

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ESCUELA DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE



“RECUPERACIÓN DE RESIDUOS LÍQUIDOS INDUSTRIALES MEDIANTE *ARTHROSPIRA SP.* Y *CHLORELLA SP.*, A ESCALA DE LABORATORIO, PARA LA OBTENCIÓN DE AGUA DE RIEGO”. REGIÓN ARICA Y PARINACOTA.

PRESENTADO POR:

Bach. Katy Consuelo Alejandro Pérez

PARA OBTENER EL GRADO DE:

Magíster en Química del Medio Ambiente

AREQUIPA – PERÚ
2012

ÍNDICE

RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
HIPOTESIS.....	8
OBJETIVOS.....	9

CAPITULO I

RESULTADOS Y DISCUSION.....	10
1.- Caracterización del RIL.....	10
2.- Ensayos de Coagulación y/o Floculación con Sulfato de Aluminio ($Al_2(SO_4)_3$)..	11
3.- Ensayos de Coagulación y/o Floculación con Cloruro Férrico ($FeCl_3$).....	13
4.- Ensayo de Biorremediación con <i>Arthrospira sp.</i>	13
4.1 Análisis Físicoquímicos en un Ambiente No Controlado para Fotoperiodo.....	15
Noche y Día en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Arthrospira sp.</i>	
4.1.1 Comportamiento de la Biomasa húmeda en el ensayo de Recuperación ...	16
de RILES con <i>Arthrospira sp.</i>	
4.1.2 Monitoreo del Oxígeno Disuelto en el ensayo de Recuperación de RILES .	17
con <i>Arthrospira sp.</i>	
4.1.3 Monitoreo del pH en el ensayo de Recuperación de RILES con.....	19
<i>Arthrospira sp.</i>	
4.1.4 Monitoreo de la Intensidad Lumínica en el ensayo de Recuperación de	20
RILES con <i>Arthrospira sp.</i>	
4.1.5 Relación del Oxígeno Disuelto y Demanda Bioquímica de Oxígeno en el ..	22
ensayo de Recuperación de RILES con <i>Arthrospira sp.</i>	
4.1.6 Monitoreo de Fosfato (PO_4^{-3}) en el ensayo de Recuperación de RILES... .	23
co n <i>Arthrospira sp.</i>	
4.1.7 Monitoreo de Nitrato (NO_3^-) en el ensayo de Recuperación de RILES con.	25
<i>Arthrospira sp.</i>	

4.1.8 Monitoreo de Nitrito (NO_2^-) en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Arthrospira sp.</i>	26
4.2 Recuento de Mesófilos Aerobios y Anaerobios facultativos en ensayo de biorremediación con <i>Arthrospira sp.</i>	28
5.- Ensayo de Biorremediación con <i>Chlorella sp.</i>	29
5.1 Análisis Físicoquímicos en un Ambiente No Controlado para Fotoperíodo Noche y Día en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	29
5.1.1 Comportamiento de la Biomasa húmeda en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	29
5.1.2 Evolución de la Concentración Celular en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	31
5.1.3 Monitoreo del Oxígeno Disuelto en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	31
5.1.4 Monitoreo del pH en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	34
5.1.5 Monitoreo de la Intensidad Lumínica en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	35
5.1.6 Relación del Oxígeno Disuelto y Demanda Bioquímica de Oxígeno en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	37
5.1.7 Monitoreo de Fosfatos (PO_4^{3-}) en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	38
5.1.8 Monitoreo de Nitratos (NO_3^-) en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	39
5.1.9 Monitoreo de Nitritos (NO_2^-) en el ensayo de Recuperación de RILES con <i>Chlorella sp.</i>	42
5.2 Recuento de Mesófilos Aerobios y Anaerobios facultativos en ensayo de biorremediación con <i>Chlorella sp.</i>	43
6.- Caracterización del Agua de Riego	45

CAPITULO II

CONCLUSIONES.....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
ANEXOS.....	51

RESUMEN

En la Región Arica y Parinacota, Chile, el principal inconveniente para un desarrollo fructífero de la agricultura es la falta del recurso hídrico que se ve influido por encontrarse contiguo al desierto de Atacama el cual es considerado el desierto más árido del mundo. Muy cerca a la ciudad de Arica, se extiende el valle de Azapa, donde se cultivan hortalizas, olivos y cítricos.

El tratamiento de Residuos Líquidos Industriales generados requiere especial atención debido a las descargas que se realizan en la actualidad a cuerpos de agua que ocasionan serios problemas de contaminación, la recuperación de estos contaminantes mitigaría diversos problemas ambientales que percuten y también contribuiría a la falta del recurso hídrico en la Región.

En los experimentos a nivel laboratorio se investigó procesos fisicoquímicos de tratamiento, como la coagulación/floculación aplicado a RILES de una industria avícola. El proceso químico de coagulación/ floculación fue realizado con sulfato de aluminio, cloruro férrico probados en forma individual, variando la dosis y el pH. Se determinó la dosis óptima de coagulante que reduce, significativamente, la turbidez. De acuerdo a los resultados experimentales se puede asumir que el floculante más adecuado, para realizar un tratamiento químico de los RILES es el cloruro férrico con el cual se obtuvieron eficiencias del 97.97% en remoción de turbidez a una dosis de 0.5 g/L y a pH de 9.

En un tratamiento secundario o biológico a nivel laboratorio se utilizó microalgas como *Arthrospira sp.* y *Chlorella sp.*, debido a los procesos simbióticos de bacterias (quienes realizan la degradación de la materia orgánica y excretan CO₂) y microalgas (quienes utilizan los compuestos inorgánicos y consumen CO₂), llevando a cabo una eficiente conversión de la energía solar, en la utilización y eliminación de materia orgánica, lo cual se traduce naturalmente en generación de biomasa, mejorando la calidad del efluente y aumentando la concentración de oxígeno, el cuál inicialmente partió de 1.05 mg O₂/L llegando a valores de 8.00 mg O₂/L. Se consideró en el diseño experimental parámetros como el tipo de efluente, la carga orgánica, intensidad lumínica y pH.

La implementación de esta tecnología es apropiada en regiones con radiación solar alta y constante.

ABSTRACT

In the region of Arica and Parinacota, Chile, the main inconvenient for a profitable development of the agriculture is the of water resource which is dominated because of its surrounding to Atacama Desert which is considerate the driest desert in the world. Close to the city Azapa Valley can be seen, where olive, citrics and vegetables can be grown.

The treatment of liquid industrial residues needs special attention due to the unloudings that are realized at present groups of water that cause serious problems of colateral contamination, however its recuperation could help to solve several environmental problems and also to contribute to the lack of water resource in the region.

Experiments at a laboratory level could investigate the fission-chemical treatment of coagulation/flocculation applied to RILES of a poultry industry. The chemical process of coagulation/flocculation was executed with aluminum sulphate, ferric chloride tested individually, with a variation of the dose and pH, the optimum dose of coagulant that reduces muddy residues. In agree with the experimental it might be assumed results that the most appropriate flocculants to conduct chemical treatment of RILES is the ferric chloride which obtained a efficiency of 97.97% in a dose of muddy of 0.5 g/Ly a Ph of 9.

In a secondary or biological at a laboratory level, micro-seaweed treatment like *Arthrospira sp.* and *Chlorella sp.* Due to processes joined to bacteria (which executes the degradation of inorganic matter) and micro sea-weed (which uses inorganic compound), To make an efficient conversion of solar power, in the use and elimination of organic matter, which can be traduced naturally in biomes generation, improving the quality of the effluent and increasing the concentration of oxygen, which initially started on 1.05 mg O₂/L reaching a value of 8.00 mg O₂/L. It was considered as a parameter the effluent type, the organic information, the light intensity and the pH.

The implementation of this technology is appropriate in region with a high and constant solar radiation

INTRODUCCIÓN

Toda actividad humana genera residuos tanto sólidos, líquidos y gaseosos. La parte líquida de los mismos, a lo que llamamos aguas residuales, son esencialmente el agua de que se desprende la comunidad una vez que ha sido contaminada durante los diferentes usos para los cuales ha sido empleada. Entonces podemos definir al agua residual como la combinación de los residuos líquidos, que provienen de residencias, instituciones públicas y de establecimientos industriales y comerciales, a los que se les puede agregar aguas subterráneas, superficiales y pluviales.

En la Región Arica y Parinacota están presentes una empresa sanitaria “Aguas del Altiplano”, pero esta no tiene una planta de tratamiento, todas las aguas servidas sólo se vierten al mar a través de un emisario que se encuentra justo a 200 metros de la costa. También una segunda empresa pequeña “Agua Arica”, esta empresa tiene una pequeña planta de tratamientos de aguas domiciliarias en la parte norte de la ciudad pero al parecer ya está obsoleta y no cumple a cabalidad la recuperación de las mismas.

Por la gran preocupación de instituciones y organismos ecológicos se han implementado numerosos tratamientos para la recuperación de líquidos industriales, sin embargo no han sido lo suficientemente efectivas para erradicar problemas ya conocidas para el saneamiento del agua como son: agua mal depurada, altos costos de operación y mantenimiento, alto uso de productos químicos y equipos perimetrales, proliferación de vectores asociados a aguas con alto contenido de materia orgánica, (zancudos, efidrias, moscas), exagerados costos de inversión, limitación de infraestructura diseñada, entre muchos más. Consecuentemente no se logra un agua al 100% depurada.

Es por todo esto que en una sociedad industrializada como la nuestra nos creó la necesidad de la evacuación inmediata y sin molestias del agua residual de sus fuentes de generación, seguida de su tratamiento y eliminación, con microorganismos amigables al medio ambiente y que sobre todo forman parte de nuestro ecosistema.

HIPÓTESIS

Dado que es posible desarrollar y adaptar tecnologías para mejorar la calidad actual de residuos líquidos industriales vertidos al sistema de alcantarillado es probable que mediante un tratamiento primario químico y un tratamiento secundario biológico con la incorporación de *Arthrospira sp.*, *Chlorella sp.* y microorganismos nativos presentes en estos usando su capacidad simbiótica se pueda optimizar la reducción de la materia orgánica lo que con lleva a obtener un agua recuperada con la calidad adecuada para ser usada en riego.

OBJETIVOS

➤ Objetivo General:

Evaluar un esquema de tratamiento Químico y Biológico para Residuos Líquidos Industriales del norte de Chile, para obtener agua de Riego.

➤ Objetivos Específicos:

1. Determinar con tratamientos químicos primarios la capacidad de floculación con cloruro férrico y sulfato de aluminio para Residuos Líquidos Industriales.
2. Demostrar en un tratamiento biológico la incorporación de *Arthrospira sp.* y *Chlorella sp.* para la biorecuperación de residuos líquidos industriales.
3. Evaluar *Arthrospira sp.* y *Chlorella sp.* a diferentes condiciones de adaptación de % de inóculo de alga y % de RIL, aireación, así como la importancia del fotoperiodo de luminosidad y oscuridad.
4. Analizar en ambos tratamientos parámetros fisicoquímicos y biológicos (OD, DBO5, pH, turbidez, mesófilos aerobios) óptimos para obtener un mayor porcentaje de recuperación de residuos líquidos industriales.

CAPÍTULO I

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se recuperó residuos líquidos industriales mediante *Arthrospira sp.* y *Chlorella sp.* para la obtención de agua de riego.

1. Caracterización del RIL

El color que presentaba el RIL CRUDO fue grisáceo y de olor característico y nauseabundo, los parámetros analizados en el RIL CRUDO se muestran en la Tabla N°1.1.

Tabla N°1.1 Parámetros analizados en RIL CRUDO

Parámetros	Valor	Unidad
pH	6.17	--
Salinidad	0	‰
Temperatura	19°C	°C
Oxígeno Disuelto	1.05	mg/L
DBO ₅	5.23	mg/L
Sólidos Suspendidos	60	ml/L
Aluminio	0.14	mg/L
Hierro	1.86	mg/L
Fosfatos	60	mg/L
Nitratos	14.8	mg/L
Nitritos	20	mg/L
Turbidez	1000	FTU

Por tratarse de un RIL proveniente de una faenadora avícola lo que principalmente se encuentra es materia orgánica disuelta y sólidos suspendidos que en su mayoría fueron tratados en un pretratamiento de floculación y/o coagulación.

2. Ensayos de Coagulación y/o Floculación con Sulfato de Aluminio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$)

En la Figura N°1.1 se analizó la variación de la turbidez a diferentes dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ y de pH. Se muestra que los perfiles de eliminación de turbidez tienen cierta similitud de comportamiento a pH 8 para un valor de turbidez inicial de 1000 FTU, el porcentaje de remoción de la turbidez se incremento a pH 7 y a pH 8, siendo este último el de mayor porcentaje de remoción y en la dosis de 0.14 g/L se tiene un remoción de 96.50% y alcanza el 97.67% a una dosis de 0.15 g/L.

A pH 8 los valores de turbidez fueron 11.47, 4.96, 3.26 y 5.11 FTU para 0.13, 0.14, 0.15 y 0.16 g $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3/\text{L}$ respectivamente, demostrándose así que los datos de turbidez permanecen casi constantes.

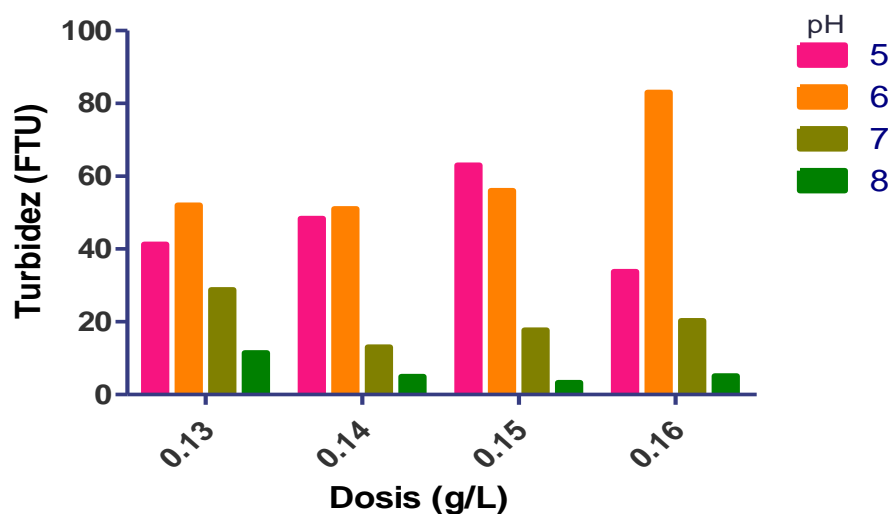


Figura N°1.1 Variación de la Turbidez (FTU) en relación del pH y dosis (g/L) de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$.

Al añadir $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ al agua, las moléculas se disocian en Al^{+3} y SO_4 . El Al^{+3} puede combinarse con coloides cargados negativamente para neutralizar parte de la carga de la partícula coloidal. El Al^{+3} puede también combinarse con los OH^- del agua para formar hidróxido de aluminio.

En la Figura N°1.2 se evaluó los residuos de Al^{+3} que podían estar presentes en el agua clarificada, mostrando en todos los ensayos que ninguno sobrepasa el límite máximo permitido en la Norma NCh1333 el cual es de 5 mg/L. Ver Anexo 4

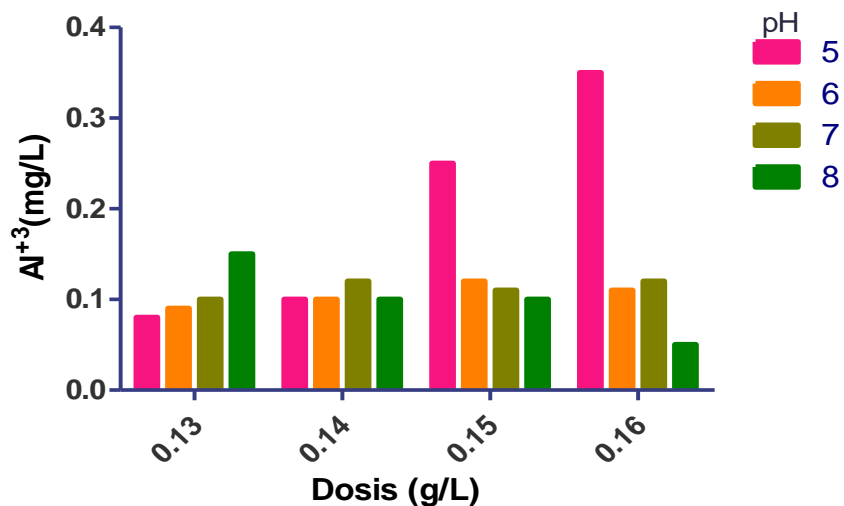


Figura N°1.2 Residuos de Al^{+3} en relación del pH y Dosis (g/L) de $Al_2(SO_4)_3$.

3. Ensayos de Coagulación y/o Floculación con Cloruro Férrico ($FeCl_3$)

En la Figura N°1.3, se analizó la respuesta a la variación de dosis de $FeCl_3$ a diferentes valores de pH. Se muestra que los perfiles de eliminación de turbidez tienen cierta similitud de comportamiento a pH 9 para un valor de turbidez inicial de 1000 FTU, el porcentaje de remoción de la turbidez se incrementa a pH 7 y a pH 9, siendo este último el de mayor porcentaje de remoción y en la dosis de 0.6 g/L se tiene un remoción de 97.36% y alcanza el 97.97% a una dosis de 0.5 g/L.

A pH 9 los valores de turbidez fueron 46.20, 28.50, 20.29 y 26.36 FTU para 0.3, 0.4, 0.5 y 0.6 g $FeCl_3$ /L respectivamente, demostrándose así que los datos de turbidez permanecen casi constantes.

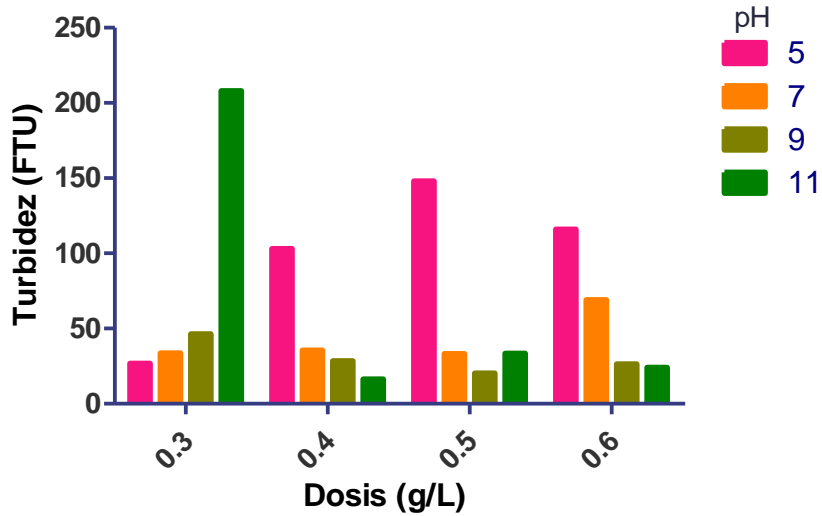


Figura N°1.3 Variación de la Turbidez (FTU) en relación del pH y Dosis (g/L) de FeCl_3 .

El FeCl_3 en medio acuoso ligeramente básico reacciona con el ión hidróxido para formar flóculos de $\text{FeO}(\text{OH})^-$, que puede eliminar los materiales en suspensión. Es por ello su gran utilidad para depurar las aguas residuales y para tratamiento de aguas de consumo. Cuando se disuelve en agua, el cloruro de hierro (III) sufre hidrólisis y libera calor en una reacción exotérmica. De ello resulta una solución ácida y corrosiva que se utiliza como coagulante en el tratamiento de aguas residuales y la potabilización del agua.

En la Figura N°1.4 se evaluó los residuos de Fe que podían estar presentes en el agua clarificada se evaluaron, mostrando en todos los ensayos que ninguno sobrepasa el límite máximo permitido en la Norma NCh1333 el cual es de 5 mg/L. Ver Anexo 4.

4. Ensayo de Biorremediación con *Arthrospira sp.*

Observando la Figura N°1.5 y Figura N°1.6, se nota una considerable diferencia de biorecuperación. En la Figura N°3.5 observamos el color inicial de los diferentes tratamientos (% inóculo microalgal y %RIL) en los ensayos para ambas cepas y en la Figura N°3.6 observamos el incremento del inóculo microalgal mediante el cambio de color el cual fue inicialmente amarillo claro y posteriormente incrementándose a verde.

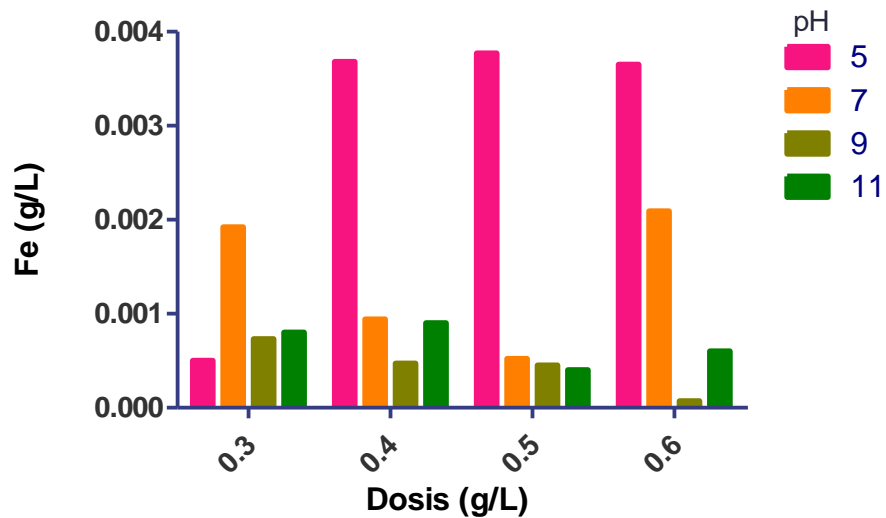


Figura N°1.4 Residuos de Fe en relación del pH y Dosis (g/L) de $Al_2(SO_4)_3$

El control sólo tiene el medio de cultivo de la microalga, el cual se va agotando durante el periodo del ensayo, sin embargo los demás matraces tienen diferentes proporciones de RIL y cepas microalgales que van consumiendo la materia orgánica que sirve como fuente de nutriente.

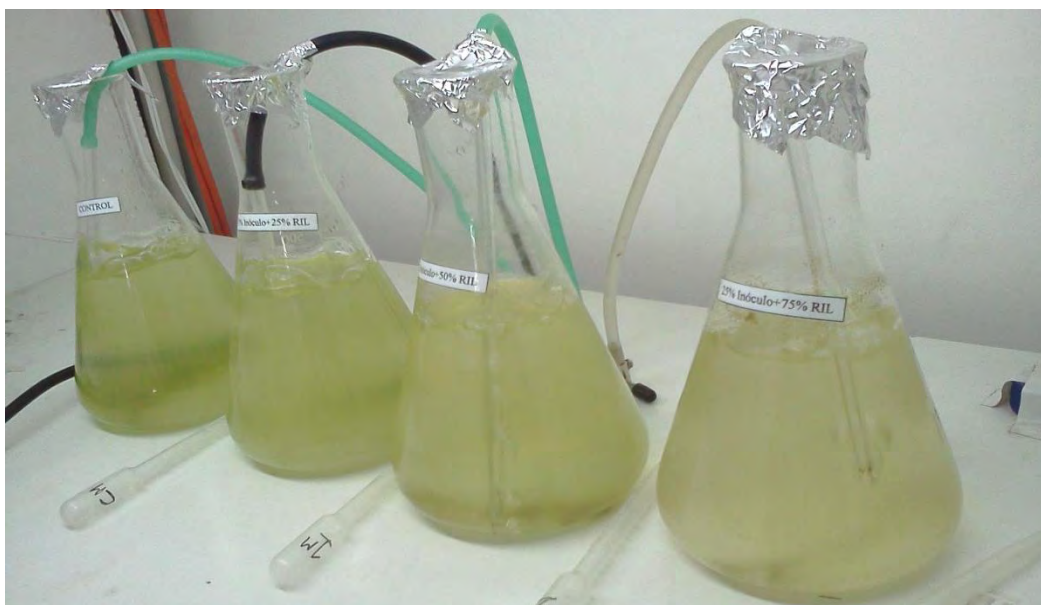


Figura N°1.5. Inicio del Ensayo de Recuperación de RILES



Figura N°1.6. Final del Ensayo de Recuperación de RILES

El crecimiento de las cepas microalgales se incrementa dado a las condiciones climáticas favorables con las que se cuenta en la Región Arica y Parinacota. Es así que los gráficos de los análisis fisicoquímicos mostrados a continuación pertenecen a los monitoreos realizados para un Fotoperiodo Noche y para Fotoperiodo Día.

4.1 Análisis Fisicoquímicos para Fotoperiodo Noche y Día en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.*

La puesta en marcha del ensayo empezó a las 6:00 pm, los monitoreos de los parámetros fisicoquímicos partieron a las 8:00 am del día siguiente considerándose ese intervalo de horas como el primer Fotoperiodo Noche, los monitoreos del Fotoperiodo Día partieron a las 5:00 pm del mismo día, considerándose ese intervalo de horas como el primer Fotoperiodo Día.

En las gráficas de cada uno de los parámetros se muestran primeramente el Fotoperiodo Noche seguido del Fotoperiodo Día.

4.1.1 Comportamiento de la Biomasa húmeda en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.*

Se realizó el monitoreo de la Biomasa húmeda interdiariamente durante 7 días que duró el ensayo para *Arthrospira sp.* a todos los tratamientos incluido el del control, podemos apreciar la tendencia de un incremento hacia el final del ensayo a excepción del quinto día en el Fotoperiodo Noche (Figura N°1.7) y del tercer día para el Fotoperiodo Día donde existe una disminución de la biomasa húmeda. (Figura N°1.8).

En ambas Gráficas observamos que la Biomasa húmeda acrecentó hacia los 50 g/L en ambos fotoperiodos, sin embargo la mayor biomasa se encuentra al 75% de Cultivo y al 50% de Cultivo para el Fotoperiodo Noche y Fotoperiodo Día respectivamente.

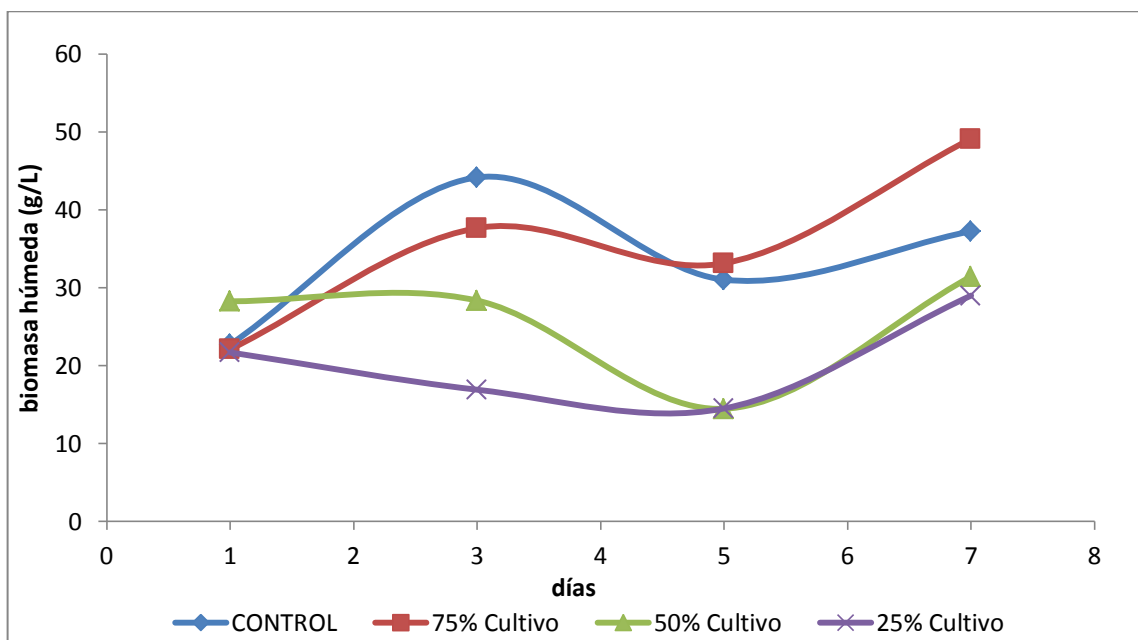


Figura N°1.7 Evaluación de la Biomasa húmeda (g/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

Como es de nuestro conocimiento la *Arthrospira sp.* al igual que todo microorganismo tiene diferentes fases de crecimiento que se ven influenciadas por diversos factores como los nutrientes, pH, luz entre otros. Una posible disminución de la biomasa puede estar también asociado a la necesidad de un ajuste bioquímico.

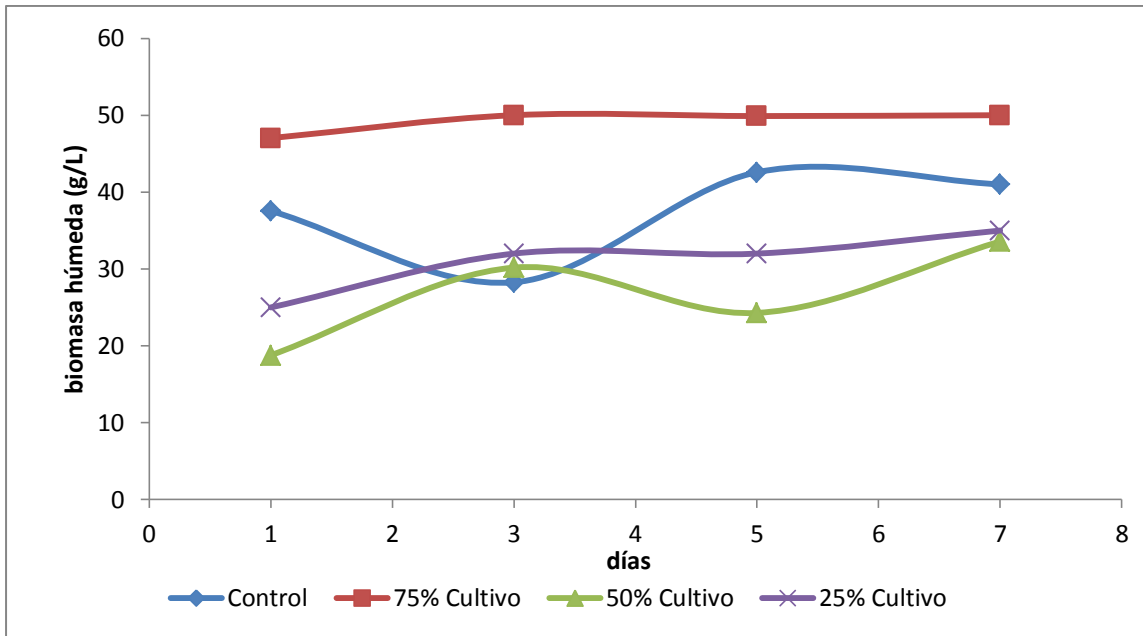


Figura N°1.8 Evaluación de la Biomasa húmeda (g/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día.

4.1.2 Monitoreo del Oxígeno Disuelto en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.*

Se realizó el monitoreo del Oxígeno Disuelto (OD) presente en todos los tratamientos durante 6 días que duró el ensayo para *Arthrospira sp.*, podemos apreciar en general la tendencia de incremento para los tratamientos, sin embargo en el Fotoperiodo Noche los valores para el 25% de Cultivo existe una ligera tendencia similar, y un descenso al 50% de Cultivo, el mayor valor de OD acrecentó alrededor de 9 mgO₂/L en el 75% de Cultivo para el Fotoperiodo Noche (Figura N°1.9), y en el Fotoperiodo Día un incremento paulatino, a excepción de un ligero descenso al 50% de Cultivo, el mayor valor es de 10 mgO₂/L en el Control, sin embargo sobresale el OD al 75% de Cultivo empezando en 7.8 y culminando en 9.8 mgO₂/L (Figura N°1.10).

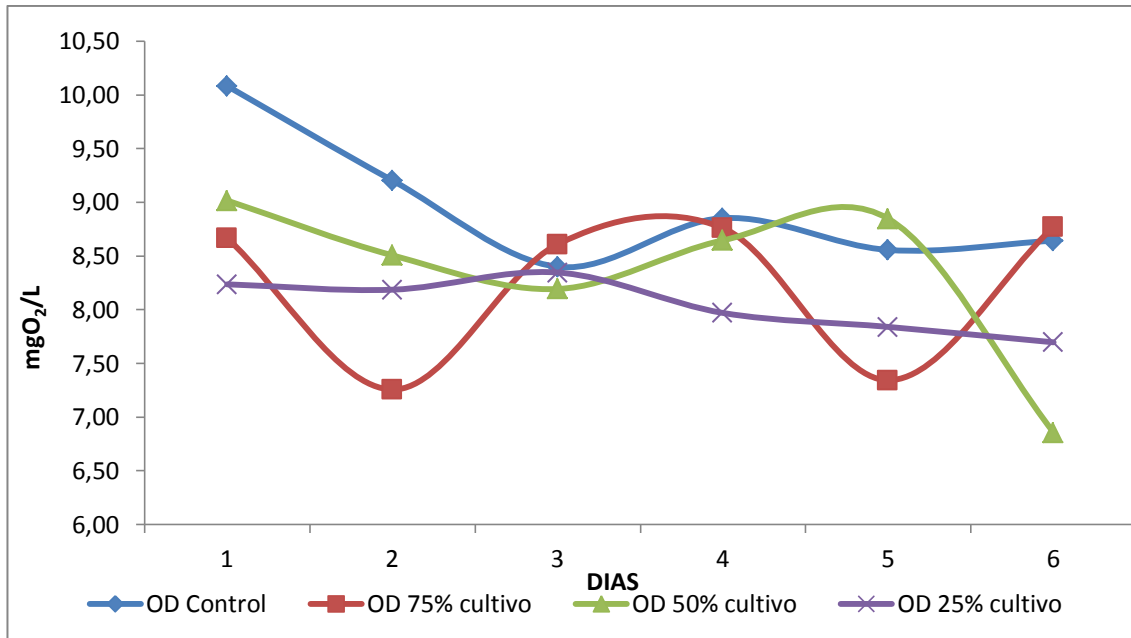


Figura N°1.9. Evaluación del OD (mgO₂/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche.

