de microalgas del Laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana. El ensayo se realizó con tres tratamientos: el tratamiento 1 corresponde al consorcio *Scenedesmus* sp., y *Chlorella* sp., el tratamiento 2 a *Chlorella* sp., y el tratamiento 3 al consorcio *Chlorella* sp., asociada a una bacteria fotosintética roja no sulfurosa.

Los cultivos por triplicado se iniciaron con un inóculo de 1×10^6 cel/mL de cada consorcio, en frascos plásticos de 250 mL de capacidad, con 100 mL del efluente diluido al 10%, 25%, 50% y 75% con agua destilada. El ensayo se mantuvo en iluminación natural y a temperatura ambiente durante 15 días. La figura 2 indica la distribución del presente ensayo.



2.4. Ensayo de factibilidad

En este ensayo se usó el consorcio microalgal que presentó mayor crecimiento celular en el ensayo anterior, el objetivo del presente ensayo es determinar la concentración del efluente y el pH óptimo para el crecimiento del consorcio seleccionado.

2.4.1. Mantenimiento y escalado del consorcio microalgal.

Para esta etapa se utilizó Nitrofoska foliar, que es un fertilizante comercial inorgánico que contiene los macronutrientes N, P y K al 10%, 4% y 7% de concentración respectivamente, los cuales son esenciales para el crecimiento de las microalgas (Brito, Milani, Pereira, González, & Morán, 2006).

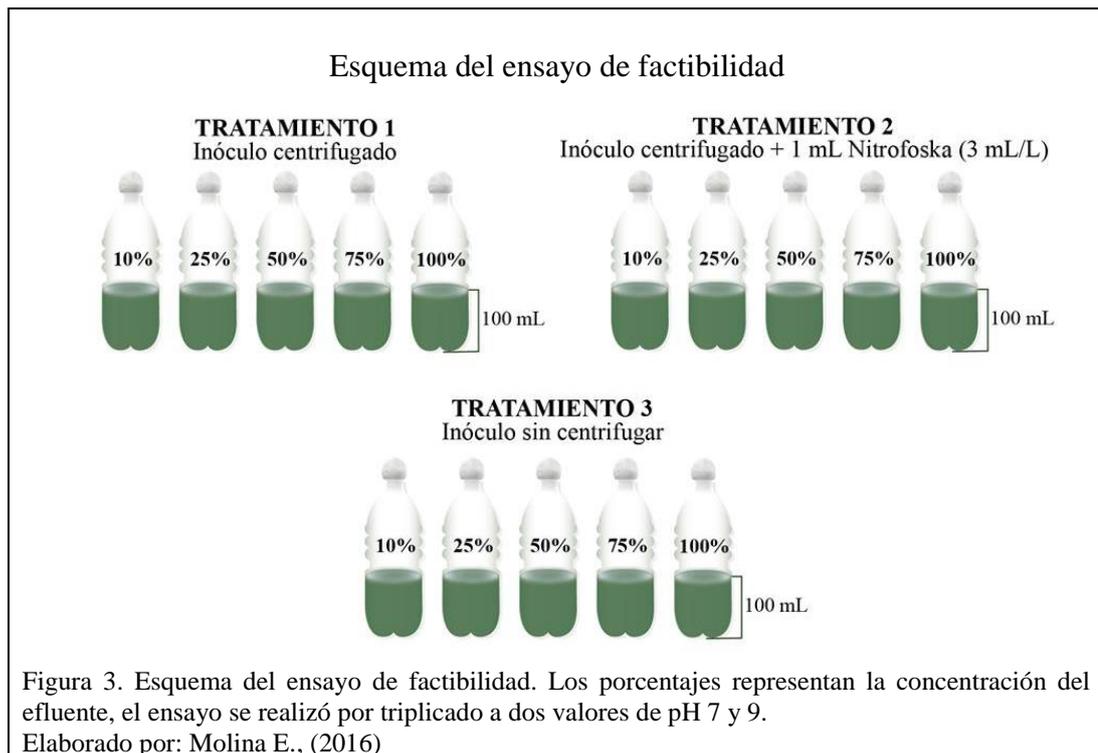
El cultivo se inició con 6×10^6 cel/mL del consorcio microalgal y fue alimentado cada 5 días con 1 L de Nitrofoska a una concentración de 3 mL por litro de agua destilada. Se mantuvo a temperatura ambiente, aireación constante proporcionada por una bomba eléctrica de pecera, iluminación continua suministrada por 2 lámparas fluorescentes a una intensidad de 8000 lux medida con un luxómetro marca Fisher Scientific modelo 0666263. Este cultivo se utilizó para extraer los inóculos a emplearse en los ensayos de factibilidad y de tratabilidad.

2.4.2. Sistema de cultivo.

Los cultivos por triplicado se inocularon a una densidad celular de 2×10^6 cel/mL del consorcio seleccionado, en recipientes de vidrio de 470 mL de capacidad, con 200 mL del efluente a 5 diferentes concentraciones: 10%, 25%, 50%, 75% y 100% y a diferentes valores de pH 7 y 9.

Se realizaron 3 tratamientos: en el tratamiento 1, se adicionó el pellet del inóculo centrifugado, en el tratamiento 2, se adicionó el pellet del inóculo centrifugado y 1 mL de Nitrofoska (3 mL/L) y en el tratamiento 3, se adicionó el inóculo sin ser centrifugado.

Los inóculos fueron centrifugados a 3750 rpm por 5 minutos, en una centrífuga para tubos falcon de 50 mL, marca Labnet modelo Hermle Z400. Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente e iluminación natural durante 15 días. La figura 3 muestra la distribución de este ensayo.



2.5. Ensayo de Tratabilidad

Este ensayo tiene como objetivo determinar la capacidad del consorcio microalgal para remover fósforo total, fenoles, tensoactivos, sulfato, cianuro, sulfuro, DQO y DBO₅ del efluente.

2.5.1. Sistema de cultivo.

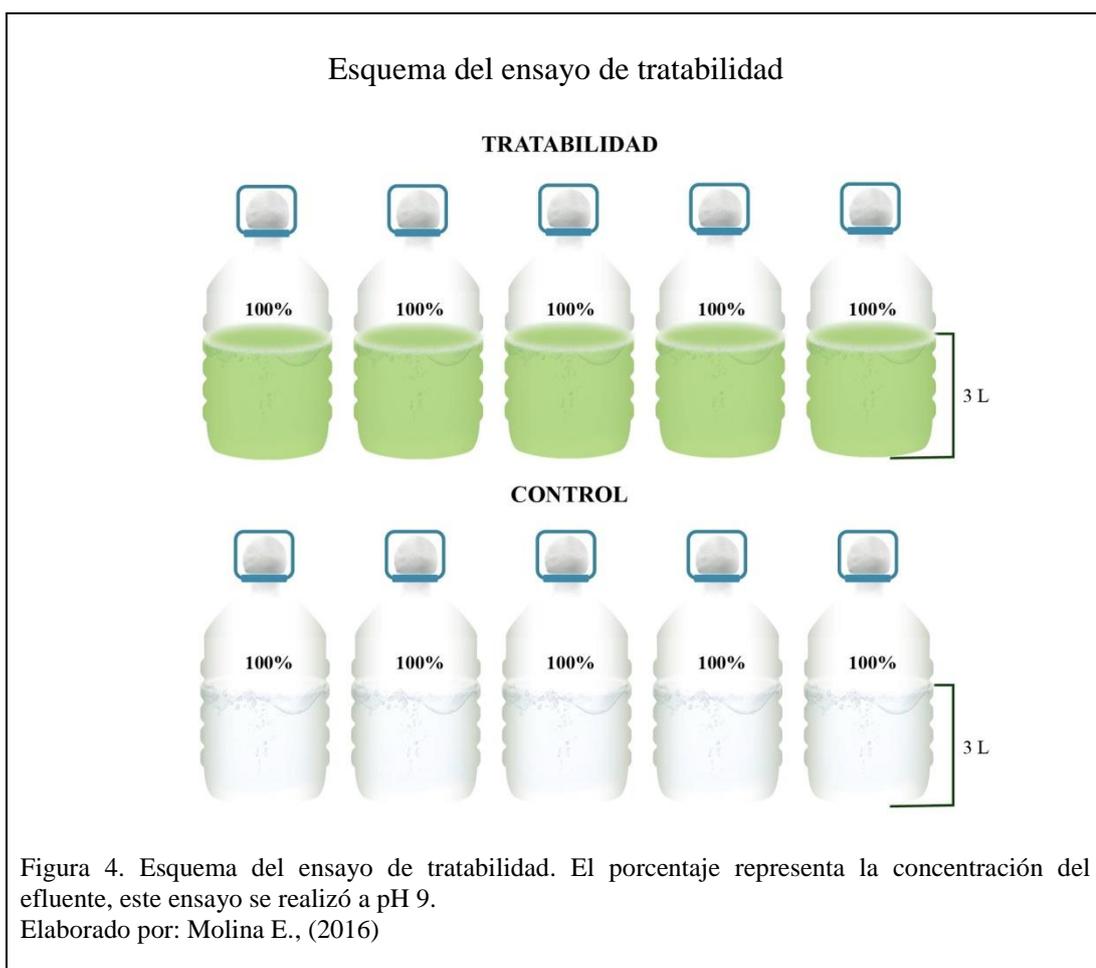
En este ensayo se utilizó el valor de pH, la concentración y el tratamiento que presentó mejores resultados en el ensayo anterior. Los cultivos se iniciaron con una densidad celular de 2.5×10^6 cel/mL del consorcio microalgal, se adicionó el pellet del inóculo centrifugado y se añadió 15 mL de Nitrofoska (3 mL/L), en recipientes de plástico de 5 L de capacidad, con 3 L del efluente a pH 9, por 5 repeticiones.

El experimento se mantuvo con iluminación y aireación constante, ya que estos parámetros son importantes para la obtención de altos rendimientos, además son necesarios en esta etapa por el incremento del volumen del efluente. La aireación

produce turbulencia lo cual asegura la distribución homogénea de las células y los nutrientes dentro del cultivo y evita la sedimentación de las microalgas, mientras que la iluminación permite que las células permanezcan fotosintéticamente activas y favorece la división celular (Becker, 1994) (Richmond, 1986, pág. 76). La aireación fue proporcionada por un sistema de inyección de aire por mangueras con una bomba eléctrica de pecera. Los cultivos se sometieron a una intensidad lumínica de 8000 lux, medida con un luxómetro marca Fisher Scientific modelo 0666263, mediante lámparas fluorescentes.

Se realizaron 5 repeticiones con un control, que consistió en colocar 3 L del efluente sin el inóculo del consorcio microalgal a iguales condiciones de iluminación y aireación. En la figura 4 se puede observar la distribución del ensayo.

Finalmente se realizó una muestra compuesta, cada 5 días durante 15 días, se tomó 400 mL de las 5 repeticiones del efluente tratado y 400 mL de las 5 repeticiones del control para obtener una muestra de 2 L respectivamente, las muestras fueron centrifugadas a 3750 rpm por 10 minutos, en una centrífuga para tubos falcon de 50 mL, marca Labnet modelo Hermle Z400, para eliminar los residuos de microalgas y posteriormente ser transportadas al Laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente para su análisis físico-químico, determinando la concentración de fósforo total, fenoles, tensoactivos, sulfato, cianuro, sulfuro, DQO y DBO₅.



