



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Eficiencia de la microalga *Chlorella* sp. en la remoción de coliformes
presentes en las aguas residuales del dren 3100

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniera Ambiental

AUTORAS:

Aguinaga Chonlon, Karen Eliana (orcid.org/0000-0003-3969-6386)

Calderon Barrios, Fatima Emiliana (orcid.org/0000-0002-3823-5740)

ASESOR:

Dr. Ponce Ayala, Jose Elias (orcid.org/0000-0002-0190-3143)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Tratamiento y Gestión de los Residuos

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Desarrollo sostenible y adaptación al cambio climático

CHICLAYO - PERÚ

2023

DEDICATORIA

Por mi creencia religiosa en primer lugar se lo dedico a Dios, a mis adorados padres por todo el apoyo y comprensión brindada durante mi período universitario, es un orgullo dedicarles este sencillo, pero muy significativo logro, que gracias a sus motivaciones ha sido posible. Otro de los pilares fundamentales han sido mis hermanos y hermanas que estoy seguro de que comparten la misma felicidad que yo, por los escalones que estoy subiendo. También a cada uno de mis maestros, por su tiempo, enseñanzas y paciencia, que sin ellos no hubiese sido posible culminar este trabajo.

Fatima Emiliana

La presente tesis la dedico a mi madre por su esfuerzo y sacrificio brindado durante estos años de estudio. A mis abuelos Eduardo y Jovita quienes fueron los que me inculcaron valores y sentimientos lo cual me ha ayudado a poder salir adelante en los momentos difíciles de mi vida. A toda mi familia por sus palabras y consejos, en especial a mi tía Lili a quien quiero como una madre. A Dios por estar siempre conmigo, a mis amigas por compartir sus conocimientos y enseñanzas.

Karen Eliana

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, dar gracias a nuestra casa de estudios, la Universidad César Vallejo, que nos permitió tener una hermosa experiencia, gracias a cada docente que ha sido parte de nuestra formación como personas y profesionales. A cada uno de nuestros padres que fueron los mayores impulsores durante este proceso. Gracias a Dios, que ha sido nuestro principal apoyo y motivo espiritual para continuar en este camino. Nuestro agradecimiento también va dirigido a cada uno de nuestros compañeros con quienes mantuvimos la unión, compartiendo conocimientos y anécdotas inolvidables que siempre quedarán en la memoria.

Karen Eliana y Fatima Emiliana

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DEL ASESOR



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, PONCE AYALA JOSE ELIAS, docente de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - CHICLAYO, asesor de Tesis titulada: "Eficiencia de la microalga *Chlorella* sp. en la remoción de coliformes presentes en las aguas residuales del dren 3100", cuyos autores son AGUINAGA CHONLON KAREN ELIANA, CALDERON BARRIOS FATIMA EMILIANA, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 13.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido, asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

CHICLAYO, 21 de Junio del 2023

| Apellidos y Nombres del Asesor: | Firma |
|---|--|
| PONCE AYALA JOSE ELIAS DNI: 16491942 ORCID: 0000-0002-0190-3143 | Firmado electrónicamente por: PAYALAJE el 22-06- 2023 08:15:04 |

Código documento Trilce: TRI - 0546840



DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD DE LAS AUTORAS



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Originalidad de los Autores

Nosotros, AGUINAGA CHONLON KAREN ELIANA, CALDERON BARRIOS FATIMA EMILIANA estudiantes de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - CHICLAYO, declaramos bajo juramento que todos los datos e información que acompañan la Tesis titulada: "Eficiencia de la microalga Chlorella sp. en la remoción de coliformes presentes en las aguas residuales del dren 3100", es de nuestra autoría, por lo tanto, declaramos que la Tesis:

1. No ha sido plagiada ni total, ni parcialmente.
2. Hemos mencionado todas las fuentes empleadas, identificando correctamente toda cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes.
3. No ha sido publicada, ni presentada anteriormente para la obtención de otro grado académico o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados.