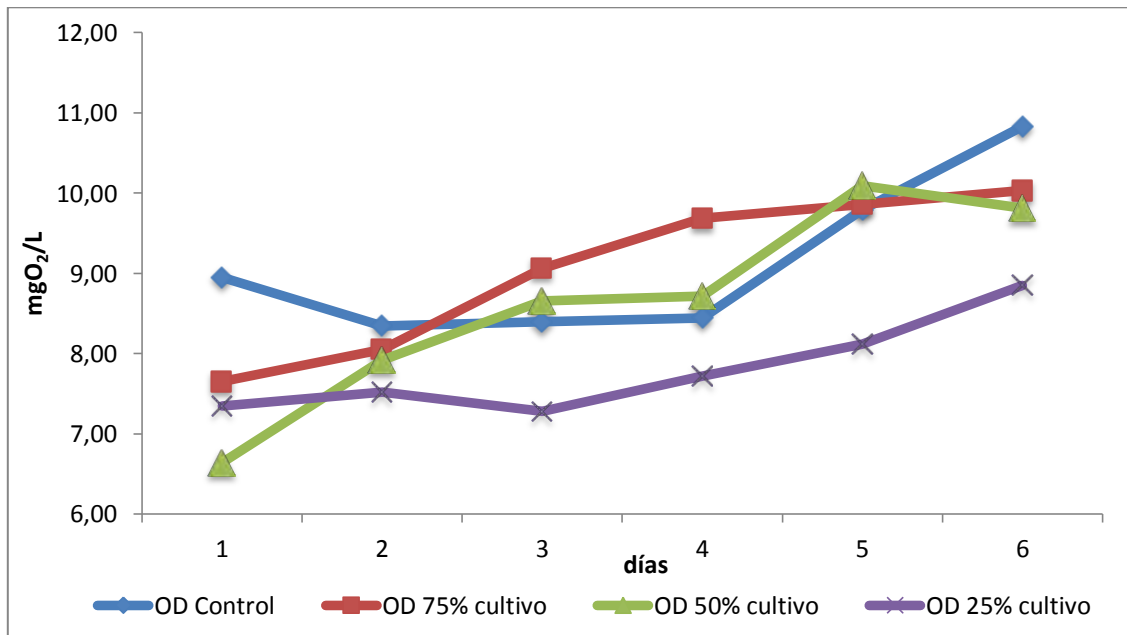


Figura N°1.10. Evaluación del OD (mgO₂/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día.

El monitoreo del Oxígeno Disuelto (OD) se utilizó como un indicador de agua contaminada mientras más alto sea el valor o este próximo a $9 \text{ mgO}_2/\text{L}$, el agua estará con mejor calidad.

4.1.3 Monitoreo del pH en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.*

Se realizó el monitoreo del pH presente en todos los tratamientos durante 6 días que duró el ensayo para *Arthrospira sp.* se aprecia la tendencia de incremento y para todos los tratamientos.

En el Fotoperiodo Noche es más notable un incremento alrededor de pH 10, sin embargo se distingue a 25% de Cultivo el mayor incremento de pH, partiendo de 8.5 y culminando en 9.8 (Figura N°1.11). En Fotoperiodo Día los valores de pH se vuelven más estables casi alrededor de 11, sin embargo se distingue a 75% de Cultivo el mayor incremento de pH, partiendo de 10 y culminando en 12 (Figura N°1.12).

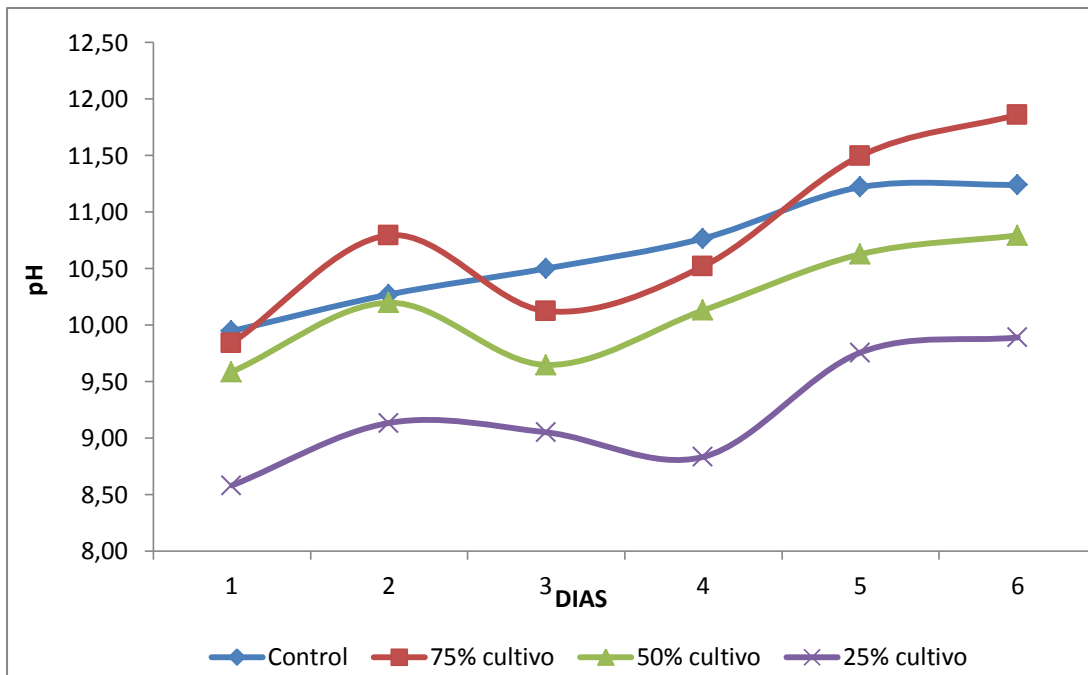


Figura N°1.11. Evaluación del pH en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche.

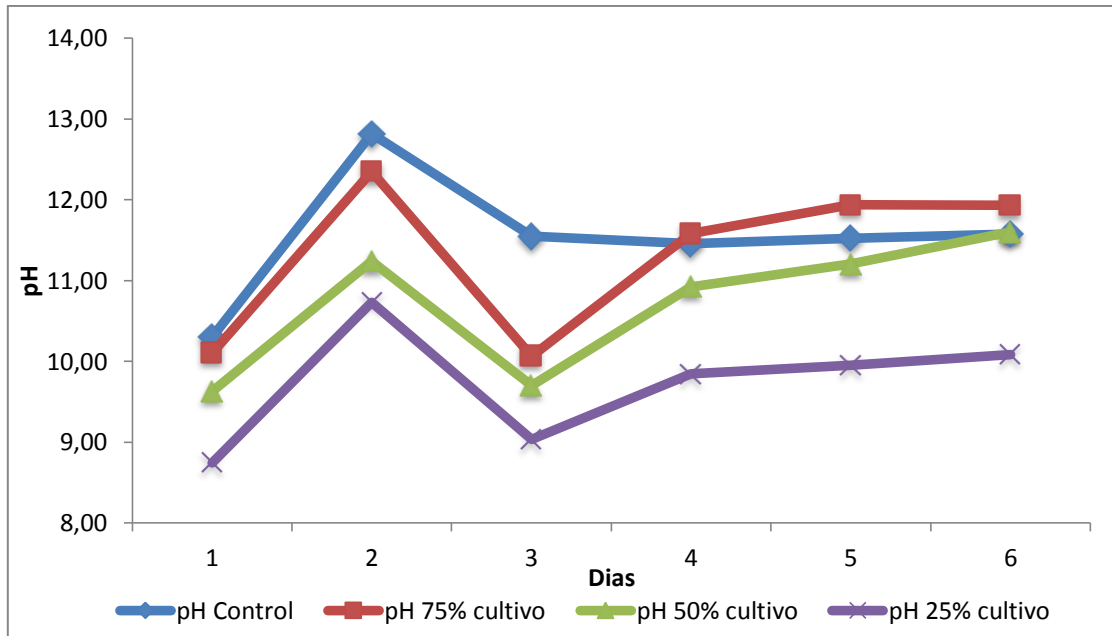


Figura N°1.12. Evaluación del pH en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

Un parámetro importante para el crecimiento de la Biomasa Microalgal es el pH, para *Arthrospira sp.* el pH idóneo es mayor a 9. Cabe resaltar que en el Fotoperiodo Día el proceso fotosintético de fijación de CO₂ por el consumo de la fuente de Carbono provoca un aumento gradual de pH en el medio debido a la acumulación de OH⁻.

4.1.4 Monitoreo de la Intensidad Lumínica en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.*

Se realizó un monitoreo de la intensidad lumínica ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) de fotones en todos los tratamientos durante 6 días que duró el ensayo para *Arthrospira sp.*, esta variable corresponde netamente a las condiciones climáticas, y en un Fotoperiodo Noche se puede evaluar para una etapa fotosintética oscura que realiza las microalgas cuya reacción depende más de la temperatura que de la misma intensidad lumínica. La intensidad lumínica se mantuvo relativamente casi constante manteniéndose dentro del rango de 100 μmol y 60 μmol en el proceso completo de evaluación (Figura N°1.13). En un Fotoperiodo Día los valores sobresalen hasta más de 300 μmol , esto

permite un desarrollo de las reacciones químicas continuas del proceso fotosintético apoyado por la luz solar (Figura N°1.14).

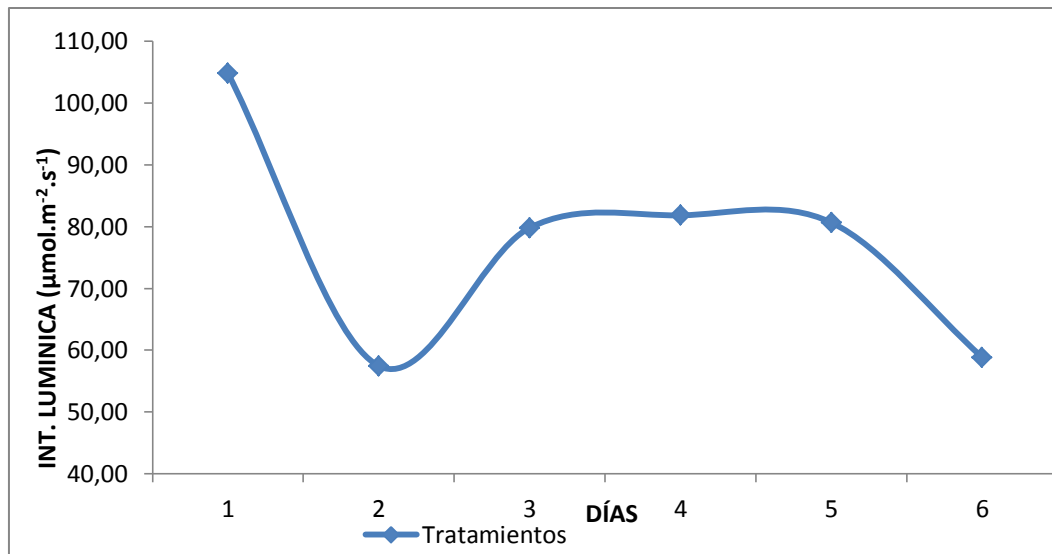


Figura N°1.13. Evaluación de la Intensidad Lumínica ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche.

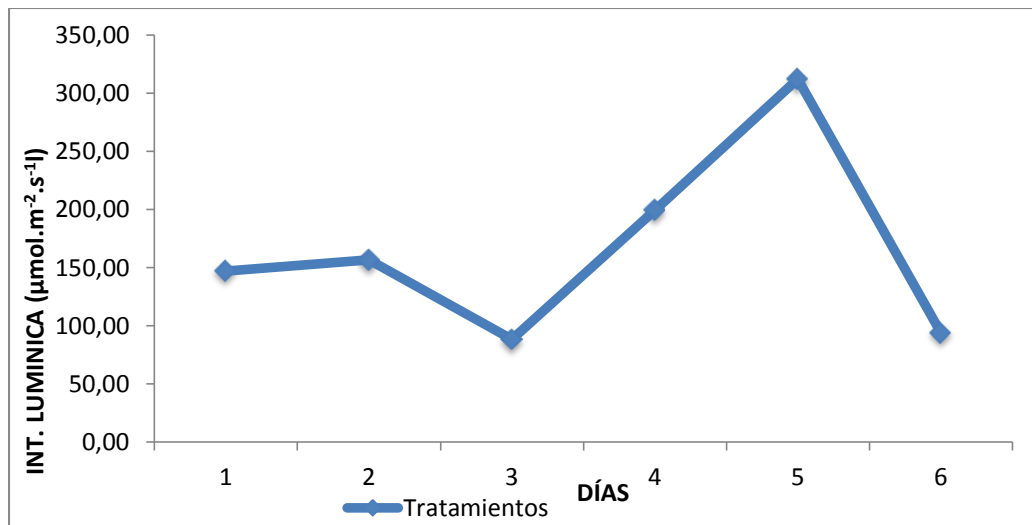


Figura N°1.14. Evaluación de la Intensidad Lumínica ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día.

Las Microalgas capturan energía proporcionada durante el día para transformarla en energía química, en una fotosíntesis oscura dependen de la temperatura y son

independientes de la luz, las reacciones llevadas a cabo en una fotosíntesis oscura proporcionan nutrientes necesarios para el crecimiento microalgal, y en una fotosíntesis iluminada se acentúa netamente en almacenar la energía solar.

4.1.5 Relación del Oxígeno Disuelto y Demanda Bioquímica de Oxígeno en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.*

Se monitoreó Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5) en relación al Oxígeno Disuelto (OD) tal como se detallo en la Metodología. En todos los tratamientos al inicio y al final del ensayo la relación del OD en relación a la DBO_5 , es inversamente proporcional (mientras el OD aumenta el DBO_5 disminuye).

Considerando el inicio y final del ensayo se tiene una mejor relación proporcional al 75% de Cultivo y al 25% de Cultivo para el Fotoperiodo Noche (Figura N°1.15) y Día (Figura N°1.16) respectivamente, sin embargo en todos los tratamientos existe un incremento del OD y una disminución de DBO_5 .

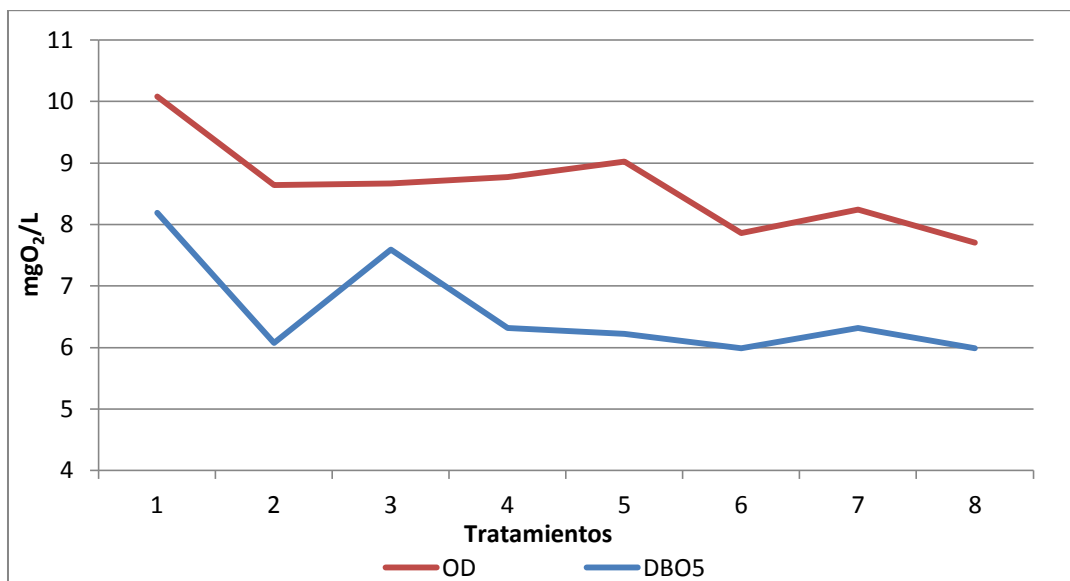


Figura N°1.15. Relación del OD y (DBO_5) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.* en Fotoperiodo Noche.

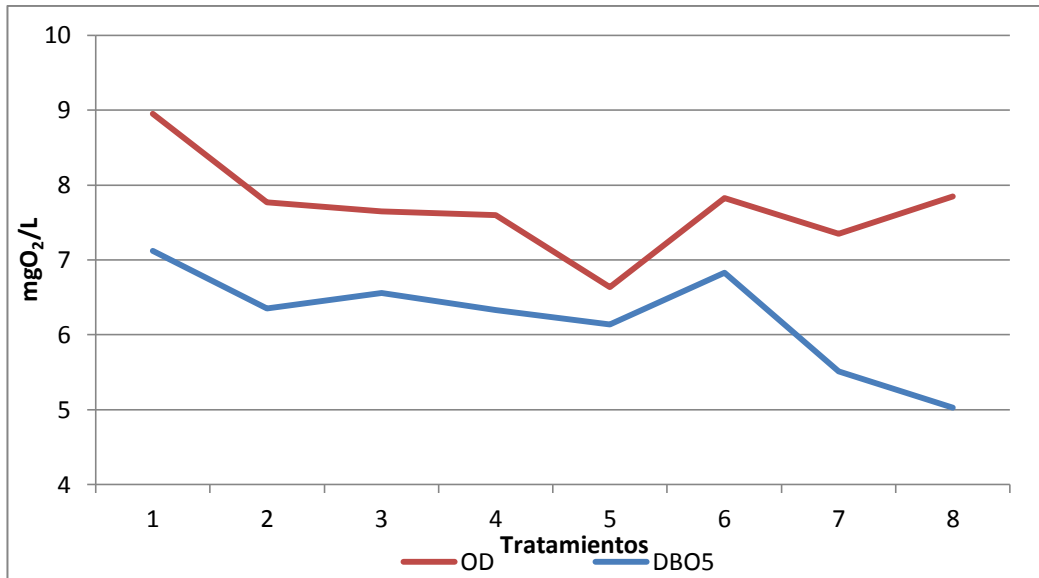


Figura N°1.16. Relación del OD y (DBO₅) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp* en Fotoperiodo Día.

Leyenda: 1: "Control *Arthrospira sp.* Inicial", 2: "Control *Arthrospira sp.* Final"
 3: "75% *Arthrospira sp.*/25% RIL Inicial", 4: "75% *Arthrospira sp.*/25% RIL Final",
 5: "50% *Arthrospira sp.*/50% RIL Inicial", 6: "50% *Arthrospira sp.*/50% RIL Final"
 7: "25% *Arthrospira sp.*/75% RIL Inicial", 8: "25% *Arthrospira sp.* / 75% RIL Final".

La relación inversa del OD con la DBO₅, nos muestra la cantidad necesaria de oxígeno en mgO₂/L necesaria para iniciar el proceso de oxidación bioquímica de la materia orgánica mediante acción de los microorganismos aerobios.

4.1.6 Monitoreo de Fosfato (PO₄⁻³) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.*

Se realizó el monitoreo de (PO₄⁻³) presente interdiariamente en todos los tratamientos durante 7 días que duró el ensayo para *Arthrospira sp.* se aprecia la tendencia de descenso en general para todos los tratamientos.

En el Fotoperiodo Noche se tiene una inclinación hacia un descenso, el tratamiento que contiene el 75% de RIL presenta el menor valor de fosfatos estando alrededor de 3.15 mg/L (Figura N°1.17). En el Fotoperiodo Día existe de igual manera una

predisposición al descenso, siendo el tratamiento con 75% de RIL el de valor menor encontrándose hacia los 3 mg/L (Figura N°1.18).

Al inicio de los ensayos el consumo de fosfatos es inestable probablemente por un ajuste bioquímico y/o al metabolismo de *Arthrospira sp.*, posteriormente el fosfato es usado como nutriente en los procesos de transferencia de energía como la fotosíntesis.

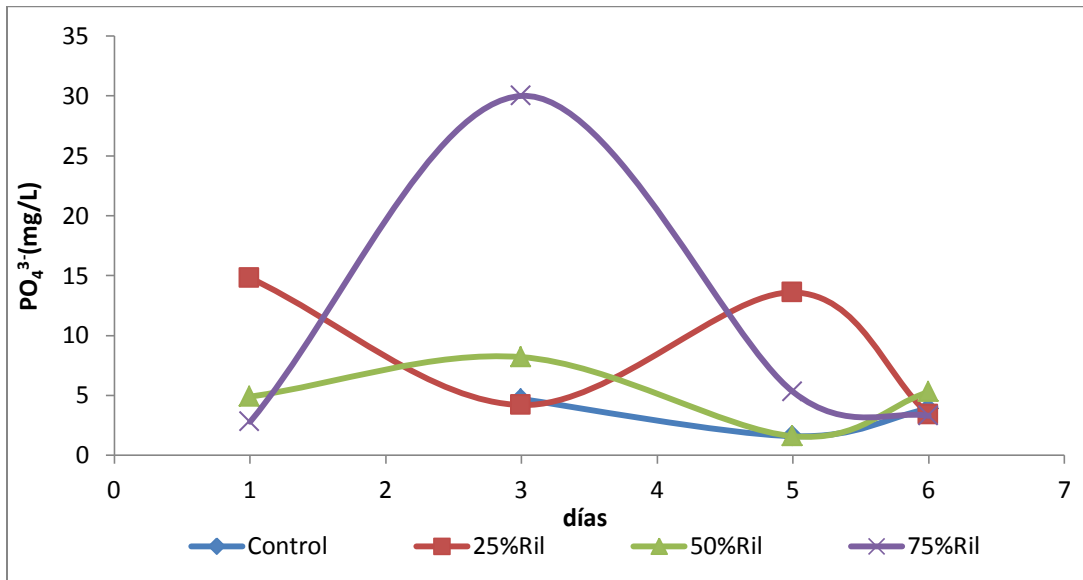


Figura N°1.17. Evaluación de Fosfatos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

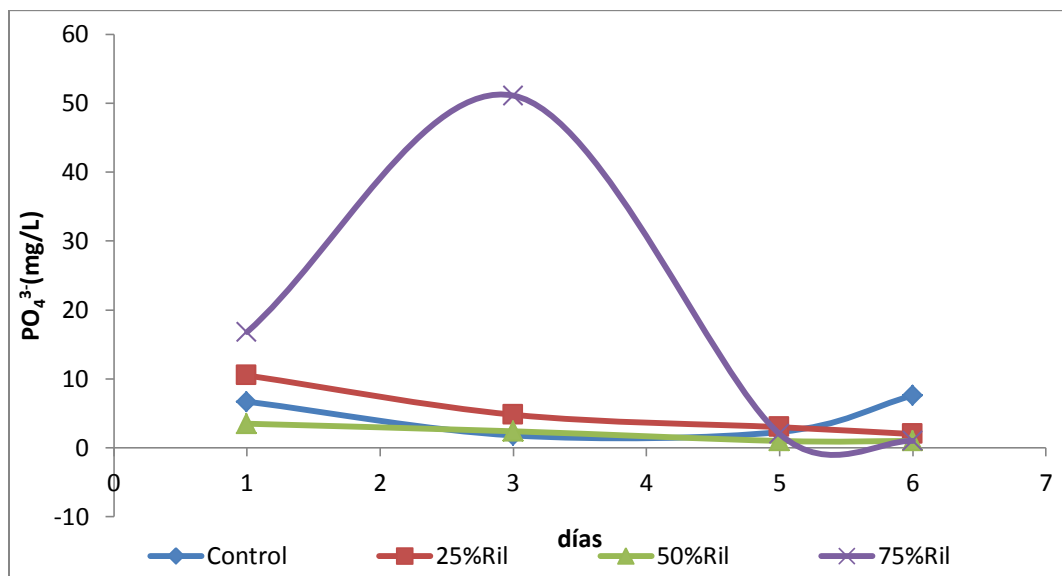


Figura N°1.18. Evaluación de Fosfatos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

4.1.7 Monitoreo de Nitrato (NO_3^-) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.*

Se realizó el monitoreo de (NO_3^-) presente interdiariamente en todos los tratamientos durante 7 días que duró el ensayo para *Arthrospira sp.* se aprecia un incremento en el Fotoperiodo Noche y un descenso en el Fotoperiodo Día.

En el Fotoperiodo Noche se tiene una inclinación hacia un descenso en el tratamiento que contiene el 75% de RIL este presenta el menor valor de nitrato estando alrededor de 8 mg/L, en los demás tratamientos existe un incremento que puede ser aludido a la segregación de residuos de *Arthrospira sp* (Figura N°1.19). En el Fotoperiodo Día existe de igual manera una predisposición al descenso en el tratamiento con 50 y 75% de RIL presentando el valor alrededor de 17 mg/L (Figura N°1.20).

En algunos tratamientos al inicio del ensayo se incrementa el valor de nitratos debido a que *Arthrospira sp.* comienza en un periodo de adaptación ya que no se encuentra el alga sola presente sino también entra en competencia con otros microorganismos, un descenso indica el consumo de nitrato como fuente de energía para el desarrollo de la fotosíntesis.

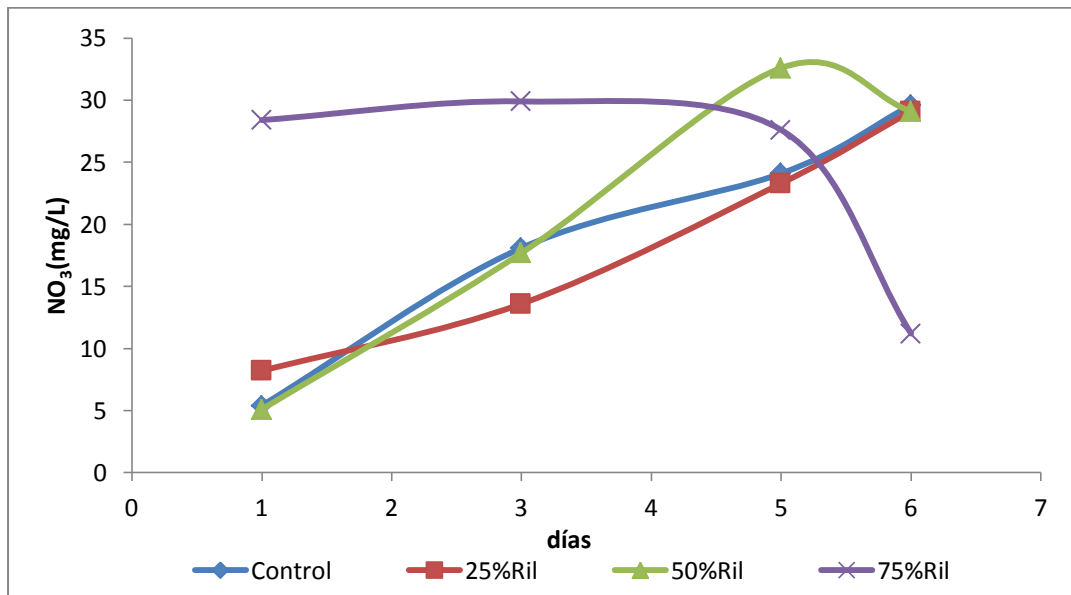


Figura N°1.19. Evaluación de Nitratos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

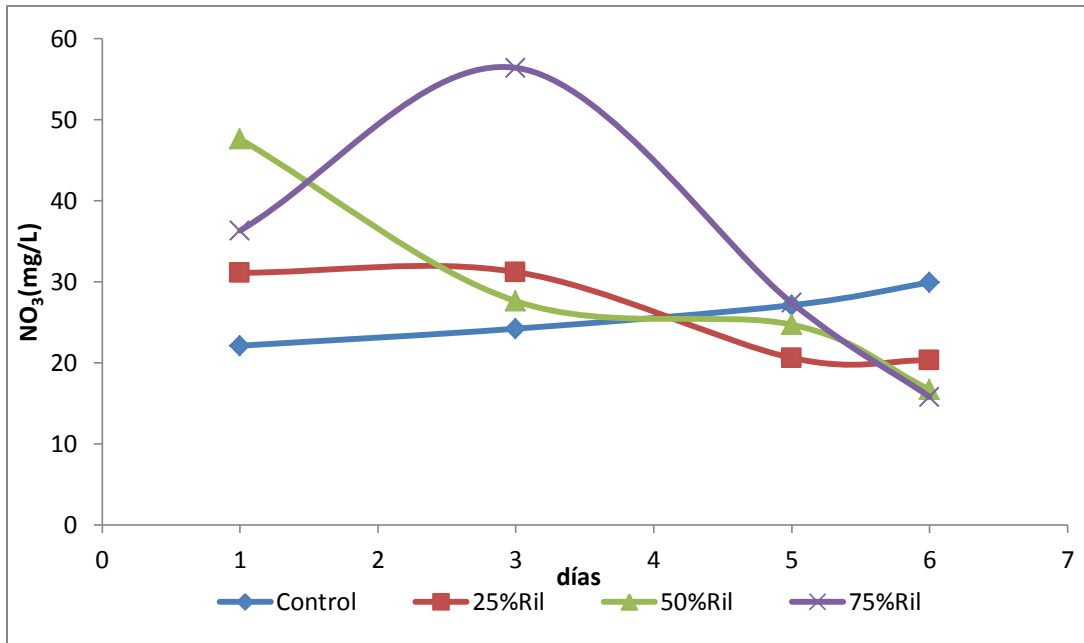


Figura N°1.20. Evaluación de Nitratos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

4.1.8 Monitoreo de Nitrito (NO_2^-) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp.*

Se realizó el monitoreo de (NO_2^-) presente interdiariamente en todos los tratamientos durante 7 días que duró el ensayo para *Arthrospira sp.* se aprecia un descenso en el Fotoperiodo Noche y un descenso en el Fotoperiodo Día.

En el Fotoperiodo Noche se tiene una inclinación hacia un descenso en todos los tratamientos, el valor más resaltante es el tratamiento que contiene el 75% de RIL este presenta el menor valor de nitrito estando alrededor de 10 mg/L(Figura N°1.21). En el Fotoperiodo Día existe de igual manera una predisposición al descenso más aun en el tratamiento con 75% de RIL presentando el valor alrededor de 5 mg/L(Figura N°1.22).

En todos los tratamientos los nitritos que son solubles en el agua, se forman a partir de los nitratos o por oxidación bacteriana incompleta, muchos microorganismos presentes en el RIL influyen directamente a la formación de los nitritos, y por ende un disminución de estos nos indica una mejor calidad de agua.

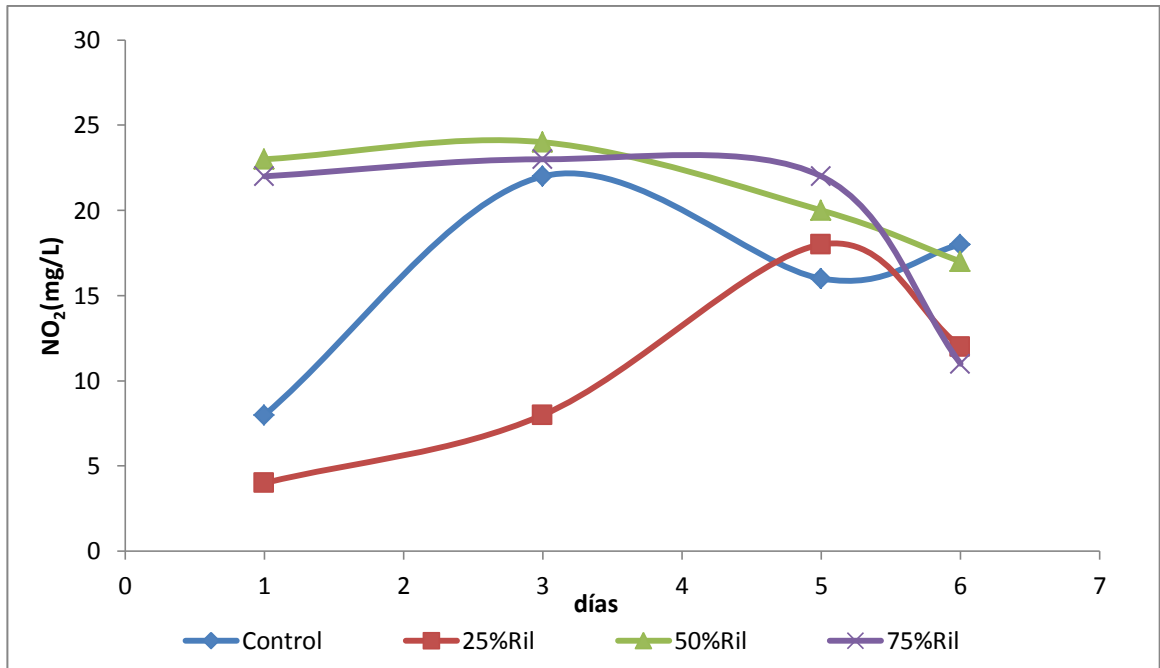


Figura N°1.21. Evaluación de Nitritos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

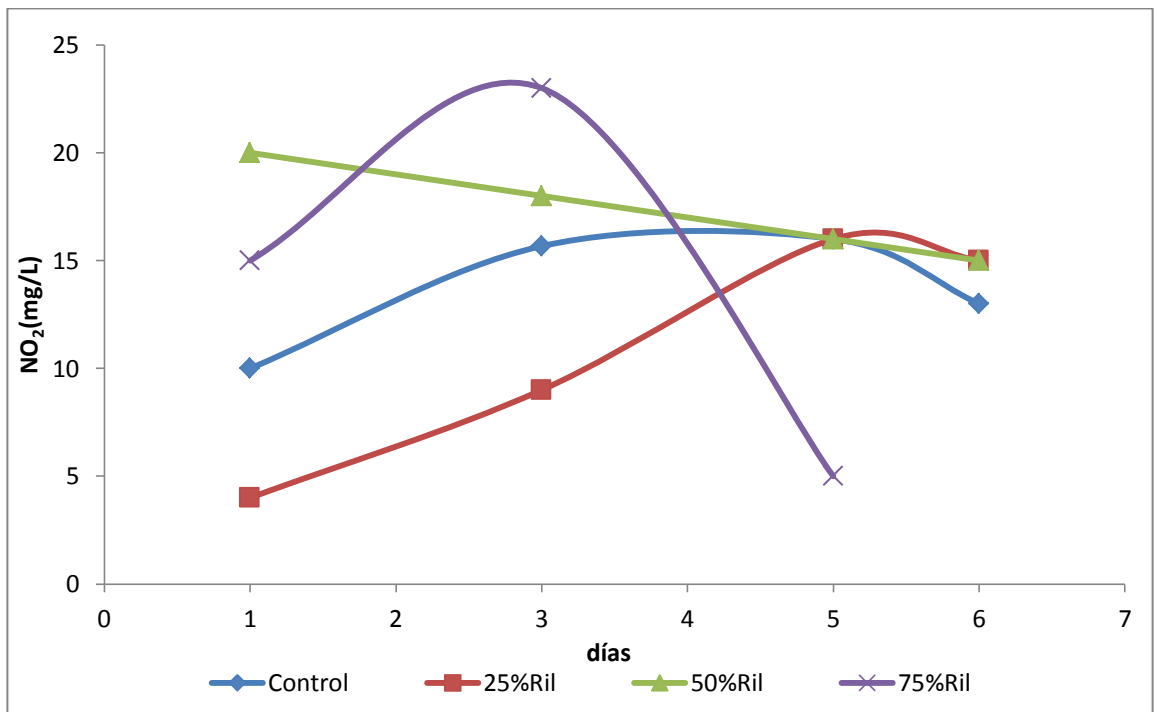


Figura N°1.22. Evaluación de Nitritos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

4.2 Recuento de Mesófilos Aerobios en ensayo de biorremediación con *Arthrosphira* sp.

Se realizó el recuento de mesófilos aerobios y anaerobios facultativos en las condiciones de tratamientos antes explicadas por la técnica de placa vertida, los tratamientos fueron evaluados en su inicio y al final, los valores se expresan en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL). En todos los tratamientos, incluido el control se observa una disminución en el recuento de mesófilos aerobios y anaerobios facultativos. Esta disminución es superior en los tratamientos de 75%, 50% y 25% de *Arthrosphira* sp. que en el control de *Arthrosphira* sp. (Figura N°1.23).