2.6. Evaluación del crecimiento de las microalgas

Se cuantificó la densidad celular cada quinto día, mediante recuento celular, empleando para ello un microscopio óptico y una cámara de Neubauer marca Boeco Germany de 0,100 mm de profundidad, se contaron las células en las casillas de la cámara como lo muestra la figura 5 y se calculó la densidad celular mediante la fórmula descrita por (Reascos, 2014):

$$DC_{inóculo} = N * 10^4 * (Fd)$$

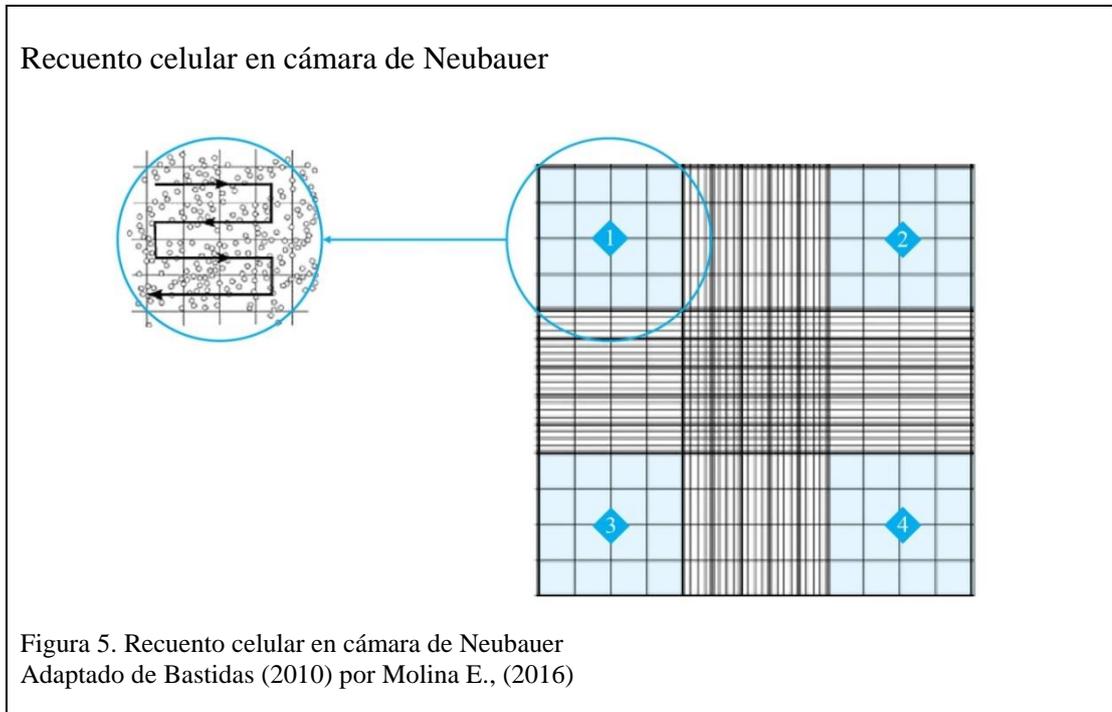
Dónde:

$DC_{inóculo}$: Densidad celular del inóculo (cel/mL).

N: Promedio de células. Se divide el número de células para el número de cuadrantes contados en la cámara de Neubauer.

10^4 : Factor de conversión de 0.1 μL a 1 mL.

Fd: Factor de dilución (cuando es necesario).



Capítulo 3

Resultados y discusión

Las muestras utilizadas en cada ensayo sobrepasan los límites máximos permisibles establecidos en la normativa vigente, para el control de descargas líquidas que regula el vertido de aguas en el DMQ; los anexos 4,5 y 6 muestran que los valores de los siguientes parámetros: fósforo total, fenoles, tensoactivos, sulfato, cianuro, sulfuro, DQO y DBO₅ no cumplen con la norma.

3.1. Ensayo preliminar

En la tabla 3 se muestran los promedios de crecimiento de los distintos consorcios microalgales en las diferentes concentraciones del efluente. El consorcio *Chorella* sp. + *Scenedesmus* sp., correspondiente al tratamiento 1, exhibió un crecimiento satisfactorio en el efluente a distintas concentraciones. Sin embargo, la mayor densidad celular se obtuvo al 50% de concentración del efluente, con un promedio de crecimiento de $6,53 \times 10^6$ cel/mL, al igual que el tratamiento 2, perteneciente a *Chorella* sp., que obtuvo un promedio de crecimiento de $5,78 \times 10^6$ cel/mL, evidenciándose que el tratamiento 1 alcanzó el crecimiento celular más alto, esto puede deberse a que se generó una interacción exitosa entre las microalgas (Ontaneda, Cadena, González, & Morales, 2015), además este consorcio ha sido utilizado en diversos estudios dada su facilidad de crecimiento y adaptación a diferentes tipos de efluentes (De-Godos, y otros, 2010).

Por otro lado, el tratamiento 3 correspondiente a *Chorella* sp. + Bacteria roja no sulfurosa presentó el promedio de crecimiento celular más bajo, como lo muestra la figura 6, esto pudo deberse a la concentración de sulfuro del efluente de 1,70 mg/L, ya que en condiciones adecuadas los sulfuros son oxidados fotosintéticamente a

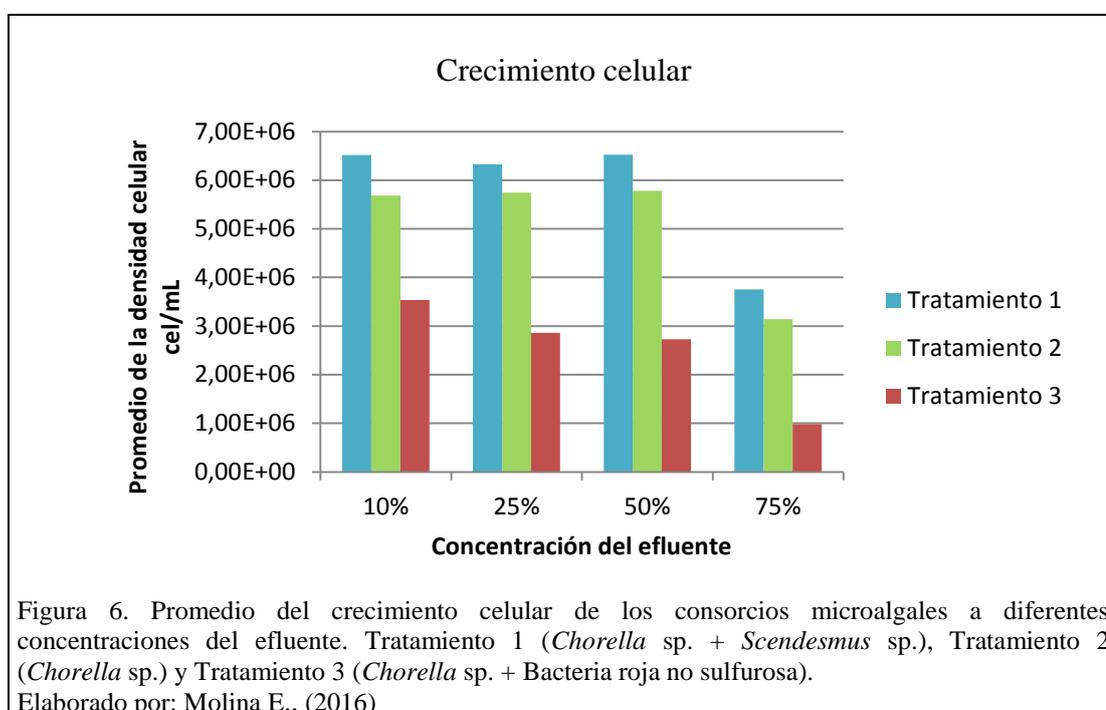
azufre elemental y a sulfatos, inhibiendo la actividad y crecimiento de esta bacteria (Houghton, 1991).

Tabla 3.

Promedio del crecimiento celular de los consorcios microalgales a diferentes concentraciones del efluente