En tal sentido asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

| Nombres y Apellidos | Firma |
|---|---|
| FATIMA EMILIANA CALDERON BARRIOS DNI: 75508873 ORCID: 0000-0002-3823-5740 | Firmado electrónicamente por: FCALDERONBA el 21- 06-2023 06:41:29 |
| KAREN ELIANA AGUINAGA CHONLON DNI: 71941644 ORCID: 0000-0003-3969-6386 | Firmado electrónicamente por: ACHONLONKE el 21- 06-2023 06:41:58 |

Código documento Trilce: TRI - 0546841

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---|------|
| CARÁTULA | i |
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTO | iii |
| DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DEL ASESOR | iv |
| DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD DE LAS AUTORAS | v |
| ÍNDICE DE CONTENIDOS | vi |
| ÍNDICE DE TABLAS | vii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | viii |
| RESUMEN | ix |
| ABSTRACT | x |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. MARCO TEÓRICO | 5 |
| III. METODOLOGÍA | 19 |
| 3.1. Tipo y diseño de investigación..... | 19 |
| 3.2. Variables y operacionalización..... | 20 |
| 3.3. Población, muestra y muestreo..... | 20 |
| 3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos..... | 22 |
| 3.5. Procedimientos..... | 23 |
| 3.6. Método de análisis de datos..... | 31 |
| 3.7. Aspectos éticos..... | 31 |
| IV. RESULTADOS | 32 |
| V. DISCUSIÓN | 45 |
| VI. CONCLUSIONES | 49 |
| VII. RECOMENDACIONES | 50 |
| REFERENCIAS | 51 |
| ANEXOS | 59 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 01. <i>Diferentes aplicaciones de las microalgas</i> | 13 |
| Tabla 02. <i>Etapas del tratamiento de agua residual</i> | 18 |
| Tabla 03. <i>Descripción de los tratamientos</i> | 19 |
| Tabla 04. <i>Repeticiones de los tratamientos</i> | 20 |
| Tabla 05. <i>Ejemplo con los resultados obtenidos</i> | 28 |
| Tabla 06. <i>Número más probable (NMP) de resultados positivos para diferentes combinaciones al usar 5 tubos por cada dilución (0.1 ml, 1,0 ml y 10 ml) con un límite de confiabilidad de 95%</i> | 29 |
| Tabla 07. <i>Análisis de parámetros</i> | 30 |
| Tabla 08. <i>Coordenadas de ubicación de los puntos de muestreo</i> | 33 |
| Tabla 09. <i>Concentración de coliformes termotolerantes y totales antes del tratamiento</i> | 33 |
| Tabla 10. <i>Resultado de tratamiento 1 (20% de <i>Chlorella sp.</i> + agua residual)</i> | 35 |
| Tabla 11. <i>Resultado de tratamiento 2 (30% de <i>Chlorella sp.</i> + agua residual)</i> | 36 |
| Tabla 12. <i>Resultado de tratamiento 3 (40% de <i>Chlorella sp.</i> + agua residual)</i> | 37 |
| Tabla 13. <i>Porcentaje de remoción de coliformes</i> | 39 |
| Tabla 14. <i>ECA de cantidad de coliformes pertenecientes a la categoría 1</i> | 40 |
| Tabla 15. <i>ECA de concentración de coliformes en aguas pertenecientes a la categoría 3: bebida de animales y riego de vegetal</i> | 41 |
| Tabla 16. <i>Concentración de coliformes al inicio y final del tratamiento</i> | 41 |
| Tabla 17. <i>pH de las muestras antes y después de los tratamientos</i> | 42 |
| Tabla 18. <i>Temperatura de las muestras antes y después de los tratamientos</i> | 43 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| <i>Figura 01.</i> Parámetros de cultivo de microalgas..... | 12 |
| <i>Figura 02.</i> Clasificación de las especies de <i>Chlorella</i> | 14 |
| <i>Figura 03.</i> Aguas residuales y el ciclo del agua..... | 16 |
| <i>Figura 04.</i> Ciclo de manejo de las aguas residuales municipales..... | 17 |
| <i>Figura 05.</i> Recorrido y zona de influencia del Dren 3100 | 21 |
| <i>Figura 06.</i> Microalga <i>Chlorella</i> sp. expuesta al Microscopio | 23 |
| <i>Figura 07.</i> Incrementación del volumen de la microalga <i>Chlorella</i> sp. | 24 |
| <i>Figura 08.</i> Ubicación de los puntos de toma de muestras | 25 |
| <i>Figura 09.</i> Técnica de fermentación en tubos múltiples para miembros del grupo coliformes. | 27 |
| <i>Figura 10.</i> Esquema del proceso de investigación | 31 |
| <i>Figura 11.</i> Recolección de muestras | 32 |
| <i>Figura 12.</i> Concentración de coliformes antes de incorporar dosis de microalga <i>Chlorella</i> sp..... | 34 |
| <i>Figura 13.</i> Concentración de coliformes después de aplicar 20% de <i>Chlorella</i> sp. | 35 |
| <i>Figura 14.</i> Concentración de coliformes después de aplicar 30% de <i>Chlorella</i> sp. | 36 |
| <i>Figura 15.</i> Concentración de coliformes después de aplicar 40% de <i>Chlorella</i> sp. | 37 |
| <i>Figura 16.</i> Concentración de coliformes antes y después de aplicar la microalga <i>Chlorella</i> sp..... | 38 |
| <i>Figura 17.</i> pH de las muestras antes y después de los tratamientos | 42 |
| <i>Figura 18.</i> Temperatura de las muestras antes y después de los tratamientos | 43 |