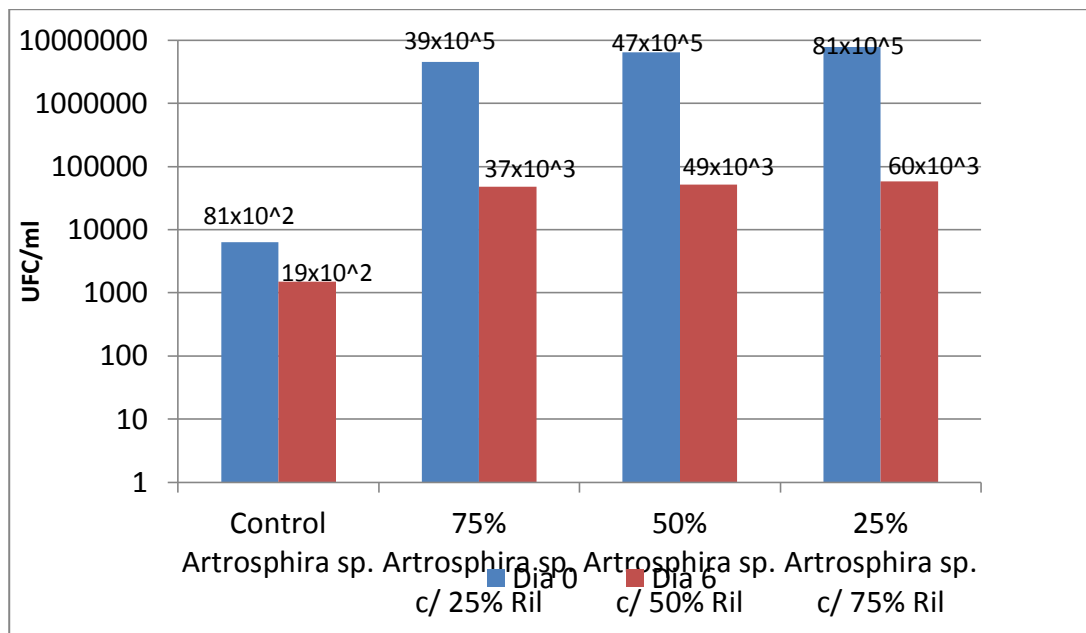


Figura N°1.23. Recuento de Mesófilos Aerobios en ensayo de biorremediación con *Arthrosphira* sp.

Los recuentos de Mesófilos Aerobios y Anaerobios en placa son útiles para determinar la potabilidad de un agua, así como también la eficiencia de las operaciones para eliminar microorganismos, como la sedimentación, filtración, cloración y en este caso como se ven afectadas las poblaciones por el proceso de biorremediación. Los recuentos se hicieron antes y después del tratamiento. Los resultados muestran la reducción de las poblaciones microbianas en todos los

tratamientos lo cual se puede explicar por la competencia que existe por los nutrientes presentes en el sistema, *Arthrosphira* sp. a medida que pasan los días va duplicando su concentración en el sistema por lo que se ve obligada a requerir de más recursos nutricionales, por otra parte, los organismos mesófilos presentes se ven desfavorecidos por el crecimiento de *Arthrosphira* sp. ya que la capacidad de adquirir nutrientes se ve limitada, comienzan inevitablemente a disminuir sus poblaciones. Sin embargo, pasado los 6 días de tratamiento la cantidad de organismos mesófilos sigue siendo elevada en promedio unos 50×10^3 UFC/mL, sin embargo la norma Chilena NCh 1333 no establece un límite máximo permitido para el Agua de Riego.

5. Ensayo de Biorremediación con *Chlorella* sp.

5.1 Análisis Físicoquímicos para Fotoperiodo Noche y Día en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella* sp.

La puesta en marcha del ensayo empezó a las 6:00 pm, los monitoreos de los parámetros físicoquímicos partieron a las 8:00 am del día siguiente considerándose ese intervalo de horas como el primer día de Fotoperiodo Noche., los monitoreos del Fotoperiodo Día partieron a las 5:00 pm del mismo día, considerándose ese intervalo de 24 horas como el primer día de Fotoperiodo Día.

En las gráficas de cada uno de los parámetros se muestran primeramente el Fotoperiodo Noche seguido del Fotoperiodo Día.

5.1.1 Comportamiento de la Biomasa húmeda en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella* sp.

Se realizó el monitoreo de la Biomasa húmeda interdiariamente durante 6 días que duró el ensayo para *Chlorella* sp. a todos los tratamientos incluido el del control, podemos apreciar la tendencia de un incremento hacia el final del ensayo.

Pero en el Fotoperiodo Noche existe una disminución en el tratamiento de 75% de Cultivo, sin embargo los demás tratamientos tienden la tendencia de incrementarse.

(Figura N°1.24) y en el Fotoperiodo Día todos los tratamientos tienden a incrementarse más aun en el Control y en el que contiene 50% de Cultivo(Figura N°1.25).

En ambas Gráficas observamos que la Biomasa húmeda acrecentó alrededor de los 12g/L en ambos fotoperiodos.

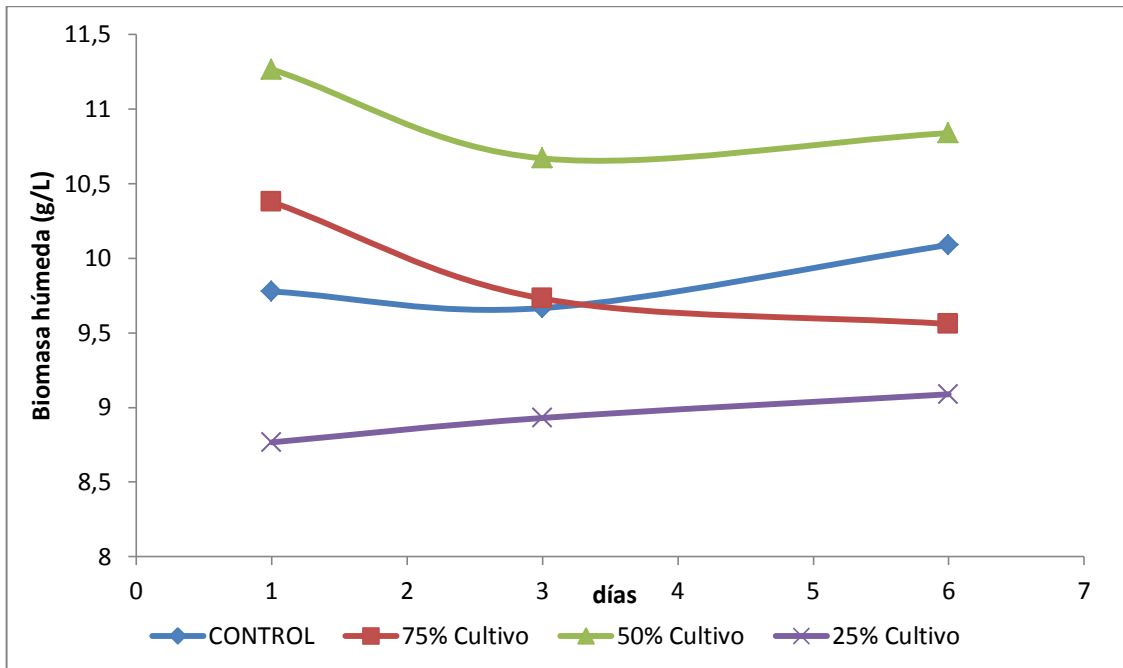


Figura N°1.24. Evaluación de la Biomasa húmeda (g/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

La *Chlorella sp.* tiene un metabolismo menor al de *Arthrospira sp.*, sus fases de crecimiento son inestables y su adaptación a un nuevo medio nutritivo al igual que todo microorganismo se ven influencias por diversos factores como los nutrientes, pH, luz entre otros. Una probable disminución de la biomasa está asociado a la necesidad de un ajuste bioquímico.

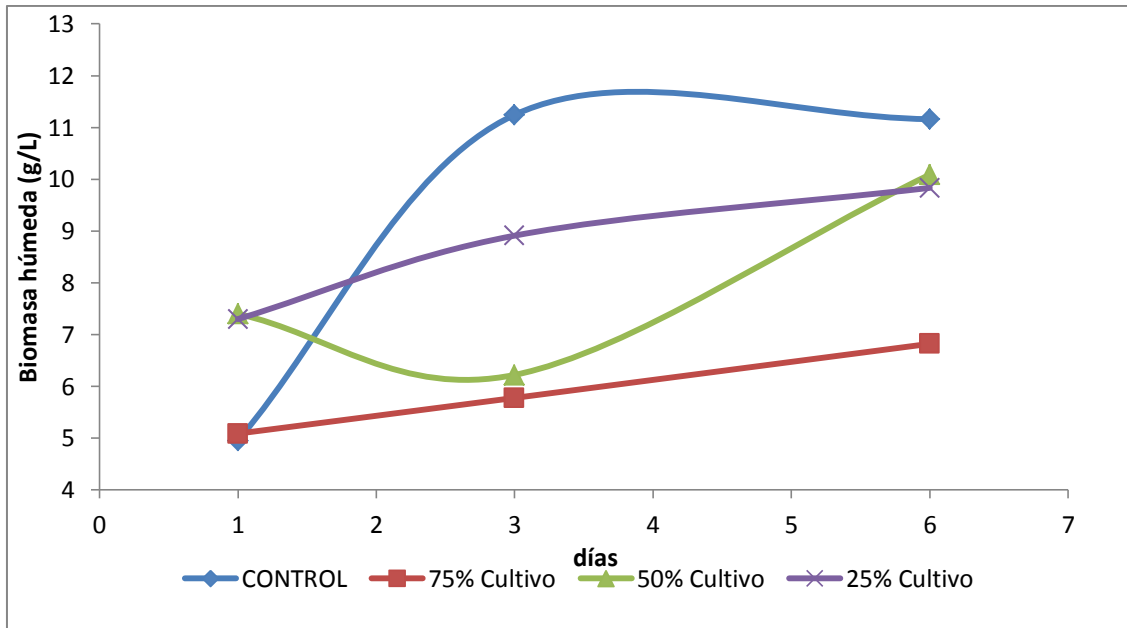


Figura N°1.25. Evaluación de la Biomasa húmeda (g/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

5.1.2 Evolución de la Concentración Celular en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella sp.*

Se realizó el monitoreo de la Concentración Celular ya que la *Chlorella sp.* tiene células bien definidas a las cuales se realizó un conteo diariamente durante 6 días que duró el ensayo para *Chlorella sp.* a todos los tratamientos incluido el del control, podemos apreciar la tendencia de un incremento hacia el final del ensayo. Existe una mayor concentración celular en los tratamientos que contiene 50% de Cultivo y 25% de Cultivo en el Fotoperiodo Noche (Figura N°1.26) y en Fotoperiodo Día (Figura N°1.27) respectivamente.

5.1.3 Monitoreo del Oxígeno Disuelto en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella sp.*

Se realizó el monitoreo del Oxígeno Disuelto (OD) presente en todos los tratamientos durante 6 días que duró el ensayo para *Chlorella sp.*, podemos apreciar en general la tendencia de incremento para los tratamientos.

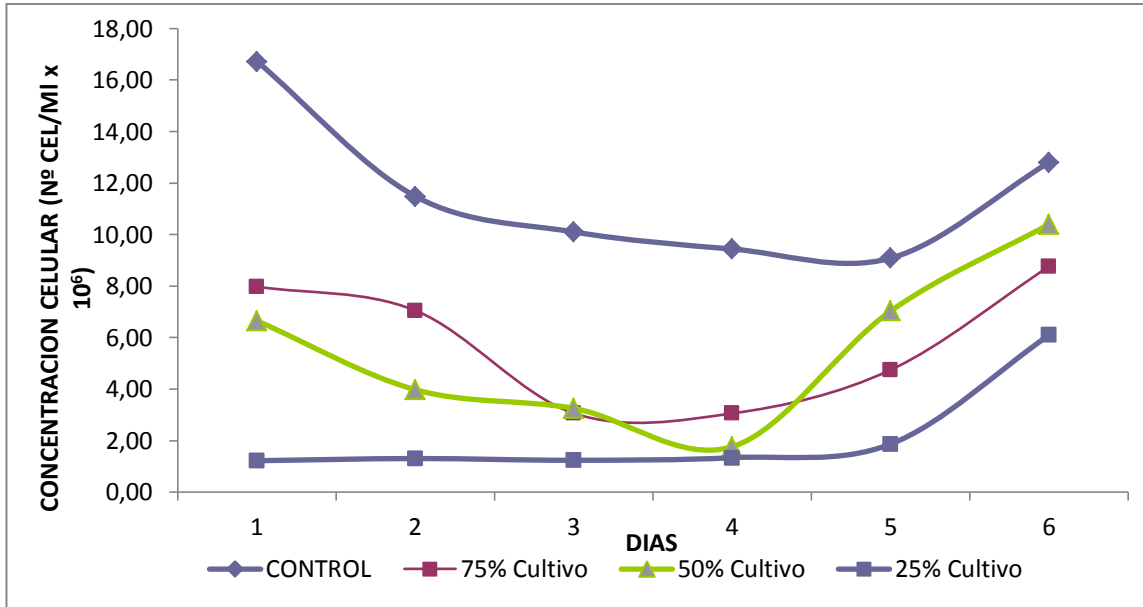


Figura N°1.26. Evaluación de la Concentración Celular (N°Cel/mL*10⁶) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

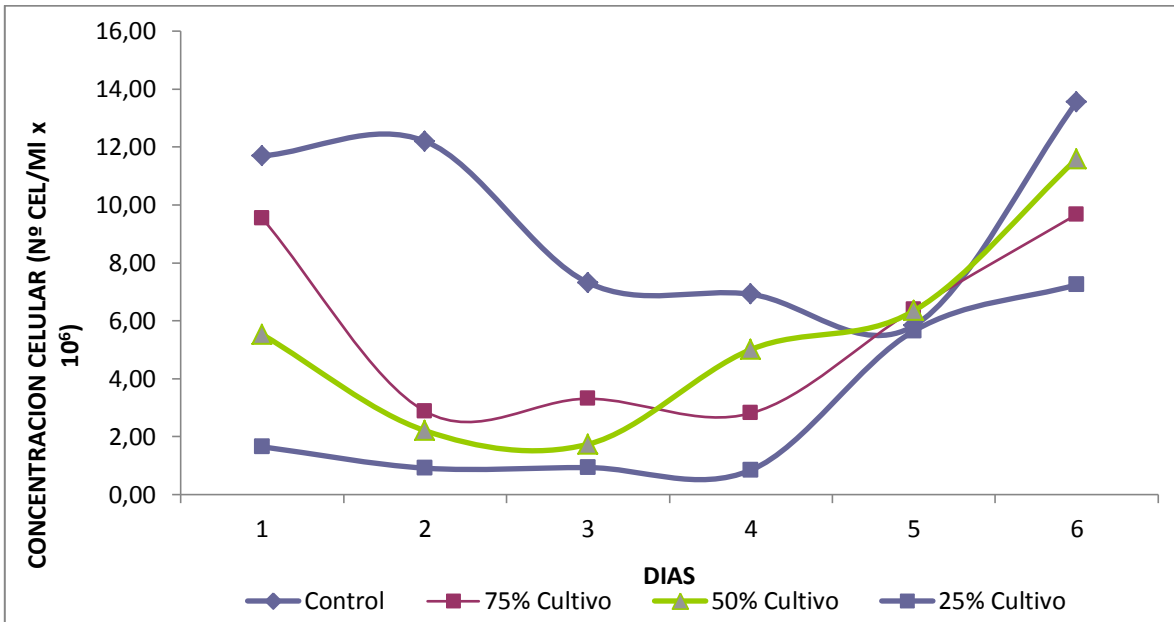


Figura N°1.27. Evaluación de la Concentración Celular (N°Cel/mL*10⁶) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

En el Fotoperiodo Noche se resalta los valores de incremento para el tratamiento con 25% de Cultivo partiendo con 5.80 y llegando a 7.93 mgO₂/L al final del ensayo.

Figura N°1.28. En el Fotoperiodo Día también se resalta los valores de incremento

para el tratamiento con 25% de Cultivo partiendo con 5.70 y llegando a 7.53 mgO₂/L al final del ensayo. Figura N°1.29.

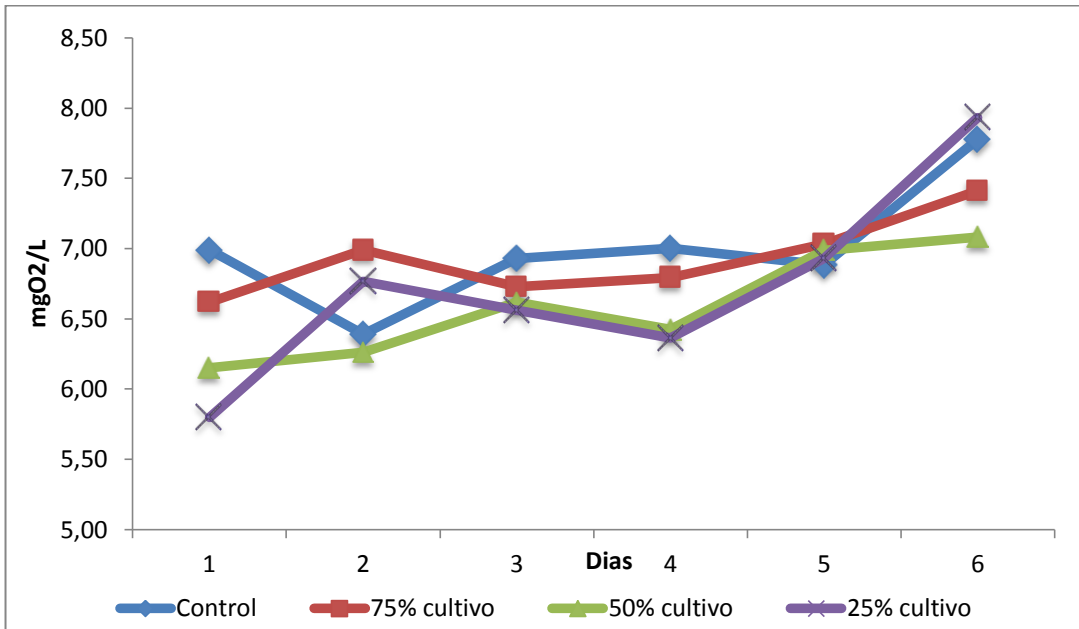


Figura N°1.28. Evaluación del OD (mgO₂/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

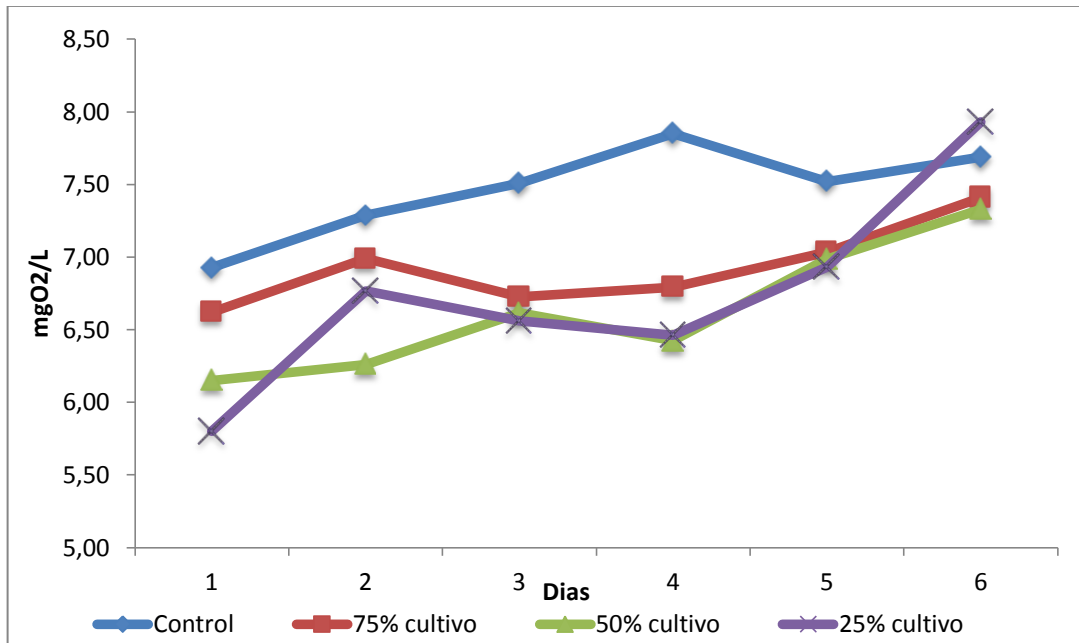


Figura N°1.29. Evaluación del OD (mgO₂/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

En ambos fotoperiodos se tiene una mayor disponibilidad de Oxígeno disuelto al final del ensayo, esto nos indica que el RIL se puede encontrar ya apto para su uso y con mejor calidad. Al disponer con mayor cantidad de OD también se evita la formación de olores desagradables.

5.1.4 Monitoreo del pH en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella sp.*

Se realizó el monitoreo del pH presente en todos los tratamientos durante 6 días que duró el ensayo para *Chlorella sp.* se aprecia la tendencia de incremento y para todos los tratamientos.

En el Fotoperiodo Noche es más notable un incremento alrededor de 10, sin embargo se distingue a 25% de Cultivo el mayor incremento de pH, partiendo de 8.5 y culminando en 9.8 (Figura N°1.30). En Fotoperiodo Día los valores de pH se vuelven más estables casi alrededor de 11, sin embargo se distingue a 75% de Cultivo el mayor incremento de pH, partiendo de 10 y culminando en 12 (Figura N°1.31).

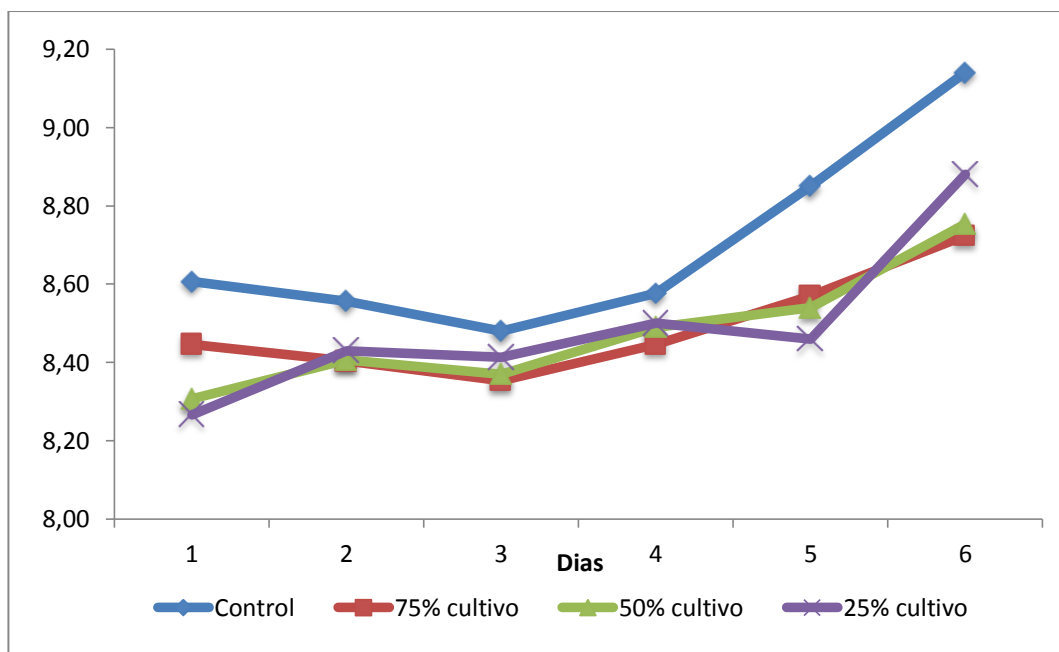


Figura N°1.30. Evaluación del pH en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

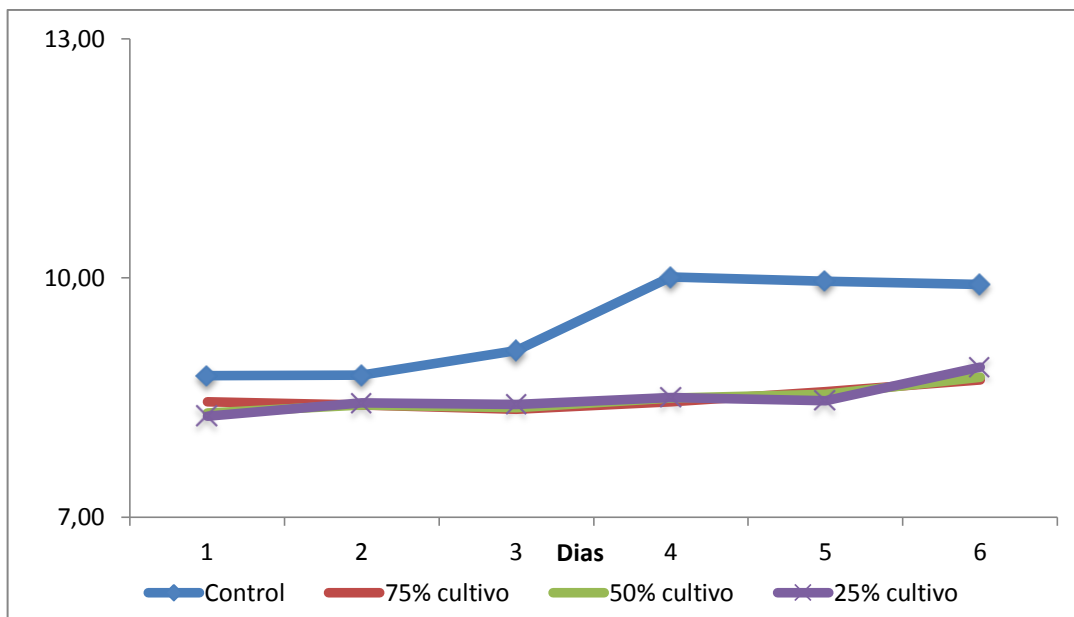


Figura N°1.31. Evaluación del pH en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

Un parámetro importante para el crecimiento de la Biomasa Microalgal es el pH, para *Chlorella sp.* el pH idóneo es menor a 9. Cabe resaltar que en el Fotoperiodo Día el proceso fotosintético de fijación de CO₂ por el consumo de la fuente de Carbono provoca un aumento gradual de pH en el medio debido a la acumulación de OH⁻.

5.1.5 Monitoreo de la Intensidad Lumínica en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella sp.*

Se realizó un monitoreo de la intensidad lumínica ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) en todos los tratamientos durante 6 días que duró el ensayo para *Chlorella sp.*, esta variable corresponde netamente a las condiciones climáticas, y en un Fotoperiodo Noche se puede evaluar para una etapa fotosintética oscura, la intensidad lumínica se mantuvo dentro del rango de $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ en el proceso completo de evaluación (Figura N°1.32). En un Fotoperiodo Día los valores se encuentran alrededor de los $200 \mu\text{mol}$, sobresalen hasta más de $300 \mu\text{mol}$, esto permite un desarrollo de las reacciones químicas y de una mayor bioproduktividad (Figura N°1.33).

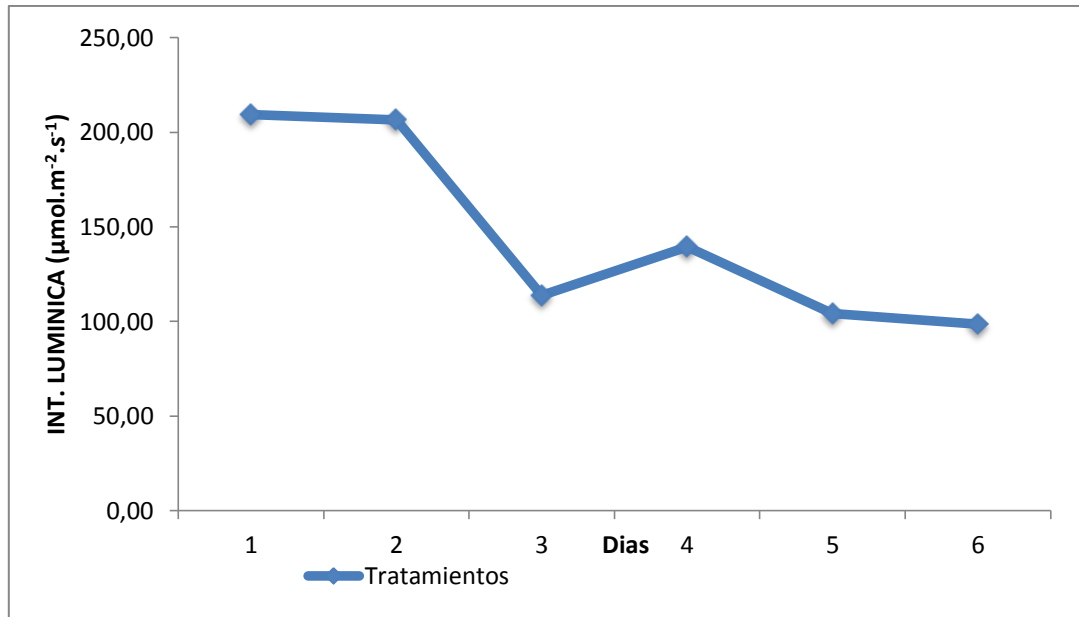


Figura N°1.32. Evaluación de la Intensidad Lumínica ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día.

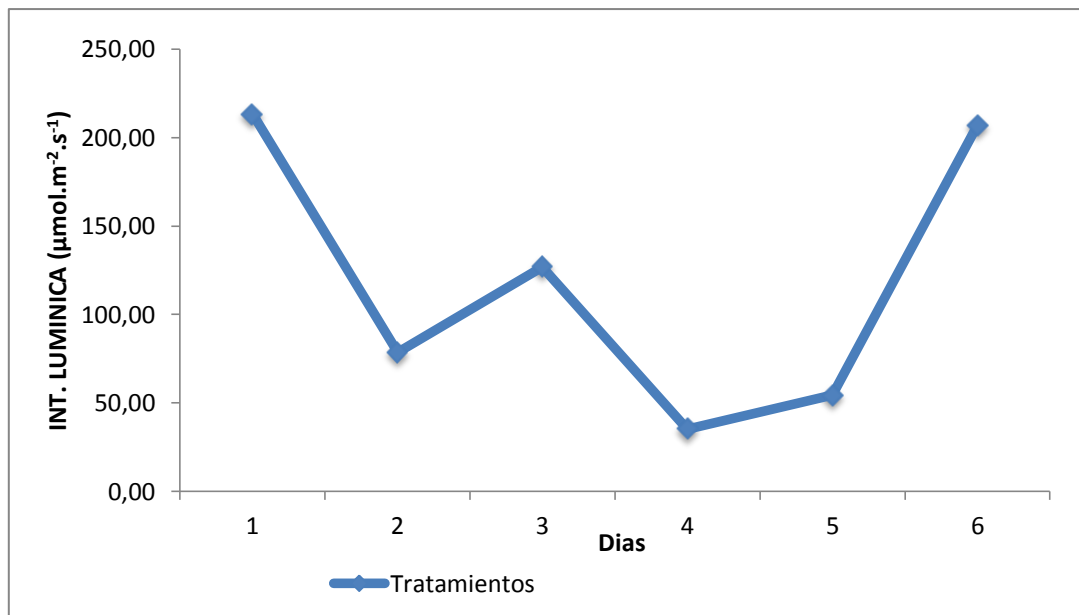


Figura N°1.33. Evaluación de la Intensidad Lumínica ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día.