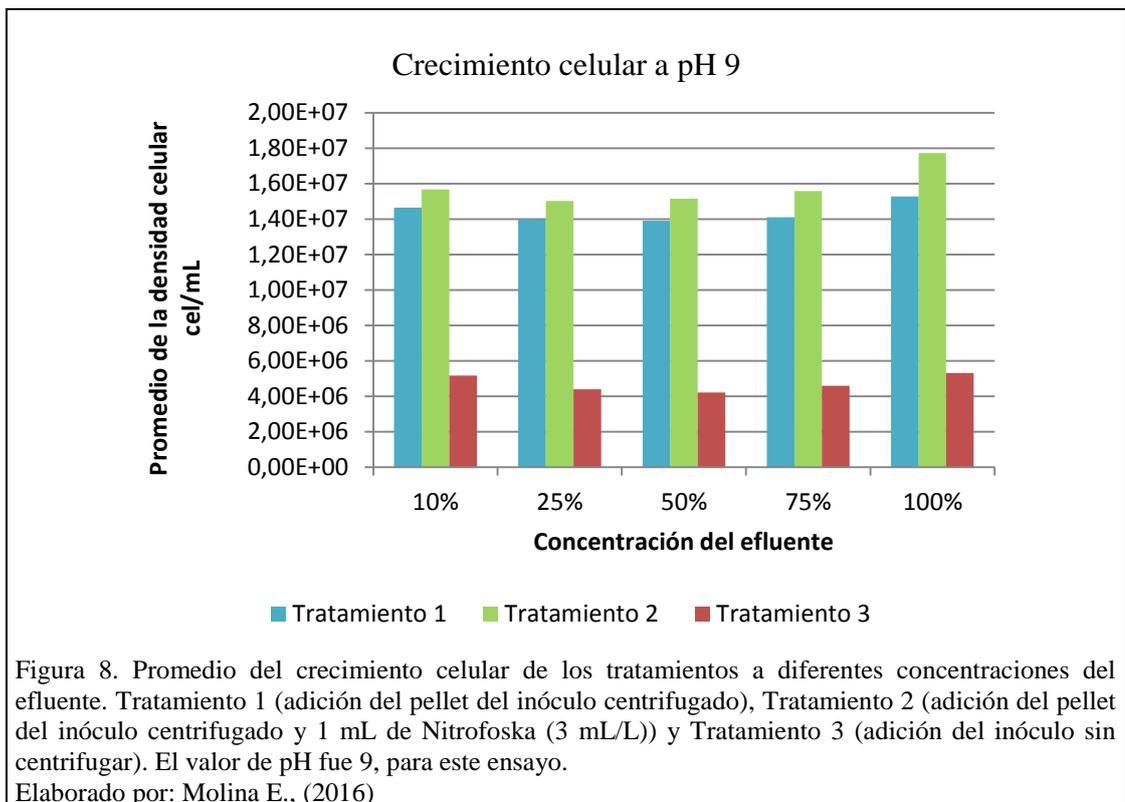
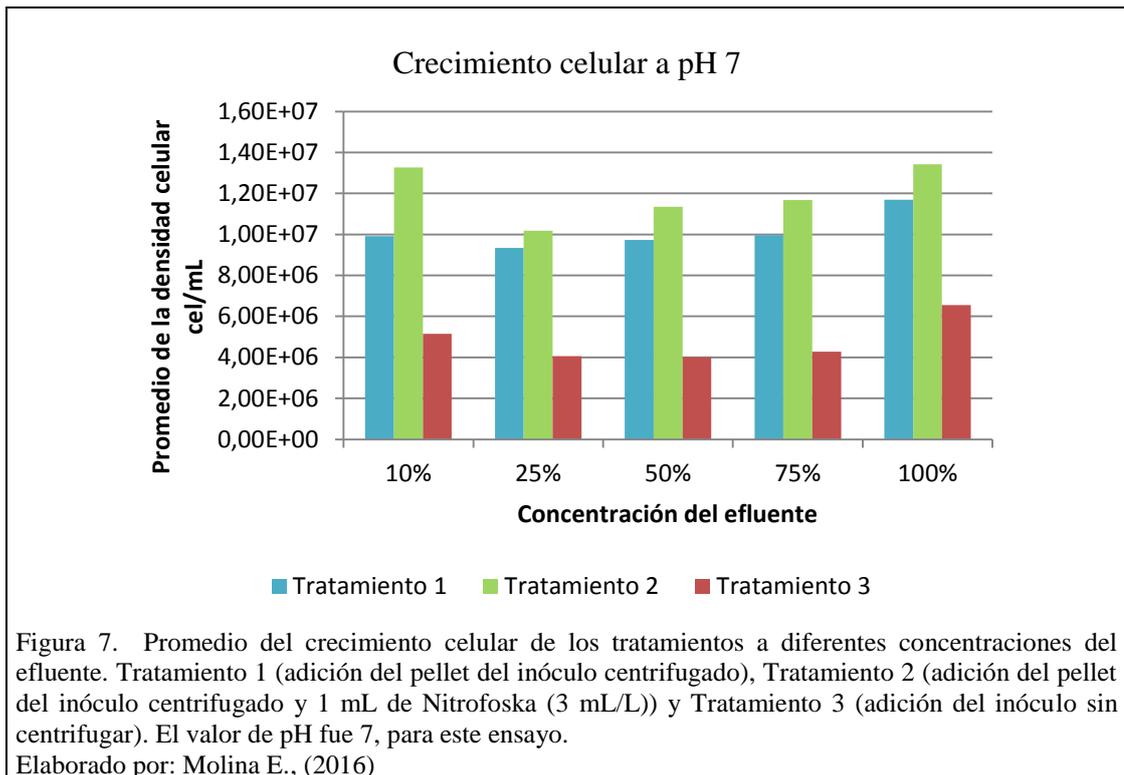
Dilución del efluente	Promedio de la densidad celular (cel/ mL)		
	Tratamiento 1 (<i>Chorella</i> sp. + <i>Scendesmus</i> sp.)	Tratamiento 2 (<i>Chorella</i> sp.)	Tratamiento 3 (<i>Chorella</i> sp. + Bacteria roja no sulfurosa)
10%	$6,52 \times 10^6$	$5,69 \times 10^6$	$3,54 \times 10^6$
25%	$6,33 \times 10^6$	$5,74 \times 10^6$	$2,86 \times 10^6$
50%	$6,53 \times 10^6$	$5,78 \times 10^6$	$2,73 \times 10^6$
75%	$3,75 \times 10^6$	$3,14 \times 10^6$	$9,83 \times 10^5$

Nota: Elaborado por Molina E., (2016)



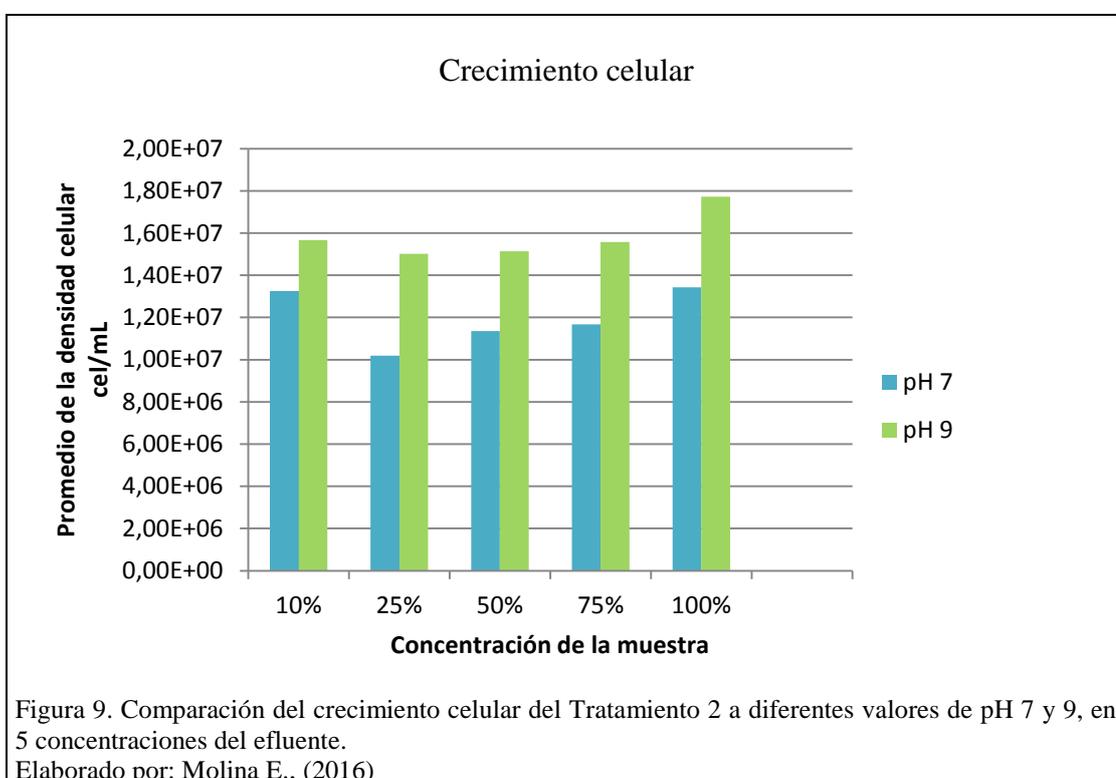
3.2. Ensayo de factibilidad

El mayor crecimiento celular se produjo con el tratamiento 2, correspondiente a la adición del pellet del inóculo centrifugado y 1 mL de Nitrofoska (3 mL/L), en todas las diluciones del efluente, tanto a pH 7 como a pH 9, como lo muestra la figura 7 y 8.



El proceso de centrifugación favorece a la sedimentación de la fase de interés, que es utilizada en el ensayo, ya que corresponde a la microalga concentrada y el sobrenadante es eliminado (Valladares, 2014), además la adición de Nitrofoska como fuente de nutrientes proporcionó el alimento necesario para el crecimiento del consorcio, como lo corroboran Acurio y Arciniegas (2015) en su investigación. Por esta razón el tratamiento 2 alcanzó los mejores resultados, en comparación al tratamiento 1, donde se adicionó solo el pellet del inóculo centrifugado y el tratamiento 3, donde se adicionó el inóculo sin ser centrifugado, obteniéndose el crecimiento celular más bajo.

La concentración del efluente al 100% presenta el mayor crecimiento del tratamiento, con un promedio de densidad celular de $1,34 \times 10^7$ cel/mL en el cultivo a pH 7 y $1,77 \times 10^7$ cel/mL en el cultivo a pH 9, como lo muestra la figura 9. Evidenciándose que el valor de pH óptimo para el crecimiento del consorcio es 9.



Estos resultados sugieren que la composición química del efluente, estimula el crecimiento del consorcio, ya que al diluir la muestra disminuye el crecimiento celular. Del Pozo (2010) menciona que al llevar a cabo ensayos de laboratorio con aguas residuales se han obtenido resultados satisfactorios para el crecimiento de diferentes tipos de microalgas, esto se debe, a que las aguas residuales contienen nutrientes minerales, que favorecen el crecimiento de las mismas (Araujo, Andrade, Vera, Rivera, Mora, & Morales, 2013).

El intervalo de pH para las especies de algas más empleadas es entre 7 y 9 (Mera, 2015), sin embargo, experimentos realizados por otros investigadores reportan un pH de 9,80 como óptimo para el crecimiento de *Scenedesmus* sp., (Andrade, Vera, Cárdenas, & Morales, 2009).

Así también Mora, Moronta, Ortega y Morales (2005) obtuvieron la máxima densidad celular a pH 9 para el crecimiento de *Chlorella* sp., con $323,43 \pm 74,18 \times 10^6$ cel/mL, mientras que a pH 7 reportaron una densidad celular de $215,11 \pm 39,50 \times 10^6$ cel/mL, en cultivos cuya concentración inicial fue de 1×10^6 cel/mL utilizando un medio comercial (ALGAL), en condiciones controladas de temperatura ($28 \pm 2^\circ\text{C}$), con aireación constante, fotoperíodo de 12:12h y una intensidad luminosa de $58 \mu\text{mol quanta/m}^2\cdot\text{s}$., durante 15 días, el resultado de dicha experimentación se encuentra por debajo de la densidad máxima alcanzada en esta investigación en la cual se obtuvo $1,77 \times 10^7$ cel/mL al mismo valor de pH, lo que puede deberse a las características propias del medio comercial, de la cepa y a las condiciones de cultivo (Rivero, 2010). Estos resultados confirman que el medio alcalino de 9 potencia el crecimiento de las microalgas (Perales, 2011).

3.3. Ensayo de tratabilidad

Los resultados de la etapa de tratabilidad se discuten a continuación.

3.3.1. Crecimiento del consorcio

El consorcio alcanzó el mayor crecimiento celular al final de la fase exponencial con $7,48 \times 10^6$ cel/mL en el efluente a tratar, además se observó un crecimiento del consorcio en el control a los 5 días de iniciado el ensayo, con una densidad celular de $1,81 \times 10^6$ cel/mL alcanzando el máximo crecimiento al día 10 con $3,13 \times 10^6$ cel/mL. Esto pudo deberse a la presencia de microalgas en el efluente, ya que éste contenía muestras de ríos, donde es muy probable la existencia de estos microorganismos, también pudo deberse a una posible contaminación, ya que el control tenía las condiciones adecuadas para el desarrollo del consorcio.

En la tabla 4, se exponen los valores del crecimiento del consorcio, tanto en el tratamiento, como en el control. Ontaneda, y otros (2015), también reportaron crecimiento celular del consorcio (*Chlorella* sp.+ *Desmodesmus* sp.) en el control, a los 9 días de iniciado el ensayo de tratabilidad con un crecimiento máximo de $2,56 \times 10^6$ cel/mL para *Desmodesmus* sp., y $0,75 \times 10^6$ cel/mL para *Chlorella* sp., en cultivos que iniciaron con una densidad celular de $0,7 \times 10^6$ cel/mL utilizando como medio un efluente derivado de una planta procesadora de pieles para extracción de gelatina en una concentración del 50% (v/v), en condiciones externas de laboratorio, a temperatura ambiente, iluminación natural y agitación manual. Además dicho consorcio obtuvo una densidad celular de $14,0 \times 10^6$ cel/mL en el tratamiento, resultado superior al obtenido en esta investigación. De manera que la diferencia de crecimiento se debe a la composición del consorcio y al contenido del medio de cultivo. Así también, Acurio y Arciniegas (2015) obtuvieron una densidad celular

máxima de $3,8 \times 10^6$ cel/mL del consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.), en un cultivo con adición de nitritos, mantenido con iluminación y aireación constante, para la remoción de contaminantes del río San Pedro, mostrando un crecimiento por debajo del obtenido en esta investigación. Esto debido a la composición del efluente utilizado en esta investigación que sugiere contener los nutrientes necesarios para su desarrollo.

