

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES *IN VITRO* POR MEDIO DE LA MICROALGA *CHLORELLA SP* EN EL MUNICIPIO DE BARRANCABERMEJA, COLOMBIA

Wastewater treatment *in vitro* by means of microalgae *Chlorella sp* in the municipality of Barrancabermeja, Colombia

Tratamento de águas residuais *in vitro* por meio da microalga *Chlorella sp* no município de Barrancabermeja, Colômbia

Tafur Alvarez, Jairo Enrique¹. Estrada Palencia, Luliana².

Recibido: 28 de Mayo de 2015

Aceptado: 18 de Agosto de 2015

Resumen

El aumento de la contaminación de los cuerpos hídricos por la descarga de aguas residuales domésticas ha originado una afectación en la calidad del agua, evidenciado por el aumento en las concentraciones de nitratos (NO_3^-) y fosfatos (PO_4^{3-}). El objetivo de este trabajo es determinar el efecto del cultivo de *Chlorella sp.* como método de tratamiento *in vitro* en aguas residuales para la remoción de estos contaminantes. Se llevó a cabo el aislamiento de la microalga y posterior escalamiento y obtención de un cultivo monoalgal. Para el bioensayo se evaluaron 2 tratamientos el primero compuesto por 100% agua residual (T1), mientras que el otro por conformado por 75% agua residual y 25% agua purificada (T2) y un control con fertilizante foliar. El bioensayo se inició con un inóculo de 1×10^6 células/ml en un volumen de cultivo de 1,5 L. Las mayores densidades celulares se alcanzaron en los tratamientos con agua residual ($p > 0,05$) sin diferencias significativas entre ambos. Al final del estudio la remoción de nitratos fue del 64,6% en el control,

¹ Ingeniero Ambiental y de Saneamiento. Instituto Universitario de la Paz. e-mail: jairotafur29@gmail.com

² Ingeniera Ambiental y de Saneamiento. Instituto Universitario de la Paz. e-mail: lluliana2112@gmail.com

seguido de T1 con 50,1% y de T2 con 49,8%. Con respecto a la remoción de fosfatos, en el control se obtuvo una eficiencia del 65,7%, mientras que T1 y T2 alcanzaron mayores remociones 83,8% y 87,0% respectivamente entre los días 1 y 4. De acuerdo a lo anterior se concluye que la microalga *Chlorella* sp. puede ser usada como tratamiento de aguas residuales debido a su capacidad de adaptación y eficiencia obtenida en la remoción de nitratos y fosfatos.

Palabras clave: Bioensayo, eficiencia, nitratos, fosfatos.

Abstract

The increasing pollution of water bodies by domestic sewage discharge has caused an involvement in water quality, evidenced by increased concentrations of nitrates (NO_3^-) and phosphates (PO_4^{-3}). The aim of this study was to determine the effect of the culture of *Chlorella* sp. as a method of *in vitro* wastewater treatment for the removal of these contaminants. The isolation of the microalgae were carried out followed by scaling and obtaining a monoalgal culture. Two treatments for bioassay composed of 100% domestic wastewater (T1) and another 75% wastewater and 25% purified water (T2) and a control with foliate fertilizer. The bioassay started with an inoculum of 1×10^6 cells / ml in a volume of 1.5L culture. The higher cell densities reached in wastewater treatments ($p > 0.05$) with no significant differences between. At endpoint the nitrate removal was 64.6% in the control, followed by T1 and T2 with 50.1% and 49.8%, respectively. With regard to the removal of phosphates, an efficiency of 65.7% was obtained in controlling, while T1 and T2 reached higher removals 87.0% and 83.8% respectively between the days of 1 and 4. According to the above, it is concluded that *Chlorella* sp. can be used as wastewater treatment because of its adaptability and efficiency in nitrate and phosphate removal.

Key words: Bioassay, efficiency, nitrates, phosphates.

Resumo

O aumento da poluição dos corpos d'água pelo lançamento de esgotos domésticos tem causado uma afetação da qualidade da água, evidenciado pelo aumento das concentrações de nitrato (NO_3) e fosfatos (PO_4^{-3}). O objetivo deste estudo é determinar o efeito do cultivo de *Chlorella* sp. como um método de tratamento de águas residuais *in vitro* para remover estes contaminantes.

Foi levado a cabo o isolamento da microalga e posterior escalonamento e obtenção de um cultivo monoalgal. No bioensaio avaliaram-se 2 tratamentos compostos por 100% de água residual (T1) e outro por 75% água residual e 25% de água purificada (T2) e um controle com adubo foliar. O bioensaio iniciou-se com um inoculo de 1×10^6 células / ml num volume de cultivo 1,5L. As mais elevadas densidades celulares foram alcançadas nos tratamentos com água residual ($p > 0,05$), sem diferenças significativas entre ambos. No final do estudo a remoção de nitrato foi de 64,6% no controle, seguido de T1 com 50,1% e de T2 com 49,8%. A respeito da remoção de

fosfatos, no controle foi obtida uma eficácia de 65,7%, enquanto T1 e T2 alcançaram remoções superiores 83,8% e 87,0% respectivamente, entre os dias 1 e 4. De acordo com o anterior, conclui-se que *Chlorella* sp. pode ser usado como tratamento de águas residuais por a sua adaptabilidade e eficiência obtida na remoção de nitratos e fosfatos.

Palavras chave: Bioensaio, eficiência, nitratos, fosfatos.