Las Microalgas interceptan esta energía para la fotosíntesis, pero normalmente se emplea menos del 5% en este proceso. El resto de la energía calienta la planta y a los

organismos circundantes de tal manera que la energía solar determina también la temperatura a la cual están teniendo lugar los procesos fisiológicos

5.1.6 Relación del Oxígeno Disuelto y Demanda Bioquímica de Oxígeno en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella sp.*

Se monitoreó Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5) en relación al Oxígeno Disuelto (OD) tal como se detalló en la Metodología. En todos los tratamientos al inicio y al final del ensayo la relación del OD en relación a la DBO_5 , es inversamente proporcional (Figura N°1.34 y N°1.35) mientras el OD aumenta el DBO_5 disminuye). Considerando el inicio y final del ensayo se tiene una mejor relación proporcional al 25% de Cultivo y al 75% de Cultivo para el Fotoperiodo Noche y Día respectivamente, sin embargo en todos los tratamientos existe un incremento del OD y una disminución de DBO_5 .

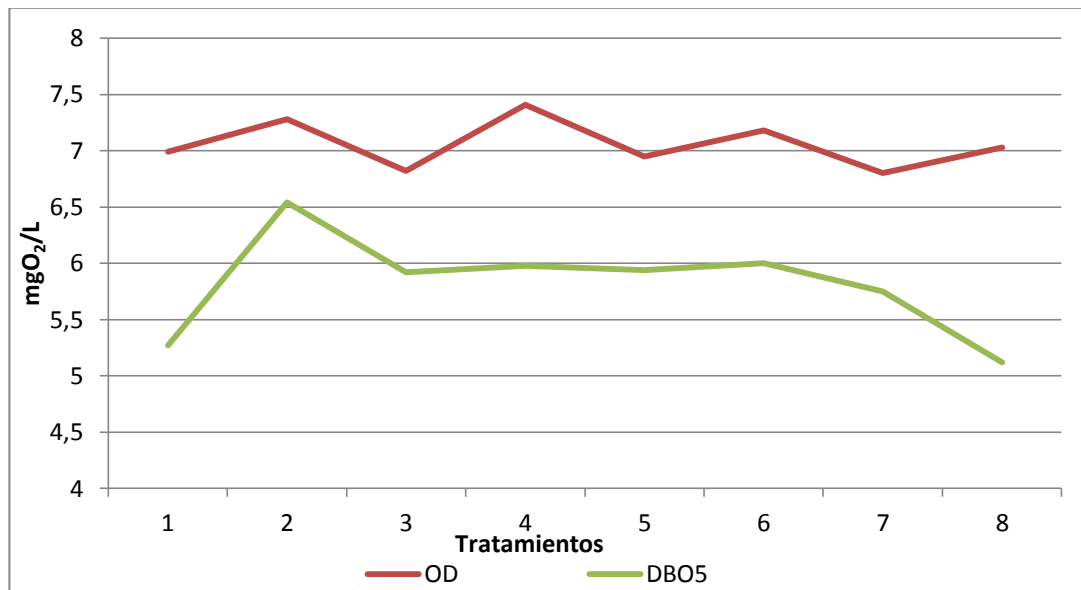


Figura N°1.34. Relación del OD y (DBO_5) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella sp.* en Fotoperiodo Noche.

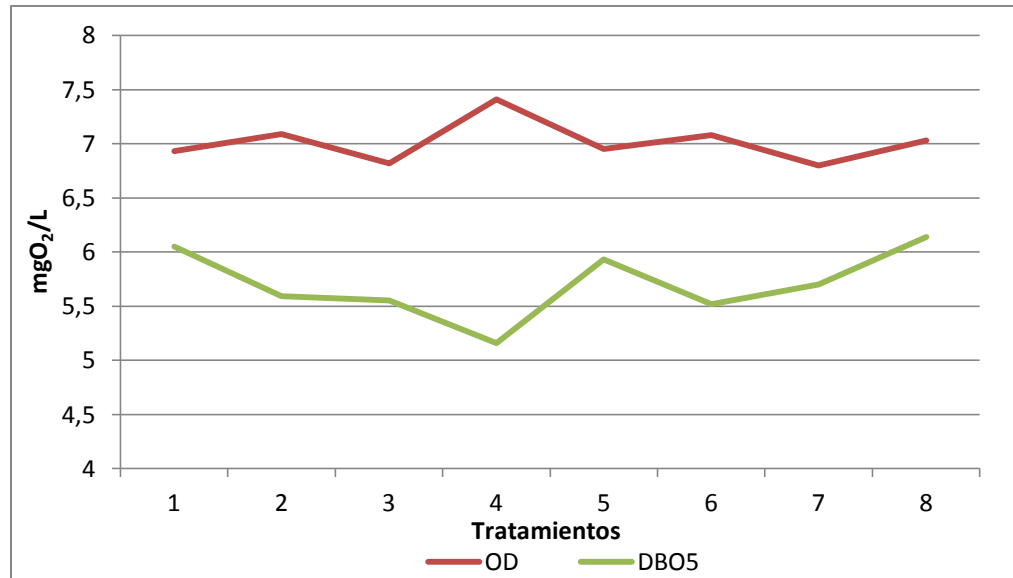


Figura N°1.35. Relación del OD y (DBO₅) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Arthrospira sp* en Fotoperiodo Noche.

Legenda: 1: "Control *Arthrospira sp.* Inicial", 2: "Control *Arthrospira sp.* Final"
 3: "75% *Arthrospira sp.*/25% RIL Inicial", 4:"75% *Arthrospira sp.*/25% RIL Final",
 5: "50% *Arthrospira sp.*/50% RIL Inicial", 6:"50% *Arthrospira sp.*/50% RIL Final"
 7: "25% *Arthrospira sp.*/75% RIL Inicial", 8: "25% *Arthrospira sp.* / 75% RIL Final".

La relación inversa del OD con la DBO₅, nos muestra la cantidad necesaria de oxígeno en mgO₂/L necesaria para iniciar el proceso de oxidación bioquímica de la materia orgánica mediante acción de los microorganismos aerobios.

Todos los procesos de degradación en el tratamiento de aguas residuales tienen como parámetro fundamental recuperar Oxígeno Disuelto ya que Sin una provisión suficiente de oxígeno, el agua es incapaz de sustentar cualquier forma de vida.

5.1.7 Monitoreo de Fosfatos (PO₄⁻³) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella sp.*

Se realizó el monitoreo de (PO₄⁻³) presente interdiariamente en todos los tratamientos durante 6 días que duró el ensayo para *Chlorella sp.* se aprecia la tendencia de descenso en general para todos los tratamientos.

En el Fotoperiodo Noche se tiene una inclinación hacia un descenso, el tratamiento que contiene el 25% de RIL presenta el menor valor de fosfatos estando alrededor de 6 mg/L(Figura N°1.36). En el Fotoperiodo Día existe de igual manera una predisposición al descenso, siendo el tratamiento con 50% de RIL el de valor menor encontrándose hacia los 5 mg/L(Figura N°1.37).

Los fosfatos son indispensables como nutriente para las microalgas pero un exceso de estos puede llevar a cabo la eutrofización, es por ello un parámetro necesario de controlar en las descargas de aguas residuales y en todos los tratamientos de Biorremediación.

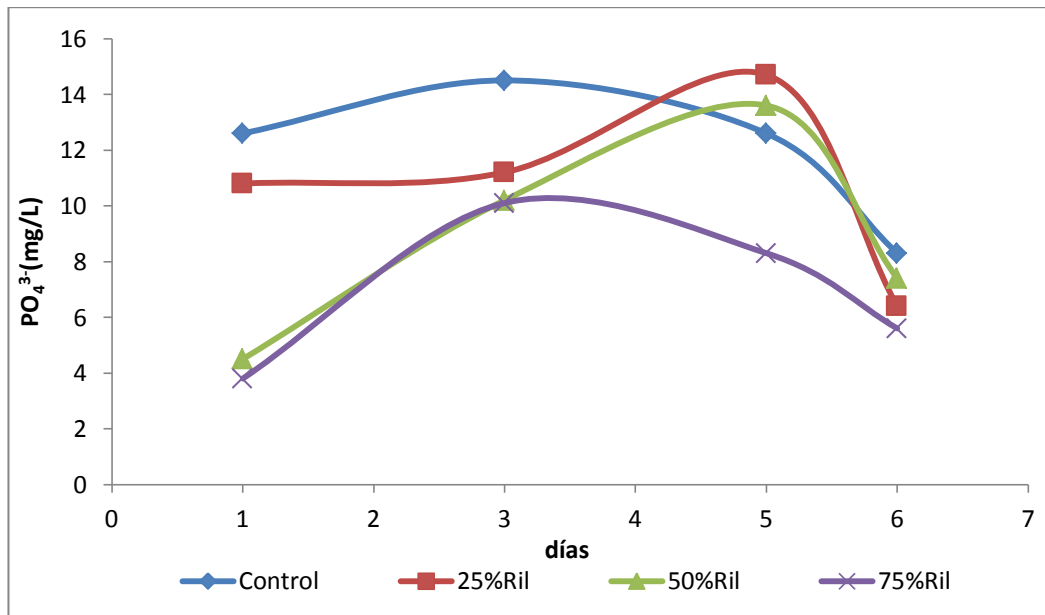


Figura N°1.36. Evaluación de Fosfatos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

5.1.8 Monitoreo de Nitratos (NO₃⁻) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella sp.*

Se realizó el monitoreo de (NO₃⁻) presente interdiariamente en todos los tratamientos durante 6 días que duró el ensayo para *Chlorella sp.* se aprecia un incremento en el Fotoperiodo Noche y un descenso en el Fotoperiodo Día.

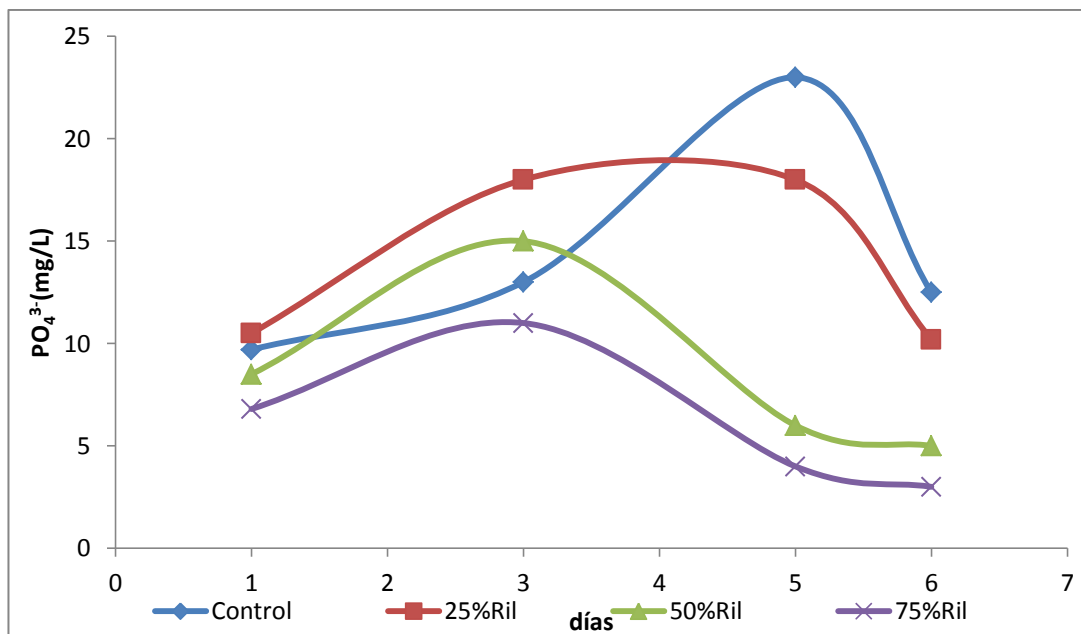


Figura N°1.37. Evaluación de Fosfatos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

En el Fotoperiodo Noche se tiene una inclinación hacia un descenso en el tratamiento que contiene el 75% de RIL este presenta el menor valor de nitrato estando alrededor de 8 mg/L, en los demás tratamientos existe un incremento que puede ser aludido a la segregación de residuos de *Arthrospira sp* (Figura N°1.38). En el Fotoperiodo Día existe de igual manera una predisposición al descenso en el tratamiento con 50 y 75% de RIL presentando el valor alrededor de 5 mg/L(Figura N°1.39).

En algunos tratamientos al inicio del ensayo se incrementa el valor de nitratos debido a que el cultivo *Chlorella sp.* lleva en gran proporción en sus nutrientes lleva Nitratos pero que luego son consumidos por las microalgas.

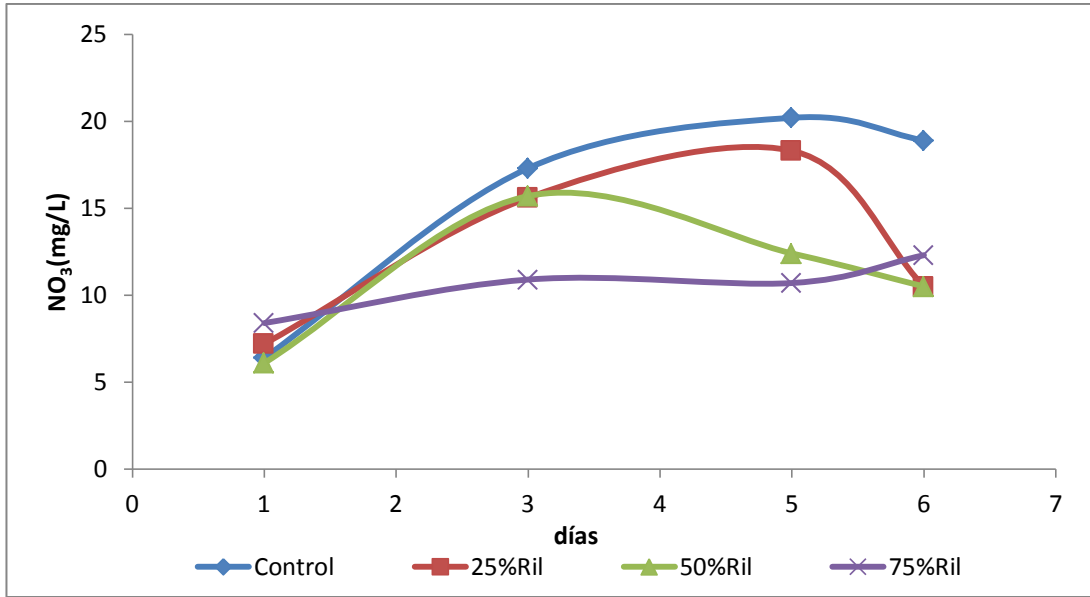


Figura N°1.38. Evaluación de Nitratos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

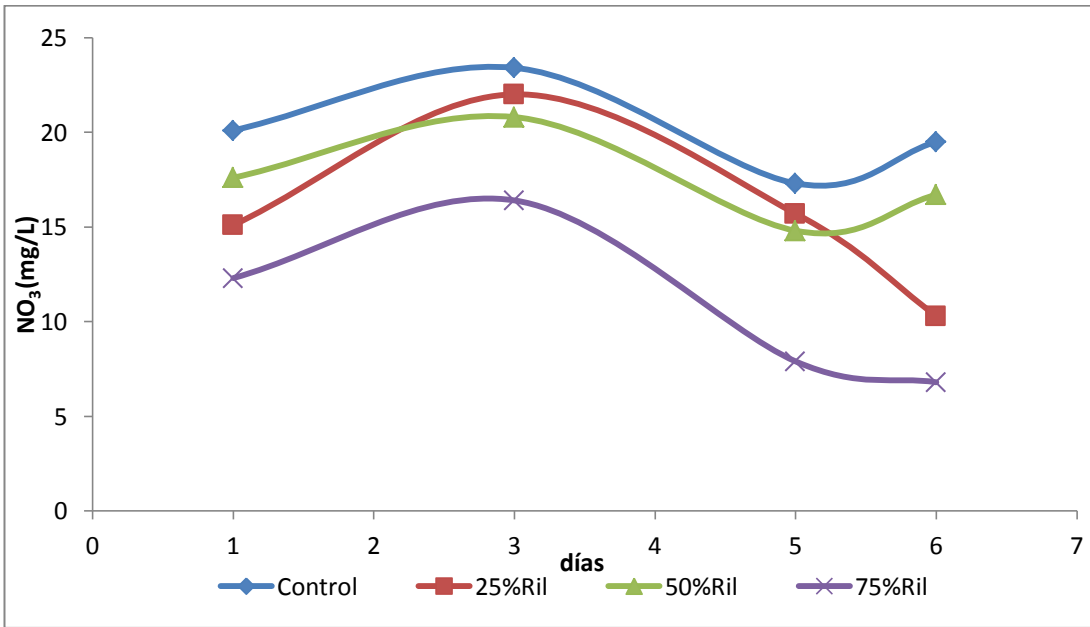


Figura N°1.39. Evaluación de Nitratos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

5.1.9 Monitoreo de Nitritos (NO_2^-) en el ensayo de Recuperación de RILES con *Chlorella sp.*

Se realizó el monitoreo de (NO_2^-) presente interdiariamente en todos los tratamientos durante 6 días que duró el ensayo para *Chlorella sp.* se aprecia un descenso en el Fotoperiodo Noche y en el Fotoperiodo Día.

En el Fotoperiodo Noche se tiene una inclinación hacia un descenso en los tratamientos que contienen 25% y 50% de RIL (Figura N°1.40). En el Fotoperiodo Día existe de igual manera una predisposición al descenso más aun en el tratamiento con 75% de RIL presentando el valor alrededor de 6 mg/L(Figura N°1.41).

Los nitritos son más inestables y en un proceso de desnitrificación por medio de las microalgas que lo utilizan como nutriente, favorece para tener una mejor calidad de agua.

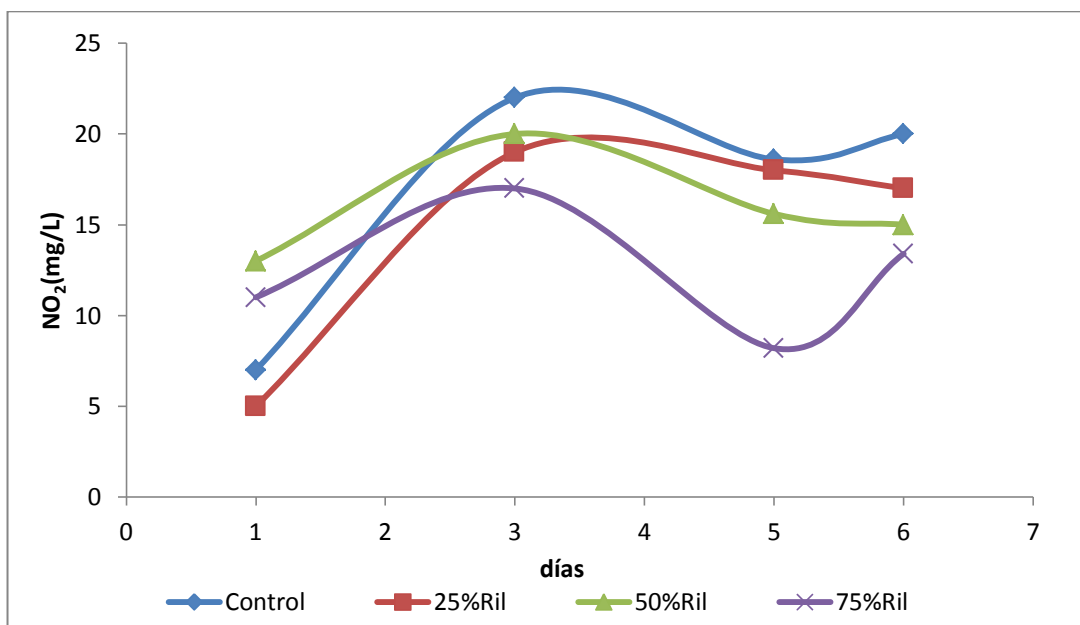


Figura N°1.40. Evaluación de Nitritos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Noche

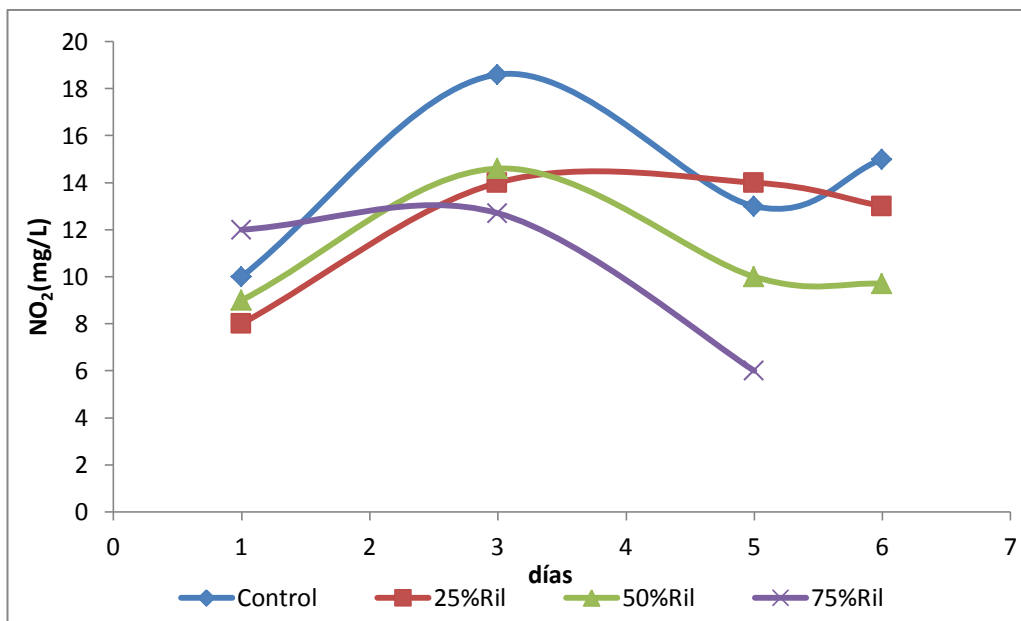


Figura N°1.41. Evaluación de Nitritos (mg/L) en relación al tiempo (días) en Fotoperiodo Día

5.2 Recuento de Mesófilos Aerobios en ensayo de biorremediación con *Chlorella sp.*

Se realizó el recuento de mesófilos aerobios y anaerobios facultativos en las condiciones de tratamientos antes explicadas por la técnica de placa vertida, los tratamientos fueron evaluados en su inicio y al final, los valores se expresan en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL). En todos los tratamientos, incluido el control se observa una disminución en el recuento de mesófilos aerobios y anaerobios facultativos. Esta disminución es superior en los tratamientos de 75%, 50% y 25% de *Chlorella sp.* que en el control de *Chlorella sp.* (Figura N°1.42).

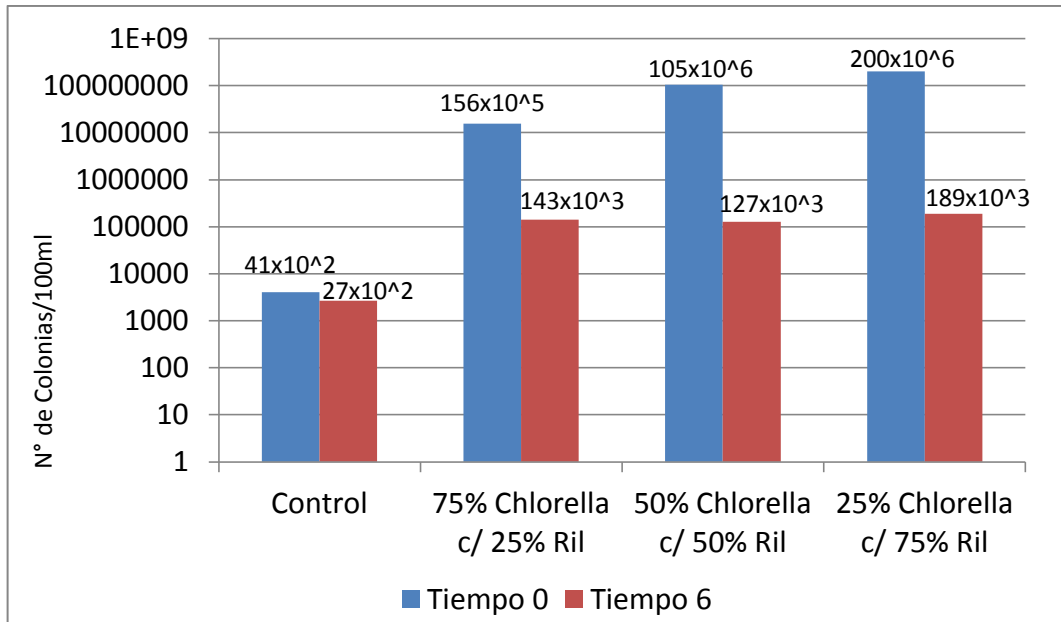


Figura N°1.42. Recuento de Mesófilos Aerobios en ensayo de biorremediación con *Arthrospira* sp.

En la Biorremediación con *Chlorella* sp. los recuentos de Mesófilos Aeróbicos nos permiten determinar la potabilidad de un agua. Los recuentos se hicieron antes y después del tratamiento. Los resultados muestran la reducción de las poblaciones microbianas en todos los tratamientos lo cual se puede explicar por la competencia que existe por los nutrientes presentes en el sistema, *Chlorella* sp. a medida que pasan los días va duplicando su concentración en el sistema por lo que se ve obligada a requerir de más recursos nutricionales, por otra parte, los organismos mesófilos presentes se ven desfavorecidos por el crecimiento de *Chlorella* sp. ya que la capacidad de adquirir nutrientes se ve limitada, comienzan inevitablemente a disminuir sus poblaciones. Sin embargo, pasado los 6 días de tratamiento la cantidad de organismos mesófilos sigue siendo elevada en promedio unos 153×10^3 UFC/ml, sin embargo la norma Chilena NCh 1333 no establece un límite máximo permitido para el Agua de Riego.

6. Caracterización del Agua de Riego

Luego de un proceso de Tamización para *Arthrospira sp.* y un proceso de centrifugación para *Chlorella sp.* se obtiene un agua clara e inodora, los parámetros analizados en el Agua para Riego se muestran en la Tabla N° 3.

Tabla N°1.2. Parámetros analizados en Agua Tratada

Parámetros	Valor	Unidad
pH	6.50	--
Salinidad	0.00	‰
Temperatura	20.0	°C
Oxígeno Disuelto	8.03	mg/L
DBO ₅	5.23	mg/L
Sólidos Suspendidos	0.00	ml/L
Aluminio	0.10	mg/L
Hierro	1.03	mg/L
Fosfatos	30.0	mg/L
Nitratos	11.8	mg/L
Nitritos	9.02	mg/L
Turbidez	1.23	FTU

Cumpliendo con la Norma Chilena NCh 1333 que establece los parámetros para Agua de Riego, este recurso hídrico tratado se encuentra apto para ser utilizado en Riego.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

PRIMERA: Experimentalmente se concluye que el floculante más adecuado, para realizar un tratamiento químico del RIL es el cloruro férrico con el cual se obtuvieron eficiencias del 97.97% en remoción de turbidez a una dosis de 0.5 g/L y a pH 9, resaltando que los residuos de Fe presentes sirven de nutriente para el inóculo microalgal.

SEGUNDA: Se utilizó microalgas en un tratamiento secundario o biológico a nivel laboratorio quienes en procesos simbióticos junto a bacterias (degradan materia orgánica y excretan CO₂) presentes en el RIL y cepas microalgales como *Arthrospira sp.* y *Chlorella sp.*, incorporadas (consumen CO₂ y liberan O₂) logran ser eficientes en la remoción de materia orgánica.

TERCERA: En los distintos tratamientos ensayados se concluye que el mejor tratamiento es el que contiene 25% de inóculo microalgal y 75% de RIL en el Fotoperiodo Día puesto que la simbiosis entre distintos microorganismos se ven apoyados por la luminosidad que favorece al desarrollo óptimo de la fotosíntesis microalgal.

CUARTA: Se utilizó como indicador de biorecuperación el incremento de oxígeno que inicialmente en el RIL tuvo un valor de 1.05 mgO₂/L y llegó a valores de 8.00 mgO₂/L, de esta manera las cepas microalgales utilizadas se adecuan al RIL como su medio de cultivo.

QUINTA: La utilización de los sistemas integrales de tratamiento de efluentes con alta carga orgánica, mediante la combinación de tratamientos primarios (químicos) y secundarios (biológicos), se presenta como alternativa. Aprovechando la transformación de los contaminantes en energía que luego se utilizan como nutrientes logrando un efluente de mejor calidad, es así que se corrobora la hipótesis planteada inicialmente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Sistemas integrales de tratamiento de aguas residuales, mediante el uso combinado de digestión anaerobia y microalgas.

AARONSON, S., BERNER, T. Y DUBINSKY, R. 1990a. Microalgae as a source of chemicals and natural products. In: Shelef, G. y Soeder, C. J. (Eds). *Algal biomass. Elsevier. North Holland. Amsterdam.*, 575-602.

AARONSON, S., BERNER, T. Y DUBINSKY, R. 1990b. Microalgae as a source of chemicals and natural products. In: Shelef, G. y Soeder, C. J. (Eds). *Algal biomass. Elsevier. North Holland. Amsterdam.*

ALEXANDER, M. 1999. Biodegradation and bioremediation. *Academic Press. New York.*, 2, 453.

AZOV, Y. G. S. 1982. Operation of high-rate oxidation ponds: theory and experiments. *McGraw-Hill Inc. New York.*, 16.

BENAVENTE M, W. R., MARTÍNEZ A, 2007. Revista Latinoamericana de Química. UNAM - México, 57-59.

BLACKBURN, J. Y. H., W. 1993. The impact of biochemistry, bioavailability and bioactivity on the selection of bioremediation techniques. *TIBTECH. 11*, 328.

BURLEW, J. S. 1987. Algal culture from laboratory to pilot plant. *Carnegie Institution of Washington pub. Washington.*, 375.

CHAIKLAHAN, R., CHIRASUWAN, N., LOHA, V., TIA, S. & BUNNAG, B. 2011. Separation and purification of phycocyanin from *Spirulina* sp. using a membrane process. *Bioresource Technol*, 102, 7159-64.

CHECKLIST, C. O. L. A. 2011. Indexing the world's known species. The Integrated Taxonomic Information System (ITIS). *Species 2000* (www.sp2000.org)

DOOD, J. 1980. Algae production and harvesting from animal wastewaters. . *Applied Science Publishers Ltd, England.* , 23-37.

EDZWALD, J. K. 1994. "Principles and applications of dissolved air flotation". *Department of Civil and Engineering, University of Massachusetts, Marston Hall, Amherst, Massachusetts 01003-5205, USA*, 26-28.

EL HALOUANI, H. 1990. Lagunage a Haut rendement: caracterisation physico-chimique de l'écosysteme etude de son aptitude a l'élimination de l'azote et du phosphore dans l'épuration de eaux usees. *Tesis doctoral, Montpellier (France)*, 154.

- EWEIS, J. B., ERGAS, S. J., CHANG, D. P. Y. Y SCHROEDER, E. D. 1999. Principios de biorrecuperación. Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. *Ed. Mc GrawHill, Madrid.*
- FALLOWFIELD, H. J. M. K. G. 1985. The treatment of wastes by algal culture. *Journal of Applied Bacteriology*, 187 - 205.
- FEDERATION, A. P. H. A. A. W. W. A. W. E. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *Washington DC, USA*, 20th Edition, 2-54
- FORYSTHE, S., J. 2000. Higiene de los alimentos. *Microbiología y HACCP. 2 edición. Acribia, S.A.*
- GALLARDO, M. A. C. S. Y. T. 1990. Dinámica temporal de las microalgas de un tratamiento terciario de aguas residuales urbanas a escala de laboratorio. *Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad Complutense. E-28040 Madrid.*
- GARCÍA, J. 1990. Memorias de las conferencias sobre: Tratamiento anaerobio de Aguas Residuales en América Latina. Ciudad Universitaria, México, D.F.
- GEORGE TCHOBANOGLIOUS 2000. Sistema de manejos de aguas residuales. *Mc Graw – Hill Interamerica, Santafé de Bogotá, Colombia.*
- GONZÁLEZ, J. M. B., E. Y LUIS, E. 2001. Limnología de sistemas experimentales de lagunaje para el tratamiento de aguas residuales. *Limnetica.*
- GONZÁLEZ, M. S. 2005. Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. *Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma de México.*
- HANNA, H. F. J. Y. 1990. Algal-bacterial symbiosis for removal and conservation of wastewater nutrients. *WPCF 43*, 580-594.
- HENZE, M., P. HARREMOES, J. LA COUR JANSEN, E. ARVIN. 1991. Wastewater treatment. *Springer, Berlin.*
- HERNANDEZ, E. & OLGUIN, E. J. 2002. Biosorption of heavy metals influenced by the chemical composition of *Spirulina* sp. (*Arthrospira*) biomass. *Environ Technol*, 23, 1369-77.
- KANNO, T. U., KAZIE 2005. "Chlorella vulgaris: The Powerful Japanese Medicinal Green Algae as a Biological Response Modifier". *Woodland Publishing*, 63.
- KOJIMA, H. A. L. Y. K. 2001. Photosynthetic microorganisms in Environmental Biotechnology. Springer-Verlag. *Hong-Kong.*, 310
- LAGREGA, M. D. B., P. L.; EVANS, J. C. AND ENVIRONMENTAL RESOURCES MANAGEMENT. 2001. Hazardous waste management. *Mc Graw-Hill.*, 7-23.