Tabla 4.
Densidad celular del consorcio en la etapa de tratabilidad

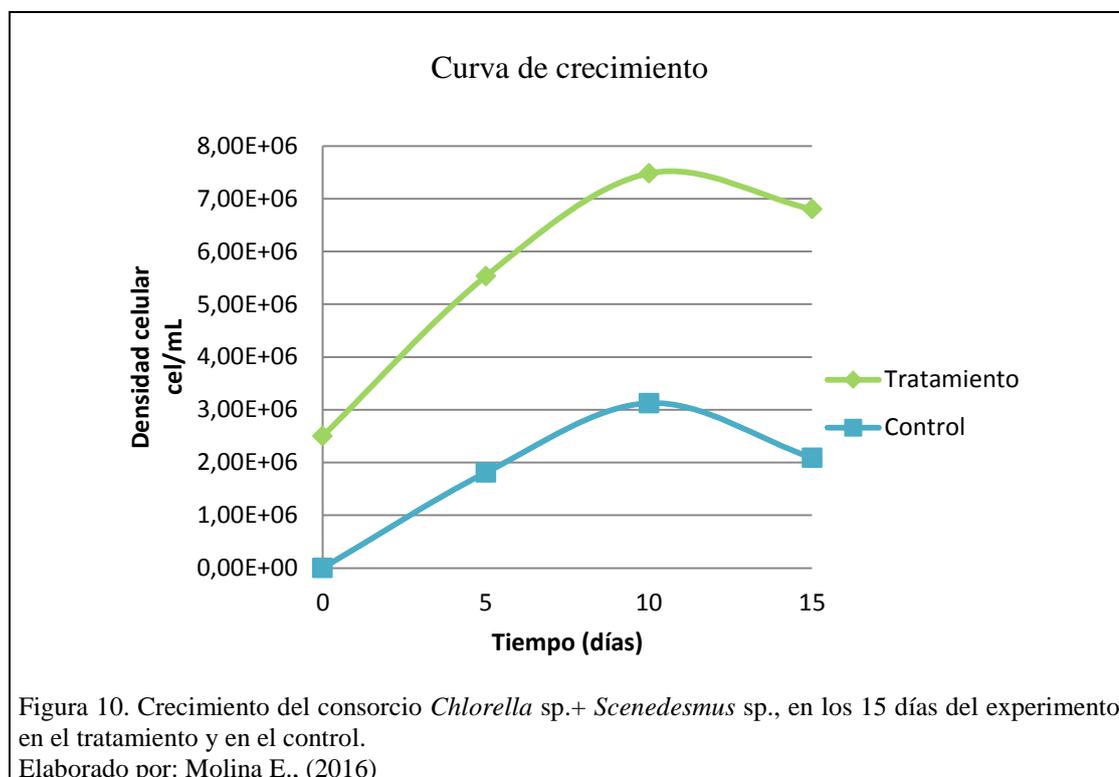
Días	Tratamiento	Control
	Densidad celular cel/mL	Densidad celular cel/mL
0	$2,50 \times 10^6$	0
5	$5,53 \times 10^6$	$1,81 \times 10^6$
10	$7,48 \times 10^6$	$3,13 \times 10^6$
15	$6,80 \times 10^6$	$2,09 \times 10^6$

Nota: Elaborado por Molina E., (2016)

El crecimiento celular en el control posiblemente se debe a que el consorcio encontró las condiciones adecuadas de pH, iluminación, aireación y disponibilidad de nutrientes, por lo que colonizó el cultivo (Abalde, 1995). Por tanto se evidenció una pronta adaptación del consorcio al medio residual, al igual que sucedió en la experimentación realizada por Mora y otros, (2005) en donde se utilizó *Scenedesmus* sp., en aguas residuales de pescadería, alcanzando una densidad celular de $8,05 \pm 0,55 \times 10^6$ cel/mL y $7,39 \pm 0,18 \times 10^6$ cel/mL en el cultivo con el agua residual y el control, respectivamente, obteniendo resultados superiores a los obtenidos en esta experimentación.

Con respecto a la curva de crecimiento de este ensayo, se observó que existió un comportamiento similar entre el control y el tratamiento, alcanzando el máximo

crecimiento celular al día 10 en la fase estacionaria, sin embargo el tratamiento alcanzó una mayor densidad celular como se muestra en la figura 10.



3.3.2. Remoción de contaminantes

El porcentaje de remoción o variación fue determinado a partir del valor inicial obtenido de cada parámetro (ver anexo 6), con respecto al detectado cada cinco días en el tratamiento y en el control, durante 15 días. En los primeros 5 días del ensayo se obtuvieron resultados favorables tanto en el tratamiento (ver anexo 7) como en el control (ver anexo 8) consiguiéndose que la mayoría de parámetros cumplan con la norma técnica para descargas de efluentes líquidos vigente en el DMQ. A continuación se analiza la eficiencia de remoción de DQO, DBO₅, fósforo total, fenoles, tensoactivos, sulfatos, cianuro y sulfuros al aplicar el consorcio *Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.

En la tabla 5, se describen los porcentajes de variación de DQO, en el tratamiento y en el control durante los 15 días del experimento. Observándose a los 5 días, una reducción de 87,93% y 69,12% en el tratamiento y control respectivamente, alcanzando un incremento en el porcentaje de reducción a los 15 días con 89,57% y 86,09% en el tratamiento y control respectivamente (figura 11). Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Ontaneda y otros (2015), en el tratamiento de un efluente derivado de una planta procesadora de pieles para extracción de gelatina con un consorcio *Chlorella* sp., y *Desmodermus* sp., donde se reportó un porcentaje de remoción de 88,54% en el control y 88,44% en el tratamiento para DQO a los 25 días del experimento.

Tabla 5.
Porcentaje de variación de DQO por el consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.)

Días	DQO	
	Tratamiento	Control
0	0%	0%
5	87,93%	69,12%
10	88,96%	84,25%
15	89,57%	86,09%

Nota: Elaborado por Molina E., (2016)

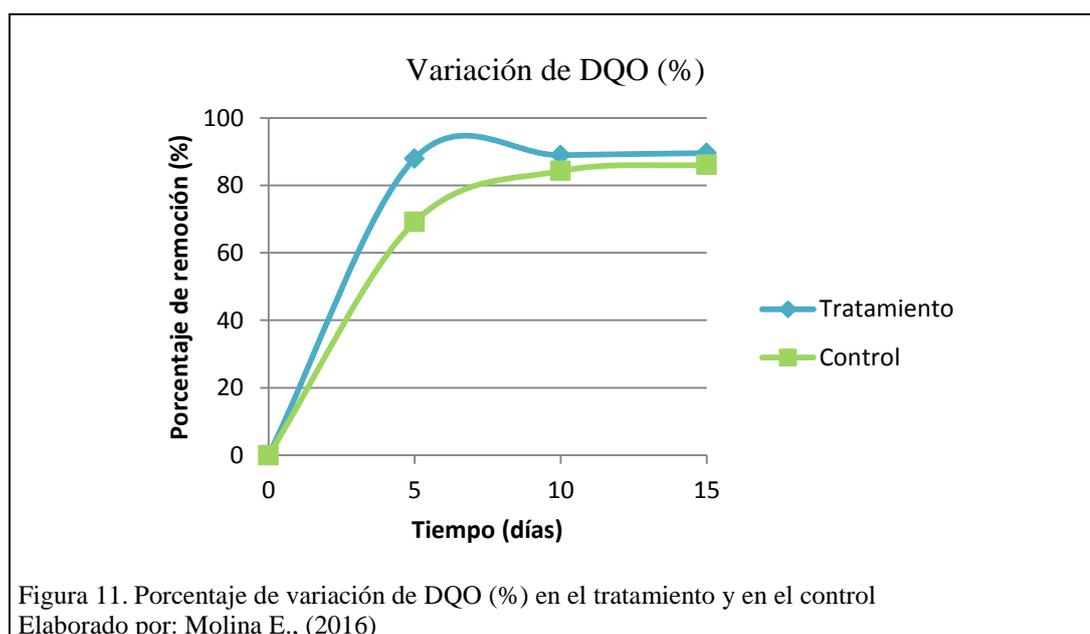


Figura 11. Porcentaje de variación de DQO (%) en el tratamiento y en el control
Elaborado por: Molina E., (2016)

Con respecto a la DBO₅, la tabla 6 indica los porcentajes de variación obtenidos en el control y en el tratamiento durante los 15 días de la experimentación, determinándose que el mayor porcentaje de variación se obtuvo al día 15, tanto en el tratamiento como en el control, con un porcentaje de 98,32% y 97,48% respectivamente, lo cual determina la capacidad de las microalgas para descomponer la materia orgánica, esto también lo demostró León y Chaves (2010), en su estudio con microalgas para el tratamiento de un residual vacuno realizado en Costa Rica, en el cual obtuvieron 91,4% de reducción de DBO₅. La figura 12 muestra que no existe un elevado incremento en la remoción de DBO₅ a partir del día 10 tanto en el tratamiento como en el control, esto pudo deberse a que las microalgas entraron en la fase estacionaria de crecimiento, manteniéndose estables.

Tabla 6.
Porcentaje de variación de DBO₅ por el consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.)