Introducción

Los microorganismos fotosintéticos han recibido en los últimos años mayor atención como un biosistema alternativo para el tratamiento de aguas residuales. Tales microorganismos se han utilizado principalmente en procesos de tratamiento terciario, debido a su habilidad de remover nutrientes inorgánicos como el nitrógeno y el fósforo de las aguas residuales, los cuales son asimilados para su crecimiento Escorihuela *et al.* (2007). De la Noüe *et al.* (1992). Igualmente a los procesos acoplados a bacterias (quienes realizan la degradación de la materia orgánica) y estas microalgas (quienes utilizan los compuestos inorgánicos), para llevar a cabo una eficiente bioconversión de la energía solar, en la utilización y eliminación de materia orgánica (Salazar 2005).

Los compuestos nitrogenados (nitritos y nitratos) como compuestos de fósforo (fosfatos y otras formas fosfatadas) son nutrientes de las plantas y conducen al crecimiento de algas y gran variedad de microorganismos en las aguas superficiales y dependiendo de la concentración existente en el agua, pueden producir la eutrofización de los cuerpos de agua. Llegando a producir más adelante procesos de descomposición dando como resultado una demanda de oxígeno. Ramalho (1996), Pütz (2012). Además, en unos casos cuando se exige control de la eutrofización de las fuentes receptoras, la remoción de estos compuestos en el agua residual puede ser una condición para el tratamiento de estas aguas. (Romero 1988, 2000).

La implementación de un sistema de tratamiento, a través del cultivo de microalgas, presenta importantes ventajas como 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. Comúnmente las aguas residuales urbanas contienen los nutrientes requeridos para el crecimiento microalgal, por lo que constituyen un medio apropiado para su desarrollo (Andrade *et al.* 2006; Seoanez 1999).

Chlorella sp. es un género de microalga perteneciente a la familia *Oocystaceae*, orden *Chlorococcales* de la división *Chlorophyta* ampliamente estudiada y presenta una alta eficiencia en productividad por su fácil adaptación en condiciones de laboratorio. La sistemática, aislamiento, cultivo y caracterización de cepas nativas de microalgas presentes en cuerpos de agua para el consumo humano constituyen

un objetivo esencial para evaluar la calidad del agua y su posible efecto en casos de eutrofización. Asimismo, el conocimiento de la ecofisiología de las microalgas permite evaluar su potencial biotecnológico y su capacidad mixótrofica para purificar aguas residuales o producción alternativa de biomasa microalgal (Mora *et al.* 2005).

Para el aislamiento y posterior desarrollo de un cultivo de *Chlorella* sp. el primer paso es identificar las condiciones del medio ambiente natural para así llegar a suministrar condiciones idénticas en el laboratorio, ambientes controlados y un medio de cultivo con todos los requerimientos nutritivos necesarios para el crecimiento de la microalga. El segundo paso implica la eliminación de microorganismos no deseados, especialmente aquellos que pueden auto competir con las especie(s) que se quiera aislar. La implementación de diferentes métodos de cultivo es indispensable en este paso; el uso de medios de enriquecimiento, de las técnicas de dilución, de una sola célula de aislamiento por micropipeta, y siembra en estría en agar son ampliamente utilizadas. Esta última es el método preferido para el aislamiento de muchas algas cocoides y algas del suelo, no sólo por la facilidad en su uso, sino también porque cultivos axénicos a menudo puede establecerse directamente sin ningún tratamiento adicional. Posteriormente el paso final requiere el crecimiento continuo en un subcultivo (Andersen 2005).

Las cámaras de crecimiento son ampliamente utilizadas para la incubación de las células aisladas de microalgas. La fuente de luz suministrada y la intensidad deben ser consideradas. Las luces - frías fluorescentes blancas son apropiadas y ampliamente utilizadas; mientras que la luz incandescente debe evitarse. Por otra parte algunas algas requieren un ciclo de luz-oscuridad, es decir, que no crecerán bajo continua condiciones de luz. Para la mayoría de las algas, se utiliza un ciclo de luz-oscuridad entre 12:12 y 16:8 horas. Andersen (2005). Otros factores a tener en cuenta son la temperatura, el pH y la aireación. La mayoría de la especies de microalgas toleran temperaturas entre 16 y 30°C, aunque esto puede variar de acuerdo a la composición del medio de cultivo o la especie cultivada. El pH para la mayoría de las especies de algas cultivadas es entre 7 y 9, siendo el rango óptimo 8.2 - 8.7. La aireación es necesaria para prevenir la sedimentación de las algas, para asegurar que todas las células de la población están igualmente expuestas a la luz y los nutrientes del medio de cultivo (Camacho *et al.* 2012).

Igualmente, la selección del cultivo axénico o no axénico es importante. Un cultivo axénico consiste en la obtención de una sola especie de microalga a partir de una sola célula, libre de contaminantes; mientras que un cultivo no axénico o monoalgal consiste en la obtención de una especie a partir de una sola célula, contaminada parcialmente por otros microorganismos como bacteria y protozoos. Cuando las microalgas están asociadas a bacterias en la naturaleza (no axénicas), se ejerce una interacción que puede ser beneficiosa para ambos; de tal manera que la microalga es capaz de asimilar productos de la actividad bacteriana en el medio. Así mismo, la flora microbiana asociada está implicada en la regulación de parámetros fisiológicos como pH, temperatura y salinidad. Por el contrario, en condiciones axénicas, las microalgas no llegan a alcanzar un crecimiento óptimo,

por carecer de la flora microbiana asociada; la cual le aportará factores esenciales para estimular el crecimiento (Moronta *et al.* 2006; Cañizarez y Ontiveros 1993).

Recientemente algunos cultivos han sido desarrollados en equipos especializados, denominados fotobiorreactores, donde se alcanzan elevadas productividades. Los cultivos son realizados en sistema construidos con tubos de plástico, vidrio o policarbonato, donde es posible controlar las condiciones de cultivo (cantidad de nutrientes, temperatura, iluminación y pH) (Andrade *et al.* 2008).

De acuerdo a lo anterior el objetivo del estudio fue determinar el efecto del cultivo de *Chlorella* sp. como método de tratamiento *in vitro* en aguas residuales para la remoción de nitratos y fosfatos.