- LEOPOLDO NARANJO-BRICEÑO, D. R.-T., HÉCTOR GONZÁLEZ, RUBÉN TORRES PARRA, JORGE ZEGARRA NARRO, LUCÍA SENA D'ANNA, Y DAYNET SOSA DEL CASTILLO 2010. *Arthrospira platensis* como biofactoría de metabolitos secundarios de interés farmacológico: el ácido pipecólico. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 1.
- LINCOLN, E. P. K., B 1986. Bioflocculation of microalgae in mass cultures. In: *Algal Biomass Technologies*. Barclay, W.R. & Macintosh, R.P. eds.). *Nova Hedwigia Beiheft*83, 207- 211.
- LÓPEZ, T. R. 2011. Desarrollo de *Chlorella* spp. en riles orgánicos pesqueros y su influencia en la remoción de la contaminación. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, XXXII, 32-38.
- LUZ E. DE BASHAN, J. P. H., Y YOAV BASHAN 2000. Utilidad de las bacterias de uso agrícola para el crecimiento de algas empleadas en el tratamiento de aguas residuales. *Biomédicas de la UNAM.México*.
- MAHRO, B. 2000. Bioavailability of Contaminants. En *Biotechnology. Environmental Processes II. Soil Decontamination*. Wiley-VCH., Volume 11b, 63-87.
- MANSO, V. S. M. 1990. Domestic sewage treatment by UASB reactor in Brazil. En: *Memorias de las conferencias sobre: Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales de América Latina*.
- MARA, D. D. S. C. 1990. irectrices para el uso sin riesgos de aguas residuales y excretus en agricultura y acuicultura. Medidas de protección de la salud pública. *OMS. Ginebra*, 210.
- MARGALEF, R. 1982. Ecología. *Editorial Omega. Barcelona*, 951.
- MEDINA, M., GUTZEIT, G. Y NEIS, U. 2005. BIOMASA BACTERIO-ALGAL: UNA ALTERNATIVA PARA EL MEJORAMIENTO DE SISTEMAS NATURALES DE TRATAMIENTO DE AGUA. *Seminario Internacional sobre Métodos Naturales para el Tratamiento de Aguas Residuales, España*.
- METCALF & EDDY, I. 1991. *Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse*. McGraw-Hill Inc. New York., 3, 1334.
- METROPOLITANA, C. R. 2010. <http://www.conamarm.cl/article-908.html>.
- MIKE F. ADKINS, D. I. H. 1994. "Dissolved air flotation pilot trials at Castor and Lac La Biche water treatment plants Alberta, Canada". *Investigación llevada a cabo por Reid Crowther and Partners. #300 Atrium VII, 340 Midpark Way S.E. Calgary, Alberta, T2X 1P1 Canada*.
- MORONTA R, M. R. Y. M. E. 2006. "Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas". *Venezuela Rev. Fac. Agronomía*.

- PICOT, B., EL HALOUANI, H., CASELLAS, C., MOERSIDIK, S. & BONTOUX, J. 1991. Nutrient removal by high rate pond system in a Mediterranean climate. *Wat. Sci. Tech.*, 23, 1535-1541.
- POULIOT, Y. Y. D. L. N., J. 1985. Mise au point d'une installation-pilote d'épuration tertiaire des eaux usées par production de microalgues. *Revue Francais des sciences de l'eau* 4, 207-222.
- REDALJE, D. G. E. A. 1989. Algae as ideal waste removers: biochemical pathways. In: *Biotreatment of agricultural wastewater*. C. R. C. Press. Florida., 91-210.
- RICHIMOND, A. 1986. Handbook of Microalgal mass culture. CRC press. Boca Raton, Florida., 528.
- RODRIGUES M.S., F. L. S., CONVERTI A., SATO S., CARVALHO J.C.M. 2010. Fed-batch cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis*: potassium nitrate and ammonium chloride as simultaneous nitrogen sources. *Bioresource Technol*, 101, 4491-4498.
- RUIZ MARIN, M. E., L.G. 2010. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource Technology*, 101, 58-64.
- SANCHA, A. M. 1999. "Normas Especiales que atañen a la Contaminación por RILES". <http://cipres.cec.uchile.cl/~palfaro>.
- TOMASELLI, V. A. 2000. The Ecology of Cyanobacteria. "Arthrospira (Spirulina): Systematics and ecophysiology". . *Kluwer Academic Publishers*. Dordrecht, Holanda, 505-522.
- TRIPATHI, B. D. Y. S., S. C. 1991. Biological treatment of wastewater by selected aquatic plants. *Environmental Pollution*. 69 - 78.
- VARGAS, A. R. 2004. RESIDUOS INDUSTRIALES LIQUIDOS. *Facultad de Biotecnología, Universidad de Iztalapa, México*.
- VUUREN, J. H. L. R. J. V. 2006. Design parameters for dissolved air flotation in South Africa. *dept. Of Civil Engineering, Rand Afrikaans University, P.O. Box 524, Auckland Park, SOUTH AFRICA.*, 26-28.
- YALILE ALFONSO VALDÉS, M. F. B. S. 2008. ALGAS, ALIADAS EN EL PASADO Y SUSTENTO PARA EL FUTURO. *TECNOLOGÍA QUÍMICA*, XXVIII.

ANEXOS

Anexo 1.

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
ESCUELA DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE



“RECUPERACIÓN DE RESIDUOS LÍQUIDOS INDUSTRIALES MEDIANTE *ARTHROSPIRA SP.* Y *CHLORELLA SP.*, A ESCALA DE LABORATORIO, PARA LA OBTENCIÓN DE AGUA DE RIEGO”. REGIÓN ARICA Y PARINACOTA.

PRESENTADO POR:
Bach. Katy Consuelo Alejandro Pérez

PARA OBTENER EL GRADO DE:
Magíster en Química del Medio Ambiente

AREQUIPA – PERÚ
2012

INDICE

CAPITULO I	
PREAMBULO.....	56
CAPITULO II.	
PLANTEAMIENTO TEORICO.....	57
1.- PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1.- Enunciado del Problema	58
1.2.- Descripción del Problema.....	58
1.3.-Justificación del Problema	58
2.- MARCO TEORICO	
2.1 RESIDUOS LIQUIDOS INDUSTRIALES (RILES)	59
2.1.1 Características Físicas.....	59
2.1.2 Características Químicas.....	61
2.1.3 Características Biológicas.....	63
2.2 TIPOS DE RILES Y SU TOXICIDAD.....	64
2.2.1 Efectos de los RILES.....	65
2.2.2 RILES en la Región Arica y Parinacota.....	65
2.3 TRATAMIENTO DE RILES.....	66
2.3.1 Tratamientos Primarios y/o Pre-Tratamientos	66
2.3.2 Tratamientos Secundarios o Biológicos.....	68
2.2.3 Tratamientos Terciarios.....	70
2.4 BIORREMEDIACIÓN	70
2.4.1 Fundamento.....	70
2.4.2 Organismos participantes.....	70
2.4.3 Tipos de contaminantes eliminados por Biorremediación	71
2.4.4 Tipos de Biorremediación.....	71
2.4.5 Aplicación.....	72
2.4.6 Ventajas	72
2.5 MICROALGAS	73

2.5.1 Antecedentes.....	74
2.5.2 Clasificación.....	74
2.5.3 Fases de Crecimiento	74
2.5.4 Aplicaciones.....	75
2.5.5 Tipos de Sistemas de Tratamiento con Microalgas.....	76
2.5.5.1 Ventajas del tratamiento.....	77
2.5.5.2 Eficiencia.....	78
2.6 <i>ARTHROSPIRA SP.</i>	79
2.6.1 Descripción.....	79
2.6.2 Antecedentes.	80
2.6.3 Clasificación.....	80
2.6.4.Reproducción.....	81
2.6.5 Cultivo.....	81
2.7 <i>CHLORELLA SP.</i>	81
2.7.1 Descripción.....	81
2.7.2 Antecedentes.....	82
2.7.3 Clasificación.....	82
2.7.4 Reproducción.....	83
2.7.5 Cultivo.....	83
2.8 CONTROL MICROBIOLÓGICO.....	84
2.8.1 Criterios microbiológicos.....	84
2.8.2 Tipos de criterios.....	85
2.9 SEPARACIÓN Y POST-TRATAMIENTO DE LAS ALGAS PRODUCIDAS	85
2.9.1 Separación.....	85
2.9.2 Post-tratamiento.....	86
2.10 LEYES Y DISPOSICIONES DE PARÁMETROS.....	87
3.- OBJETIVOS.....	89
4.- HIPOTESIS.....	90

CAPITULO III: MATERIALES Y METODOS

1.- MATERIALES.....	91
1.1 Muestra.....	91
1.2 Material de vidrio.....	91
1.3 Material biológico.....	91
1.4 Equipos de laboratorio.....	91
1.5 Reactivos.....	92
1.6 Otros materiales.....	92
2.-MÉTODOS.....	92
2.1 Obtención de RIL.....	92
2.2 Tratamiento Químico del RIL.....	93
2.3 Tratamiento Biológico del RIL.....	94
2.3.1 Obtención de Cepas.....	95
2.3.2 Medios de Crecimiento.....	95
2.3.3 Ensayos de Biorremediación.....	95
2.4 Monitoreo del Ensayo de Biorremediación.....	96
2.4.1 Parámetros Físicos Monitoreados.....	97
2.4.2 Parámetros Químicos Monitoreados.....	99
2.4.3 Parámetros Biológicos Monitoreados.....	102
2.4.5 Recuento de bacterias mesófilas aerobias.....	104
CAPITULO IV : REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106

I. PREAMBULO

El acelerado crecimiento de la población, el desarrollo y establecimiento de las industrias dentro o cerca de zonas urbanas ha hecho notar un incremento en el uso y contaminación del líquido de la vida “el agua”. En la región Arica y Parinacota, Chile el principal inconveniente para un desarrollo fructífero de su agricultura es la falta de este recurso hídrico.

En la Región Arica y Parinacota están presentes una empresa sanitaria “Aguas del Altiplano”, pero esta no tiene una planta de tratamiento, todas las aguas servidas sólo se vierten al mar a través de un emisario que se encuentra justo a 200 metros de la costa. También una segunda empresa pequeña “Agua Arica”, esta empresa tiene una pequeña planta de tratamientos de aguas domiciliarias en la parte norte de la ciudad pero al parecer ya está obsoleta y no cumple a cabalidad la recuperación de las mismas.

Por la gran preocupación de instituciones y organismos ecológicos se han implementado numerosos tratamientos para la recuperación de líquidos industriales, sin embargo no han sido lo suficientemente efectivas para erradicar problemas ya conocidas para el saneamiento del agua como son: agua mal depurada, altos costos de operación y mantenimiento, alto uso de productos químicos y equipos perimetrales, proliferación de vectores asociados a aguas con alto contenido de materia orgánica, (zancudos, efidrias, moscas), exagerados costos de inversión, limitación de infraestructura diseñada, entre muchos más. Consecuentemente no se logra un agua al 100% depurada.

La caracterización de residuos líquidos industriales (riles) mediante técnicas químicas permite su tratamiento de una manera individual y según sus características fisicoquímicas, empezando así por un tratamiento primario que mediante el uso de floculantes químicos permite obtener un RIL libre de grasas y sólidos suspendidos que interferirían en tratamientos posteriores. Como tratamiento secundario el uso de microalgas y cianobacterias están innovando el tratamiento biológico de la recuperación de residuos líquidos industriales, debido a los procesos acoplados y/o simbióticos de bacterias (quienes realizan la degradación de la materia orgánica desprendiendo CO₂) y microalgas (quienes utilizan los compuestos inorgánicos y CO₂), para llevar a cabo una suficiente bioconversión de la energía solar, en la utilización y eliminación de materia orgánica, lo cual se traduce finalmente en generación de biomasa, mejorando la calidad del efluente y aumentando la concentración de oxígeno. Esta biomasa de microalgas puede ser aplicada en sistemas de producción, (avicultura, diferentes aspectos de la acuicultura, etc).

De esta forma, el uso de *Artrosphira sp.* y *Chlorella sp.*, para la depuración de riles para la obtención de agua de riego se encuentra directamente alineado con la estrategia regional de Arica y Parinacota, que permitirá una optimización en el uso de los recursos hídricos escasos en el norte de Chile y el uso de la radiación solar regional, vinculando tecnología ecológicas de tratamiento a procesos industriales altamente contaminantes, y permitiendo de esta forma beneficiar además actividades económicas de alto impacto regional como la agricultura.

CAPITULO II

PLANTEAMIENTO TEORICO

1. Problema de Investigación

1.1 Enunciado del Problema

“RECUPERACIÓN DE RESIDUOS LÍQUIDOS INDUSTRIALES MEDIANTE *ARTROSPHIRA SP.* (CIANOBACTERIAS) Y *CHLORELLA SP.* (MICROALGAS), A ESCALA LABORATORIO, PARA LA OBTENCIÓN DE AGUA DE RIEGO”.

1.2 Descripción del Problema

La Región Arica y Parinacota, presenta como actividad económica principal la agricultura, la cual es desarrollada continuamente debido a su clima templado, pero su principal inconveniente presentado es la falta del recurso hídrico que es de vital importancia para su desarrollo, de esta manera recuperando los residuos líquidos industriales se tendrá una opción de tratamiento alternativo para la biorecuperación mediante el uso de *Artrosphira sp.* y *Chlorella sp.*, por su rápido crecimiento de biomasa, su bajo costo, su eficacia y por ser amigable con el medio ambiente.

1.3 Justificación del Problema

Los malos olores producidos por los residuos líquidos industriales generan a su vez la captación de mosquitos que proliferan en los lugares de tratamiento, sin embargo la combinación de un tratamiento primario con químicos inocuos y un tratamiento secundario realizado por la simbiosis entre microalgas y cianobacterias minimizará este impacto negativo hacia el medio ambiente, creando de esta manera un lugar saludable y libre de la presencia de alguna especie epidemiológica y por otro lado se recupera el agua que de otra forma terminarían en el mar a través de un emisario.

2.- MARCO TEÓRICO

2.1 RESIDUOS LÍQUIDOS INDUSTRIALES (RILES)

Son aquellas descargas líquidas de un establecimiento que prepara algún material o artículo para el mercado. También podríamos definirlos como aguas de desecho generadas por establecimientos industriales como resultado de algún proceso, actividad o servicio. Sin embargo, la calidad de estos residuos no siempre es contaminante; por ejemplo, el agua que se utiliza en los enfriadores de agua, al ser integrada a su fuente de origen a una temperatura similar a la ambiental, es un RIL, pero no se considera contaminante. (Metcalf & Eddy, 1991)

Un RIL es contaminante cuando es un efluente industrial que contiene compuestos químicos, biológicos o especies biológicas que produzcan en el curso de agua receptor condiciones inadecuadas para los usos definidos para el recurso hídrico, o en su defecto contenga materia orgánica, que reduzca el contenido de oxígeno disuelto en el agua hasta impedir la vida acuática. (Vargas, 2004)

2.1.1 Características Físicas

La característica física más importante del agua residual es el contenido total de sólidos, término que engloba la materia en suspensión, la materia sedimentable, la materia coloidal y la materia disuelta. Otras características físicas importantes son el olor, la temperatura, la densidad, el color y la turbiedad. (Henze, 1991)

➤ Sólidos Totales

Los sólidos sedimentables se definen como aquellos que se sedimentan en el fondo de un recipiente de forma cónica el más conocido el cono de Imhoff (Figura N°1) en el transcurso de un periodo de 1 hora a 3 horas. Los sólidos sedimentables se expresan en mL/L y constituyen una medida aproximada de la cantidad de fango que se obtendrá en la decantación primaria del agua residual. Los sólidos totales pueden clasificarse en filtrables o no filtrables (sólidos en suspensión) haciendo pasar un volumen conocido de líquido por un filtro. (Federation, 1998)

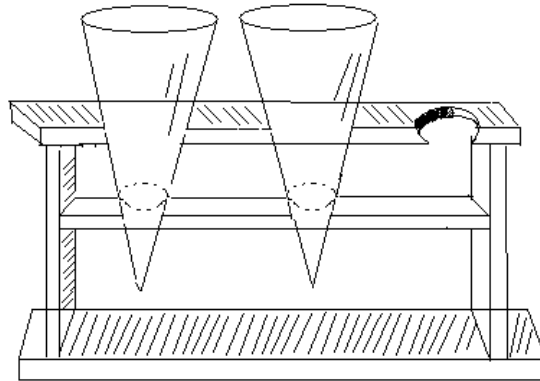


Figura N°1. Conos Imhoff

➤ Olores

Normalmente, los olores son debidos a los gases liberados durante el proceso de descomposición de la materia orgánica. El agua residual reciente tiene un olor algo desagradable, que resulta más tolerable que el del agua residual séptica. El olor más característico del agua residual séptica se debe a la presencia del sulfuro de hidrógeno (huevo podrido) que se produce al reducirse los sulfatos o sulfitos a sulfuros por acción de microorganismos anaerobios. La problemática de los olores está considerada como la principal causa de rechazo a la implantación de instalaciones de tratamiento de aguas residuales.(Benavente M, 2007)

➤ Temperatura

La temperatura del agua residual suele ser siempre más elevada que la del agua de suministro, hecho principalmente debido a la incorporación de agua caliente procedente de las casas y los diferentes usos industriales.

La temperatura del agua es un parámetro muy importante dada su influencia, tanto sobre el desarrollo de la vida acuática como sobre las reacciones químicas y velocidades de reacción, así como sobre la aptitud del agua para ciertos usos útiles.(Edzwald, 1994)

➤ Color

El agua residual suele tener un color grisáceo. Sin embargo, al aumentar el tiempo de

transporte en las redes de alcantarillado y al desarrollarse condiciones más próximas a las anaerobias, el color del agua residual cambia gradualmente de gris a gris oscuro, para finalmente adquirir color negro. Cuando llega a este punto, suele clasificarse el agua residual como séptica. Su color gris, gris oscuro o negro del agua residual es debido a la formación de sulfuros metálicos por reacción del sulfuro liberado en condiciones anaerobias con los metales presentes en el agua residual.(Picot, 1991)

➤ **Turbidez**

La turbiedad, como medida de las propiedades de transmisión de la luz de un agua, es otro parámetro que se emplea para indicar la calidad de las aguas vertidas o de las aguas naturales en relación con la materia coloidal y residual en suspensión. Su medición se lleva a cabo mediante la comparación entre la intensidad de la luz dispersada en la muestra y la intensidad registrada en una suspensión de referencia en las mismas condiciones.(Lincoln, 1986)

2.1.2 Características Químicas

Las características químicas de las aguas residuales son principalmente el contenido de materia orgánica e inorgánica, y los gases presentes en el agua residual. La medición del contenido de la materia orgánica se realiza por separado por su importancia en la gestión de la calidad del agua y en el diseño de las instalaciones de tratamiento de aguas.

➤ **Materia Orgánica**

Cerca del 75% de los sólidos en suspensión y del 40% de los sólidos filtrables de una agua residual de concentración media son de naturaleza orgánica. Son sólidos de origen animal y vegetal, así como de las actividades humanas relacionadas con la síntesis de compuestos orgánicos.

Los compuestos orgánicos están formados por combinaciones de Carbono, Hidrógeno y Oxígeno, con la presencia en algunos casos de Nitrógeno. También pueden estar presentes otros elementos como Azufre, Fósforo o Hierro. Los principales grupos de sustancias orgánicas presentes en el agua residual son las proteínas (40-60%), hidratos

de carbono (25-50%) y grasas y aceites (10%). Otro compuesto orgánico con muy importante presencia en el agua residual es la urea, principal constituyente de la orina. No obstante, debido a la velocidad del proceso de descomposición de la urea, raramente está presente en aguas residuales que no sean muy recientes. Junto con todas estos grupos de sustancias orgánicas, el agua residual también contiene pequeñas cantidades de gran número de moléculas orgánicas sintéticas cuya estructura puede ser desde muy simple a extremadamente compleja, por ejemplo los agentes tensoactivos, los contaminantes orgánicos prioritarios, los compuestos orgánicos volátiles y los pesticidas de uso agrícola.(Vuuren, 2006)

➤ **Demanda Bioquímica de Oxígeno:** El parámetro de contaminación orgánica más empleado, que es aplicable tanto a aguas residuales como a aguas superficiales, es la DBO a 5 días. La determinación de este parámetro está relacionada con la medición del oxígeno disuelto que consumen los microorganismos en el proceso de oxidación bioquímica de la materia orgánica. Los resultados de los ensayos de DBO se emplean para:

1. Determinar la cantidad aproximada de oxígeno que se requerirá para estabilizar biológicamente la materia orgánica presente;
2. Dimensionar las instalaciones de tratamiento de aguas residuales,
3. Medir la eficacia de algunos procesos de tratamiento y controlar el cumplimiento de las limitaciones a que están sujetos los vertidos.

El periodo de incubación es normalmente de 5 días a 20°C. La oxidación bioquímica es un proceso lento, cuya duración en teoría es infinita. En un periodo de 20 días se completa la oxidación del 95 al 99 % de la materia Biodegradable, y en los 5 días que dura el ensayo de la DBO se llega a oxidar entre el 60 y 70%. Se asume la temperatura de 20 °C como un valor medio representativo de temperatura que se da en los cursos de agua que circulan a baja velocidad en climas suaves, y es fácilmente duplicada en una incubadora. Los resultados obtenidos a diferentes temperaturas serán distintos, debido a que las velocidades de las reacciones bioquímicas son función de la temperatura. (Aaronson, 1990a)

➤ Materia Inorgánica

Las concentraciones de las sustancias inorgánicas en el agua aumentan tanto por el contacto del agua con las diferentes formaciones geológicas, como por las aguas residuales, tratadas o sin tratar, que a ella se descargan. Las aguas naturales disuelven parte de las rocas y minerales con los que entran en contacto. Las aguas residuales, salvo el caso de determinados residuos industriales, no se suelen tratar con el objetivo específico de eliminar los constituyentes inorgánicos que se incorporan durante el ciclo de uso. Las concentraciones de los diferentes constituyentes inorgánicos pueden afectar mucho a los usos del agua, como por ejemplo los cloruros, la alcalinidad, el nitrógeno, el azufre, algunos otros compuestos tóxicos inorgánicos y algunos metales pesados como níquel, manganeso, plomo, cromo, cadmio, cinc, cobre, hierro y mercurio.

Dentro de la materia inorgánica es de suma importancia también hablar de la concentración de ion hidrógeno (pH), ya que es un parámetro de calidad de gran importancia tanto para el caso de aguas naturales como residuales. El agua residual con concentraciones de ion hidrógeno inadecuadas presenta dificultades de tratamiento con procesos biológicos, y el efluente puede modificar la concentración de ion hidrógeno en las aguas naturales si ésta no se modifica antes de la evacuación de las aguas.

2.1.3 Características Biológicas

Para el tratamiento biológico se deben de tomar en cuenta las siguientes características el agua residual: principales grupos de microorganismos presentes, así como aquellos que intervienen en los tratamientos biológicos; organismos patógenos presentes en las aguas residuales; organismos utilizados como indicadores de contaminación y su importancia; métodos empleados para determinar los organismos indicadores, y métodos empleados para determinar la toxicidad de las aguas tratadas. (García, 1990)

2.2 TIPOS DE RILES Y SU TOXICIDAD:

Tabla N°1.- Tipos de RIL y sus actividades responsables. (Sancha, 1999)

Tipos de RIL	Actividades Industriales Responsables
Con constituyentes minerales: efluentes que contienen metales, complejos, compuesto halogenado y una serie de sustancias inorgánicas que presentan un elevado índice de toxicidad y peligrosidad	Industria metalúrgica y siderúrgica, minería, determinados procesos de la industria petroquímica y también los procesos galvanoplasticos.
Con constituyentes orgánicos: la carga orgánica de un efluente puede ser muy variada dependiendo de la actividad industrial que lo haya generado. Existen determinadas sustancias orgánicas como la celulosa, los taninos, los compuestos azufrados y clorados, que resultan particularmente difíciles de biodegradar y por tanto se hace necesario un control estricto que asegure su correcto tratamiento antes de ser vertidos al receptor	Industria farmacéutica y alimentaria, entre otros.
Con constituyentes minerales y orgánicos: combinación de las dos anteriores. Requieren sistemas de tratamiento mixto.	
Con constituyentes de naturaleza radiactiva: Presentan problemas graves por una parte a causa de su elevada peligrosidad, tanto para el hombre como para las demás formas de vida, y por otra por su persistencia, pues la vida media de la mayoría de compuestos radiactivos es muy elevada.	Procesos en los que se emplean materiales radiactivos tales como reactores nucleares, laboratorios de investigación, entre otras.
RILES que producen contaminación térmica: Vertidos que una vez incorporados al receptor provocan un cambio de temperatura en éste, con el consiguiente peligro para la flora y fauna acuática, a causa de la alteración de las condiciones térmicas del ecosistema.	Amplio espectro. Cualquier emisión de vapor o de líquidos enfriados es suficiente para desencadenar efectos perniciosos.

Como observamos en el Tabla N°1.1 la toxicidad de los RILES depende del tipo de industria así como de los contaminantes presentes y de sus concentraciones, a lo que el tratamiento de recuperación es distinto dependiendo el efluente.

2.2.1 Efectos de los RILES

A pesar de que los residuos industriales pueden ser de variados tipos, en general se pueden especificar algunos efectos de la eventual descarga de éstos hacia los cursos de agua, por citar:

La descarga de RILES al sistema de alcantarillado puede provocar:

- La corrosión, incrustación y obstrucción de las redes de alcantarillado. Esta situación, podría provocar serios problemas ambientales derivados del mal funcionamiento de la red de recolección.
- Las condiciones para la conformación de gases tóxicos o inflamables en las redes de alcantarillado. La emanación o explosión de éstos podría causar graves daños a la población o a las empresas que trabajan en el mantenimiento de redes.
- Serias interferencias en el proceso biológico de las plantas de tratamiento de aguas servidas y en los subproductos generados.

La descarga de RIL es a los cuerpos de aguas superficiales puede provocar:

- Graves efectos en el medio ambiente y en la flora y fauna acuática de los ríos, lagos y cauces naturales.
- Trastornos en la agricultura como consecuencia del riego con aguas contaminadas. Estos efectos podrían afectar al ser humano a partir del consumo de productos regados con elementos nocivos.

2.2.2 RILES en la Región Arica y Parinacota.

La Región de Arica y Parinacota se encuentra cerca al desierto más árido del mundo como es el desierto de Atacama, esto influye directamente en la escasez del agua lo que origina a su vez una necesidad imperante de recuperación de los Residuos Líquidos Industriales originados en la Región que en su mayoría provienen de industrias avícolas, pesqueras, minera, entre otros, estos son vertidos a diferentes zonas donde ocasiona eutrofización, malos olores, una gran cantidad de mosquitos que suelen ser vectores de diferentes enfermedades. Figura N°2.

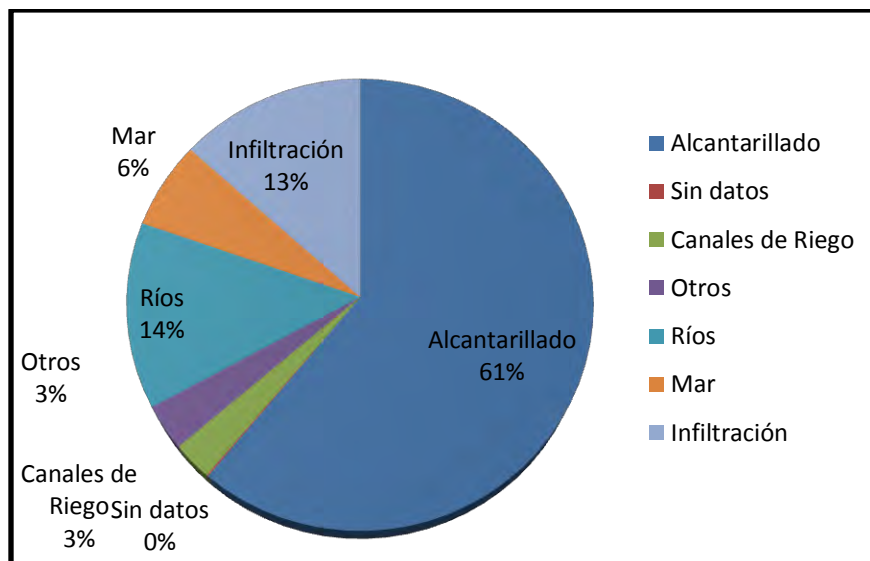


Figura N°2. Principales receptores de descargas de RILES en la actualidad, Región Arica y Parinacota. (Metropolitana, 2010)

2.3 TRATAMIENTO DE RILES

Dentro de los diversos tipos de RILES que existen, asimismo hay variados y múltiples formas de tratarlos, definiendo el concepto de tratamiento de RILES como la manera en la cual reducir la carga orgánica u otra que poseen hasta valores razonables para que cuando sean depositados a los cursos de agua, no afecten las condiciones ambientales y biológicas que se encuentren en aquel (este hecho es la base de la normativa que regulan la disposición de estos residuos). (Margalef, 1982)

Un aspecto importante de estos procesos de tratamiento es que deben cumplir la condición de ser de tecnologías lo suficientemente limpias para que sea conveniente el tratamiento de estos residuos y así no generar otros contaminantes (es decir, tratar de no crear un círculo vicioso de contaminación). (Manso, 1990)

Los procesos de tratamiento de RIL se clasifican de la siguiente forma:

2.3.1 Tratamientos Primarios y/o Pre-Tratamientos

También denominados Químicos, estos procesos se denominan así porque son los que se realizan cuando el RIL ingresa para su tratamiento, entre las operaciones unitarias que se incluyen esta etapa son:

- **Tratamiento Mecánico:** En esta zona se realizan operaciones de tamizado y de cribas no muy finas, que retiran la mayor parte de los sólidos flotantes, basura y restos orgánicos de mayor tamaño, que se encuentran en las descargas de RILES. (Mara, 1990)
- **Ecualización:** Se trata en este proceso de lograr homogeneizar el RIL, en cuanto a concentraciones de descarga, temperatura y de flujo, ya que la mayoría de los procesos de tratamiento posteriores requieren de una configuración estable de flujo y de concentración para lograr los resultados deseados. (Edzwald, 1994)
- **Coagulación:** La coagulación química puede definirse como un proceso unitario usado para causar la coalescencia o agregación de material suspendido no sedimentable y partículas coloidales suspendidas en el agua; es el proceso por el cual se reducen las fuerzas repelentes existentes entre partículas coloidales para formar partículas mayores de buena sedimentación. La coagulación de aguas generalmente suele incluir la adición de productos químicos del tipo electrolitos hidrolizantes o poliméricos. Figura N°3. (Henze, 1991)

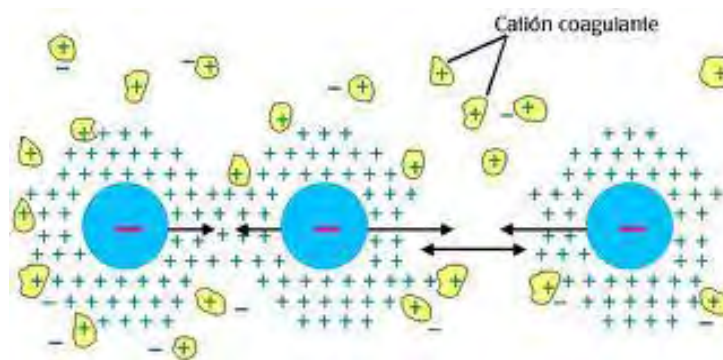


Figura N°3. Proceso de Coagulación

- **Floculación:** Se refiere a la aglomeración de partículas coaguladas en partículas floculentas; es el proceso por el cual, una vez desestabilizados los coloides, se provee una mezcla suave de las partículas para incrementar la tasa de encuentros o colisiones entre ellas sin romper o disturbar los agregados preformados. (Azov, 1982)

De la misma manera que la coagulación, la floculación es influenciada por fuerzas químicas y físicas tales como la carga eléctrica de las partículas, la capacidad de

intercambio, el tamaño y la concentración del floc, el pH, la temperatura del agua y la concentración de los electrolitos. En la floculación, una vez introducido y mezclado el coagulante, las partículas diminutas coaguladas son puestas en contacto una con otra y con las demás partículas presentes, durante la cual las partículas se aglomeran, incrementan su tamaño y adquieren mayor densidad. Figura N°4 (LaGrega, 2001)

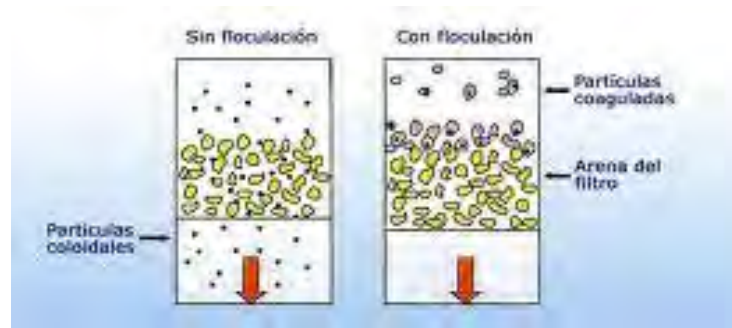


Figura N°4. Proceso de Floculación.

- Flotación: Este fenómeno superficial permite, mediante la inyección de burbujas de aire, oxígeno o cualquier gas inerte, atrapar las partículas de tamaño coloidal presentes en el RIL, esta operación permite retener a los sólidos de menor peso específico que el RIL y retirarlos fácilmente de las aguas residuales. Además, sirve para retirar los flóculos que se forman en los procesos de adsorción. Generalmente se realiza con palas o con redes. (Mike F. Adkins, 1994)

2.3.2 Tratamientos Secundarios o Biológicos:

Estos tratamientos consisten en tratar químicamente el RIL de manera de reducir la cantidad de sustancias tóxicas o de materia biodegradable presentes en el RIL y que no fueron retiradas por los procesos anteriores (tratamientos primarios).