Días	DBO ₅	
	Tratamiento	Control
0	0%	0%
5	94,12%	90,34%
10	96,64%	95,80%
15	98,32%	97,48%

Nota: Elaborado por Molina E. (2016)

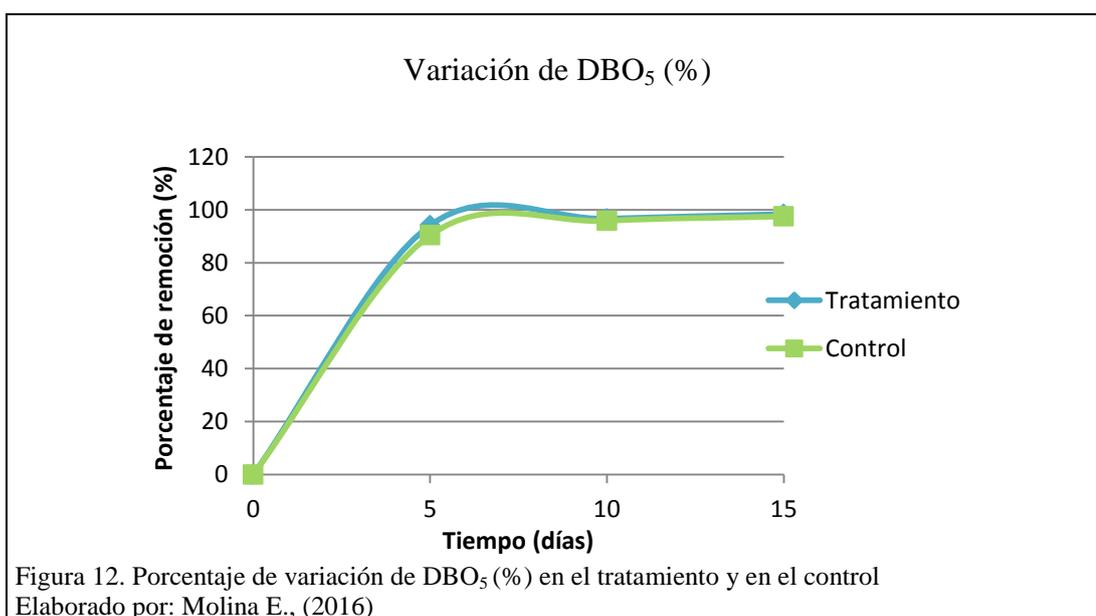


Figura 12. Porcentaje de variación de DBO₅ (%) en el tratamiento y en el control
Elaborado por: Molina E., (2016)

En cuanto a la remoción de fósforo total, la tabla 7 indica los porcentajes obtenidos en el control y en el tratamiento. La figura 13 muestra que el mayor porcentaje de remoción se obtuvo al día 15, tanto en el tratamiento como en el control, con un porcentaje de 77,47% y 71,43% respectivamente. En estudios similares se registró una remoción de fosfato del 77,54 % en el tratamiento y 97,64% en el control, utilizando como medio de cultivo el agua residual de pescadería, la menor remoción en el tratamiento pudo ser el resultado de la reincorporación de este nutriente al medio, ya que al finalizar el cultivo, la microalga iniciaba la fase de muerte, en la cual se induce la ruptura celular liberando así parte del fosfato incorporado (Andrade, Vera, Cárdenas, & Morales, 2009). De igual manera en este estudio el control obtuvo una mayor remoción el día 15 en comparación al día 10 donde se registró solo el 68,68%, mientras que el tratamiento no presentó un mayor incremento de remoción el día 15 en comparación con el día 10.

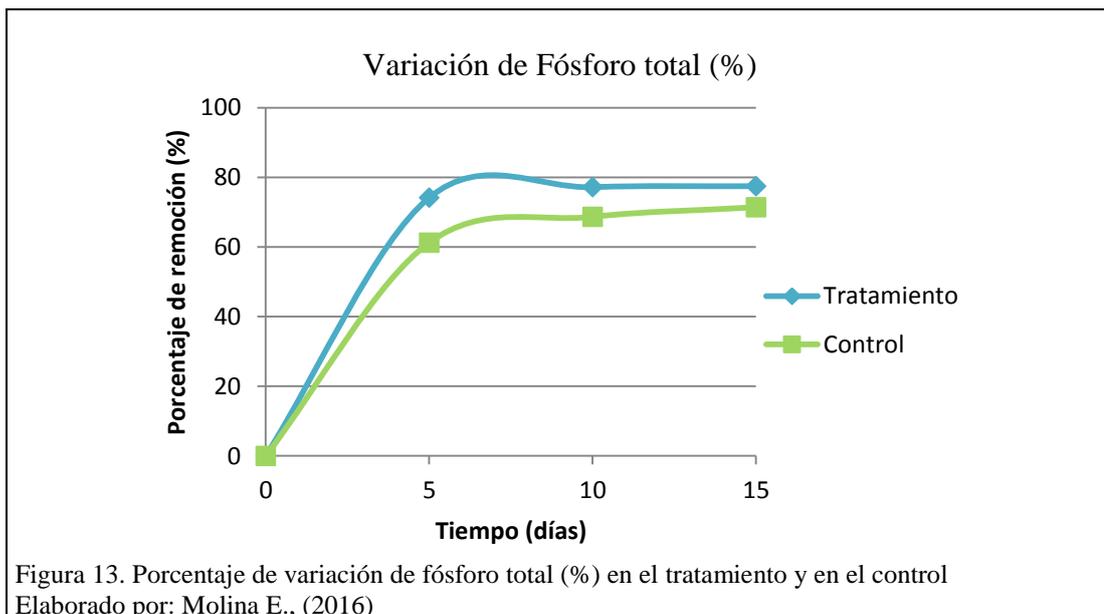
Borowitzka, 1988; Larsdotter, 2006; Núñez, 2001 mencionan que la eliminación de fósforo se debe tanto a la absorción metabólica de las algas y a la precipitación de fosfato, según lo han manifestado algunos autores en otras investigaciones, esto debido a que los valores de pH cercanos a 9 pueden conducir a la precipitación de fosfato en el medio por la formación de fosfatos de calcio (Perales, 2011).

Tabla 7.

Porcentaje de variación de fósforo total por el consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.)

Días	Fósforo total	
	Tratamiento	Control
0	0%	0%
5	74,18%	61,26%
10	77,20%	68,68%
15	77,47%	71,43%

Nota: Elaborado por Molina E., (2016)



En relación a los fenoles, la tabla 8 detalla los porcentajes de variación obtenidos en el control y en el tratamiento. Se observó una alta eficiencia de remoción de fenoles por el consorcio, ya que a los 5 días de iniciado el bioensayo se registró el 97,95% y 95,71% de remoción de fenoles para el tratamiento y control respectivamente, alcanzando a los 15 días el porcentaje de variación más alto siendo del 99,18% para el tratamiento y 98,36% para el control (figura 14), lo que demostró que no existe una relación directa entre el crecimiento celular de las microalgas y la remoción de fenoles, ya que el control exhibió una remoción similar al tratamiento.

Estos resultados infieren que la remoción del contaminante está relacionado con la actividad de la flora bacteriana asociada al efluente, concluyendo que estos microorganismos son capaces de remover fenoles de manera eficiente y es posible que la remoción se deba principalmente al metabolismo de otros microorganismos presentes en el efluente (Andrade, Vera, Cárdenas, & Morales, 2009). Sin embargo, Semple y Cain, (1996), atribuyen la remoción de fenoles al metabolismo algal, en su estudio sobre la biodegradación de fenoles por el alga *Ochromonas danica*,

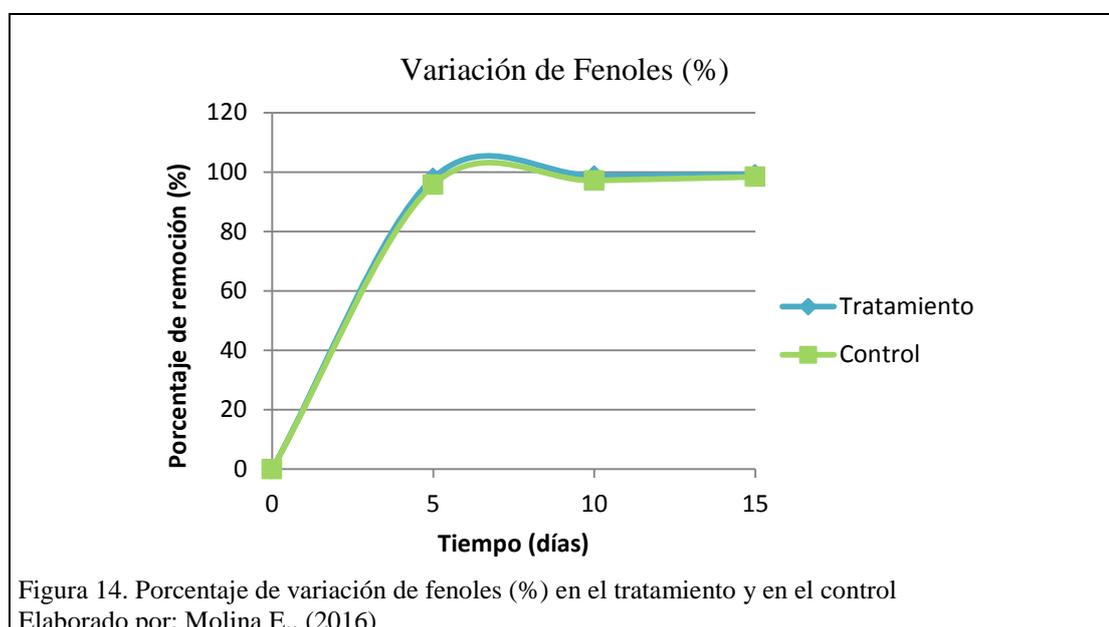
consiguiendo un porcentaje de remoción del 65%, debido a la capacidad del alga para oxidar los compuestos fenólicos.

Tabla 8.

Porcentaje de variación de fenoles por el consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.)

Días	Fenoles	
	Tratamiento	Control
0	0%	0%
5	97,95%	95,71%
10	98,77%	97,14%
15	99,18%	98,36%

Nota: Elaborado por Molina E., (2016)



Con respecto a los tensoactivos existió un porcentaje de variación superior en el tratamiento con 89,80% en relación al obtenido en el control 78,44% al final del ensayo (15 días), como lo muestra la tabla 9, estos resultados sugieren que existe una relación directa entre la densidad celular y la remoción del contaminante. Esto se debe a que las microalgas producen una enzima que se encarga de degradar la molécula de los detergentes, para poder utilizarla como fuente de carbono (Maldonado, 2008). El control obtuvo un porcentaje de variación menor como lo indica la figura 15, debido a que en este cultivo existió un bajo crecimiento algal.

Tabla 9.

Porcentaje de variación de tensoactivos por el consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.)

Días	Tensoactivos	
	Tratamiento	Control
0	0%	0%
5	82,65%	76,60%
10	85,58%	76,94%
15	89,80%	78,44%

Nota: Elaborado por Molina E., (2016)

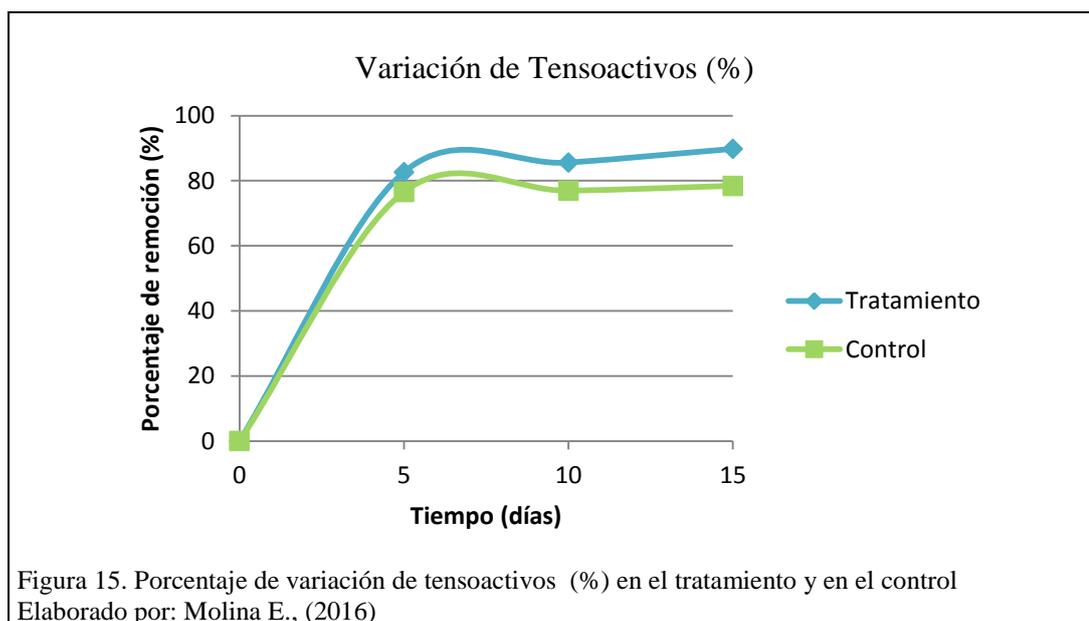


Figura 15. Porcentaje de variación de tensoactivos (%) en el tratamiento y en el control
Elaborado por: Molina E., (2016)

El porcentaje de variación de sulfatos fue el más bajo de la experimentación, la tabla 10 especifica los porcentajes obtenidos durante los 15 días del ensayo en el tratamiento y control.