Materiales y métodos

Muestreo de fitoplancton de agua dulce

Se llevó a cabo un muestreo simple en la Ciénaga Miramar, ubicada dentro del casco urbano de la ciudad de Barrancabermeja, recolectando un volumen de 0,5L. de muestra de acuerdo a lo recomendado para aguas eutróficas por WPCF, APHA, AWWA (1992). Posteriormente se hizo un pre filtrado de las muestras para la eliminación de organismos no deseados y partículas de gran tamaño de acuerdo a lo descrito por (Andersen 2005).

Preparación de medio de aislamiento y cultivo

Para cumplir con los requerimientos nutricionales de *Chlorella* sp. Se preparó un medio de cultivo utilizando un fertilizante foliar, de acuerdo a lo descrito por Garduño *et al.* (2011), pero con una variación en el tipo y concentración del fertilizante foliar (NPK) a 0,5 ml/l de agua purificada más agar-agar (6 gr/l) con pH 8,3. Para la fase de escalamiento del cultivo monoalgal de *Chlorella* sp. se usó el mismo medio de aislamiento sin agar – agar (medio de cultivo líquido).

Aislamiento de *Chlorella* sp. y establecimiento de un cultivo monoalgal en condiciones controladas

Para el aislamiento de células de *Chlorella* sp. se utilizó el método de estriado en placas de agar reportado por Andersen (2005). Previamente se filtraron las muestras usando filtros de papel Whatman grado 595 (Figura 1.).



Figura 1. Filtrado de fitoplancton por medio de filtros de papel.

Para la observación de células de *Chlorella* sp. en cultivos de laboratorio, se procedió a seleccionar aquellas placas de petri donde se observó crecimiento algal (Figura 2) y la identificación de las células se llevó a cabo teniendo en cuenta las características morfológicas más sobresalientes del género: alga verde unicelular inmóvil de forma elipsoidal Des Abbayes *et al.*, (1989), Infante *et al.*, (2012), Moronta *et al.*, (2006), presencia de plastidios con una o más regiones llamadas pirenoides Ramírez. (2000). Durante la primera etapa (20 días) del cultivo (Figura 3) se evidenció el crecimiento de *Chlorella* sp. y otros tipos de algas de agua dulce como *Demodesmus* sp. (*Scenedesmus* sp.) y Diatomeas.



Figura 2. Cultivo algal. Crecimiento por medio de estriado.

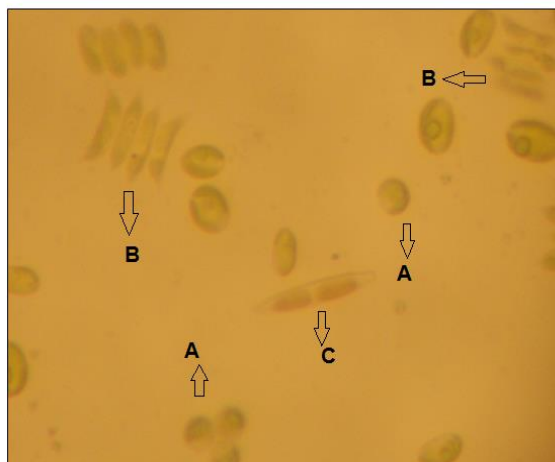


Figura 3. Cultivo de células de *Chlorella* sp. Vista microscopio 40x: A. células *Chlorella* sp. B. células de *Demodesmus* sp. C. células de Diatomeas

El establecimiento del cultivo monoalgal requirió la realización de reaislamientos por medio de subcultivos sucesivos. Para el crecimiento de células de *Chlorella* sp. se mantuvieron las placas de petri bajo condiciones controladas de temperatura de $30^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, suministro de luz por medio de lámparas fluorescentes blancas de 21 Watts con un fotoperiodo de 12:12 horas luz/oscuridad (Moronta *et al.*, 2006; Andrade *et al.*, 2006, 2009).

Escalamiento del cultivo monoalgal de *Chlorella* sp

Los cultivos monoalgales de *Chlorella* sp. en placas se utilizaron para escalar el cultivo en medio líquido a un volumen inicial de 100 ml y posteriormente a un volumen final de 500 ml (Figura 4). A todos los cultivos durante el escalamiento se le proporcionó condiciones controladas de temperatura de $30^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, iluminación lateral suministrada por lámparas fluorescentes, con un fotoperiodo de 12:12 horas luz/oscuridad y aireación constante. (Moronta *et al.*, 2006) y (Andrade *et al.*, 2006 y 2009).



Figura 4. Escalamiento cultivo monoalgal de *Chlorella* sp. (A) Cultivo en un volumen de 100 ml. (B) Cultivo en un volumen de 500 ml.

Muestreo de agua residual para el bioensayo de remoción de nutrientes

Se realizó un muestreo simple recolectando 20L. de agua residual cruda (sin tratamiento), la cual tenía como punto de descarga el Humedal El Castillo. Posteriormente se esterilizó el agua residual cruda con el objetivo de determinar solo el efecto de la microalga *Chlorella* sp. en el bioensayo sin influencia de otro tipo de microorganismo proveniente inicialmente del agua residual.