Algunos de estas operaciones son:

- Biofiltración: Es un proceso relativamente nuevo y consiste en depositar el RIL en una piscina o en un estanque donde unas bacteria, hongos, levaduras, gusanos, etc consumen las partículas orgánicas presentes en el RIL y logran con ello desarrollarse y formar colonias, que viven de los residuos. Esta operación permite un descenso muy alto de la carga orgánica asociada al agua residual. (Metcalf & Eddy, 1991)

- Discos Rotatorios: Son discos que al girar, controlan la tasa de cultivos y los tipos que se desarrollan en éstos, como forma de que éstos microorganismos no se multipliquen demasiado y que puedan aparecer en el RIL final. (Fallowfield, 1985)
- Lagunas Aireadas: Estas lagunas permiten que el RIL pueda tener una gran penetración de luz en ella, lo cual permite que el agua se oxigene y pueda perder turbidez, apoyado por la oxigenación que acelera la fotosíntesis. El lagunaje natural es uno de los sistemas alternativos de tratamiento mejor conocidos y representa una opción eficaz para la eliminación de la materia orgánica, los nutrientes y los microorganismos patógenos del agua residual. Su diseño y su construcción son sencillos, y sus costes de explotación y mantenimiento son bajos. (Pearson, 1996).
- Las lagunas de alta carga: son un sistema eficaz de aprovechamiento de la energía solar que puede combinar a la vez el tratamiento de aguas residuales y la producción de biomasa algal. En la práctica de los sistemas de lagunaje, la laguna de alta carga sustituye a la laguna facultativa o bien la sigue en serie. La función fundamental de la laguna de alta carga es el tratamiento secundario del agua residual, que consiste en convertir la materia orgánica disuelta en materia orgánica particulada, y microorganismos que después pueden ser separados en instalaciones apropiadas. La eliminación de la materia orgánica desde un afluente a una laguna de alta carga tiene lugar mediante la simbiosis algas/bacterias o protocooperación fotosíntesis/respiración. Figura N°5 (Abeliovich, 1986; Fallowfield & Garret, 1985).

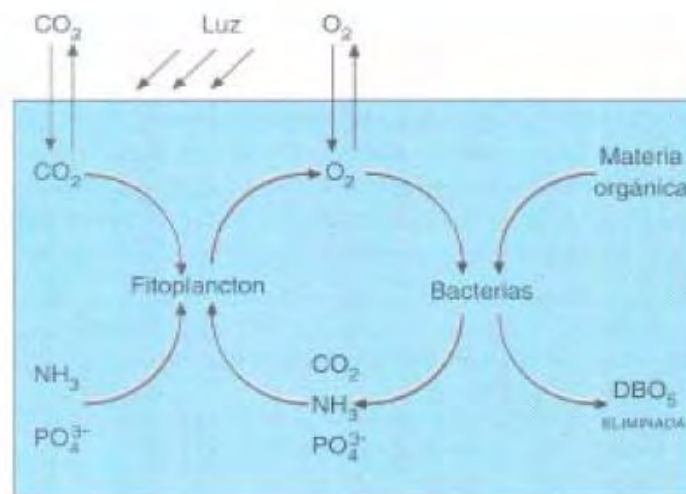


Figura N°5. Esquema de la simbiosis algas/bacterias que tiene lugar en las lagunas de alta carga.

2.2.3 Tratamientos Terciarios:

Estos tratamientos corresponden a la parte final del proceso, es decir, cuando se produce la descarga del RIL tratado en el lugar de recepción, que puede ser el alcantarillado o un cuerpo de agua natural. Aquí se trata el RIL para que éste tenga las propiedades deseadas, y que no fueron solucionadas por los procesos anteriores.

- Desinfección: Este proceso consiste en ingresar al RIL una pequeña cantidad de cloro, u otro oxidante que sea efectivo y que no dañe las cañerías ni el agua receptora. (George Tchobanoglous, 2000)

2.4 BIORREMEDIACIÓN

2.4.1 Fundamento

El término **Biorremediación** o **Biorrecuperación** se utiliza para denominar una variedad de sistemas de recuperación que degradan, transforman o eliminan o disminuyen la toxicidad de contaminantes orgánicos o inorgánicos a través de la actividad biológica natural de organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.), principalmente microorganismos. También se emplean los términos **biocorrección** y **biorrestauración**. En contraste con esta definición amplia, es frecuente que por **Biorremediación** sólo se entiendan los procesos llevados a cabo por microorganismos, y **fitorremediación** si hay participación de plantas en el proceso. (Eweis, 1999)

2.4.2 Organismos participantes

Entre los microorganismos destacan especialmente las bacterias, los seres vivos con mayor capacidad metabólica del planeta. Las bacterias pueden degradar prácticamente cualquier sustancia orgánica. Si la sustancia se degrada completamente se habla de **mineralización**; este es el proceso ideal, pero no siempre ocurre. Algunas sustancias no son degradadas sino transformadas en otras (**biotransformación**). La biotransformación puede ser peligrosa, ya que la nueva sustancia formada puede ser tan nociva o más que la contaminación de partida.

Finalmente hay sustancias que no son degradadas y se las denomina recalcitrantes. Éstas se acumulan durante mucho tiempo en el medio ambiente, especialmente si además son resistentes a procesos físico/químicos como la radiación ultravioleta o la oxidación. (Manso, 1990)

Las bacterias además pueden eliminar los contaminantes en ambientes donde hay oxígeno, llamados **procesos aeróbicos**, pero también en ambientes sin oxígeno, llamados **procesos anaeróbicos**, ya que pueden respirar otras sustancias diferentes al oxígeno (aceptores de electrones), como por ejemplo nitrato, sulfato, hierro (III), manganeso, selenio entre otros.(Alexander, 1999)

2.4.3 Tipos de contaminantes eliminados por Biorremediación

Los compuestos orgánicos suelen ser degradados total o parcialmente y eliminados por completo del ecosistema. Por ejemplo, compuestos contaminantes tales como el tolueno, el fenol o los polibifenilos clorados (PCBs) pueden ser utilizados como fuente de carbono por bacterias, tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. Bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Burkholderia* o *Mycobacterium* pueden eliminar hidrocarburos aromáticos como el tolueno o el naftaleno, pesticidas como las Atrazinas, aditivos de la gasolina como el tricloruro de etilo o sustancias venenosas como el cianuro potásico, tanto de ambientes sólidos (suelos) como líquidos (ríos y mares). Pero, además muchas bacterias son capaces de modificar sustancias químicas peligrosas, transformándolas en otras menos tóxicas. Así, algunas bacterias pueden reducir la biodisponibilidad (hacerla menos accesible y por tanto menos tóxica) de metales pesados tales como mercurio, arsénico, cromo, cadmio, zinc o cobre.(Mahro, 2000)

2.4.4 Tipos de Biorremediación

Existen dos tipos de Biorremediación bien definidos:

- **Biorremediación In Situ:** Consiste en tratar las aguas, suelos o arenas contaminadas sin sacarlas del lugar en el que se encuentran. Para ello, tanto en métodos de bioestimulación como en bioaugmentación, se puede disponer una

red de bombeo de nutrientes o un sistema de inoculación o bien una simple aireación del terreno con bombeo (“bioventing” y “air sparging”) o con arado (“landfarming” in situ). (Blackburn, 1993.)

- **Biorremediación Ex Situ:** El material contaminado es trasladado a otro lugar para realizar o completar su descontaminación, el tratamiento adecuado depende de la matriz a tratar. (Eweis, 1999).

2.4.5 Aplicación

La Biorremediación es aplicada hacia cualquier ambiente contaminado que se desee revertir, puede tratarse de diversas matrices ya sea agua, suelo ó aire. La aplicación depende de la estrategia de recuperación de las actividades catabólicas de los organismos y, por tanto, de su capacidad para usar los contaminantes como alimento (fuente de Carbono y energía). El proceso de Biorremediación incluye, además de biodegradación de los contaminantes, reacciones de oxido-reducción, procesos de sorción e intercambio iónico, e incluso reacciones de quelación que provocan la inmovilización de metales. (Luz E. de Bashan, 2000)

2.4.6 Ventajas

Estos procesos son muy amigables con el medio ambiente ya que la intrusión y modificación ambiental es reducida (para algunos la principal ventaja radica en que la calidad de la matriz a biorremediar no se ve alterada durante el proceso, no se perjudican ni la estructura ni las características biológicas); son efectivos (los contaminantes son destruidos eficazmente) y eficientes (el coste es comparativamente bajo, salvo para los sistemas más complejos); no requiere en general componentes estructurales o mecánicos complejos; pueden combinarse con otras tecnologías en un tren de tratamientos. (Eweis, 1999)

Inconvenientes de la Biorremediación son la dificultad o imposibilidad de degradar contaminantes inorgánicos (y algunos orgánicos); la imposibilidad de emplearla si

las condiciones no son suficientemente favorables para el crecimiento microbiano.(LaGrega, 2001)

2.5 MICROALGAS

Las microalgas son un conjunto de microorganismos en su mayoría fotosintéticos, unicelulares, filamentosos que forman cadenas, colonias o cenobios. Están presentes en agua salada, agua dulce o en el suelo. Los grupos que las conforman presentan individuos con notables similitudes morfológicas, las cuales surgen como respuestas adaptativas convergentes al medio físico en el que habitan: altamente heterogéneo y caracterizado por diversos gradientes de luz, temperatura y nutrientes que son modificados por la turbulencia del agua. Su hábitat varía a diferentes profundidades de aguas dulces, salobres o marinas. Se cultivan en masa y tienen diferentes destinos como: producción de compuestos biológicos, hidrógeno, biodiésel y biofertilizantes, también se aplican al tratamiento de aguas.(Yalile Alfonso Valdés, 2008).

2.5.1 Antecedentes

La importancia y aplicación de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales, tiene sus antecedentes iniciales en los trabajos de Caldwell (1940), quien reporta los primeros estudios, sobre la posibilidad de utilizar las microalgas como microorganismos purificadores de aguas residuales, debido al aprovechamiento de los nutrientes inorgánicos contenidos en esta agua, para favorecer el crecimiento de las microalgas, funcionando este como medio de cultivo.

Posteriormente Oswald (1957), introduce un nuevo concepto en la producción masiva de microalgas, al llevar a cabo el tratamiento de las aguas residuales, obteniendo una producción de biomasa vegetal con un alto contenido proteico, lo que finalmente se considera como una valorización de las aguas residuales mediante el cultivo de microalgas. Es en la década de los años sesenta, en Richmond, California (1960), cuando se plantea el sistema de cultivo más grande de los Estados Unidos, llegándose a alcanzar una producción muy alta de biomasa de microalgas, siendo de 12-18 g/L.

Es a partir de este cultivo a gran escala que se desencadenó el desarrollo por parte de diversos países en el cultivo masivo de microalgas en sistemas cerrados y abiertos, con diferentes finalidades.

De acuerdo a lo planteado anteriormente, se presenta el cultivo de microalgas, como una de las mejores alternativas para el tratamiento de aguas residuales, como un sistema biológico de tratamiento secundario de bajo costo, con una alta eficiencia en remoción de nutrientes y metales pesados, como una solución a los problemas de contaminación y eutrofización ocasionados por las descargas industriales y domiciliarias. (González, 2005)

2.5.2 Clasificación

En el planeta, las algas forman una inmensa población de individuos de estructura celular simple, se conocen aproximadamente 110 mil especies, reunidas en cuatro grandes grupos, que son: las "cianofitas" (*Cyanophyceae*) o algas azul-verdosas, las "clorofitas" (*Chlorophyceae*) o algas verdes; las "feofitas" (*Phaeophyceae*) o algas pardas, y las "rodofitas" (*Rhodophyceae*) o algas rojas.

Su tamaño es variable: algunas, como el alga azul-verdosa del género *Spirulina*, son microscópicas, es decir, forman filamentos que miden milésimas de milímetros; en cambio, existen otras, gigantes, que llegan a medir hasta 60 metros, como el alga parda llamada "sargazo gigante" (*Macrocystis*). También en su forma presentan gran diversidad; por ejemplo, el alga roja del género *Porphyra* tiene el aspecto de una lengüeta de bordes ondulados; *Ulva*, que es una clorofita, se parece a una hoja de lechuga; mientras que el "alga listón" (*Nereocystis*) es un alga parda que tiene el aspecto de plumero. (Medina, 2005)

2.5.3 Fases de Crecimiento

Existen de 3 a 5 fases generalmente reconocidas de crecimiento de la población de microalgas, las cuales corresponden al estado nutricional de las células. La duración de cada fase puede alargarse dependiendo de diferentes factores como:

temperatura, fuente de luz, composición del medio de cultivo, tamaño del inóculo y estado fisiológico del alga.

- Fase de Inducción. Las células en el cultivo apenas empiezan a absorber los nutrientes presentes en el medio, no se registra un incremento aparente en el número de células debido a la necesidad de un ajuste bioquímico. (Aaronson, 1990b)
- Fase Exponencial. La reproducción celular es extremadamente rápida y constante, de tal manera que el crecimiento de la población celular es exponencial. (Burlew, 1987)
- Fase de Declinación. El crecimiento de las células continúa, pero en proporción menor, esto puede deberse a factores como: el pH del medio, agotamiento de nutrientes, reducción de la intensidad de la luz y autoinhibición debido a la producción de metabolitos tóxicos, entre otros. (Lincoln, 1986)
- Fase Estacionaria. El número de células permanece constante.
- Fase de Muerte. Disminución progresiva de células viables, incrementándose el número de células muertas y las condiciones desfavorables como el aumento del número de bacterias, hongos y espuma, producto de la destrucción celular, genera el colapso final del cultivo. (Dood, 1980)

2.5.4 Aplicaciones

La aplicación de microalgas en el tratamiento de aguas residuales es la utilización y transformación de los nutrientes a biomasa, con la consecuente producción de oxígeno, para mejorar la calidad del efluente así como la disponibilidad de este para la continua oxidación bacteriana de la materia orgánica en sistemas integrales, mediante el ciclo de oxigenación fotosintética de aguas residuales. (Gallardo, 1990)

La mayoría de las bacterias que actúan en la descomposición de los desechos hogareños, consumen oxígeno para vivir y producen dióxido de carbono, uno de los

gases del efecto invernadero más peligrosos para el calentamiento global. Las algas, por el contrario, utilizan dióxido de carbono para crecer que luego transforman en oxígeno. Ahí ya tenemos una ventaja para utilizarlas en las aguas residuales, ya que forman una simbiosis con las bacterias, tan necesarias para eliminar los contaminantes orgánicos. (Edzwald, 1994)

Las algas, aparte, necesitan de luz y otros nutrientes para la fotosíntesis, entre ellos nitrógeno y fósforo, compuestos presentes en las aguas residuales, y que también es necesario eliminar. Así que un sistema simbiótico de microalgas y bacterias es el ideal para tratar residuos agrícolas e industriales, ya que tienen un costo muy bajo en instalación y mantenimiento.

Por otro lado, algunas especies de microalgas juegan un papel fundamental en la fertilidad de los suelos, por ejemplo, las cianofitas transforman el nitrógeno molecular en amonio en una forma similar a las bacterias; otras son útiles en la recuperación de los suelos salino y calcáreo; otras son aprovechadas como alimento tanto para animales como para el hombre en una diversidad de productos y suplementos alimenticios. (González, 2001).

2.5.5 Tipos de Sistemas de Tratamiento con Microalgas

Existen diferentes tipos de sistemas de tratamiento que utilizan cultivos microalgales, los cuales se explican a continuación:

- Pileta no aireada: es un sistema muy simple, de poca profundidad, el cual tiene la posibilidad de combinar dos tipos de tratamiento, como son el secundario y terciario; sin embargo presenta bajas eficiencias y es difícil la recuperación de microalgas.
- Pileta aireada: es un sistema más complejo de oxidación, el cual tiene un mecanismo de aireación, por lo que aumenta la oxigenación, presentando de esta manera una mayor eficiencia y recuperación de la biomasa por filtración en grava.
- Lagunas de oxidación: son estanques poco profundos (entre 30 y 60 cm), con mecanismos de aireación y agitación, los cuales favorecen el crecimiento de las microalgas. En este sistema se favorece el aumento en la degradación bacteriana,

ocasionado por el incremento en la oxigenación, lo cual provoca la proliferación de microalgas, y por lo tanto, aumenta la eficiencia global del tratamiento de las aguas residuales. (Redalje, 1989)

- Lagunas de alta tasa de oxidación: En estanques con características similares a las lagunas de oxidación se inoculan altas densidades microalgales. En la cual se obtiene una biomasa mixta, la cual aumenta la tasa de oxidación, la tasa de remoción y por lo tanto la eficiencia global del sistema.
- Lagunas de oxidación de algas: es un diseño similar al anterior, sin embargo en este caso, está orientado hacia la producción de biomasa con fines de alimentación y/o producción de metabolitos de interés comercial (pigmentos).

La selección del sistema de tratamiento va a depender del tipo de agua residual a tratar, así como de la extensión de superficie requerida para el estanque de cultivo, y de los microorganismos a utilizar, ya que los objetivos son el incremento de la producción de biomasa microalgal (sin limitación de nutrientes), y la optimización del proceso integral es decir, la eliminación total de nutrientes. (El Halouani, 1990)

La aplicación de estos sistemas, pueden presentar ciertas desventajas, como son: la necesidad de grandes extensiones de superficie requeridas para los estanques de cultivo, y la recuperación de la biomasa de microalgas en cuanto a los aspectos tecnológicos y económicos. Sin embargo, se plantea en el primer caso, un adecuado manejo de parámetros de cultivo, como la disminución del área de cultivo en estanques pequeños, con altas densidades microalgales, con cepas de microalgas activadas (adaptadas al efluente) y bajos tiempos de retención. En el segundo caso se propone aplicar procesos de sedimentación en obscuridad, el empleo de floculantes, como el quitosán, floculación-decantación y autofloculación y biofloculación presentada por algunas especies de microalgas.(Gallardo, 1990)

2.5.5.1 Ventajas del tratamiento

El proceso integral de tratamiento secundario, presenta ventajas importantes como son: el mejoramiento de la calidad del efluente, mediante un mecanismo de bajo costo energético, así como el aprovechamiento de nutrientes, que están siendo desechados, al ser incorporados a la biomasa, con la consecuente producción y

generación de oxígeno. Lo cual trae como consecuencia, en un proceso global: la remoción de sales (amonio, nitritos, nitratos, ortofosfatos), el aumento del pH de los efluentes (proceso fotosintético), lo cual favorece la precipitación de ortofosfatos, la eliminación de nitrógeno amoniacal por efecto de intercambio gaseoso, la disminución de la demanda biológica de oxígeno, la oxigenación del agua, favoreciendo la oxidación continua de materia orgánica, la acción bactericida, reduciendo la sobrevivencia de organismos patógenos, la recuperación de CO₂, liberado en los procesos, mediante su empleo en el proceso fotosintético y un alto rendimiento en la bioconversión de la energía solar (4 y 8%) respecto a algunas plantas agrícolas convencionales (azúcar y sorgo), siendo del 1.5% .(Kojima, 2001)

2.5.5.2 Eficiencia

Finalmente la eficiencia de este proceso, depende de varios factores tales como:

- Tipo de efluente a tratar: doméstico, agrícola e industrial
- Características de operación: carga hidráulica
- Composición y contenido de contaminantes (organismos depredadores), que afectan la composición de la biomasa, restringiendo las aplicaciones.
- Profundidad de los estanques y régimen de agitación.
- Diferente temperatura e intensidad luminosa, debido a las variaciones estacionarias,
- Así como el fotoperiodo (luz-oscuridad) o luz continua.

Algunos aspectos a considerar en la eficiencia del proceso son: la adecuada combinación de los parámetros anteriormente mencionados, así como el mantenimiento del cultivo en óptimas condiciones, favoreciendo la elevada eficiencia de remoción del proceso, con la finalidad de alcanzar las máximas densidades algales.(González, 2001).

Tabla N°2, se resumen algunas de las microalgas que han sido empleadas en la depuración de diversos tipos de aguas residuales.

Tabla N°2: Microalgas empleadas en la degradación de diversos contaminantes (Rawat 2010)

Microalga	Tipos de aguas residuales
<i>Prototheca zopfii</i>	Hidrocarburos derivados del petróleo
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Tintes azoicos en aguas residuales
<i>Chlorella sp</i>	Residuos de ganadería digeridos anaeróbicamente
<i>Ankistrodesmus y Scenedesmus sp.</i>	Aguas residuales de industria del papel y alperujos
<i>Spirulina platensis</i>	Agua residual urbana
<i>Chlorella sokoniana</i>	Agua residual en heterotrofia sin luz
<i>Botryococcus braunii</i>	Agua residual tras tratamiento secundario
<i>Scenedesmus sp.</i>	Altos niveles de amonio en efluente de digestión anaerobia

2.6 ARTHROSPIRA SP.

2.6.1 Descripción:

Se trata de un alga azul, incluida dentro de la Clase de las denominadas Cianofitas o Cianobacterias, de carácter multicelular, cuyas células cilíndricas tienen un ancho de 3 a 12 micrones, alcanzando a veces hasta 16. Sus filamentos presentan un esquema en forma de hélice abierta y llegan a medir entre 100 y 200 milimicrones. Las condiciones de esta hélice y sus medidas dependerán de las condiciones ambientales y del crecimiento del alga. Figura N° 6. (Tomaselli, 2000)



Figura N° 6. *Arthrospira sp.*
Aumento: 100X

2.6.2 Antecedentes.

En un estudio de la Biosorción de metales pesados influenciadas por la composición química de la biomasa de *Spirulina* sp. (Hernandez and Olguin, 2002), se evaluó la capacidad de células de *Spirulina* sp. con diferentes composiciones química para la sorción de Pb (II), Cd (II) y Cr (VI). Dos de los ensayos de biomasa contenían un alto porcentaje de proteína (68,95 +/- 0,30 y 63,73 +/- 0,25%) como resultado de haber sido cultivadas en medio Zarrouk y expuesta a dos intensidades de luz (66 micromoles de fotones $m^{-2}.s^{-1}$ y 144 micromoles de fotones $m^{-2}.s^{-1}$) en cultivos discontinuos. Un tercer tipo de biomasa, cultivada en un medio "complejo" y expuesta a 66 micromoles de fotones $m^{-2}.s^{-1}$ contenía un alto porcentaje de lípidos (30,08 +/- 1,92). Finalmente, el cuarto tipo de biomasa fue enriquecida en polisacáridos (25,54 +/- 0,51%) luego de ser cultivada en un medio "complejo", pero expuesta en 144 micromoles de fotones $m^{-2}.s^{-1}$ se encontró que la composición química de *Spirulina* sp. tenían una fuerte influencia sobre su capacidad de adsorción. Las máximas capacidades de adsorción (q (max)) de Pb y Cd fueron más altas (172,41 y 54,05 mg/g de las células, a un pH de 5,0 y 4,5 respectivamente) cuando las células mostraron el contenido de polisacáridos superior en el caso del Cr^{VI} , el más alto q (max), fue exhibida por las células cultivadas en medio Zarrouk y mostrando el mayor contenido de proteína (a pH 7,0). El pH no afectó la adsorción de Pb II en el intervalo de 3 a 5,5, ni de Cd en el intervalo de 4 a 7 para Cr^{VI} la adsorción sólo se observó a un pH igual o inferior a 2.

2.6.3 Clasificación

Reino: *Bacteria*

Phylum: *Cyanobacteria*

Clase: *Cyanophyceae*

Orden: *Oscillatoriales*

Familia: *Phormidiaceae*

Género: *Arthrospira*

Especie: *Arthrospira* sp.(Checklist, 2011)

2.6.4 Reproducción

La reproducción se lleva a cabo por fisión binaria transversal. El alargamiento del tricoma o filamento se debe a las numerosas divisiones transversales de sus células. La multiplicación ocurre solo por fragmentación del filamento y es de naturaleza intracelular, involucrando la destrucción de la célula intercalar existente dentro de los mismos filamentos.(Leopoldo Naranjo-Briceño, 2010)

2.6.5 Cultivo

El crecimiento de *Arthrospira sp.* ocurre entre 25 – 40 °C, siendo el rango de mayor producción a elevadas temperaturas entre 35 – 40 °C y grado alcalino (pH entre 9 y 11); iluminación estándar, salinidades de 18– 22 UPS y abundante agitación (Zarrouk, 1966; Pedraza, 1989).

Las cianobacterias, organismos fotótrofos, para formar biomasa necesitan elementos inorgánicos de partida, en su actividad nutricional, tales como, nitrógeno, oxígeno, carbono, hidrógeno, fósforo y azufre, que intervienen en la formación de carbohidratos, grasas y proteínas (Rodrigues M.S., 2010)

2.7 CHLORELLA SP.

2.7.1 Descripción

Chlorella sp. es un género de algas verdes unicelulares, del filo Chlorophyta. Tiene forma esférica, midiendo de 2 a 10 µm de diámetro, y no posee flagelo, es extensamente encontrada en lagos y pantanos de todo el mundo. El nombre Chlorella proviene del griego *Chloros*, que significa verde, y del latín *ella*, que significa cosa pequeña, y fue descubierta y nombrada por el holandés M. W. Beijerinck en 189. Figura N°7. (Kanno, 2005)

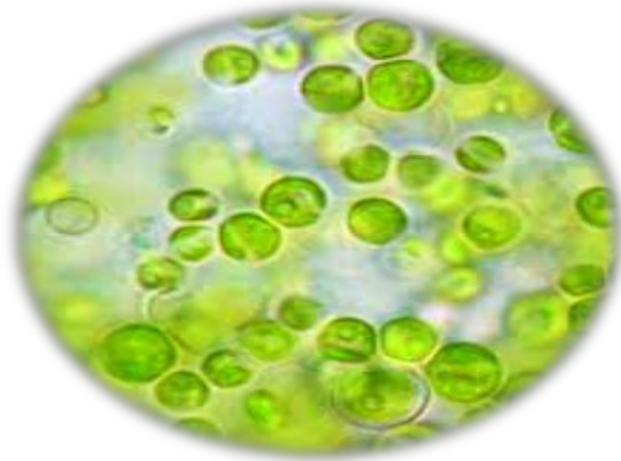


Figura N°7. *Chlorella sp.*
Aumento: 100X

2.7.2 Antecedentes

Estudios han descrito la eficiencia y el desarrollo de *Chlorella sp.* en RILES orgánicos pesqueros y su influencia en la remoción de la contaminación (López, 2011). Las nuevas alternativas de tratamiento de las aguas residuales en el sector pesquero, darán respuesta adecuada al problema de los impactos negativos al ecosistema proveniente de los residuales líquidos, de ahí que se realiza una investigación sobre cultivo de *Chlorella sp.* En RILES orgánicos pesqueros, donde se determinó su crecimiento bajo las condiciones de luz y temperatura imperantes en Cuba y potencial descontaminador de esta alga, presentado en términos de demanda bioquímica de oxígeno (DBO). Las experiencias se efectuaron en erlenmeyers, acuarios, estanques y laguna piloto. En todos los casos, se evidenció un crecimiento satisfactorio de la microalga y una disminución de la DBO en el orden del 85-95% del efluente total y soluble con respecto al residual sin presencia de *Chlorella sp.* Se propone el uso de la microalga para fines de tratamiento biológico de los RILES pesqueros, preferentemente en lagunas de alta velocidad. (Hanna, 1990)

Un estudio llevado a cabo por (Ruiz Marin, 2010) inmovilizó microalgas de la especie *Scenedesmus obliquus* y *Chlorella vulgaris* mediante centrifugación y posterior resuspensión del concentrado en una solución con alginato sódico. Al

adicionar una solución de cloruro cálcico se forman gotas agregadas de aproximadamente 3,5 millones de células cada una, con un diámetro total aproximado de 2,5 mm. Los agregados se lavan y son introducidos en el fotobioreactor, junto con el agua residual, tal que la proporción final es de 1:25 en volumen. Los resultados de eliminación de amonio en ciclos batch oscilan entre 65% y 96%, para aguas residuales artificial y real.

2.7.3 Clasificación

Reino: Planta

Phylum: *Clorofita*

Clase: *Trebouxiophyceae*

Orden: *Chlorellales*

Familia: *Chlorellaceae*

Género: *Chlorella*

Especie: *Chlorella sp.*(Checklist, 2011)

2.7.4 Reproducción.

Su reproducción es asexual, principalmente por bipartición. (Burlew, 1987)

2.7.5 Cultivo

Chlorella sp. tolera temperaturas entre 16 y 27°C, aunque esto puede variar de acuerdo a la composición del medio. Como en las plantas, la luz es la fuente de energía que promueve las reacciones fotosintéticas en las algas, aquí la intensidad, la calidad espectral y el fotoperiodo deben ser considerados.

Se debe tener el cultivo a pH cercanos a 7 para *Chlorella*, para mantener un pH aceptable es necesario airear el medio de cultivo. *Chlorella* no posee movimiento propio es por esto que necesita de aireación para evitar la sedimentación, y así asegurar que todas las células de la población están igualmente expuestas a la luz y a los nutrientes. (Moronta R, 2006).

2.8 CONTROL MICROBIOLÓGICO.

Para alcanzar la calidad microbiológica es necesario aplicar pasos ordenados a través de la cadena de producción. A lo largo de esta cadena se pueden presentar una serie de inconvenientes que pueden llevar a obtener un producto o productos que tengan características muy distintas a las esperadas, tanto para el consumidor final como para la empresa. Por esta razón, para garantizar la calidad es importante tener en cuenta que este se basará en el control de la presencia y la multiplicación de los microorganismos ya que factores como el ambiente, temperatura, humedad relativa entre otros, pueden ocasionar su presencia. Los problemas microbiológicos suelen presentarse cuando no se alcanza el efecto deseado durante el proceso o por los sistemas de conservación que se tengan, y esto suele ser consecuencia de errores en la manipulación o procesado. La detección de dichos errores, su rápida corrección y prevención, son el principal objetivo de cualquier sistema de control microbiológico (Forysthe, 2000).

2.8.1 Criterios microbiológicos. Para diferenciar un producto de calidad microbiológica admitido de una de calidad no admitida, es necesario aplicar normas o criterios microbiológicos que serán específicos para cada producto. La forma más segura, es emplear el número o tipo de microorganismos en el producto o sobre el producto, para evaluar su calidad y su seguridad microbiológica (Forsythe, 2002). Todo criterio microbiológico debe incluir:

- Los microorganismos contaminantes: Aquellos que pueden ser de características patógenas o no patógenas, importantes en salud pública.
- Los métodos analíticos: Mediante los cuales, se busca el microorganismo implicado o sus toxinas.
- Los planes de muestreo: Obtener una muestra representativa de un determinado lote o producto, teniendo en cuenta el número de muestras que se toman y las que se analizan.
- Los límites microbiológicos: El límite contemplado dentro de la normatividad para el producto evaluado (Forsythe, 2002).

2.8.2 Tipos de criterios:

- **Obligatorios:** Aquel que no debe sobrepasar la norma. Si el producto no cumple las normas establecidas, será de carácter obligatorio establecer un tipo de corrección, incluyendo su rechazo, destrucción, reproceso o la utilización para otro tipo de productos (Forsythe, 2002).
- **Consultivos:** Permiten establecer límites de aceptabilidad y estos a su vez sirven para alertar las posibles deficiencias en el proceso (Forsythe, 2002).

Componentes de un examen microbiológico: Siempre se debe tener en cuenta que cada paso a realizar es fundamental la asepsia.

- **Muestreo:** Debe ser de manera adecuada, siguiendo los protocolos apropiados, las muestras deberán ser estadísticamente significativas y por esta razón se llevan a cabo planes o programas de muestreo.
- **Método Analítico:** Se busca el más sensible, que permita lo que se quiere, de igual manera se busca también que sea económico.
- **Interpretación de resultados:** Conocimiento y significado de los microorganismos presentes en el producto evaluado (Forsythe, 2002).

2.9 SEPARACIÓN Y POST-TRATAMIENTO DE LAS ALGAS PRODUCIDAS

2.9.1 Separación

Las microalgas son, en general, difíciles de separar por su pequeño tamaño, si bien es cierto que, por su tamaño, algunas cianobacterias sedimentan (decantación espontánea) o flotan, y que algunas microalgas forman agregados (biofloculación), lo que facilita su decantación. La técnica de separación depende de la microalga en cuestión, la densidad del cultivo, el uso posterior y factores económicos como el precio del subproducto obtenido. En general, tiene lugar en dos etapas: en una primera etapa se produce una separación más basta en la que se alcanza una

concentración de microalgas entre el 2 y 7%. Se puede realizar por floculación, sedimentación por gravedad o flotación. En una segunda etapa se realiza un secado más fino y de mayor coste energético, mediante centrifugación, filtración o ultrasonidos. (Pouliot, 1985)

La eficacia de la decantación depende del radio de los microorganismos y su densidad. Es el método más empleado en el tratamiento de agua, debido a las grandes cantidades de biomasa con que se trabaja y su bajo valor añadido. Sin embargo, sólo es posible en algunos casos, como en el de la Spirulina. Los ultrasonidos previos a la decantación han demostrado que optimizan la eficiencia de agregación y el factor de concentración del proceso. (Richmond, 1986)

La filtración se puede llevar a cabo mediante flujo tangencial (membranas externas) o fibra hueca (membranas sumergidas), así como mediante microfiltración, ultrafiltración, filtración a vacío, etc. Sin embargo, las microalgas pueden causar un importante efecto de fouling en las membranas debido a que segregan materia orgánica extracelular, un material mucilaginoso que ayuda a la obtención de biomasa. (Redalje, 1989)

2.9.2 Post-tratamiento

La biomasa, una vez separada del medio de cultivo, suele ser deshidratada para evitar reacciones de descomposición. Se deshidrata mediante secado al sol, a baja presión, con spray, en tambores, en lecho fluidizado o por congelación. En el caso de extracción de lípidos para obtención de biodiesel, es importante encontrar el compromiso entre grado de secado y rentabilidad del proceso (valor energético del producto final).

En el caso de extracción de productos de interés, es común la necesidad de romper las células previamente, para lo cual se emplean homogenizadores, autoclavado,

adición de ácido hidroclicórico o NaOH y lisis alcalina. También se llevan a cabo extracciones con disolventes. (Tripathi, 1991)

2.10 LEYES Y DISPOSICIONES DE PARÁMETROS

En Chile, existen diversas leyes y decretos supremos que describen las condiciones que deben cumplir las empresas para el vertido de sus RILES a cursos de aguas naturales ya sea ríos, lagos y mar (Anexo 4).