Se observó que a los 5 días de iniciado el ensayo sólo se obtuvo el 3,28% y 1,64% de remoción en el tratamiento y control respectivamente, de tal modo que al finalizar el bioensayo se registró una remoción total de 18,03% en el tratamiento y 6,56% en el control, lo cual no fue suficiente para que el parámetro esté dentro de los límites máximos permisibles de descargas líquidas, que establece un valor de 400mg/L para sulfatos (Ver anexo 3), ya que la concentración final de sulfato fue de 1250mg/L en

el tratamiento y 1425mg/L en el control, el porcentaje de variación que se debió alcanzar para cumplir con la norma es de 73,77%.

No obstante, en otros estudios se han reportado porcentajes de remoción de sulfatos más altos como en el tratamiento de un efluente derivado de una planta procesadora de pieles para extracción de gelatina mediante el consorcio *Chlorella* sp., y *Desmodesmus* sp., donde se logró una reducción de sulfatos del 79,25% en el efluente inoculado y 78,29% en el control a los 20 días del experimento, este ensayo se realizó a pH 8 en condiciones externas de laboratorio, es decir a cielo abierto, a temperatura ambiente, iluminación natural y agitación manual, utilizando el efluente diluido a una concentración del 50% (v/v) como medio de cultivo, con una concentración inicial de sulfato de 570mg/L y mediante el tratamiento se logró un valor final de 169mg/L de sulfato, consiguiendo que este parámetro cumpla con la norma para descargas líquidas (Ontaneda, Cadena, González, & Morales, 2015).

Es posible que, el hecho de no haber obtenido remociones más elevadas de sulfatos por parte del consorcio *Chlorella* sp., + *Scenedesmus* sp., (figura 16), mientras que el consorcio *Chlorella* sp., + *Desmodesmus* sp., usado por Ontaneda y otros, (2015) si lograron obtener un efluente que cumpla con la norma, se deba a que *Desmodesmus* sp., tenga las características adecuadas para biorremediar sulfatos.

En el estudio realizado por Liang, Xiao y Zhao (2013) se describe un pH óptimo de 4,5 para la eliminación de sulfatos con la utilización de la bacteria *Paludibacter* sp., obteniendo una alta eficiencia en la eliminación de dicho contaminante.

Tabla 10.

Porcentaje de variación de sulfatos por el consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.)

Días	Sulfatos	
	Tratamiento	Control
0	0%	0%
5	3,28%	1,64%
10	12,46%	3,28%
15	18,03%	6,56%

Nota: Elaborado por Molina E., (2016)

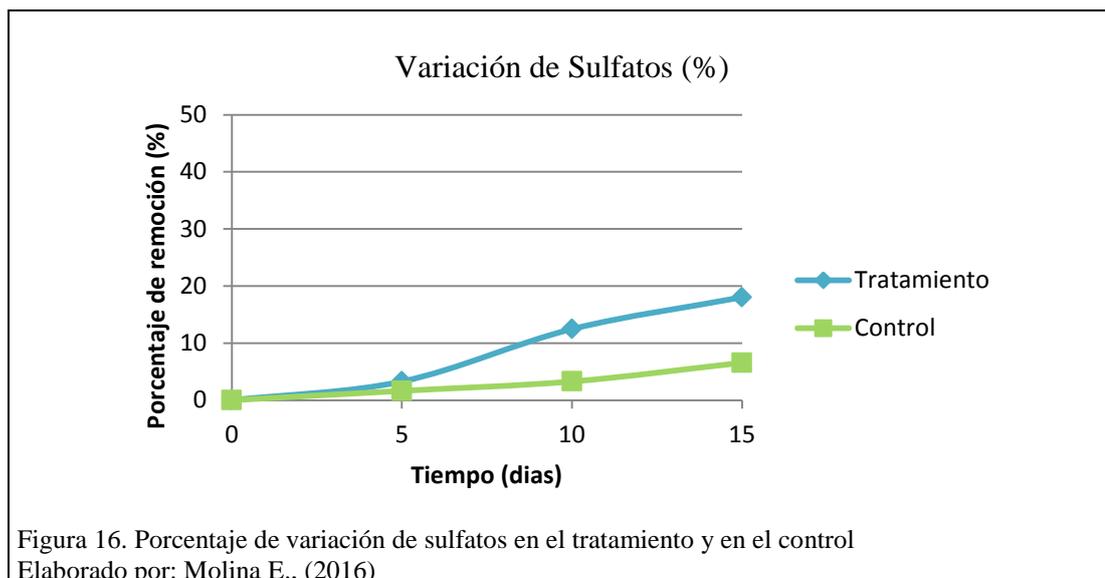


Figura 16. Porcentaje de variación de sulfatos en el tratamiento y en el control
Elaborado por: Molina E., (2016)

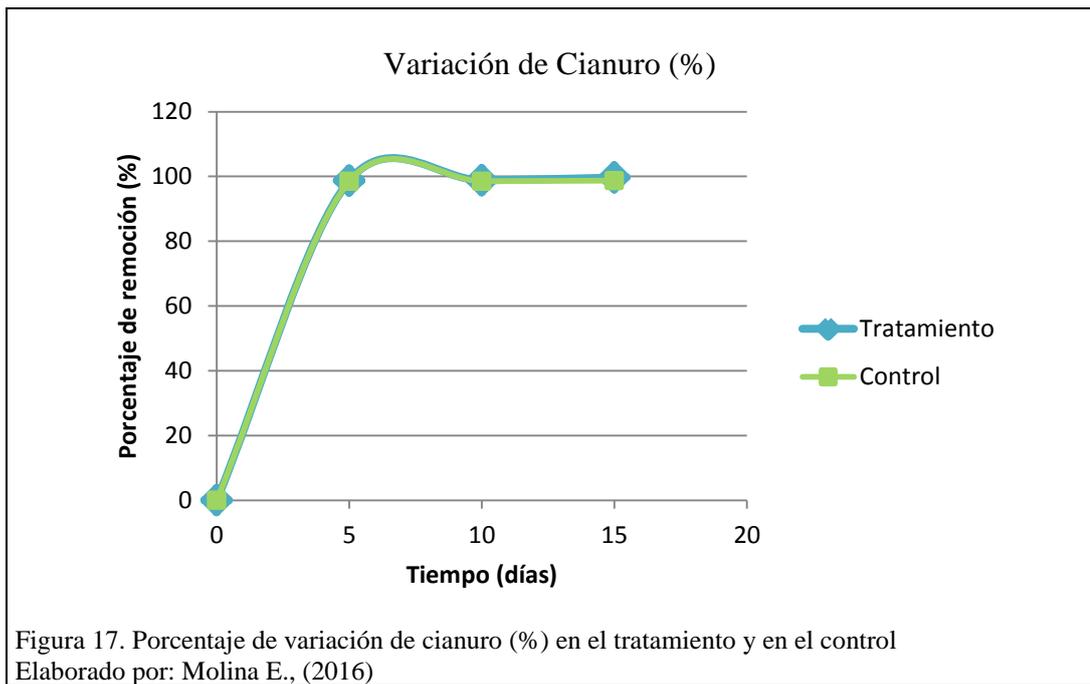
Para el caso del cianuro, la tabla 11 indica los resultados de remoción obtenidos en el tratamiento y en el control durante los 15 días del ensayo. La figura 17 muestra que los resultados de remoción en el tratamiento y control son muy similares al día 5, 10 y 15. El mayor porcentaje lo expresó el tratamiento con 99,66% y el control con 98,73% al día 15, esto refleja una alta eficiencia de remoción de cianuro por parte del tratamiento y el control.

Tabla 11.

Porcentaje de variación de cianuro por el consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.)

Días	Cianuro	
	Tratamiento	Control
0	0%	0%
5	98,73%	98,47%
10	98,81%	98,56%
15	99,66%	98,73%

Nota: Elaborado por Molina E., (2016)



La remoción de sulfuros presentó una alta eficiencia, alcanzando una elevada remoción desde el día 5, con un porcentaje del 98,85% en el tratamiento y 98,05% en el control, alcanzando un porcentaje de variación total el día 15 con porcentajes de 99,20% y 98,85% para el tratamiento y control respectivamente, valores que se muestran en la tabla 12.

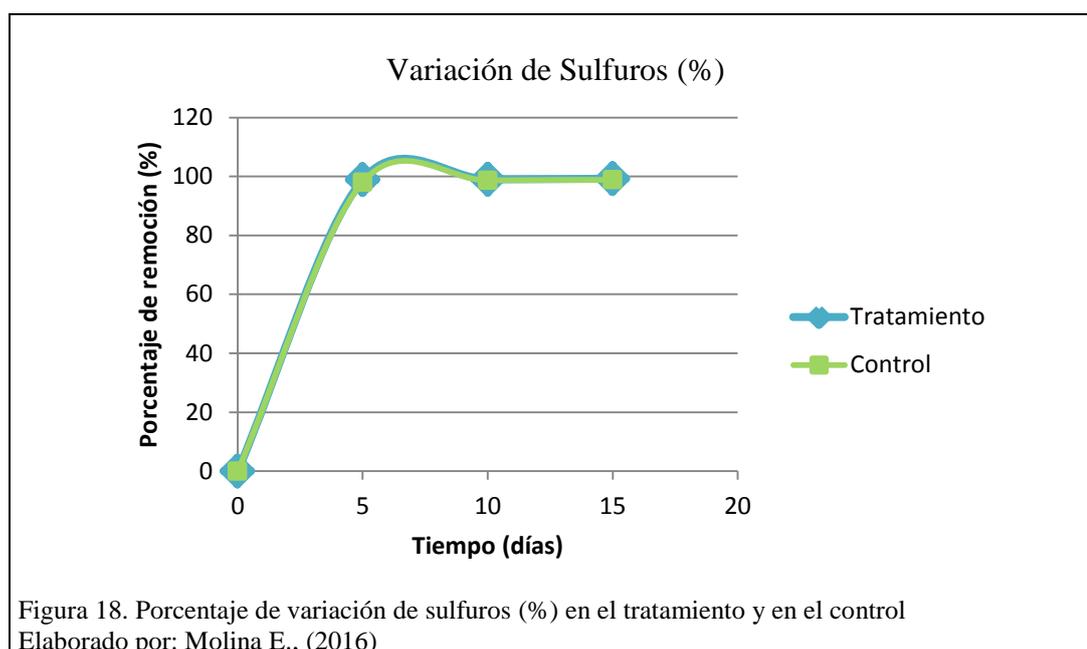
Se evidencia que no existe diferencia entre el tratamiento y el control, como se observa en la figura 18. Esto probablemente se debe a que los sulfuros son tóxicos a las microalgas en concentraciones de 200 mM a pH de 7.5 afectando seriamente el funcionamiento y el metabolismo de éstas en los tratamientos (Pearson & Konig, 1986), pero en este estudio el cultivo se mantuvo a pH 9 y la concentración de sulfuros en el efluente a tratar era de apenas 1,13 mg/L (anexo 6).