Montaje de bioensayo y crecimiento de *Chlorella* sp

El bioensayo se llevó a cabo utilizando botellas plásticas con un volumen final 1,5l de agua residual y medio fertilizante foliar, con una concentración de inóculo de 1×10^6 células/ml de *Chlorella* sp. (Figura 5) Se evaluó el crecimiento en 2 tratamientos diferentes: Tratamiento 1 (T1): Agua residual 100%, Tratamiento 2 (T2): Agua residual 75% - agua purificada 25%, control: Fertilizante foliar NPK 0,5 ml/l en agua purificada. Cada tratamiento tuvo 4 repeticiones, ubicadas aleatoriamente. Los cultivos correspondientes al bioensayo se mantuvieron con las mismas condiciones controladas mencionadas en la fase de escalamiento. La duración del bioensayo fue de 21 días. Durante el desarrollo del cultivo se determinó la densidad celular realizando recuentos celulares diarios (Figura 6)

Análisis químico

La determinación de nitratos y fosfatos se realizó por espectrofotometría, utilizando los métodos de reducción de cadmio y espectrofotometría ultravioleta respectivamente. Metodologías descritas por WPCF, APHA, AWWA.; (1992). Los datos se reportaron en unidades de absorbancia (ua).

Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de ANOVA de un solo factor ($p \leq 0,05$) para la prueba de Scheffe's, utilizando el programa estadístico IBM® SPSS® Statistics versión 22 para la determinación de los tratamientos significativamente diferentes.

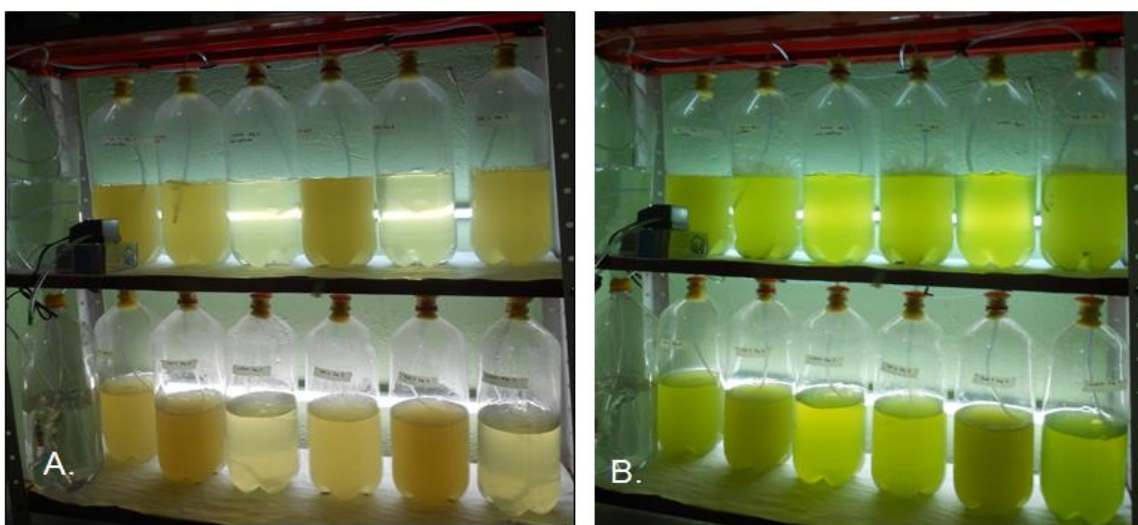


Figura 5. Bioensayo cultivo de *Chlorella* sp. en agua residual y control. (A) Bioensayo sin inoculo, (B) Bioensayo después de la inoculación con *Chlorella* sp.

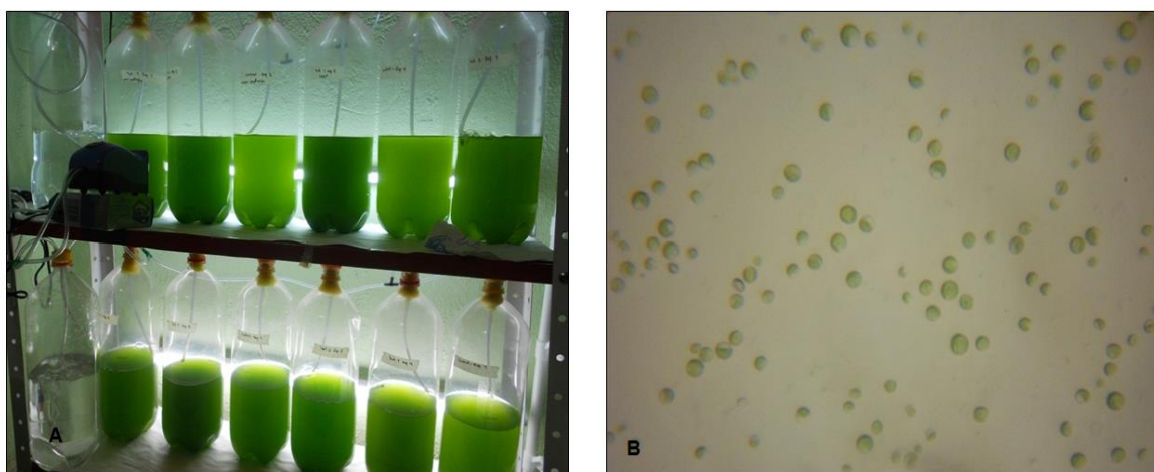


Figura 6. (A) Cultivo después de los 21 días. Durante este periodo el cultivo alcanzó su fase estacionaria. (B) Células de *Chlorella* sp. a los 21 días de cultivo. Vista microscopio a 40X.

Resultados y discusión

Crecimiento de *Chlorella* sp. en agua residual

La microalga *Chlorella* sp. creció satisfactoriamente en todos los medios evaluados, sin embargo, las mayores densidades celulares se obtuvieron en agua residual ($p < 0,05$) tanto para T1 como para T2 en comparación con el control, como se describe en estudios anteriores Andrade *et al.*, (2006), en los que se evaluó el crecimiento de esta alga en agua residual frente a un control de medio comercial. Los valores máximos de crecimiento celular fueron: para T1 $8,9 \pm 0,90 \times 10^6$ cel/ml, para T2 $9,8 \pm 2,80 \times 10^6$ cel/ml y para el control $5,0 \pm 0,91 \times 10^6$ cel/ml.