Además existe la Norma Chilena Oficial Nch1333, que corresponde a los requisitos de calidad del agua para diferentes usos, en la cual prestamos gran interés en la disposición del uso de agua en riego. De esta norma resaltamos los requisitos bacteriológicos, el cual detalla que “El contenido de coliformes fecales en aguas de riego destinados al cultivo de verduras y frutas que se desarrollan a ras de suelo y que habitualmente se consumen en estado crudo, debe ser menor o igual a 1000 coliformes / 100ml”(Chaiklahan et al., 2011).

Además, existen variadas normas internacionales que Chile ha suscrito, relacionadas con los RILES y que se describen a continuación (Tabla N°3).

Tabla N°3. Normativa Internacional suscritas por Chile.

INSTRUMENTO LEGAL INSTITUCIONES INVOLUCRADAS	TEMÁTICAS
II: Decreto Supremo N°476/77 del Ministerio de Relaciones Exteriores. II: Ministerio de Relaciones Exteriores.	Convenio sobre prevención de la contaminación del mar por vertimiento de desechos y otras materias.
II: Decreto Supremo N°474/77 del Ministerio de Relaciones Exteriores. II: Ministerio de Relaciones Exteriores	Convenio internacional para prevenir la contaminación de las aguas del mar por hidrocarburos.
II: Decreto Supremo N°475/77 del Ministerio de Relaciones Exteriores. II: Ministerio de Relaciones Exteriores.	Convenio Internacional sobre responsabilidad civil por daños causados por la contaminación de las aguas del mar por hidrocarburos.
Decreto Supremo N°425/86 del ministerio de Relaciones Exteriores. II: Ministerio de Relaciones Exteriores	Acuerdo sobre cooperación regional para el combate contra la contaminación del Pacífico Sudeste, por hidrocarburos y otras sustancias nocivas, en casos de emergencia.

II: Decreto Supremo N°295/86 del Ministerio de Relaciones Exteriores. II: Ministerio de Relaciones Exteriores.	Protocolo para la Protección del Pacífico Sudeste contra la contaminación proveniente de fuentes terrestres.
II: Decreto Supremo N°656/86 del Ministerio de Relaciones Exteriores. II: Ministerio de Relaciones Exteriores.	Protocolo complementario del acuerdo sobre la cooperación regional para el combate contra la contaminación del Pacífico Sudeste por hidrocarburos y otras sustancias nocivas en casos de emergencia.
II: Decreto N°867/78 del Ministerio de Obras Públicas. Norma Chilena Oficial NCh 1333 Of 78. II: Ministerio de Salud. Ministerio de Obras Públicas.	Establece los requisitos de calidad del agua para diferentes usos (potable, bebida, animales, riego, recreación y estética, y vida acuática).
II: Decreto Supremo N°735/69 del Ministerio de Salud. Reglamento de los Servicios de Agua destinados al Consumo Humano. II: Servicios de Salud.	Establecer las concentraciones máximas aceptables de sustancias o elementos químicos que puede contener el agua para consumo humano.
II: Decreto N°11/84 del Ministerio de Salud. Norma Chilena NCh 409/1. Of.84. II: Ministerio de Salud.	Determina los requisitos de orden fisicoquímico, radioactivo y bacteriológico que debe cumplir el agua para la bebida de seres humanos.
II: Decreto supremo N°745/92 del Ministerio de Salud. Reglamento sobre Condiciones Sanitarias y Ambientales Mínimas en los lugares de trabajo. II: Servicios de Salud.	Establece límites permisibles para las concentraciones ambientales en lugares de trabajo.

Estas últimas disposiciones son normas internacionales que están en vigencia en Chile, y que en el mundo se visualizan como Normas de internación de productos (Metropolitana, 2010).

OBJETIVOS

➤ Objetivo General:

Evaluar un esquema de tratamiento Químico y Biológico para Residuos Líquidos Industriales del norte de Chile, para obtener agua de Riego.

➤ Objetivos Específicos:

5. Evaluar en un tratamiento químico primario la capacidad de floculación de cloruro férrico y sulfato de aluminio para Residuos Líquidos Industriales.
6. Evaluar en un tratamiento biológico la incorporación de *Arthrospira sp.* y *Chlorella sp.* para la biorecuperación de residuos líquidos industriales.
7. Evaluar *Arthrospira sp.* y *Chlorella sp.* a diferentes condiciones de adaptación de % de inóculo de alga y % de RIL, aireación, así como la importancia del fotoperiodo de luminosidad y oscuridad.
8. Evaluar en ambos tratamientos parámetros fisicoquímicos y biológicos (DQO, DBO5, pH, turbidez, conductividad, coliformes fecales) óptimos para obtener un mayor porcentaje de recuperación de residuos líquidos industriales.

HIPÓTESIS

Dado que es posible desarrollar y adaptar tecnologías para mejorar la calidad actual de residuos líquidos industriales vertidos al sistema de alcantarillado es probable que mediante un tratamiento primario químico y un tratamiento secundario biológico con la incorporación de *Arthrospira sp.*, *Chlorella sp.* y microorganismos nativos presentes en estos usando su capacidad simbiótica se pueda optimizar la reducción de la materia orgánica lo que con lleva a obtener un agua recuperada con la calidad adecuada para ser usada en riego.

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES

1.1 Muestra

- RIL de una faenadora avícola “ARIZTÍA”, ubicada en la ciudad de Arica, Chile.

1.2 Material de vidrio:

- Beackers (25, 50, 100, 1000 mL) GERMANY
- Baguetas GERMANY
- Pipetas (1,2,5,10 mL) GERMANY
- Matraces aforados (25, 50, 100 mL) GERMANY
- Probeta (50mL, 100 mL) GERMANY
- Mini compresores JASCO

1.3 Material biológico:

- Cepas de *Arthrospira sp.*
- Cepas de *Chlorella sp.*

1.4 Equipos de laboratorio:

- Microscopio MOTIC
- Multiparamétrico HANNA
- Oxímetro HANNA
- Incubadora LABTEC
- Luxómetro JASCO

- Salinómetro HANNA
- Estufa LABTEC
- Centrífuga JASCO
- Filtración a vacío MILLIPORE

1.5 Reactivos:

- Etanol al 95% P.A. MERCK
- Buffer de Calibración pH 4.1 P.A. HANNA
- Buffer de Calibración pH 7.1 P.A. HANNA
- Sulfato de Aluminio P.A. MERCK
- Cloruro Férrico P.A. MERCK
- Hidróxido de Sodio P.A. MERCK
- Ácido Clorhídrico P.A. MERCK
- Otros reactivos mencionados en Anexo 2 y 3. P.A. MERCK

1.6 Otros materiales:

- Papel Whatman # 0.4µm. MILLIPORE
- Difusores AKUARIUS
- Mangueras AKUARIUS
- Bombas de acuario JASCO

2. MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en el “Laboratorio de Química Ecológica y Bioprocesos” de la Escuela Universitaria de Ingeniería Industrial (EUIIS) de la Universidad de Tarapacá Campus Velásquez Arica, Chile. La ejecución del proyecto duró

2.1 Obtención de muestra de RIL

El lugar de referencia para recoger la muestra de RIL fue la Planta Faenadora Avícola Ariztía Ltda. en Arica, por ser una de las industria con mayor impacto ambiental, el RIL recolectado ya se encontraba libre de sólidos mayores a 0,5 mm,

se recolectó en bidones con capacidad de 20 L. los cuales posteriormente se trasladaron al Laboratorio de Química Ecológica y Bioprocesos de la Universidad de Tarapacá. Figura N°3.1.



Figura N°3.1. RIL proveniente de una faenadora avícola.

2.2 Tratamiento Químico del RIL

A la muestra inicial de RIL la denominaremos “RIL CRUDO”, el cual fue analizado fisicoquímicamente (pH, turbidez, OD, DBO₅, Fe, NO₃, NO₂, Al, PO₄³⁻); para el tratamiento químico se procedió a los ensayos de floculación y/o coagulación con Sulfato de Aluminio y Cloruro Férrico a diferentes valores de dosis (g/L) y de pH (regulando con ácido clorhídrico para acidificar o hidróxido de sodio para alcalinizar). Siguiendo el posterior esquema. (Tabla N°3.1 y Tabla N° 3.2).

Tabla N° 3.1. Diseño experimental para floculación y/o coagulación con Sulfato de Aluminio (Al₂(SO₄)₃).

pH	Dosis g/L			
pH 5				
pH 6	0.13	0.14	0.15	0.16
pH 7				
pH 8				

Tabla N° 3.2. Diseño experimental para floculación y/o coagulación con Cloruro Férrico (FeCl_3).

pH	Dosis g/L			
pH 5				
pH 7	0.03	0.04	0.05	0.06
pH 9				
pH 11				

Los ensayos para el tratamiento químico se realizaron en Conos Imhoff graduados con capacidad de 1L, para elegir el mejor floculante y/o coagulante se registró el volumen de sedimento (mL) en 1L de RIL y se midió la turbidez a las dos horas de haber empezado en ensayo. Figura N°3.2.



Figura N°3.2. Ensayos de Floculación y/o Coagulación en Conos Imhoff

2.3 Tratamiento Biológico del RIL

Libre de sólidos suspendidos el RIL tratado químicamente ya se encuentra apto para el tratamiento biológico también conocido como Biorremediación mediante la incorporación de cepas de *Arthrospira sp.* y *Chlorella sp.*

2.3.1 Obtención de Cepas.

➤ Cepa de *Arthrospira sp.*

La cepa de *Arthrospira sp.* (*Arthrospira platensis* y *máxima sp.*); se adquirieron de la empresa Solárium Biotechnology S.A.

➤ Cepa de *Chlorella sp.*

La cepa *Chlorella sp.*, se adquirió de la Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas del Grupo de investigación Microalgal, Dpto. de Botánica.

2.3.2 Medios de Crecimiento

Para el cultivo de *Arthrospira sp.* y *Chlorella sp.* se utilizaron los medios de cultivos selectivos Spirulina y Bristol respectivamente (Anexo2 y 3) a una temperatura de 25°C +/- 5°C, se requiere también de aireación constante para tener un crecimiento homogéneo evitando la sedimentación, también se tuvo el cultivo a luz constante para asegurar un incremento de la biomasa, agregándole medio de cultivo se mantuvo a las cepas constantemente en fase de crecimiento.

2.3.3 Ensayos de Biorremediación

Se realizaron ensayos por triplicado utilizando cuatro matraces Erlenmeyer de 1L por triplicado, cada grupo consta de un control y tres matraces con diferentes porcentajes de inóculo y RIL, llegando a un volumen de 1L. Donde se agregó en primer lugar el inóculo (control) y posteriormente el RIL tratado. Contando cada batería con un total de 12 matraces Erlenmeyer. Tabla N° 2.3.

La proporción final de las baterías se compone de la siguiente manera:

Tabla N° 3.3. Diseño Experimental de los ensayos de Biorremediación

Muestras	Volumen RIL/ Inóculo (mL)	Porcentaje RIL/inoculo	Volumen final (L)
Grupo Control	0/1000	100% de inoculo	1
1	250/750	25%/75%	1
2	500/500	50%/50%	1
3	750/250	75%/ 25%	1

2.4 Monitoreo del Ensayo de Biorremediación

Durante todo el periodo del ensayo (6 días) se realizó dos monitoreos al día los que se consideraron como fotoperiodo, siendo el primero de ellos a las 8:00 am y el último a las 5:00 pm. Dichos ensayos se realizaron en dos ambientes uno controlado a una temperatura promedio (24°C +/- 5°C) dentro del laboratorio y otro ambiente no controlado a temperatura y luz natural dentro de un invernadero.

➤ Ensayos de Biorremediación

Este ensayo fue instalado dentro de un invernadero a luz y temperatura natural es decir de acuerdo a las condiciones climáticas del día, este ensayo permitiría hacer mucho más real la Biorremediación a una mayor escala. Se monitoreo un fotoperiodo de día y de noche. Figura N°3.3.



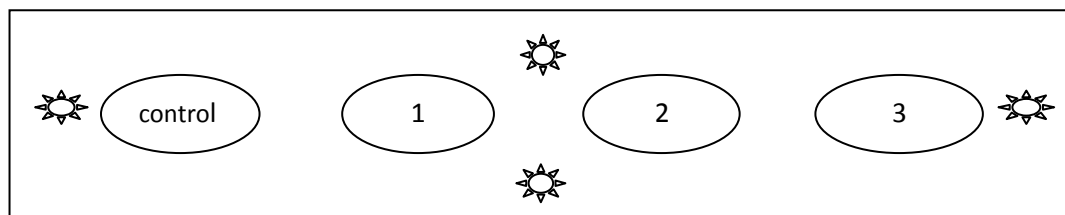
Figura N°3.3. Ensayo de Biorremediación

2.4.1 Parámetros Físicos Monitoreados

Durante los días del ensayo de Biorremediación se considero dos fotoperiodos día y noche, para el fotoperiodo noche se monitoreo a las 08:00 am luego de haber transcurrido las horas de oscuridad y para el fotoperiodo día se monitoreo a las 05:00 pm. Los parámetros monitoreados fueron los siguientes:

➤ Intensidad Lumínica:

Para la medición de la intensidad lumínica se utilizó un luxómetro de marca LAB TEC que proporcionaba los datos en μmoles , se muestreo en cuatro diferentes puntos para cada conjunto de muestras. Figura N°3.4



☀ :Puntos de muestreo

Figura N°3.4: Monitoreo de la Intensidad Lumínica.

➤ Temperatura:

Es uno de los parámetros físicos más importantes en el agua, pues por lo general influye en el retardo o aceleración de la actividad biológica, la absorción de oxígeno, la precipitación de compuestos, la formación de depósitos, la desinfección y los procesos de mezcla, floculación, sedimentación y filtración.

Múltiples factores, principalmente ambientales, pueden hacer que la temperatura del agua varíe continuamente.

Se realizó la toma diaria y horaria de la temperatura, con el uso de un termómetro digital marca HANNA dentro de cada uno de los matraces.

➤ pH:

El pH influye en algunos fenómenos que ocurren en el agua, como la corrosión y las incrustaciones en las redes de distribución.

Aunque podría decirse que no tiene efectos directos sobre la salud, sí puede influir en los procesos de tratamiento del agua, como la coagulación y la desinfección.

Se realizó la toma diaria y horaria del pH, con el uso de un pHmetro digital marca HANNA dentro de cada uno de los matraces.

➤ Turbidez

La turbidez en los líquidos está causada por la presencia de sólidos en suspensión no disueltos. Cuantos más sólidos en suspensión tenga el agua, más sucia parecerá y mayor será su turbidez. La turbidez se considera una medida de la calidad del agua. Puede determinarse midiendo la atenuación de las radiaciones que pasan a través del líquido; o bien midiendo la intensidad de la radiación dispersa o difusa. La difusión de las radiaciones es una de las propiedades de los líquidos y se utiliza para determinar la turbidez.

La medición se realizó con un Medidor de Turbidez Portátil (HI 93703) marca HANNA. Ver Anexo 5.

2.4.2 Parámetros Químicos Monitoreados

➤ Oxígeno Disuelto:

El Oxígeno Disuelto (OD) es la cantidad de oxígeno que está disuelta en el agua. Es un indicador de cómo de contaminada está el agua o de lo bien que puede dar soporte esta agua a la vida vegetal y animal. Generalmente, un nivel más alto de oxígeno disuelto indica agua de mejor calidad. Si los niveles de oxígeno disuelto son demasiado bajos, algunos peces y otros organismos no pueden sobrevivir.

Se realizó la toma diaria y horaria del oxígeno disuelto, con el uso de un oxímetro digital marca HANNA dentro de cada uno de los matraces en ppm de oxígeno(O₂).

➤ Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅)

La Demanda Bioquímica de Oxígeno, DBO, es la cantidad de oxígeno en mg/L necesaria para descomponer la materia orgánica presente mediante acción de los microorganismos aerobios presentes en el agua. Normalmente se emplea la DBO₅, que mide el oxígeno consumido por los microorganismos en cinco días. Resulta el parámetro de contaminación orgánica más ampliamente empleado. La determinación del mismo está relacionada con la medición del oxígeno disuelto que consumen los microorganismos en el proceso de oxidación bioquímica de la materia orgánica.

Para la medición de la DBO₅, se midió el oxígeno disuelto inicial (ppm O₂) y se incubó las muestras a 20°C durante cinco días, al quinto día se volvió a medir el oxígeno disuelto final (ppm O₂); la resta del oxígeno disuelto inicial menos el final, nos proporciona la cantidad de material biodegradable en los cinco días. Esta DBO₅ se midió al inicio y al final del ensayo en todas las muestras en los dos ambientes.

Los siguientes elementos y compuestos fueron medidos con un Fotómetro Multiparamétrico de Sobremesa marca HANNA (Figura N°3.5).



Figura N°3.5. Fotómetro Multiparamétrico de Sobremesa

➤ Aluminio

El Aluminio es uno de los metales más ampliamente usados y también uno de los más frecuentemente encontrados en los compuestos de la corteza terrestre. La toma de Aluminio por comida va indirectamente relacionada con el consumo de alimentos que muchos de ellos son regadas con aguas contaminadas, la forma soluble en agua del Aluminio causa efectos perjudiciales, por ende es de vital importancia su análisis. La toma de concentraciones significantes de Aluminio puede causar un efecto serio en la salud como:

- Daño al sistema nervioso central
- Demencia
- Pérdida de la memoria

Para la medición de Aluminio (Al^{+3}) se utilizó el Kit con código HI93721-25, el cual consta de tres reactivos necesarios Ácido L-Ascórbico (CE N°: 200-066-2, CAS N°: 50-81-7), Reactivo Aluminon (Ácido succínico (CE N°: 203-740-4, CAS N°:110-15-6): <80%) y un Polvo Blanqueante (Pirosulfato potásico CE N°: 232-216-8, CAS N°: 7790-62-7: <40%). Ver Anexo 6.

➤ Hierro

El hierro es un constituyente inorgánico normal en el agua y suelo. Está presente como iones disueltos en soluciones o como componente de complejos orgánicos. El que el hierro permanezca disuelto o se oxide y se precipite en los sistemas de tuberías depende de los valores pH y Oxígeno del agua. En el agua doméstica, el hierro puede favorecer el crecimiento de bacterias. El hierro es también un indicador de corrosión en plantas industriales o en los sistemas de calentamiento o refrigeración. Además, el hierro se controla normalmente en las aguas residuales de la minería para evitar la contaminación medioambiental. Una toma indirecta de Hierro puede provocar conjuntivitis, coriorretinitis, y retinitis si contacta con los tejidos y permanece en ellos.

Para la medición de Hierro (Fe^{+3}) se utilizó el Kit con código HI 93721-01, el cual se basa en la adaptación del método Fenantrolina 315B, de la EPA para aguas naturales y tratadas. Ver Anexo 7.

➤ Fosfatos

Es común encontrar fosfatos en el agua. Son nutrientes para la vida acuática y limitantes del crecimiento de las plantas. Sin embargo, su presencia está asociada con la eutrofización de las aguas, con problemas de crecimiento de algas indeseables en embalses y lagos, con acumulación de sedimentos, etcétera. Las normas de calidad de agua no han establecido un límite definitivo. Sin embargo, es necesario estudiar la concentración de fosfatos en el agua, su relación con la productividad biológica y los problemas que estos pueden generar en el proceso de filtración y en la producción de olores.

Para la medición de Fosfatos se utilizó el Método Aminoácido, una adaptación del Estándar Método para la Examinación de Agua y Aguas Tratadas (20^{va} Edición). Se utilizó los Kit con códigos HI 93717A – 0 y HI 93717B – 0, los cuales contienen Molibdato y Aminoácido respectivamente. Ver Anexo 8.

➤ Nitratos

Los nitratos están presentes en la naturaleza por la descomposición de materia orgánica por microorganismos, además las fuentes nitrogenadas de algunos fertilizantes contienen en proporción diferentes concentración de nitrógeno en forma amoniacal y en forma nítrica. Las plantas absorben el nitrógeno en forma de nitratos NO^{-3} , por tal motivo conocer la concentración en aguas de riego es importante.

Para la medición de Nitratos se utilizó el Método de Reducción por Cadmio, para el cual se utiliza el Kit con código HI 93728-01, el cual contiene Ácido Sulfanílico, Cadmio y Sulfato de Cobre. Ver Anexo 9.

➤ Nitritos

Los nitritos son un producto intermedio en el ciclo del nitrógeno y se producen durante la oxidación del amoníaco en el agua, o incluso se originan directamente en los residuos industriales. No deben estar presentes en el agua potable y pueden ser perjudiciales para los organismos acuáticos incluso en bajas concentraciones

Adaptación del Método de Sulfato de Hierro. Se utilizó el Kit con código HI 93708 – 01, el cual contiene Sulfato de Hierro Heptahidratado. Ver Anexo 10.

2.4.3 Parámetros Biológicos Monitoreados

➤ Conteo celular:

Este parámetro fue medido exclusivamente para *Chlorella sp.* por tener células más definidas. La densidad celular se determinó mediante el uso de Hematocitometro o cámara de conteo celular de Neubauer que es un dispositivo, mediante el cual se puede determinar el número de partículas suspendidas en un volumen conocido y de esta manera saber el número en el recipiente original.

La cámara de Neubauer es un portaobjetos de conteo para su uso en el microscopio óptico, con una depresión central en el fondo de la laminilla, en la

que se ha marcado una retícula micrométrica. Es un cuadrado de 3 mm x 3 mm, con una separación entre dos líneas consecutivas de 0.25 mm. Así pues, el área sombreada corresponde a 1 milímetro cuadrado. La depresión central del cubreobjetos está hundida 0.1 mm respecto a la superficie, de forma que, cuando se coloca el cubreobjetos, este dista de la superficie marcada 0.1 mm, y el volumen comprendido entre la laminilla y el aérea reticulada es de 0.1milímetro cúbico.

El proceso de conteo celular fue el siguiente:

- Tomar 1 mL de la muestra del cultivo con la ayuda de una pipeta Pasteur y colocarla en un vial.
- Fijar la muestra con lugol concentrado (1 gota) y homogenizarla
- Limpiar la cámara de conteo
- Colocar una gota de la muestra en la cámara de conteo, tratando de que ésta se extienda uniformemente en toda el área.
- Observar la muestra a través del microscopio para la realización del conteo por triplicado, dicho conteo se realiza en los cuadrados del centro (Figura N°3.5) luego del cual se obtiene la media aritmética de sólo 5 cuadrantes y se lleva a la siguiente fórmula:

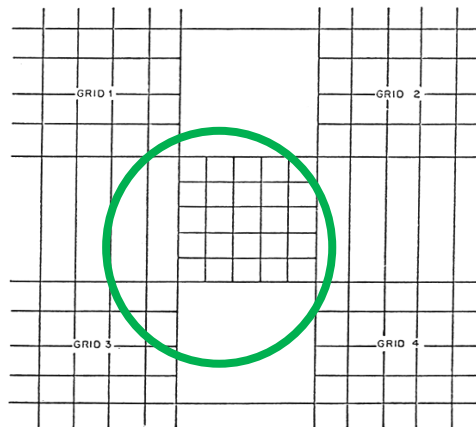


Figura N°3.6: Cámara de Neubauer

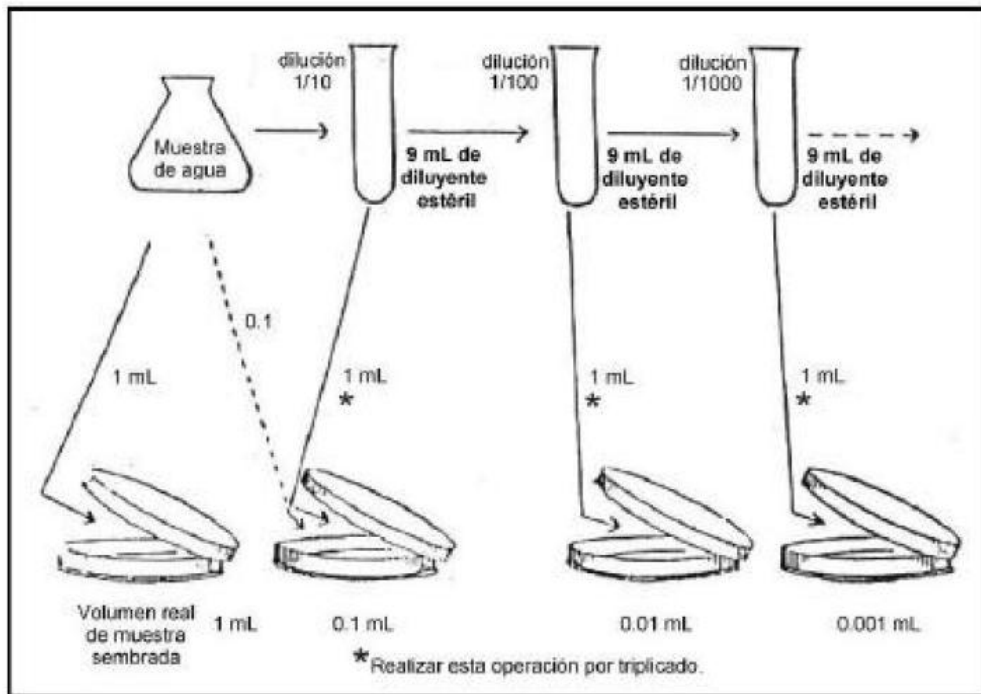
$$N^{\circ} \text{ células por mL} = (N^{\circ} \text{ de células de cuadrantes})/5 \times 250000$$

➤ Biomasa Húmeda

Se tomó muestras interdiarias de cada uno de los matraces, utilizando para ello tubos eppendorf los cuales fueron primeramente rotulados y pesados en una balanza analítica posteriormente se tomó 1.5mL de muestra y se centrifugó a 3500 RPM, luego se extrajo el sobrenadante (agua clara) y se volvió a pesar los tubos eppendorf con el precipitado final, la resta del peso final menos el inicial nos proporcionó el valor de la biomasa húmeda (g.) en 1.5mL de muestra pero para los cálculos respectivos se extrapoló a 1L de muestra.

2.4.5 Recuento de bacterias mesófilas aerobias.

➤ Para el recuento de bacterias mesófilas se siguió la técnica de placa vertida, que se resume en la (Figura N°3.6) y se detalla el protocolo en el Anexo 11.



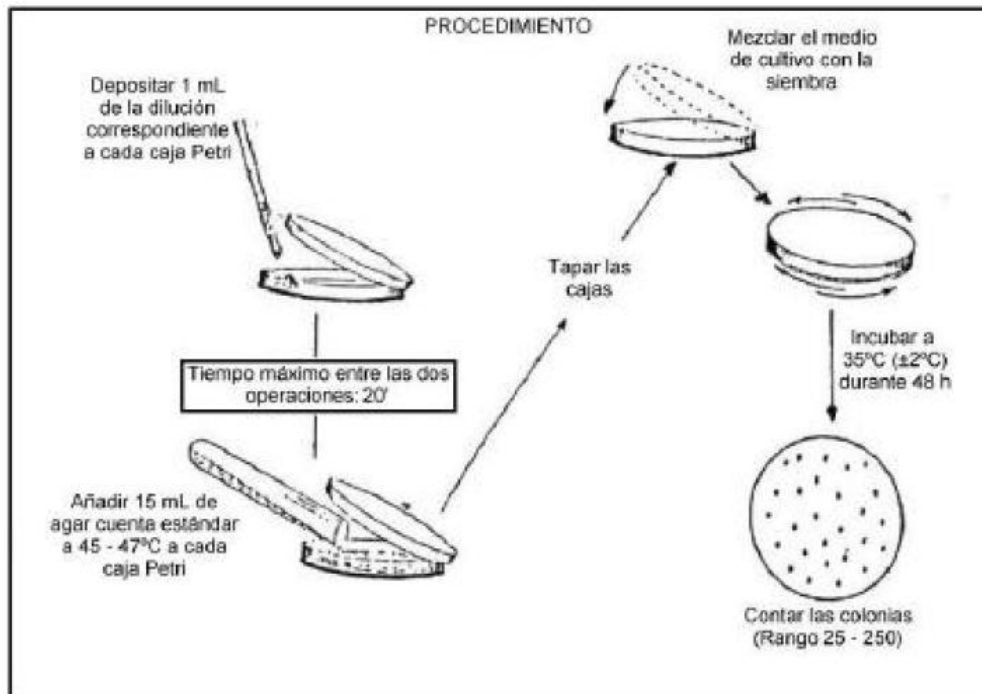


Figura N°3.7. Preparación de diluciones decimales y Procedimiento para el recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias.

CAPITULO IV: REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Sistemas integrales de tratamiento de aguas residuales, mediante el uso combinado de digestión anaerobia y microalgas.

AARONSON, S., BERNER, T. Y DUBINSKY, R. 1990a. Microalgae as a source of chemicals and natural products. In: Shelef, G. y Soeder, C. J. (Eds). *Algal biomass. Elsevier. North Holland. Amsterdam.*, 575-602.

AARONSON, S., BERNER, T. Y DUBINSKY, R. 1990b. Microalgae as a source of chemicals and natural products. In: Shelef, G. y Soeder, C. J. (Eds). *Algal biomass. Elsevier. North Holland. Amsterdam.*

ALEXANDER, M. 1999. Biodegradation and bioremediation. *Academic Press. New York.*, 2, 453.

AZOV, Y. G. S. 1982. Operation of high-rate oxidation ponds: theory and experiments. *McGraw-Hill Inc. New York.*, 16.

BENAVENTE M, W. R., MARTÍNEZ A, 2007. Revista Latinoamericana de Química. UNAM - México, 57-59.

BLACKBURN, J. Y. H., W. 1993. The impact of biochemistry, bioavailability and bioactivity on the selection of bioremediation techniques. *TIBTECH. 11*, 328.

BURLEW, J. S. 1987. Algal culture from laboratory to pilot plant. *Carnegie Institution of Washington pub. Washington.*, 375.

CHAIKLAHAN, R., CHIRASUWAN, N., LOHA, V., TIA, S. & BUNNAG, B. 2011. Separation and purification of phycocyanin from *Spirulina* sp. using a membrane process. *Bioresour Technol*, 102, 7159-64.

CHECKLIST, C. O. L. A. 2011. Indexing the world's known species. The Integrated Taxonomic Information System (ITIS). *Species 2000* (www.sp2000.org)

DOOD, J. 1980. Algae production and harvesting from animal wastewaters. . *Applied Science Publishers Ltd, England.* , 23-37.

EDZWALD, J. K. 1994. "Principles and applications of dissolved air flotation". *Department of Civil and Engineering, University of Massachusetts, Marston Hall, Amherst, Massachusetts 01003-5205, USA*, 26-28.

EL HALOUANI, H. 1990. Lagunage a Haut rendement: caracterisation physico-chimique de l'écosysteme etude de son aptitude a l'élimination de l'azote et du phosphore dans l'épuration de eaux usees. *Tesis doctoral, Montpellier (France)*, 154.

EWEIS, J. B., ERGAS, S. J., CHANG, D. P. Y. Y SCHROEDER, E. D. 1999. Principios de biorrecuperación. Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. *Ed. Mc GrawHill, Madrid.*

- FALLOWFIELD, H. J. M. K. G. 1985. The treatment of wastes by algal culture. *Journal of Applied Bacteriology*, 187 - 205.
- FEDERATION, A. P. H. A. A. W. W. A. W. E. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *Washington DC, USA*, 20th Edition, 2-54
- FORYSTHE, S., J. 2000. Higiene de los alimentos. *Microbiología y HACCP. 2 edición. Acribia, S.A.*
- GALLARDO, M. A. C. S. Y. T. 1990. Dinámica temporal de las microalgas de un tratamiento terciario de aguas residuales urbanas a escala de laboratorio. *Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad Complutense. E-28040 Madrid.*
- GARCÍA, J. 1990. Memorias de las conferencias sobre: Tratamiento anaerobio de Aguas Residuales en América Latina. Ciudad Universitaria, México, D.F.
- GEORGE TCHOBANOGLOUS 2000. Sistema de manejos de aguas residuales. *Mc Graw – Hill Interamerica, Santafé de Bogotá, Colombia.*
- GONZÁLEZ, J. M. B., E. Y LUIS, E. 2001. Limnología de sistemas experimentales de lagunaje para el tratamiento de aguas residuales. *Limnetica.*
- GONZÁLEZ, M. S. 2005. Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. *Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma de México.*
- HANNA, H. F. J. Y. 1990. Algal-bacterial symbiosis for removal and conservation of wastewater nutrients. *WPCF 43*, 580-594.
- HENZE, M., P. HARREMOES, J. LA COUR JANSEN, E. ARVIN. 1991. Wastewater treatment. *Springer, Berlin.*
- HERNANDEZ, E. & OLGUIN, E. J. 2002. Biosorption of heavy metals influenced by the chemical composition of *Spirulina* sp. (*Arthrospira*) biomass. *Environ Technol*, 23, 1369-77.
- KANNO, T. U., KAZIE 2005. “Chlorella vulgaris: The Powerful Japanese Medicinal Green Algae as a Biological Response Modifier”. *Woodland Publishing*, 63.
- KOJIMA, H. A. L. Y. K. 2001. Photosynthetic microorganisms in Environmental Biotechnology. Springer-Verlag. *Hong-Kong.*, 310
- LAGREGA, M. D. B., P. L.; EVANS, J. C. AND ENVIRONMENTAL RESOURCES MANAGEMENT. 2001. Hazardous waste management. *Mc Graw-Hill.*, 7-23.
- LEOPOLDO NARANJO-BRICEÑO, D. R.-T., HÉCTOR GONZÁLEZ, RUBÉN TORRES PARRA, JORGE ZEGARRA NARRO, LUCÍA SENA D’ANNA, Y DAYNET SOSA DEL CASTILLO 2010. *Arthrospira platensis* como biofactoría de metabolitos secundarios de

- interés farmacológico: el ácido pipercolico. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 1.
- LINCOLN, E. P. K., B 1986. Bioflocculation of microalgae in mass cultures. In: Algal Biomass Technologies. *Barclay, W.R. & Macintosh, R.P. eds.*). *Nova Hedwigia Beiheft*83, 207- 211.
- LÓPEZ, T. R. 2011. Desarrollo de *Chlorella* spp. en riles orgánicos pesqueros y su influencia en la remoción de la contaminación. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, XXXII, 32-38.
- LUZ E. DE BASHAN, J. P. H., Y YOAV BASHAN 2000. Utilidad de las bacterias de uso agrícola para el crecimiento de algas empleadas en el tratamiento de aguas residuales. *Biomédicas de la UNAM.México*.
- MAHRO, B. 2000. Bioavailability of Contaminants. En Biotechnology. Environmental Processes II. Soil Descontamination. *Wiley-VCH.*, Volume 11b, 63-87.
- MANSO, V. S. M. 1990. Domestic sewage treatment by UASB reactor in Brazil. En: Memorias de las conferencias sobre: Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales de América Latina.
- MARA, D. D. S. C. 1990. irectrices para el uso sin riesgos de aguas residuales y excretus en agricultura y acuicultura. Medidas de protección de la salud pública. *OMS. Ginebra*, 210.
- MARGALEF, R. 1982. Ecología. *Editorial Omega. Barcelona*, 951.
- MEDINA, M., GUTZEIT, G. Y NEIS, U. 2005. BIOMASA BACTERIO-ALGAL: UNA ALTERNATIVA PARA EL MEJORAMIENTO DE SISTEMAS NATURALES DE TRATAMIENTO DE AGUA. *Seminario Internacional sobre Métodos Naturales para el Tratamiento de Aguas Residuales, España*.
- METCALF & EDDY, I. 1991. Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse. *McGraw-Hill Inc. New York.*, 3, 1334.
- METROPOLITANA, C. R. 2010. <http://www.conamarm.cl/article-908.html>.
- MIKE F. ADKINS, D. I. H. 1994. "Dissolved air flotation pilot trials at Castor and Lac La Biche water treatment plants Alberta, Canada". *Investigación llevada a cabo por Reid Crowther and Partners. #300 Atrium VII, 340 Midpark Way S.E. Calgary, Alberta, T2X 1P1 Canada*.
- MORONTA R, M. R. Y. M. E. 2006. “Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas”. *Venezuela Rev. Fac. Agronomía*.
- PICOT, B., EL HALOUANI, H., CASELLAS, C., MOERSIDIK, S. & BONTOUX, J. 1991. Nutrient removal by high rate pond system in a Mediterranean climate. *Wat. Sci. Tech.*, 23, 1535-1541.