RESUMEN

La presente investigación estuvo enfocada en determinar la eficiencia de la microalga *Chlorella* sp. en la remoción de coliformes presentes en las aguas residuales del dren 3100. Los tratamientos fueron 3 (T1: 20%, T2: 30% y T3: 40%) realizados en un periodo de 72 horas. Las aguas residuales antes de ser tratadas contenían bacterias coliformes totales y termotolerantes que excedían los ECA. Luego de los tratamientos se encontró como resultado que la remoción de coliformes totales y termotolerantes es de un 99.99% al usar una dosis de 40% de microalga *Chlorella* sp. (T3), seguido el tratamiento 2 el que logró una remoción promedio de 97.65% de coliformes totales y 97.36% de coliformes termotolerantes y por último el tratamiento 1 con el que se logró una remoción promedio de 95.56% de coliformes totales y 94.99% de coliformes termotolerantes. Siendo el tratamiento 3 el más eficiente para remover los coliformes presentes en las aguas residuales. Posterior a los tratamientos las aguas que discurren por el dren 3100 usando dosis (20%, 30% y 40%) de microalga *Chlorella* sp. cumplen con los Estándares de Calidad Ambiental en agua para uso recreacional y riego de cultivos vegetales establecidos por el Ministerio del Ambiente.

Palabras clave: *Chlorella* sp., remoción y coliformes.

ABSTRACT

The present investigation was focused on determining the efficiency of *Chlorella* sp. in the removal of coliforms present in the wastewater from drain 3100. 3 treatments (T1: 20%, T2: 30% and T3: 40%) were carried out in a period of 72 hours. The wastewater before being treated contained total and thermotolerant coliform bacteria that exceeded the ACE. After the treatments, it was found as a result that the removal of total and thermotolerant coliforms is 99.99% when using a dose of 40% of *Chlorella* sp. (T3), followed by treatment 2, which achieved an average removal of 97.65% of total coliforms and 97.36% of thermotolerant coliforms, and finally treatment 1, which achieved an average removal of 95.56% of total coliforms and 94.99% coliforms. thermotolerant. Treatment 3 being the most efficient to remove coliforms present in wastewater. After the treatments, the waters that flow through the 3100 drain using doses (20%, 30% and 40%) of *Chlorella* sp. they comply with the Environmental Quality Standards in water for recreational use and irrigation of vegetable crops established by the Ministry of the Environment.

Keywords: *Chlorella* sp., removal and coliforms.

I. INTRODUCCIÓN

En un mundo más globalizado, las decisiones relacionadas con el uso y manejo del agua tienen impactos que traspasan fronteras afectando de esta manera a toda la humanidad.