Las curvas de crecimiento de *Chlorella* sp. en los dos tratamientos y control (Figura 7) evidencian una rápida adaptación de la microalga al medio, tanto de agua residual como el de fertilizante foliar; sin embargo se observa un menor crecimiento en el control durante todo el bioensayo, en la cual las células se adaptaron a las condiciones del medio ingresando desde el día 11 a su fase estacionaria. Con respecto T1 y T2, el crecimiento mayor con respecto al control de *Chlorella* sp. en agua residual se debe posiblemente a la cantidad, disponibilidad y diversidad de nutrientes contenidos en el agua residual (Andrade *et al.*, 2006; Chacón *et al.*, 2004).

De igual manera se evidenció que la curva de crecimiento de T1 y T2 fueron similares durante el bioensayo, lo que indicó que *Chlorella* sp. se adaptó fácilmente a las condiciones nutritivas tanto del medio con 100% agua residual como de agua residual en mezcla con agua purificada sin diferencias significativas ($p>0,05$). Esto evidenció que el agua residual utilizada es un medio que brinda las condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo de *Chlorella* sp., el cual puede ser aprovechado para la obtención de biomasa algal como se comprobó en estudios previos por Andrade *et al.*, (2006), Chacón *et al.*, (2004). Así mismo, se ha señalado la conveniencia del uso de diferentes tipos de aguas residuales como medio de cultivo para el crecimiento algal y se han puesto en práctica lagunas de algas de grandes proporciones con bastante éxito (Andrade *et al.*, 2006).

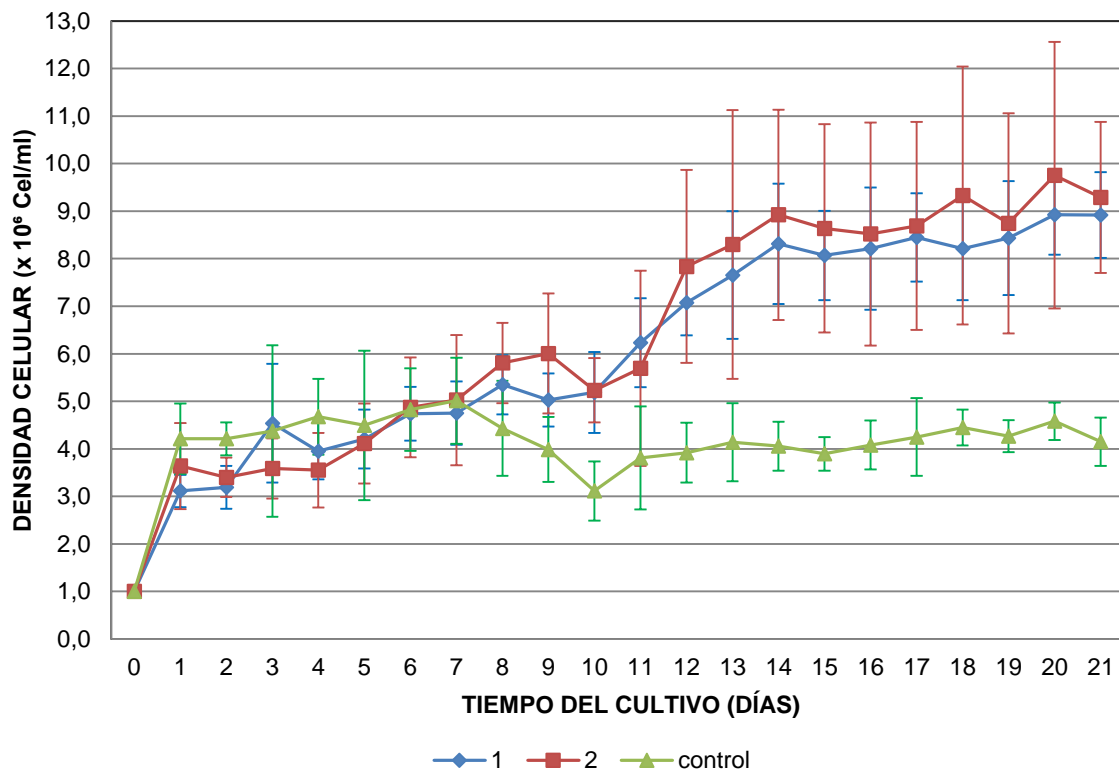


Figura 7. Crecimiento de la microalga *Chlorella* sp. ($\times 10^6$ cel/ml) en agua residual y control

Remoción de nitratos (NO_3^-)

En la remoción de nitratos se observó que para el agua residual y control, *Chlorella* sp. consumió durante todo el bioensayo este nutriente sin obtener diferencias significativas ($p > 0,05$) entre T1 y T2, pero sí de estos tratamientos en relación al control ($p < 0,05$). De acuerdo a la curva de absorbancia de nitratos (Figura 8) para el medio control, se evidenció una reducción en la absorbancia y por ende de la concentración de nitratos del 64,6%, desde el día 8 al 21 (final del ensayo) con valores de $0,749 \pm 0,248$ ua a $0,484 \pm 0,046$ ua. Para los mismos días en los tratamientos con agua residual también se obtuvo una disminución del contenido de nitratos expresados en ua del 50,1% y del 49,8% para T1 y T2 respectivamente. Los valores de T1 fueron de $1,279 \pm 0,193$ ua al $0,641 \pm 0,186$, mientras que para T2 los valores de absorbancia se redujeron de $0,912 \pm 0,171$ ua a $0,455 \pm 0,114$ ua. Teniendo en cuenta este análisis se podría manejar tiempos de retención menores de 10 días o mayores de 15 días para la remoción de NO_3^- .