Tabla 12.

Porcentaje de variación de sulfuros por el consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.)

Días	Sulfuros	
	Tratamiento	Control
0	0%	0%
5	98,85%	98,05%
10	99,03%	98,67%
15	99,20%	98,85%

Nota: Elaborado por Molina E., (2016)



La eficiencia de remoción de contaminantes obtenido en este estudio, no tuvo relación directa con la densidad celular del consorcio (*Chlorella* sp.+ *Scenedesmus* sp.), ya que se registró una remoción muy similar alcanzada por parte del tratamiento y el control, razón por la cual, la remoción de nutrientes en estos cultivos se puede vincular a los microorganismos nativos del efluente, los mismos que se desarrollaron debido a las adecuadas condiciones de iluminación, aireación y pH al que estaba sometido el control. Así lo corrobora González y otros, (1997), ya que reportaron condiciones de pH 9 y una aireación intensa, como altamente efectivas para la remoción de nutrientes en aguas residuales agroindustriales.

Así también, Peralta (2005) obtuvo una alta eficiencia de remoción de contaminantes de aguas residuales domésticas, mediante el proceso de aireación extendida, en dicho estudio no se adicionó ningún tipo de microorganismo, pero al finalizar la experimentación se reportó la presencia de algas, posiblemente debido a la alta carga orgánica del efluente. Además está demostrado que existen bacterias que promueven el crecimiento algal, debido a que estas bacterias son eficaces para la biodegradación de la materia orgánica presente en los efluentes, de tal forma que contribuye al aporte de nutrientes a las microalgas en condiciones aeróbicas (Sriram & Seenivasan, 2012).

Conclusiones

El consorcio microalgal conformado por *Chlorella* sp. y *Scendesmus* sp., mostró un elevado crecimiento en el agua residual proveniente del Laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente al 100% de concentración, es decir sin dilución del efluente, lo que sugiere ser un medio de cultivo adecuado para el crecimiento de las microalgas.

Las mejores condiciones para el crecimiento del consorcio seleccionado fueron: pH 9 del efluente, iluminación con una intensidad de 8000 lux, aireación constante y adición de Nitrofoska (3mL/L).

El consorcio microalgal *Chlorella* sp. y *Scendesmus* sp., demuestra una elevada eficiencia de remoción de DQO (87,93%), DBO₅ (94,12%), fósforo total (74,18%), fenoles (97,95%), tensoactivos (82,65%), cianuro (98,73%) y sulfuro (98,85%), desde el día 5 del tratamiento del efluente y a la vez demuestra tener una baja eficiencia de remoción de sulfatos (3,28%).

La eficiencia de remoción del consorcio *Chlorella* sp. y *Scendesmus* sp., fue muy similar a la alcanzada por el control, en el cual también se reportó presencia del consorcio de interés a los 5 días de iniciado el ensayo.

Se obtuvo porcentajes de variación elevados desde el día 5 de tratamiento, para todos los parámetros con excepción de sulfatos, cumpliendo con la norma para descargas líquidas y no se encontró un incremento considerable de remoción al día 10 y 15, por lo que, para el presente estudio, el tiempo óptimo para el tratamiento es de 5 días.

Recomendaciones

Evaluar la capacidad de los organismos nativos del efluente, para la remoción de contaminantes, analizando variables tales como pH, nutrientes y aireación. Mediante ensayos sin la adición de microorganismos.

La biomasa algal ha sido utilizada ampliamente como fertilizante, biocombustible y alimento, por lo que sería interesante determinar la calidad de la biomasa resultante del proceso de tratabilidad del efluente estudiado y buscar una aplicación con fines comerciales.

Investigar y evaluar distintas técnicas que aumenten la eficiencia de remoción de contaminantes de las aguas residuales, como en el caso de la inmovilización de las microalgas.

Realizar un diseño experimental, que permita la aplicación de técnicas estadísticas, que denoten las diferencias de remoción específicas entre el control y el tratamiento, así como, también se pueda determinar los efectos de cofactores como la carga bacteriana nativa del efluente en la remoción de contaminantes.

Trabajar con otros microorganismos que presenten mayor capacidad para remover sulfatos, como las bacterias reductoras de sulfatos utilizadas en otras investigaciones, además modificar las condiciones de cultivo, especialmente de pH, utilizando medios ácidos que permiten una eficiente remoción de este parámetro.

Referencias

- Abalde, J. (1995). *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. Coruña: Universidad de la Coruña.
- Acurio, S., & Arciniegas, K. (2015). *Evaluación de la remoción de nitritos y nitratos en muestras de agua del río San Pedro Cantón Rumiñahui por microalgas clorofitas*. Quito: Universidad Politécnica Salesiana.
- Albert, L. (1997). Compuestos orgánicos persistentes. En *Introducción a la toxicología ambiental* (pág. 333). Centro de Ecología Humana y Salud.
- Andrade, C., Chacón, C., Cárdenas, C., & Morales, E. (2006). Remoción de nitrógeno y fósforo de aguas residuales urbanas por la microalga *Chlorella* sp. en condiciones de laboratorio. *Revicvoh*, 56-63.
- Andrade, C., Vera, A., Cárdenas, C., & Morales, E. (2009). Biomass production of microalgae *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Zulia*, 126-134.
- Andrade, M. (2013). *Evaluación del potencial energético de la microalga Chlorella protothecoides en el Ecuador para obtención de biocombustibles*. Quito: Escuela Politécnica del Ejército.
- Angulo, E., Castellar, G., Morales, E., & Barrios, M. (2012). Remoción de azul de metileno por la microalga *Chlorella* sp. viva. *Prospect*, 53-60.
- Araujo, G., Andrade, C., Vera, A., Rivera, J., Mora, R., & Morales, E. (2013). Fitoplacton asociado a la planta acuática *Lemna* sp. en el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Redieluz*, 173 - 176.
- Arnáiz, C., Isac, L., & Lebrato, J. (2000). Tratamiento Biológico de Aguas Residuales. *Tecnología del Agua*, 1.
- ATSDR. (2006). *Resumen de salud pública: Cianuro*. Recuperado el 17 de 12 de 2015, de Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades: http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs8.pdf
- Autoridad Ambiental Distrital. (2013). *Resolución 002 Secretaría de Ambiente*. Quito.
- Aznar, A. (2000). *Determinación de los parámetros físico-químicos de calidad de las aguas*. Recuperado el 22 de 07 de 2015, de <http://ocw.uc3m.es/ingenieria-quimica/ingenieria-ambiental/otros-recursos-1/OR-F-001.pdf>
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2014). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. Pisa, Italy: CRC Press.

- Bastidas, O. (2010). *Conteo celular con Hematocitómetro*. Celeromics.
- Becker, E. W. (1994). *Microalgae: Biotechnology and microbiology*. USA: Cambridge University Press.
- Benavente, J., Montañez, J., Aguilar, C., Méndez, A., & Valdivia, B. (2012). *AQM*. Recuperado el 09 de 01 de 2016, de Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores:
<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%207/4.html>
- Bermúdez, J., Sánchez, G., Fuenmayor, G., & Morales, E. (2003). Efecto de la fuente de carbono sobre el crecimiento y producción de pigmentos de la microalga marina *Chroomonas* sp. *Revicyh*, 265-269.
- Brito, D., Milani, N., Pereira, G., González, M., & Morán, R. (2006). Crecimiento de microalgas de agua dulce, en dos medios de cultivo Guillard y un fertilizante comercial Nitrofoska. *Revicyh*, 397-410.
- Bureau Veritas. (2008). *Manual para la formación en medio ambiente*. España: Lex Nova S.A.
- Cabrera, H., Garcés, M., & Paredes, P. (2010). *Producción de aguas servidas, Tratamiento y Uso en Ecuador*. Ecuador: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.
- Campos, I. (2003). *Saneamiento ambiental*. Costa Rica: EUNED.
- Chang, J. (2008). *Curso de contaminación*. Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Chávez, J., Dioses, J., & Nakaya, D. (2013). *Determinación de cianuros en aguas*. México.
- Clayton, R., & Sistrom, W. (1978). *The photosynthetic bacteria*. New York y Londres: Plenum Press.
- Contreras, A., & Molero, M. (2011). *Ciencia y tecnología del medio ambiente*. Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia.
- Contreras, C., Peña, J., Flores, L., & Cañizares, R. (2003). Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, 450-456.
- Cordero, J. (2014). *Niveles de contaminación de aguas y suelos en la microcuenca de la quebrada el Alumbre, ubicado en el barrio colinas lojanas, cantón y provincia de Loja*. Loja: Universidad Nacional de Loja.

- De la Lanza, G., & Arredondo, J. (1990). *La acuicultura en México: De los conceptos a la producción*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- De-Godos, I., Vargas, S., Blanco, M., García, C., Soto, R., García, P., y otros. (2010). A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggy wastewater under photosynthetic oxygenation. *Bioresource Technology*, 5150-5158.
- Del Pozo, Á. (2010). Producción y valorización de biomasa de microalgas: un enfoque de biorrefinería. En *El hombre y el medio ambiente* (págs. 248-264). España: Universidad de Salamanca.
- Dirección Metropolitana Ambiental. (2005). *Resolución No 003*. Quito.
- Donald, J. (1998). *Agentes patógenos en el agua potable- Estado actual y perspectiva*. Estados Unidos.
- Echarri, L. (2007). *Contaminación del agua*. Recuperado el 19 de 07 de 2015, de [http://Tema%208%20Contaminacion%20del%20agua%2007%20\(1\).pdf](http://Tema%208%20Contaminacion%20del%20agua%2007%20(1).pdf)
- FAO. (2003). *Agua para todos, agua para la vida*. Primer Informe de las Naciones Unidas.
- Félez, M. (2009). El agua. En *Situación actual del estado de la depuración biológica. Explicación de los métodos y sus fundamentos* (págs. 13-30). Barcelona.
- Fogg, G., & Thake, B. (1987). *Algae Cultures and Phytoplankton Ecology*. E.U.A.: The University of Wisconsin Press.
- Forero, P. (2014). *Fundamento teórico sobre tratamiento de aguas residuales*. Bogotá: Universidad Militar Nueva Granada.
- Gómez, L. (2007). Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista Cubana de Química*, 3-20.
- Gómez, L., & Ramírez, Z. (2004). Microalgas como biomonitores de contaminación. *Revista Cubana de Química*, 34-48.
- González, A. (2000). *Alternativas en el cultivo de microalgas*. Recuperado el 09 de 01 de 2016, de http://www.cib.espol.edu.ec/Digipath/D_Tesis_PDF/D-22897.pdf
- González, L. (2010). *Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo en las interacciones competitivas entre Chlorella vulgaris y Scenedesmus acutus*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