Anualmente se produce unos 3 928 000 m³ de agua residual de lo cual el 44% de estas aguas son utilizadas con el fin de regar tierras de cultivo y un 5% son vertidas sin ningún tratamiento alguno a las orillas del mar, lo que conlleva a producir vertientes municipales, industriales y agrícolas (FAO, 2016).

Por tal motivo los seres humanos que habitan en una determinada región contaminan el agua de los ríos y lagos, estas aguas residuales tienen como disposición final el mar, donde un número cada vez mayor de hogares carecen de sistemas adecuados para tratar aguas residuales lo que conlleva a que muchas enfermedades se propaguen debido a estas aguas residuales provenientes de industrias y del ámbito municipal (WWAP, 2017).

La generación de agua residual municipal va en constante aumento, debido a la expansión de viviendas urbanas y población en general, las cuales presentan ausencia o un deficiente tratamiento, ocasionando la contaminación de espacios o ambientes que se encuentran en contacto directo con la humanidad, y para mitigar su impacto sobre los cuerpos receptores, estas tienen que ser tratadas de manera adecuada y ser reaprovechadas.

El recurso agua está compuesta básicamente por el 99% de agua obtenida como resultados de la actividad humana, que cambia su naturaleza debido a desechos orgánicos y/o químicos y un 1% de sólidos suspendidos y coloidales, estos cuerpos sin un tratamiento previo originan un peligro al mar alterando de esta manera el hábitat de la vida acuática; estas aguas residuales municipales contienen ciertos microorganismos que pueden ser nocivos por lo que es necesario un debido tratamiento y evitar poner en peligro a todo aquel que manipule estas aguas de forma inadecuada (WWAP, 2017).

De hecho, en los últimos años implementar diversos métodos para el tratamiento de agua residual ha tenido gran relevancia, estos tratamientos son de carácter

fisicoquímicos y biológicos. Tratamientos con microorganismos es una opción con mayor sostenibilidad, donde las microalgas son una opción debido a que son lo menos contaminantes.

Las microalgas exhiben altas tasas de reproducción y adaptabilidad en condiciones ambientales diferentes, estando presentes en algún medio acuático donde existen fuentes de carbono, luz suficiente, nutrientes y ausencia de compuestos tóxicos, con un rango apropiado de temperatura. Las aguas residuales municipales contienen los nutrientes necesarios para el crecimiento microalgal, lo que les convierte en un medio adecuado para su desarrollo (Andrade, 2006). Entre los microorganismos más destacados se encuentran las microalgas, debido a su fácil adaptación (Dineshkumar et al 2020). *Chlorella sp.* es una microalga ubicua que se emplea en la purificación de las aguas servidas, específicamente en la remoción de coliformes fecales (Chambi, 2020).

Los coliformes totales y termotolerantes forman parte de la familia bacteriana, así mismo estas se encuentran presentes en todo el medio ambiente especialmente en el suelo, agua superficial, plantas, incluyendo los desechos de los animales y seres humanos, a estas bacterias de coliformes también se les denomina organismos indicadores porque indican la presencia de bacterias en aguas contaminadas por aguas negras o llamadas también agua residual u otro tipo de desecho en su forma descompuesta, encontrándose con mayor abundancia en sedimentos de fondo o en la capa superficial de los drenes (Swistock, 2020).

Tratar las aguas residuales es importante para poder volver a reutilizar el agua y disminuir la contaminación de los ecosistemas siendo Latinoamérica la que presenta un déficit del 70% en cuanto a tratamientos de aguas residuales (Batista, 2013). Mientras que en el Perú diariamente la población genera 2 217 946 m³ por día de agua residual siendo dispuestos en las redes de alcantarillado de los cuales únicamente el 32% de dichas aguas reciben un tratamiento apropiado, es decir una persona genera aproximadamente 0.142 m³ de agua residual por día (OEFA, 2014).

El dren 3100 genera un problema ambiental al distrito de Pimentel ya que sus aguas contaminadas con aguas servidas municipales (ARM) transcurren por dicho dren

teniendo como desembocadura el mar, sin haber pasado por un tratamiento adecuado contaminando así el ecosistema marino.