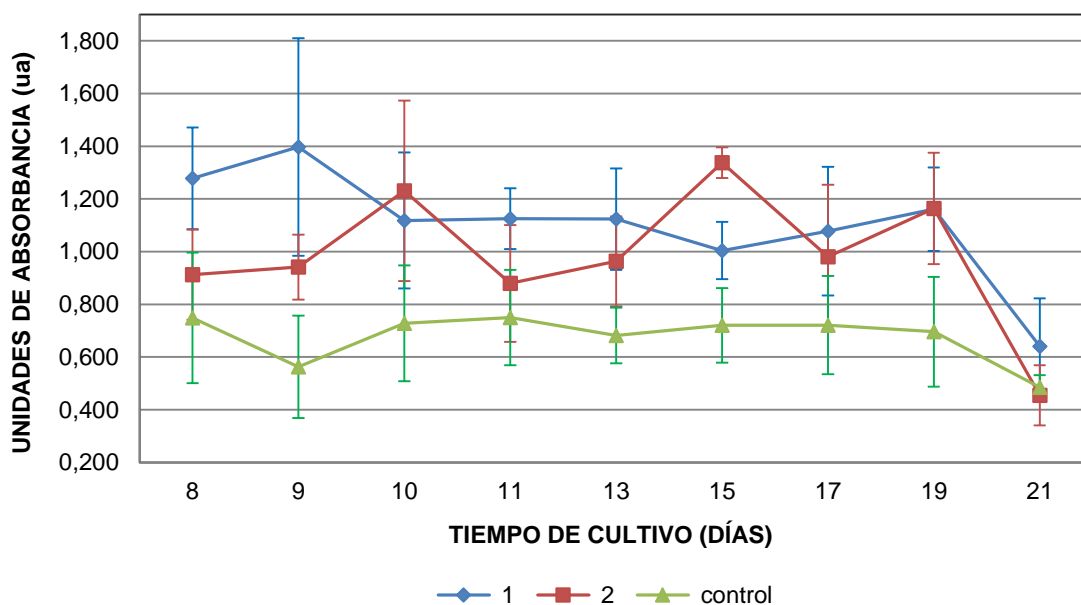


Figura 8. Medición de Absorbancia de Nitratos en agua residual y control.

La eficiencia alcanzada en la reducción del contenido de NO_3^- (Figura 9) en agua residual al implementar un cultivo monoalgal con *Chlorella* sp. en los T1 y T2 (50,1% y 49,8% consecutivamente) fue inferior a lo reportado por Hernández., (2004) el cual logró remociones del 94% y 84% utilizando cultivos co-inmovilizados de dos especies del género *Chlorella* (*C. vulgaris* y *C. sorokiniana*) con *Azospirillum brasilense* y sistemas con la microalga sola respectivamente en agua residual doméstica. Otro estudio realizado por De-Bashan y Bashan., (2003) reporta una eliminación de nitratos del 84% en agua residual sintética co-inmovilizando *Chlorella* sp. No obstante los porcentajes obtenidos en el bioensayo se acercaron a los alcanzados por Roa y Cañizares., (2012) con 60% utilizando la microalga *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizada en agua residual doméstica.

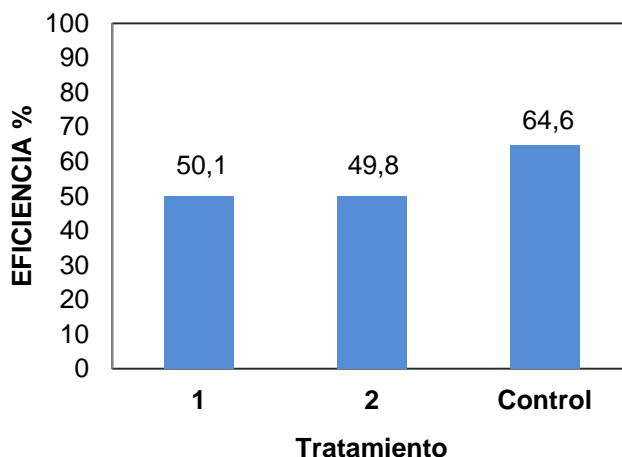


Figura 9. Eficiencia en Remoción Nitratos (NO_3^-) utilizando *Chlorella* sp.

Remoción de fosfatos (PO_4^{3-})

En cuanto a la remoción de fosfatos se logró determinar que no hubo diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos ($p > 0,05$). Sin embargo se obtuvo una mayor eficiencia en la remoción en T2 con 87,0%, registrando valores de absorbancia de $0,265 \pm 0,029$ ua para el día 4 (valor más bajo durante el bioensayo) en relación al día 1 ($0,305 \pm 0,127$ ua), seguido de T1 con una eficiencia del 83,8% con valores de $0,280 \pm 0,033$ ua y $0,335 \pm 0,051$ ua para los días 4 y 1 correspondientemente. Para el control la reducción en la concentración de fosfatos fue del 65,7% con valores de absorbancia para los mismos días del $0,350 \pm 0,057$ y del $0,531 \pm 0,269$ ua (día 4 y 1).

Observando la curva de absorbancia para fosfatos (Figura 10) se detalla un comportamiento fluctuante en los valores para el control, debido posiblemente a que el cultivo entró en fase estacionaria a partir del día 11 (Figura 7) de alguna manera por una deficiencia en algún nutriente en el medio control utilizado. Un comportamiento similar ocurrió en T1 y T2, en los cuales después del día 4 se obtuvo un aumento en los valores de absorbancia seguidos de descensos en los mismos, demostrando la remoción o asimilación de fosfatos por parte *Chlorella* sp. durante el transcurso del bioensayo. Estas fluctuaciones presentadas durante el bioensayo sugirió la posibilidad de que el fósforo al encontrarse en el agua residual en formas fosfatadas (ortofosfatos, polifosfatos y fosfatos orgánicos) Romero., (2000) forman complejos compuestos con la materia orgánica, los cuales en principio no son asimilables por las microalgas, por lo cual estas en acción con otros microorganismos como las bacterias rompen de alguna manera estos compuestos convirtiéndolos así en formas fosfatadas más simples y asimilables para las microalgas. Por lo cual se generó una liberación de fosfatos y asimilación a su vez por parte de *Chlorella* sp. durante el transcurso del bioensayo. No obstante es recomendable revalidar esta interpretación por medio de estudios más exhaustivos en trabajos futuros, en los cuales se analice la transformación o síntesis bioquímica de los compuestos de fósforo contenidos en el agua residual durante el tiempo del bioensayo y la asimilación de estos por parte de la microalga.