- González, L., Cañizares, R., & Baena, S. (1997). *Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a colombian agroindustrial wastewater by the microalgae Chlorella Vulgaris and Scenedesmus Dimorphus*. Elsevier Science.
- Grobbelaar, J. (2004). Algal nutrition: mineral nutrition. *Blackwell Science*, 97-115.
- Hernández, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficio. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 157-173.
- Hock, V., Mann, D., & Janhs, H. (1995). *Algae: An introduction to phycology*. Cambridge University.
- Hoff, F., & Snell, T. (2001). *Plankton culture manual*. E.U.A.: Florida Aqua Farm.
- Houghton, S. (1991). *The influence of the sulphur cycle on the performace of primary waste stabilization ponds treating domestic wastewater*. Eglan: The University of Leeds.
- INEC. (2013). *Encuesta de Información Ambiental Económica en Empresas*. Quito.
- Infante, C., Angulo, E., Zárate , A., Florez, J., Barrios, F., & Zapata , C. (2012). Propagación de la microalga Chlorella sp. en cultivo por lote: Cinética del crecimiento celular. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 159-164.
- Ingraham, J., & Ingraham, C. (1998). *Introducción a la microbiología*. Barcelona: Reverté S.A.
- Instituto Nacional de Normalización. (2009). *Aguares residuales - Métodos de análisis*. Chile.
- Jurado, J. (2005). *Secretaría Nacional del Agua*. Quito.
- Kaplan, D., Richmond, A., Dubinsky, Z., & Aaranson, S. (1986). *Algal Nutrition*. Boca Raton.
- Kiriratnikorn, S. (2006). *Isolation and screening for the highly carotenoid production of photosynthetic bacteria*. Tailandia: Prince of Songkla University.
- Kojima, H., & Lee, K. (2001). *Photosynthetic microorganisms in environmental biotechnology*. Hong-Kong: Springer-Verlag.
- Lee, R. (2008). *Phycology*. New York: Cambridge University Press.
- Léon, C., & Chaves, D. (2010). Tratamiento de residual vacuno utilizando microalgas, la lenteja de agua Lemna aequinoctiales y un humedal subsuperficial en Costa Rica. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental Algal*, 155-177.

- Liang, F., Xiao, Y., & Zhao, F. (2013). Effect of pH on sulfate removal from wastewater using a bioelectrochemical system. *Engineering Journal*, 147-153.
- Loy Chu, W. (2012). *Biotechnological applications of microalgae*. JSME.
- Maldonado, S. (2008). *Estudio de la remoción de detergentes aniónicos tipo sulfato con carbón activado*. Quito: Escuela Politécnica Nacional.
- Martínez, L. (2008). *Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas*. León: Instituto de Recursos Naturales, Universidad de León.
- Martínez, V., Pellón, A., Pérez, E., Correa, O., Escobedo, R., Madruga, Y., y otros. (2005). Producción de biomasa de *Scenedesmus Obliquus* en diferentes medios de cultivo. *CENIC*, 2-7.
- Mera, S. (2015). *Optimización del proceso de centrifugación para separar biomasa proveniente de microalgas*. Quito: Universidad Central del Ecuador.
- Mondragón, R., Vicente, E., & Guillenea, J. (1984). *Aislamiento e identificación de bacterias fotosintéticas en el Monimolimnion del estany de cullera (Valencia)*. Madrid: Universidad de Valencia.
- Montes, M. (2010). *Desarrollo de un bioestimulante a base de microalgas y bacterias para el tratamiento de influentes residuales*. Recuperado el 10 de 01 de 2016, de Repositorio Digital IPN: <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/5742/MAR%C3%8DA%20DEL%20ROCIO%20MONTES%20V%C3%81ZQUEZ.pdf?sequence=1>
- Mora, R., Moronta, R., Ortega, J., & Morales, E. (2005). *Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella* sp. aislada de la Represa de Tulé, Municipio Mara, Estado Zulia Venezuela*. Maracaibo.
- Muñoz, R., & Guieysse, B. (2006). *Algal-bacterial processes for treatment of hazardous contaminants*. Water Reseach.
- OEFA, O. d. (2014). *Fiscalización ambiental en aguas residuales*. Lima: Billy Odiaga.
- Olguín, E. (2003). *Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes*. Elsevier Science.
- Olivares, R. (2010). *Producción de aceite para usos industriales a partir de la microalga *Scenedesmus Obliquus**. San Salvador: Universidad del Salvador.
- Ontaneda, D., Cadena, M., González, A., & Morales, E. (2015). Tratamiento de un efluente derivado de una planta procesadora de pieles para extracción de gelatina mediante la tecnología de ficorremediación. *REMCB*, 47-56.

- Orozco, C., Pérez, A., González, M., Rodríguez, F., & Alfayate, J. (2005). *Contaminación Ambiental. Una Visión desde la Química*. España: Thomson Editoriales.
- Osorio, F., Torres, J., & Sánchez, M. (2010). *Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes*. Madrid: Diaz de Santos.
- Park, J., Craggs, R., & Shilton, A. (2011). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*, 35-42.
- Pearson, H., & Konig, A. (1986). The biology of waste stabilization pond systems. *Seminario Regional de Investigación sobre Lagunas de Estabilización* (págs. 1-17). Lima: CEPIS.
- Pellón, A., Frades, J., Chacón, A., Pérez, E., Oña, A., Espinosa, M. d., y otros. (2005). Eliminación de cromo y cadmio mediante *Senedesmus obliquus* en estado inmovilizado. *CENIC Ciencias Químicas*, 175-180.
- Perales, J. (2011). *Estudio del cosechado de cultivos de microalgas en agua residual mediante técnicas de centrifugado*. Cádiz-España: Universidad de Cádiz.
- Peralta, N. (2005). *Montaje de una planta de tratamiento de aguas residuales por aireación extendida*. Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Pérez, R. (2009). *Eliminación de nutrientes para el tratamiento biológico de agua residual usando un sistema inmovilizado microalga-bacteria en crecimiento autotrófico, heterotrófico y mixotrófico*. La Paz: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C.
- Posten, C., & Feng Chen, S. (2016). *Microalgae Biotechnology*. Springer.
- Ramalho, R. (2003). *Tratamiento de aguas residuales*. España: Reverté.
- Ramírez, R., & Mendoza, L. (2005). *Economía del agua, en Baja California: Reúso de aguas residuales tratadas bajo mecanismos de mercado*. Universidad Autónoma de Baja California.
- Ramos, R., Sepúlveda, R., & Villalobos, F. (2003). *El agua en el medio ambiente: muestreo y análisis*. México: Plaza y Valdés.
- Reascos, D. (2014). *Evaluación a nivel de laboratorio de la reducción de DBO5, DQO, nitrógeno, fósforo, sólidos totales y del contenido nutricional de la biomasa resultante, utilizando un consorcio microalgal en un efluente de explotación porcina artesanal*. Quito: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Richmond, A. (1986). Cell response to environmental factors. En *Handbook of microalgal mass culture* (págs. 69-99). USA: CRC Press.

- Richmond, A. (2004). Biological principles of mass cultivation. En *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology* (págs. 125-177). USA: Blackwell.
- Rigola, M. (1990). *Tratamiento de aguas industriales: Aguas de proceso y residuales*. Barcelona: Alfaomega Marcombo.
- Rivero, R. (2010). *Cultivo de Chlorella Vulgaris sobre residuales industriales: Una alternativa responsable y útil*. Universidad de Oriente.
- Rodríguez, A., Fernández, A., Letón, P., Rosal, R., Dorado, M., Villar, S., y otros. (2006). Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales. *Vigilancia Tecnológica*.
- Romero, I. (2003). *Diversidad y función de las pirofosfatasa de bacterias fotosintéticas púrpura no sulfurosas*. México: UNAM.
- Romo, A. (2002). *Manual para el cultivo de microalgas*. La Paz: Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Salazar, M. (2005). *Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales*. Depto. de Biotecnología. UAM-I.
- Sánchez, J. (2001). *El fósforo, parámetro crítico de calidad de agua técnicas analíticas de muestreo*. Carabobo: Universidad Central de Venezuela.
- Sánchez, M. (1993). Cultivos: Producción de microalgas. En O. Castelló, *Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción* (págs. 313-319). Barcelona: Universidad de Barcelona.
- Sanz, J., Cabredo, S., de Marcos, S., & Galbán, J. (1992). *Determinación de sulfuros en aguas mineromedicinales de la Rioja*. Logroño: Zubía.
- Secretaría de Ambiente. (2014). *Resolución N°. 002-SA-2014*. Quito: Dirección Metropolitana Ambiental .
- Selvakumar, D., & Dhevendaran, K. (2011). Studies on Photosynthetic Bacterial Diversity from Retting Areas of Murukkumpuzha along Kerala Coast, India. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 937-942.
- Semple, K., & Cain, R. (1996). Biodegradation of Phenols by the Alga *Ochromonas danica*. *Applied and environmental microbiology*, 1265-1273.
- Severiche, C., & González, H. (2012). Evaluación analítica para la determinación de sulfatos en aguas por método turbidimétrico modificado. *USBMed*, 6-11.
- Shabed, M., Azim, N., & Shoreit, A. (2008). Ecological and Physiological Studies on Purple Sulphur Bacteria (Chromatiaceae) at Aswan High Dam Lake. *IDOSI*, 462-467.

- Soriano, P. (2014). *Planta demostración de depuración de aguas residuales con microalgas*. Almería: Universidad de Almería.
- Sriram , S., & Seenivasan, R. (2012). Microalgae Cultivation in Wastewater for Nutrient Removal. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 9-13.
- Stanier, R. Y. (1961). Photosynthetic mechanisms in bacteria and plants: development of a unitary concept. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1-17.
- Sze, P. (1998). *A biology of the algae*. WCB/McGraw-Hill.
- Tchobanoglous, G., Burton, F., Stensel, D., & Eddy, M. (2003). *Wastewater engineering; Treatment and Reuse*. Mc Graw Hill.
- TULAS. (2003). Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria. Ecuador: Libro VI Anexo 1.
- Uribe, E. (1994). Tecnología de Cultivo de microalga. 7° *Curso Internacional, Cultivo de Moluscos*, (págs. 16-56). Coquimbo, Chile.
- Valladares, F. (2014). *Diseño de un planta de extracción de aceite a partir de microalgas (Chlorella sp.)*. Quito: Escuela Politécnica Nacional.
- Varila, J., & Díaz , F. (2008). Tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados a escala de laboratorio. *Revista de Tecnología*, 21-28.
- Vásconez, J. (2010). Principios de tratamiento biológico. *Curso práctico sobre lagunas de estabilización*. bvsde.
- Vilaseca, M. (2012). *Tratamiento de Aguas*. España: Universidad Politécnica de Cataluña.
- Vitores, J. (2005). *Fenoles*. Fundación Centro Canario del Agua.
- Zambrano, C. (2010). *Evaluación y análisis de la calidad del agua del estuario del río Guayas*. Guayaquil: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.