Un reportaje publicado por el diario EL CORREO en el cual se indicó que en el dren 3100 el mayor problema provendría del efluente del colector sur que corresponde a EPSEL se estaría vertiendo involuntariamente hacia dicho dren llegando hasta el mar de Pimentel, así mismo en el informe presentado por el director regional de salud a EPSEL conteniendo la inscripción que realizó en la que menciona que dicho dren conduce considerable volumen de vertimiento no autorizado de aguas residuales domésticas sin un tratamiento, al mismo tiempo estas aguas son utilizadas por los agricultores para regar sus cultivos ubicados en ambos lados de todo el recorrido del dren, hasta con su confluencia con el dren 3000 y descargando sus aguas en la parte norte a pocos metros del muelle de Pimentel (DIARIO EL CORREO , 2010).

Teniendo conocimiento que las microalgas juegan un rol muy importante en cuanto a tratamientos de aguas residuales municipales (ARM) y al valor aprovechable. Debido que su uso a gran escala de estas microalgas es de bajo costo, ecológico y con un amplio uso; por tales razones en esta investigación se planteó como problema general ¿Cuál es la eficiencia de la microalga *Chlorella sp.* en la remoción de coliformes que se encuentran presentes en aguas residuales del dren 3100?

Este trabajo de investigación se justifica porque se observa una excesiva contaminación de las aguas que discurren por el dren 3100, debido a ello se evaluó el uso de microalgas, de esta manera reducir los contaminantes de las aguas residuales de dicho dren con el fin de darles un segundo uso.

Más importante aún a nivel social el propósito de esta investigación es emitir aguas menos contaminadas y que se adecuen a los estándares de calidad ambiental–ECA, logrando de esta manera una mejora en la salud poblacional; a nivel económico esta investigación no trae consigo consecuencias negativas hacia las personas ni hacia al ambiente, siendo muy fácil de aplicar; siendo a nivel ambiental, la posibilidad de emplear sustancias amigables con el ambiente permite que las aguas residuales municipales se encaminan hacia la sustentabilidad e impacte de

manera positiva disminuyendo la contaminación y ayudando a mejorar la salud poblacional así mismo mejorando el atractivo turístico como el ecosistema marino.

Por lo expuesto como objetivo general se plantea “Determinar la eficiencia de la microalga *Chlorella sp.* en la remoción de coliformes presentes en aguas residuales municipales del dren 3100”; siendo los objetivos específicos (i) Ubicar la zona de estudio en el dren 3100 y hacer un muestreo en la zona de estudio sector Las Dunas – Pimentel, (ii) Cultivar e incorporar la microalga *Chlorella sp.* en diferentes dosis, (iii) Comparar los resultados iniciales y finales del tratamiento de las aguas residuales municipales que discurren por el dren 3100 con los valores estándares de calidad ambiental – ECA. Estableciendo como hipótesis ¿Es posible determinar la eficiencia de la microalga *Chlorella sp.* en la remoción de coliformes presentes en las aguas residuales del dren 3100?

II. MARCO TEÓRICO

Para una mejor comprensión del desarrollo de la investigación y su posible solución se revisó la bibliografía científica pertinente, en la que destacan los siguientes antecedentes:

Específicamente en el uso de microalgas del género *Chlorella* para tratar aguas residuales, encontramos el trabajo de Chambi (2020) quien utilizó la especie *Chlorella Vulgaris* con la finalidad de diagnosticar la eficiencia en la que se remueve los coliformes fecales. Trabajo en la que obtuvo como resultado que la microalga *Chlorella Vulgaris* apresuró el porcentaje para eliminar los coliformes termotolerantes, en un tiempo de 24 horas el porcentaje de remoción fue 66% y 78%, y en 100 horas un 99.99%, a la par con la ayuda de la luz puesto que este ayuda a formar sustancias tóxicas de oxígeno, así mismo indica que al incrementar la cantidad de biomasa de *Chlorella Vulgaris* el número de coliformes fecales se reduce.