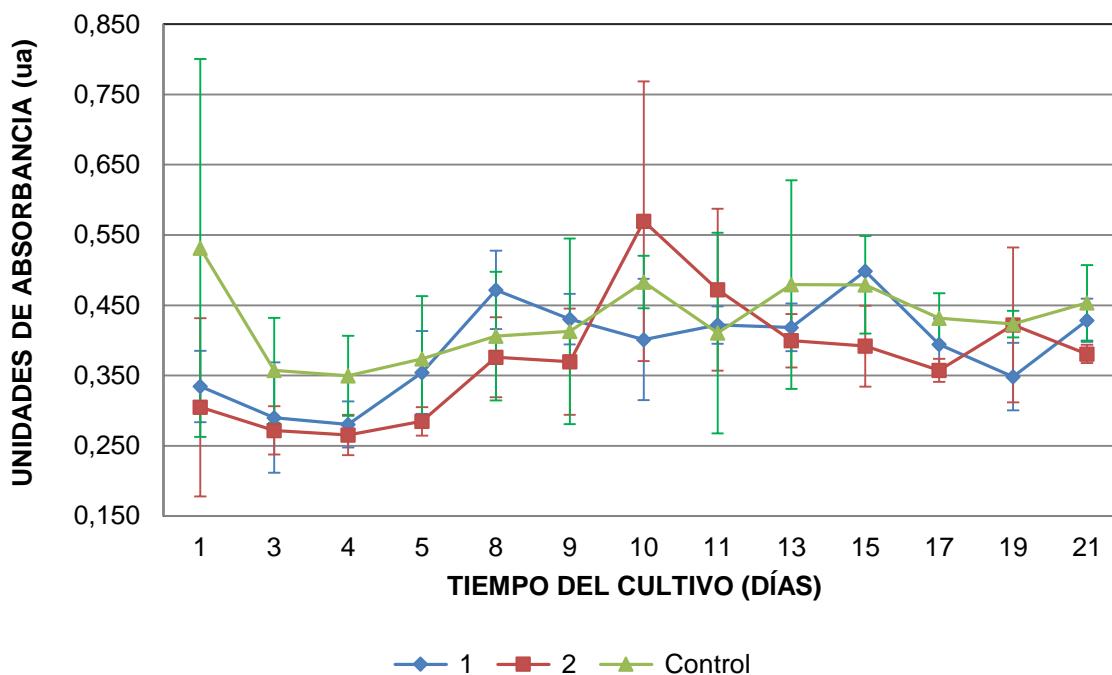


Figura 10. Medición de Absorbancia de Fosfatos en agua residual y control.

Los porcentajes de eficiencia obtenidos en la remoción del contenido de (PO_4^{-3}) (Figura 11) en el agua residual tanto para T1 y T2 (83,8% y 87,0% respectivamente) como para el control (65,7%) fueron superiores a los reportados por Hernández., (2004) en el cual eliminaron 50% del fósforo total con cultivos co-inmovilizados *Azospirillum brasilense* con dos especies del género *Chlorella* en ayuno; igualmente al conseguido por Andrade *et al.*, (2006), los cuales reportaron una remoción de 73,5% de (PO_4^{-3}) en agua residual proveniente de una laguna facultativa y de la misma forma con lo reportado por Roa y Cañizares., (2012) donde obtuvieron una disminución de (PO_4^{-3}) del 47%. De la misma manera Chacón *et al.*, (2004) obtuvieron una remoción máxima de fosfatos para *Chlorella sp.* del 44% en agua residual esterilizada y del 48,7% en agua residual no esterilizada para *Scenedesmus sp.* y cercanos a los reportados en estudios realizados por De – Bashan y Bashan.,(2003) los cuales lograron una eliminación del 89% de fósforo de agua residual sintética con *Chlorella sola* y del 92% co-inmovilizando *Chlorella sp.* con *A. brasilense*. El análisis anterior demostró que para la remoción de fosfatos no se puede dejar las células de *Chlorella sp.* mucho tiempo en el agua residual. De acuerdo a las curvas obtenidas el tiempo sería menor a 4 días, en los cuales como se describió anteriormente se lograron los valores más bajos de absorbancia y por ende mayor remoción de fosfatos durante el bioensayo.

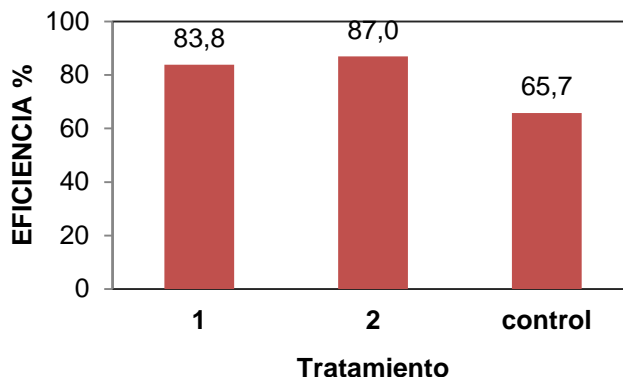


Figura 11. Eficiencia Remoción Fosfatos (PO_4^{3-}) utilizando *Chlorella* sp. Periodo: día 1–4.