- POULIOT, Y. Y. D. L. N., J. 1985. Mise au point d'une installation-pilote d'épuration tertiaire des eaux usées par production de microalgues. *Revue Francais des sciences de l'eau* 4, 207-222.
- REDALJE, D. G. E. A. 1989. Algae as ideal waste removers: biochemical pathways. In: *Biotreatment of agricultural wastewater*. C. R. C. Press. Florida,, 91-210.
- RICHIMOND, A. 1986. Handbook of Microalgal mass culture. CRC press. Boca Raton, Florida., 528.
- RODRIGUES M.S., F. L. S., CONVERTI A., SATO S., CARVALHO J.C.M. 2010. Fed-batch cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*: potassium nitrate and ammonium chloride as simultaneous nitrogen sources. *Bioresource Technol*, 101, 4491-4498.
- RUIZ MARIN, M. E., L.G. 2010. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource Technology*, 101, 58-64.
- SANCHA, A. M. 1999. "Normas Especiales que atañen a la Contaminación por RILES". <http://cipres.cec.uchile.cl/~palfaro>.
- TOMASELLI, V. A. 2000. The Ecology of Cyanobacteria. "Arthrospira (*Spirulina*): Systematics and ecophysiology". . *Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Holanda*, 505-522.
- TRIPATHI, B. D. Y. S., S. C. 1991. Biological treatment of wastewater by selected aquatic plants. *Environmental Pollution*. 69 - 78.
- VARGAS, A. R. 2004. RESIDUOS INDUSTRIALES LIQUIDOS. *Facultad de Biotecnología, Universidad de Iztalapa, México*.
- VUUREN, J. H. L. R. J. V. 2006. Design parameters for dissolved air flotation in South Africa. *dept. Of Civil Engineering, Rand Afrikaans University, P.O. Box 524, Auckland Park, SOUTH AFRICA.*, 26-28.
- YALILE ALFONSO VALDÉS, M. F. B. S. 2008. ALGAS, ALIADAS EN EL PASADO Y SUSTENTO PARA EL FUTURO. *TECNOLOGÍA QUÍMICA*, XXVIII.

Anexo 2. Medio de Cultivo para *Arthrospira sp.*

Spirulina Medium (modified)

Aiba and Ogawa 1977, Schlösser 1994

Primero es necesario preparar las soluciones stock. Seguidamente, preparar Soluciones I y II; Solución II incluye 1mL de la solución stock de la traza de metales pero no del stock de vitaminas. Autoclavar la solución I y II y enfriar; asépticamente combinar las dos soluciones y añadir 1mL de la solución de Cyanocobalamina (B12).

Componente	Solución Stock	Cantidad	Concentración Molar en el Medio Final
Solución I	500 mL	---	---
NaHCO ₃	---	13.61 g	1.62 x 10 ⁻⁴ M
Na ₂ CO ₃	---	4.03 g	3.80 x 10 ⁻⁵ M
K ₂ HPO ₄	---	0.50 g	2.87 x 10 ⁻⁶ M
Solución II	500 mL	---	---
NaNO ₃	---	2.5 g	2.94 x 10 ⁻⁵ M
K ₂ SO ₄	---	1.0 g	5.74 x 10 ⁻⁶ M
NaCl	---	1.0 g	1.71 x 10 ⁻⁵ M
MgSO ₄ 7H ₂ O	---	0.2 g	8.11 x 10 ⁻⁷ M
CaCl ₂ 2H ₂ O	---	0.04 g	2.72 x 10 ⁻⁷ M
FeSO ₄ 7H ₂ O	---	0.01 g	3.60 x 10 ⁻⁸ M
Na ₂ EDTA 2H ₂ O	---	0.08 g	2.15 x 10 ⁻⁷ M
Solución traza de metales	(see 110 recipe below)	1 mL	---
Solución stock de vitaminas	(see recipe below)	1 mL	---

Solución Traza de Metales

En 900mL de H₂O disolver el EDTA. Independientemente, disolver cada componente y llevar a volumen final de 1L, autoclavar por separado y combinar asepticamente cuando estén frías.

Componente	Solution Stock Primaria	Cantidad	Concentración Molar en el Medio Final
Na ₂ EDTA 2H ₂ O	---	0.8 g	2.15 x 10 ⁻⁶ M
FeSO ₄ 7H ₂ O	---	0.7 g	2.52 x 10 ⁻⁶ M
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1.0 g L ⁻¹ dH ₂ O	1 mL	3.48 x 10 ⁻⁹ M
MnSO ₄ 7H ₂ O	2.0 g L ⁻¹ dH ₂ O	1 mL	8.97 x 10 ⁻⁹ M
H ₃ BO ₃	10.0 g L ⁻¹ dH ₂ O	1 mL	1.62 x 10 ⁻⁷ M
Co(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	1.0 g L ⁻¹ dH ₂ O	1 mL	3.44 x 10 ⁻⁹ M
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	1.0 g L ⁻¹ dH ₂ O	1 mL	4.13 x 10 ⁻⁹ M
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.005 g L ⁻¹ dH ₂ O	1 mL	2.00 x 10 ⁻¹¹ M

Solución Stock de Cianocobalamina

Disolver la cianocobalamina en 1L. de H₂O esterilizada. Mantener en refrigeración.

Componente	Solution Stock Primaria	Cantidad	Concentración Molar en el Medio Final
cianocobalamin (vit. B ₁₂)	---	5 mg	3.69 x 10 ⁻⁹ M

Anexo 3. Medio de Cultivo para *Chlorella sp.*

Medium BB (Bristol modif. Bold), BOLD (1949): for most of algae

Mix 10 mL de sol. "a", 1 mL "b", 1 mL "c", 1 mL "d", 1 mL "e" y completar con agua destilada hasta 1L.

Stock sol. "a" (1000mL)		Stock sol. "b" (100mL)		Stock sol. "e" (100mL)	
NaNO ₃	25g	Chelaton III	5,0g	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,882g
CaCl ₂ .2H ₂ O	2,5g	KOH	3,1g	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,144g
K ₂ HPO ₄	7,5g	Stock sol. "c" (100mL)		Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,242g
KH ₂ PO ₄	17,5g	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,498g	or MoO ₃	0,071g
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5g	H ₂ SO ₄ conc.	0,1ml	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,157g
NaCl	2,5g	Stock sol. "d" (100mL)		Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,049g
		H ₃ BO ₃	1,142g		

Anexo 4. NCh1333 Norma para Agua de Riego.

Tabla N°1: Norma NCh1333

Parámetros	Máximo Permitido (mg/L)
Aluminio	5.00
Arsénico	0.10
Bario	4.00
Berilio	0.10
Boro	0.75
Cadmio	0,01
Cianuro	0.20
Cloruro	200.00
Cobalto	0.05
Cobre	0.20
Cromo	0.20
Fluoruro	1.00
Hierro	5.00
Litio	2.50
Manganeso	0.20
Mercurio	0.001
Molibdeno	0.010
Níquel	0.20
Plata	0.20
Plomo	5.00
Selenio	0.02
Sodio	35.00 (%)
Sulfato	250.00
Vanadio	0.10
Zinc	2.00
Coliformes fecales	1000(NMP/100mL)
DBO5	600
Sólidos Suspendidos Totales	80

Anexo 5. Medición de Turbidez.

La turbidez, leída en FTU (“Unidad de Turbidez de la Formazina”) está directamente relacionada con la presencia de materia en suspensión en el agua. La unidad de medida adoptada por la Estándar ISO es la FNU (Unidad Nefelométrica de Formalina), mientras que la adoptada por la Estándar EPA es la NTU (Unidad Nefelométrica de Turbidez). Los otros dos métodos usados para medir la turbidez son la JTU (Unidad de Turbidez de Jackson) y la unidad de Sílice (mg/L de SiO₂). La tabla siguiente muestra la relación entre las diferentes unidades de medida:}

	JTU	FTU (NTU/FNU)	SiO₂ (mg/L)
JTU	1	19	25
FTU (NTU/FNU)	0.053	1	0.13
SiO ₂ (mg/L)	0.4	7.5	1

HI 93703

Microprocesador portátil Medidor de Turbidez



HANNA
instruments



<http://www.hannainst.es>

Estos instrumentos cumplen con
las directivas de la CE

PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO

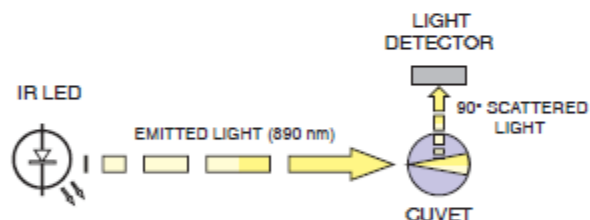
El HI 93703 ha sido diseñado de acuerdo a las normas internacionales ISO 7027.

El funcionamiento del aparato se basa fundamentalmente en iluminar a través de la cubeta (con líquido) y recoger esos destellos de luz.

La fuente de luz es un diodo LED de infrarrojos con una longitud de onda de 890 nm, por lo que las interferencias por el color son mínimas.

Un sensor, posicionado a 90° con respecto a la dirección de la fuente de luz, detecta la cantidad de haces de luz que han sido desviadas en ángulo recto por las partículas no disueltas en el líquido. El microprocesador convierte la medida en valor de NTU*.

Como anotación, La unidad FTU es igual al



NTU Sin embargo, hay otras unidades de medida de turbidez: Jackson Turbidity Unit (JTU), y unidad de Silicio (mg/L de SiO₂). Para ver equivalencias de conversión, vea la tabla siguiente:

	JTU	FTU/NTU	SiO ₂ (mg/L)
JTU	1	19	2.5
FTU/NTU	0.053	1	0.13
SiO ₂ (mg/L)	0.4	7.5	1

ESPECIFICACIONES

HI93703

Rango	0.00 a 50.00 FTU * 50 a 1000 FTU *
Resolución	0.01 y 1 FTU *
Precisión	±5% F.S. (0 a 10 FTU*) ±10% F.S. (10 a 50 FTU*) ±5% F.S. (50 a 1000 FTU*)
Desviación típica EMC	±2% Fondo de escala
Fuente de luz	LED de infrarrojos alta frecuencia
Duración diodos	Duración del aparato
Receptor	Fotocélula de silicio
Alimentación	4 pilas 1.5V AA
Duración pilas	60 horas o 900 mediciones
Auto-apagado	Después de 4 minutos sin usar
Condiciones ambientales	0 a 50°C (32 a 122°F); 0 a 95% RH (no condensada)
Dimensiones	220 x 82 x 66 mm (8.7 x 3.2 x 2.6")
Peso	510 g (18 oz.)

- Antes de insertar la cubeta por el orificio secar y limpiarla correctamente (HI 93703-70).



El cristal de la cubeta debe estar totalmente limpio de huellas dactilares, rayas, suciedad, aceite o cualquier sustancia que pueda interferir en la medición.

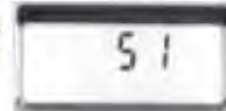
- Coloque la cubeta en el orificio teniendo en cuenta la posición de orientación adecuada.



- La marca del tapón deberá direccionar hacia la LCD. (Las dos flechas deben quedar enfrentadas).



- Presione la tecla READ/↑ mientras se realiza la medición y en la pantalla parpadeará "SIP" ("Sampling in Process"). El valor de la turbidez aparecerá aproximadamente en 25 segundos.



Anexo 6. Medición de Aluminio

ALUMINIO

ESPECIFICACIONES

Rango	0,00 a 1,00 mg/l
Resolución	0,01 mg/l
Precisión	±0,02 mg/l ±4% de lectura
Desviación EMC Típica	±0,01 mg/l
Fuente de Luz	Lámpara de tungsteno con filtro de interferencia de banda estrecha @ 525 nm
Método	Adaptación del método aluminon. La reacción entre el aluminio y los reactivos origina una coloración rojiza en la muestra.

REACTIVOS NECESARIOS

Código	Descripción	Cantidad
HI 93712A-0	Acido Ascórbico	1 paquete
HI 93712B-0	Reactivo Aluminon	1 paquete
HI 93712C-0	Polvo blanqueante	1 paquete





LOTES DE REACTIVOS


HI 93712-01 Reactivos para 100 tests


HI 93712-03 Reactivos para 300 tests

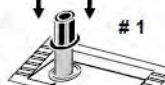
Para otros accesorios consulte la página 141.

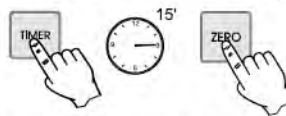
PROCEDIMIENTO DE MEDICION

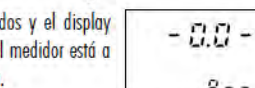
- Seleccione el número de programa correspondiente a Aluminio en el nivel secundario del display pulsando PROGRAM ▼ y ▲. 
- Llene un vaso graduado con 50 ml de muestra. 
- Añada el contenido de un paquete de Reactivo Acido Ascórbico HI 93712A y mézclelo hasta que la disolución sea completa. 
- Añada el contenido de un paquete de Reactivo Aluminon HI 93712B y mézclelo hasta que la disolución sea completa. Esta es la muestra. 

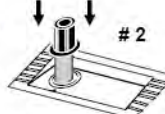
- Llene dos cubetas con 10 ml de muestra cada una (hasta la marca). 

- Añada el contenido de un paquete de Polvo Blanqueante HI 93712C a una de las dos cubetas. Coloque la tapa y agítela vigorosamente hasta que la disolución sea completa. Este es el blanco. 

- Coloque el blanco en el porta-cubetas y asegúrese de que la muestra de la tapa esté situada en la ranura. 

- Pulse TIMER y el display mostrará la cuenta atrás previa a la puesta a cero del blanco. Como alternativa espere 15 minutos y pulse ZERO. El mensaje "SIP" parpadeará durante la puesta a cero. 

- Espere unos pocos segundos y el display mostrará "-0.0-". Ahora el medidor está a cero y listo para medición. 

- Retire el blanco e inserte la otra cubeta en el instrumento. 

- Pulse READ DIRECT. "SIP" parpadeará durante la medición. 

- El instrumento muestra directamente la concentración en mg/l de aluminio en el display.

INTERFERENCIAS

Las interferencias pueden estar causadas por:

Hierro superior a 20 mg/l

Alcalinidad superior a 1000 mg/l

Fosfato superior a 50 mg/l

No debe contener Fluoruro

Anexo 7. Medición de Hierro

HIERRO RANGO ALTO

ESPECIFICACIONES

Rango	0,00 a 5,00 mg/l
Resolución	0,01 mg/l
Precisión	$\pm 0,04$ mg/l $\pm 2\%$ de lectura
Desviación	$\pm 0,01$ mg/l
EMC Típica	
Fuente de Luz	Lámpara de Tungsteno con filtro de interferencia de banda estrecha @ 525 nm
Método	Adaptación del método <i>Phenantrolina 315B</i> , de EPA para aguas naturales y tratados. La reacción entre el hierro y los reactivos origina una coloración naranja en la muestra.

REACTIVOS NECESARIOS

Código	Descripción	Cantidad
HI 93721-0	Reactivo en polvo	1 paquete

LOTES DE REACTIVOS

HI 93721-01 Reactivos para 100 tests

HI 93721-03 Reactivos para 300 tests

Para otros accesorios consulte la página 141.

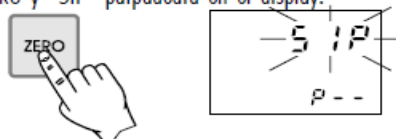
PROCEDIMIENTO DE MEDICION

- Seleccione el número de programa correspondiente a Hierro R. Alto en el nivel secundario del display pulsando PROGRAM ▼ y ▲.

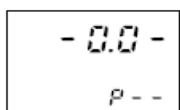
- Llene la cubeta con 10 ml de muestra sin tratar (hasta la marca) y coloque la tapa.

- Coloque la cubeta en el porta-cubetas y asegúrese de que la muesca de la tapa coincida perfectamente en la ranura.

- Pulse ZERO y "SIP" parpadeará en el display.



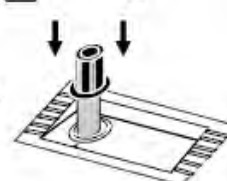
- Espere unos pocos segundos y el display mostrará "-0.0-". Ahora el medidor está a cero y listo para medición.



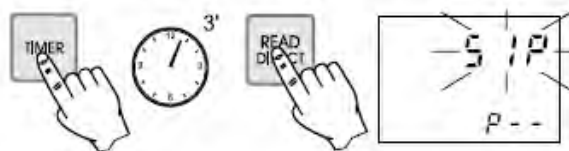
- Retire la cubeta y añada el contenido de un paquete de reactivo HI 93721. Coloque la tapa y agítelo hasta que la disolución sea completa.



- Reinserte la cubeta en el instrumento.



- Pulse TIMER y el display mostrará la cuenta atrás previa a la medición o, como alternativa, espere 3 minutos y pulse READ DIRECT. En ambos casos "SIP" parpadeará durante la medición.



- El instrumento muestra directamente la concentración en mg/l de hierro en el display.

INTERFERENCIAS

Las interferencias pueden estar causadas por:

Molibdeno como Molibdato superior a 50 ppm

Calcio superior a 10000 ppm (como CaCO₃)

Magnesio superior a 100000 ppm (como CaCO₃)

Cloruro superior a 185000 ppm.

Anexo 8. Medición de Fosfato

FOSFATO RANGO ALTO

ESPECIFICACIONES

Rango	0,0 a 30,0 mg/l
Resolución	0,1 mg/l
Precisión	±1 mg/l ±4% de lectura
Desviación	±0,1 mg/l
EMC Típica	
Fuente de Luz	Lámpara de Tungsteno con filtro de interferencia de banda estrecha @525 nm
Método	Adaptación del método Aminoácido de <i>Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18ª edición</i> . La reacción entre el fosfato y los reactivos origina un tinte azul en la muestra.

REACTIVOS NECESARIOS

Código	Descripción	Cantidad
HI 93717A-0	Molibdato	10 gotas
HI 93717B-0	Aminoácido	0,5 ml
HI 93717B-P	Aminoácido en polvo	2 paquetes para 100 tests

LOTES DE REACTIVOS

HI 93717-01 Reactivos para 100 tests

HI 93717-03 Reactivos para 300 tests

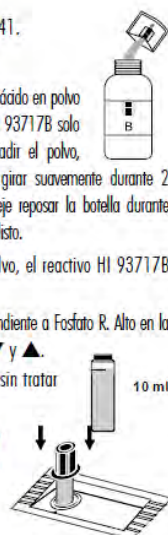
Para otros accesorios consulte la página 141.

PROCEDIMIENTO DE MEDICION

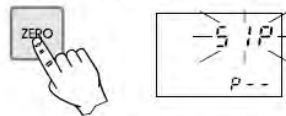
- Añada el contenido de un paquete de Aminoácido en polvo HI 93717B-P a la botella de Aminoácido HI 93717B solo cuando lo usa por primera vez. Tras añadir el polvo, coloque la tapa de la botella y hágala girar suavemente durante 2 minutos para que el polvo se disuelva. Deje reposar la botella durante aprox. 5 minutos, entonces el reactivo está listo.

Nota: tras añadir el Aminoácido en polvo, el reactivo HI 93717B durará aproximadamente un mes.

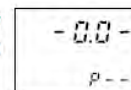
- Seleccione el número de programa correspondiente a Fosfato R. Alto en la pantalla secundaria pulsando PROGRAM ▼ y ▲.
- Llene la cubeta con 10 ml de muestra sin tratar (hasta la marca) y coloque la tapa.
- Coloque la cubeta en el porta-cubetas y asegúrese de que la muesca de la tapa coincida perfectamente en la ranura.



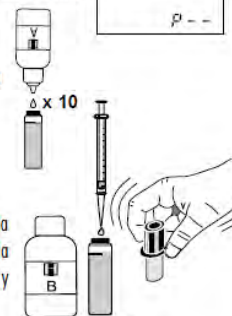
- Pulse ZERO y "SIP" parpadeará en el display.



- Espere unos pocos segundos y el display mostrará "-0.0-". Ahora el medidor está a cero y listo para medición.

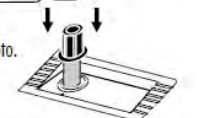


- Retire la cubeta.
- Añada 10 gotas de reactivo Molibdato HI 93717A.



- Añada a la cubeta 0,5 ml de la solución preparada en la botella HI 93717B. Coloque la tapa y haga girar la solución.

- Reinserte la cubeta en el instrumento.



- Pulse TIMER y el display mostrará la cuenta atrás previa a la medición o, como alternativa, espere 5 minutos y pulse READ DIRECT. En ambos casos "SIP" parpadeará durante la medición.



- El instrumento muestra directamente la concentración en mg/l de fosfato (PO_4^{3-}) en el display.

INTERFERENCIAS

Las interferencias pueden estar causadas por:

Sulfuro

Cloruro superior a 150000 mg/l

Calcio superior a 10000 mg/l como $CaCO_3$

Magnesio superior a 40000 mg/l como $CaCO_3$

Hierro ferroso superior a 100 mg/l

Anexo 9. Medición de Nitrato

NITRATO

ESPECIFICACIONES

Rango	0,0 a 30,0 mg/l
Resolución	0,1 mg/l
Precisión	$\pm 0,5 \text{ mg/l} \pm 10\%$ de lectura
Desviación	$\pm 0,1 \text{ mg/l}$
EMC Típica	
Fuente de Luz	Lámpara de Tungsteno con filtro de interferencia de banda estrecha @ 525 nm
Método	Adaptación del método de reducción por cadmio. La reacción entre el nitrato y el reactivo origina una coloración ámbar en la muestra.

REACTIVOS NECESARIOS

Código	Descripción	Cantidad
HI 93728-0	Reactivo en polvo	1 paquete

LOTES DE REACTIVOS

HI 93728-01 Reactivos para 100 tests

HI 93728-03 Reactivos para 300 tests

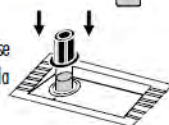
Para otros accesorios consulte la página 141.

PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN

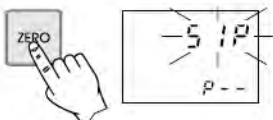
- Seleccione el número de programa correspondiente a Nitrato en el nivel secundario del display pulsando PROGRAM ▼ y ▲.
- Mediante la pipeta, llene la cubeta con 6 ml de muestra, hasta la mitad de su altura, y coloque la tapa.



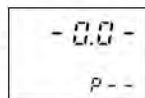
- Coloque la cubeta en el porta-cubetas y asegúrese de que la muesca de la tapa coincida perfectamente en la ranura.



- Pulse ZERO y "SIP" parpadeará en el display.



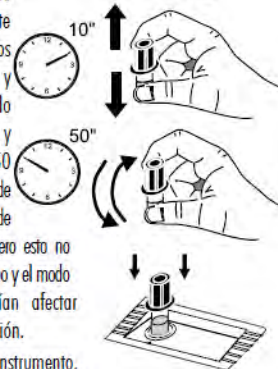
- Espere unos pocos segundos y el display mostrará "0.0". Ahora el medidor está a cero y listo para medición.



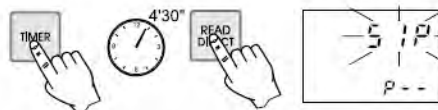
- Retire la cubeta y añada el contenido de un paquete de reactivo HI 93728.



- Coloque la tapa e inmediatamente agítelo vigorosamente durante exactamente 10 segundos moviendo la cubeta arriba y abajo. Siga mezclándola invirtiendo la cubeta suave y lentamente durante 50 segundos, teniendo cuidado de que no se formen burbujas de aire. Queda un depósito, pero esto no afecta a la medición. El tiempo y el modo en que se agite podrían afectar sensiblemente a la medición.



- Reinserte la cubeta en el instrumento, teniendo cuidado de no agitarla.
- Pulse TIMER y el display mostrará la cuenta atrás previa a la medición o, como alternativa, espere 4 minutos y 30 segundos y pulse READ DIRECT. En ambos casos "SIP" parpadeará durante la medición.



- El instrumento muestra directamente la concentración en mg/l de nitrógeno en forma de nitrato en el Display.
- Para convertir la lectura a mg/l de nitrato (NO_3^-), multiplique por un factor de 4,43.

INTERFERENCIAS

Las interferencias pueden estar causadas por:

Amoniaco y aminas, como urea y aminas alifáticas primarios

Cloruro superior a 100 ppm (interferencia negativa)

Cloro superior a 2 ppm (interferencia positiva)

Cobre

Hierro (III) (interferencia positiva)

Sustancias fuertemente oxidantes y reductoras

Sulfuro (no debe estar presente)

Anexo 10. Medición de Nitrito

NITRITO RANGO ALTO

ESPECIFICACIONES

Rango	0 a 150 mg/l
Resolución	1 mg/l
Precisión	± 4 mg/l $\pm 4\%$ de lectura
Desviación EMC Típica	± 1 mg/l
Fuente de Luz	Lámpara de Tungsteno con filtro de interferencia de banda estrecha @ 575 nm
Método	Adaptación del método de Sulfato Ferroso. La reacción entre el nitrito y el reactivo origina una coloración verde-amarronada en la muestra.

REACTIVOS NECESARIOS

Código	Descripción	Cantidad
HI 93708-0	Reactivo en polvo	1 paquete

LOTES DE REACTIVOS

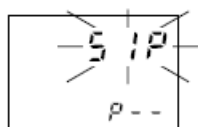
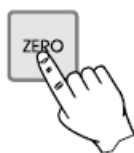
HI 93708-01 Reactivos para 100 tests

HI 93708-03 Reactivos para 300 tests

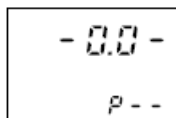
Para otros accesorios consulte la página 141.

PROCEDIMIENTO DE MEDICION

- Seleccione el número de programa correspondiente a Nitrito R. Alto en el nivel secundario del display pulsando PROGRAM ▼ y ▲.
- Llene la cubeta hasta la marca con 10 ml de muestra sin tratar y coloque la tapa.
- Coloque la cubeta en el porta-cubetas y asegúrese de que la muesca de la tapa coincida perfectamente en la ranura.
- Pulse ZERO y "SIP" parpadeará en el display.



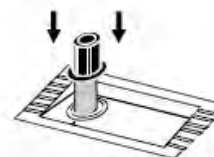
- Espere unos pocos segundos y el display mostrará "-0.0-". Ahora el medidor está a cero y listo para medición.



- Retire la cubeta.

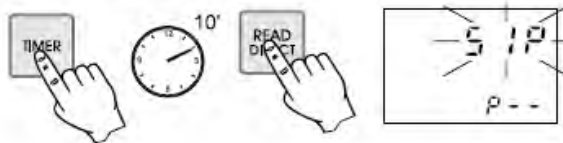


- Añada el contenido de un paquete de reactivo HI 93708. Coloque la tapa y agítelo suavemente hasta que la disolución sea completa.



- Reinserte la cubeta en el instrumento.

- Pulse TIMER y el display mostrará la cuenta atrás previa a la medición o, como alternativa, espere 10 minutos y pulse READ DIRECT. En ambos casos "SIP" parpadeará durante la medición.



- El instrumento muestra directamente la concentración en mg/l de nitrito en el display.
- Para convertir la lectura a concentración en mg/l de nitrógeno como nitrito ($\text{NO}_2\text{-N}$), multiplique la lectura por un factor de 0,304.
- Para convertir la lectura a mg/l de nitrito de sodio (NaNO_2) multiplique la lectura por un factor de 1,5.

Anexo 11. Recuento de bacterias mesófilos aerobios.

En condiciones asépticas:

1. Agitar vigorosamente la muestra de agua, para homogeneizar.
2. Pipetear 1 mL de muestra y verterlo en el primer tubo con 9 mL de agua de dilución estéril, quedando entonces una dilución de 10^{-1} .
3. Agitar para homogeneizar y tomar 1 mL de esta dilución (10^{-1}) y verterlo en el segundo tubo, quedando una dilución de 10^{-2} .
4. Agitar para homogeneizar y tomar 1 mL de esta dilución (10^{-2}) y verterlo en el tercer tubo, quedando una dilución de 10^{-3} . Y así sucesivamente hasta la dilución 10^{-7} .
5. Utilizando pipeta este RIL, tomar 1 mL de la dilución 10^{-1} y verterlo en la caja Petri estéril marcada con 10^{-1} , distribuyéndolo bien en el fondo de la caja Petri vacía. (Fig.).

Efectuar esta misma operación por triplicado.

6. De la misma manera, tomar 1 mL de la dilución 10^{-2} y verterlo en la caja Petri marcada con 10^{-2} .

Efectuar esta misma operación por triplicado.

7. Hacer lo mismo con el tubo de la dilución 10^{-3} y la caja marcada con 10^{-3} .

Efectuar la misma operación por triplicado. Y hacer este mismo procedimiento hasta la 10^{-7} . Es recomendable usar una pipeta estéril para cada dilución.

8. Antes de que pasen 10 minutos, agregar a cada caja Petri el medio de cultivo contenido en un tubo, a una temperatura máxima de 47 °C (todavía líquido).
9. Antes de que el medio de cultivo solidifique homogeneizar cada caja mediante movimientos de translación y rotación en una superficie plana aproximadamente durante 1 minuto evitando que se mojen la tapa y los costados de la caja, de esta manera el agua y el agar son mezclados íntimamente.
10. Dejar reposar las cajas el tiempo necesario para que solidifique el agar.

11. Una vez solidificado el agar en las cajas, incubar en posición invertida con objeto de que el agua de condensación del agar no caiga sobre la superficie del cultivo. Las condiciones de incubación son: 37 °C (± 1 °C) durante 24 horas (± 3 h). Ahora bien, si se desea conocer la flora bacteriana total de la muestra las condiciones serán: 22 °C (± 2 °C), durante 72 horas (± 4 h).

12. Transcurrido el tiempo de incubación contar las colonias que se han desarrollado en cada una de las placas (Figura N°2.8).

AL HACER EL RECUENTO, TENER EN CUENTA LAS SIGUIENTES CONSIDERACIONES:

- Seleccionar las cajas que contengan entre 25 y 250 colonias y descartar las otras.
- Si son varias las que entran en este intervalo, contar todas y seleccionar las del grado de dilución por triplicado que represente menor margen de error en el recuento y como resultado, tomar el promedio de las tres cajas y referirlo al volumen real de muestra sembrado para efectos del cálculo correspondiente.
- Si no hay ninguna caja con un recuento dentro del intervalo mencionado, se hará de aquella que tenga el valor más próximo a cualquiera de los dos extremos. En estos casos los resultados se tomarán como aproximados, excepto en los casos de siembra de muestra directa donde se efectuará, también el recuento en cajas con menos de 25 colonias.
- Si el recuento no se hace en el mismo momento de sacarlas de la incubadora, se pueden conservar las cajas dentro del refrigerador entre 5 y 10 °C, durante un período máximo de 24 horas.

CÁLCULO Y PRESENTACION DE RESULTADOS

Una vez efectuado el recuento de las cajas correspondientes, los resultados obtenidos se elaboran de la siguiente manera:

- Si la cantidad de agua sembrada ha sido de 1 mL la expresión del resultado es directa.

- Si la cantidad de agua sembrada ha sido de 0.1 mL, el número de colonias contadas habrá de dividirse por el volumen de muestra sembrada, es decir, por 0.1, para obtener el número de colonias por mililitro.

EN GENERAL SE TIENE:

Bacterias Mesófilas aerobias/mL = Número de colonias en volumen real de muestra sembrada, en mL.

LOS RESULTADOS SE EXPRESARÁN ASÍ:

NUMERO DE BACTERIAS MESOFILAS AEROBIAS: ____ UFC/mL.