Sousa et al. (2023), tuvieron como objetivo estudiar cultivos duales de bacterias seleccionadas (*Raoultella ornithinolytica*, *Acidovorax facilis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Leucobacter sp.* o *Rhodococcus fascians*) y la microalga *Chlorella vulgaris* en crecimiento microbiano, eliminación de metilparabeno (MetP) y nutrientes. La remoción de MetP por parte de la microalga fue modesta (alrededor del 30 %), pero aumentó cuando se utilizaron los consorcios (> 50 %), por biodegradación y fotodegradación. Para la eliminación de nutrientes fue más efectivo con la microalga axénica, a excepción de la eliminación de nitrógeno (N) por parte de *C. vulgaris* con *R. fascians*. Los resultados generales proponen que el cocultivo de *C. vulgaris* con bacterias puede aumentar la eliminación de MetP, al tiempo que afecta negativamente el crecimiento de microalgas y la consiguiente reducción de la producción de lodos, destacando el potencial de los consorcios de microalgas bacterias para el pulido efectivo de aguas residuales contaminados con parabenos

Wu et al. (2023). Evaluaron la eliminación de dieciséis Microcontaminantes orgánicos (OMP) por *Chlorella sorokiniana*, cultivadas en tres tipos de aguas residuales (aguas negras digeridas anaeróticamente-AnBW, aguas residuales municipales-MW y efluentes clarificados secundarios -SCE). Durante el modo operativo por lotes, se eliminaron once OMP de AnBW y MW. Al cambiar del modo por lotes al modo continuo, disminuyó la eliminación de la mayoría de las OMP de AnBW y MW, lo que sugiere que un tiempo de retención más prolongado mejora la eliminación de algunas OMP. La mayoría de las OMP no se eliminaron de SCE debido a que la escasa disponibilidad de nutrientes limitó el crecimiento de *Chlorella Sorokiniana*.

Flores (2019). Usó utilizó 3 especies de microalgas (*Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella* sp.y *Ankistrodesmus nannoselene*.) para remover coliformes fecales y totales de lixiviados. Las microalgas fueron expuestas a concentraciones de lixiviados de 1volumen/1volumen y 1volumen/2volumen con tres repeticiones. La evaluación del porcentaje de remoción se realizó en un tiempo de 15 días. Los resultados mostraron una remoción mayor a 80% de coliformes tanto totales y fecales usando la especie de microalga *Chlorella* sp. Llegaron a la conclusión que remover los contaminantes por medio de cultivo de microalgas en sistemas biológicos es posible, puesto que este tipo de microalgas tienen la capacidad de adaptarse en diversos ambientes y poseen mecanismos de tolerancia.

Alarcón (2018) hizo tratamiento de los efluentes que provienen de criaderos de animales bovinos y porcinos aplicando *Chlorella vulgaris*. Se analizaron un total de 14 muestras. A cada una de las muestras se analizaron el pH cada tres días y se calculó la cantidad inicial de *Escherichia coli* y coliformes totales. Posterior al tratamiento los resultados demostraron efectividad para la reducción de coliformes totales con porcentaje superior al 99% y un 100% en *Escherichia coli*. Las aguas tratadas son apropiadas para ser reutilizadas en el regadío de pastizales y otros cultivos.

Según Mendoza et al. (2018) en su trabajo, usó la microalga de especie *Chlorella* sp. viva mediante suspensión para remover Demanda Química de Oxígeno (DQO) de los efluentes de curtiembre. A través del reactor 3, que contenía una relación de solución microalgal y agua de remojo de 1:3 respectivamente, permitió remover mayor DQO en el día 14 siendo un 90%, seguido por el reactor 2 (1:1) con una remoción de 86% y el reactor 1 (3:1) con un 80% de remoción.

También López y Meza (2017), evaluaron la eficiencia con la que la microalga *Chlorella* sp. remueve los nutrientes en las etapas presentes de la laguna de oxidación del Cantón. Quienes concluyeron que las cepas de *Chlorella* sp. es eficiente para remover nutrientes, pese que no logró reducir la carga de contaminantes igual o por debajo de los niveles permitidos por la Ley Ambiental en vigencia, pero lograron una remoción de nutrientes relevantes para que las aguas residuales puedan ser descargados en los efluentes finales.