Conclusiones

Se logró aislar una cepa autóctona de *Chlorella* sp. en cultivos de laboratorio utilizando como medio de cultivo fertilizante foliar. La microalga mostró un crecimiento significativo en el agua residual, tanto para T1 como para T2, adaptándose fácilmente a las condiciones de estos medios. Igualmente se determinó el efecto *Chlorella* sp. como método de tratamiento *in vitro* en aguas residuales para la remoción de nitratos y fosfatos, logrando remociones considerables en los diferentes tratamientos con agua residual y comprobando su viabilidad como tratamiento terciario de aguas residuales.

Agradecimientos

Al Biólogo Daniel Arturo Saavedra por la asesoría prestada y compromiso en este trabajo. Al Químico Leonardo Moreno por su orientación en todo lo relacionado con los procedimientos de análisis químicos y al Doctor Seyed Medhi Jazayeri por su asistencia en cuanto al proceso de análisis estadístico. Por último al personal docente responsable de los laboratorios de la UNIPAZ.

Bibliografía

Andersen, R. (2005). Algal culturing techniques. USA. Elsevier Academic Press. p 578.

Andrade, C., Chacón, C., Cárdenas, C., Morales, E. (2006). Remoción de nitrógeno y fósforo de aguas residuales urbanas por la microalga *Chlorella* sp. en condiciones de laboratorio. Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences. Ciencia. 14 (1): 56-63.

Andrade, C., Vera, A., Cárdenas, C., Morales, E. (2009). Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. Rev. Téc. Ing. Universidad de Zulia. 32 (2): 126-134.

Andrade R., Torres R., Montes E. (2008). Obtención de harina a partir del cultivo de *Chlorella vulgaris* y su análisis proteico. 50-57.

Camacho R., Campos V., Escalera C., González M. Vásquez G. (2012). Cultivo y elaboración de un producto comestible de *Chlorella vulgaris*. p 16. Recuperado de <https://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria17/21.pdf>.

Cañizarez, R., Ontiveros, C. (1993). Comportamiento cinético de un cultivo mixto de la microalga *Tetraselmis chuii* y dos bacterias. Revista de Investigaciones Marinas. 14: 86-91

Chacón, C., Andrade, C., Cárdenas, C., Araujo I., Morales, E. (2004). Uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. En la remoción de nitrógeno, fósforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas. 38 (2): 94-108.

De Bashan, L., Bashan, Y. (2003). Bacterias promotoras de crecimiento de microalgas: una nueva aproximación en el tratamiento de aguas residuales. Revista Colombiana de Biotecnología. 5 (2): 85-90.

Des Abbayes, H., Gausson, H., Chadefaud, M., Grassé, P., Feldmann, J., Prévot, A., De Ferré, Y. (1989). Botánica vegetales inferiores. Barcelona. 2 Ed. Reverté S.A. p 757.

De la Noüe, J. Laliberte, G., Prouls, D. (1992). Algae and wastewater. J. Appl. Phycol. 4: 247-254.

Escorihuela, A., Núñez, M., Rosales, N., Mora, R., Morales, E. (2007). Microalgas presentes en una laguna para pulimento de efluentes de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas. Revista Facultad Agronómica (LUZ). 24: 225–230.

Garduño, G., Rodríguez, M., Martínez, M., Quintanar, R., Lozano, C., Campos, J., Monsalvo, A. (2011). Cultivos de microalgas del Lago de Catemaco, Veracruz. Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal. 2 (2): 67-80.

Hernandez, J., (2004). Evaluación de un sistema de microalgas y bacterias para la eliminación de nutrientes de las aguas residuales domésticas (Tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional. La Paz.

Infante, C., Angulo, E., Zárate, A., Flórez, J., Barrios, F., Zapata, C., (2012). Propagación de la microalga *Chlorella* sp. en cultivo por lote: cinética del crecimiento celular. Revista de Avances en Ciencias e Ingeniería. 3: 159-164.

Mora, R., Moronta, R., Ortega, J., Morales, E. (2005). Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella* sp. aislada de la Represa de Tulé,

Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela. Revista Ciencia, Universidad del Zulia. 12 (2): 1-9.

Moronta, R., Mora, R., Morales, E. (2006). Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. Revista Facultad Agronómica (LUZ). 23: 27-41.

Pütz, P. (2012). Informe práctico. Analítica de laboratorio y sistema de control de proceso Nutrientes. Fosfato. Productos de aplicación de laboratorio, HACH LANGE. p 4. Recuperado de: <https://www.hachlange.es>

Ramalho, R. (1996). Tratamiento de aguas residuales. Barcelona (España). Reverté S.A. 1 ed. p 716.

Ramírez, J. (2000). Fitoplancton de agua dulce: aspectos ecológicos, taxonómicos y sanitarios. Medellín. Universidad de Antioquia. p 206.

Roa, AL., Cañizares, R. (2012). Bioremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado. Bistua Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. 10 (1): 71-79.

Romero, J. (1988). Acuitratamiento por Lagunas de Estabilización. Bogotá D.C.: Escuela Colombiana de Ingeniería 3 Ed. p 281.

Romero, J. (2000). Tratamiento de Aguas Residuales. Teoría y principios de diseño. Bogotá D.C. Escuela Colombiana de Ingeniería. p 1248.

Salazar, M. (2005). Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. Departamento de Biotecnología. p 64–70.

Seoanez, M. (1999). Aguas Residuales Urbanas. Tratamientos Naturales de Bajo Costo y Aprovechamiento. Barcelona (España). Mundi-Prensa 2da Ed. p.114-118.

WPCF, APHA, AWWA. (1992). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Madrid (España). Ediciones Díaz De Santos S.A. 17 Ed. 10 – p 213.