Vacca et al (2017) evaluó la remoción del color del efluente de una empresa dedicada a la textilería mediante el uso de microalga viva en suspensión de la especie *Chlorella* sp. Donde se sometió al agua residual a tratamiento mediante el uso de dosis de microalgas de tres concentraciones siendo 0,10, 0,20 y 0,30 en absorbancia. Obtuvo como resultado que el bioensayo de 0,30 en absorbancia permitió una remoción del 97% del colorante existente, logró reducir un 94,6% de DQO y un 95,4% DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno). Los resultados que obtuvieron permiten que el tratamiento biológico sea sugerido para tratar aguas residuales como un método eficiente.

Rasoul et al. (2014), analizó la remoción de fósforo y nitrógeno de las aguas residuales utilizando células libres de microalgas en un sistema de cultivo en baño. Este experimento confirmó que *Chlorella* sp. pueden considerarse como eliminadores eficientes de nutrientes presentes en aguas residuales urbanas. Las microalgas son capaces de agotar por completo el N y el P presentes en aguas residuales que poseen concentraciones altas de nitrato y fosfato mientras logran una alta productividad de biomasa.

Ansa et al (2012), evaluó el efecto de la biomasa de algas en aguas residuales domésticas específicamente para eliminar coliformes fecales. En sus resultados indicaron que, la velocidad de descomposición de coliformes fecales aumentó con el incremento de clorofila -a hasta una cierta cantidad óptima de clorofila -a ($10 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$), después de lo cual las tasas de descomposición de coliformes fecales disminuyeron. A densidades de algas $\geq 13,9 \text{ mg L}^{-1}$ en luz, la tasa de descomposición de coliformes fecales es mayor en aguas residuales de fuerza media que aguas residuales de fuerza baja. La mayor tasa de descomposición en aguas residuales de fuerza baja se produjo a $3,2 \text{ mg/L}^{-1}$ de luz, mientras que la de aguas residuales de fuerza media se produjo a $13,9 \text{ mg/L}^{-1}$ de clorofila-a, respectivamente.

Cavalcante (2011) investigó, a escala de laboratorio, el potencial de la microalga *Chlorella* sp. para remover coliformes termotolerantes presentes en los efluentes secundarios. El sistema experimental consistió en 10 biorreactores (volúmenes de 0.1L y 1.0L), llenos de microalga inmovilizadas en esferas de alginato de calcio en concentraciones de 2%, 4% y 6%. Los biorreactores fueron alimentados con efluentes del tanque séptico y del filtro intermitente en régimen discontinuo intermitente con un tiempo de contacto de 6 horas para coliformes termotolerantes. El experimento se realizó a una temperatura controlada de $27 \text{ }^\circ\text{C}$ y bajo la iluminación de 4 lámparas fluorescentes de 40 Watts. En 6 horas de contacto con los afluentes hubo reducciones promedio de 99.99% de coliformes termotolerantes.

Ansa et al. (2010) evaluaron el efecto del alga *Chlorella* sobre *Escherichia coli* patógena en lagos eutróficos y la importancia de la unión de *Escherichia. coli* a la materia en suspensión, así como a las algas. Se evaluó la tasa de mortalidad de *Escherichia coli* en el tubo de diálisis a diferentes profundidades y ubicaciones en el lago Weija. Se informó una descomposición significativa de *Escherichia coli* que se atribuyó al aumento de pH y la cantidad de oxígeno disuelto (DO). Se encontró que a una concentración de clorofila-a $\leq 0.08 \text{ mgL}^{-1}$, permite que exista una relación directa de la concentración de clorofila y la tasa de descomposición de *Escherichia coli*. Además, informaron que, si la cantidad de clorofila aumenta con la luz, la concentración de clorofila-a alcanza un valor óptimo ($0,24 \text{ mg/L}$) y la *Escherichia coli* se descompone.

Mientras que en el uso de otras microalgas se tiene el estudio de Ahmad et al. (2014), quienes indicaron que la especie *Rhizoclonium implexum* de alga es eficaz en la eliminación de bacterias coliformes, sólidos suspendidos y disueltos totales, DQO, DBO, nitrógeno y fósforo total. Tuvieron como conclusión que tratar el agua residual con algas es amigable en términos de sus consideraciones económicas y ambientales.

Del Pezo (2019), tuvo como objetivo de estudio diseñar un sistema fitodepurador mediante unas islas flotantes usando sustratos vegetales: *Salvinia auriculata* y *Lemna minor* con la finalidad de quitar *Escherichia coli* y coliformes totales. Siendo el área del prototipo 40 cm², usando 60 litros de agua negra, compartido en 12 envases diseñados para el bioensayo, logrando remover 99,98% de *Escherichia coli* con las especies combinados, 99,95% con *Lemna minor* y un total de 99,99% con *Salvinia auriculata*, en la remoción de coliformes totales obtuvieron los siguientes porcentajes: un 99,89% con *Salvinia auriculata*, 99,74% con *Lemna minor* y 99,84% con tratamiento combinado

Barreto (2017), estudió la eficiencia de un biofiltro a partir de microalga con la finalidad de reducir la contaminación producida en las aguas subterráneas de la Universidad César Vallejo. Obtuvo como resultado una eficiencia promedio de 15.3% en la DBO, un 19% en la DQO y 7.22% en los sólidos suspendidos. Con respecto a la calidad del agua, los parámetros sometidos a evaluación no están fuera de los límites establecidos, teniendo los siguientes valores; conductividad eléctrica de 2011,4 µS/cm, coliformes fecales con 9800 NMP/1000ml, pH de 7.8 y temperatura de 26,16 °C. a mayor tiempo mayor remoción del parámetro. Siendo el tiempo un factor muy relevante debido que a mayor tiempo mayor es la remoción del parámetro.

González (2016) en su investigación tuvo como objetivo reducir la contaminación de aguas residuales procedente de la E.A.I Pomalca S.A.A mediante el uso de un biofiltro a base de una microalga específicamente de *Spirulina* sp. Quien indicó que se remueve hasta un 53% los coliformes termotolerantes y un 78% los coliformes totales, así mismo mencionó que el pH es el parámetro que no muestra disminución, pero sí la DBO, conductividad eléctrica y temperatura.

Mezzari et al. (2017) investigaron la eliminación de *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* por *Scenedesmus* sp. en aguas residuales porcinas. Fotobiorreactores llenos de 3 L de agua residual porcina diluida con y sin microalga *Scenedesmus* sp. (30% volumen/volumen, 70 mg L⁻¹ peso seco) inoculados con *Salmonella enterica* fueron sometidos a cultivo mixotrófico usando diodo emisor de luz roja a temperatura ambiente en condiciones de mezcla continua. El recuento de células se llevó a cabo por medio del método de recuento en placa y se realizaron amplificaciones de qPCR del activador del gen de la invasión de *Salmonella*. Se encontró que *Salmonella enterica* se eliminó por completo en presencia de microalgas dentro de las 48 horas posteriores al tratamiento, mientras que, en ausencia de microalgas, la concentración de *Salmonella enterica* aumentó en 96 horas. Sin embargo, en el fotobiorreactor con pH controlado la concentración de *Salmonella enterica* se mantuvo constante durante 96 horas.

Se revisaron los conceptos teóricos asociados a las variables de investigación, las que se detallan a continuación:

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos procarióticos o eucarióticos que tienen la capacidad de existir en condiciones adversas y crecer rápidamente debido a su estructura unicelular o multicelular simple (Mata et al., 2010). Estando presentes también en formas suspendidas (especies que flotan libremente en un cuerpo de agua), como en formas adherentes a una superficie sumergida (Kiepper, 2013) encontrándose en la naturaleza con una taxonomía amplia (Muñiz, 2019). La biodiversidad de las microalgas es enorme en el planeta de los cual existen alrededor de 300,000 especies diferentes de las cuales solo se ha descrito alrededor de 40,000 (Lewandowski, 2018).

Así mismo las microalgas se encuentran habitando en ambientes marinos y de agua dulce; puesto que su mecanismo fotosintético es muy semejante al de las plantas terrestres, pero por su simple estructura celular y por su presencia en un ambiente acuoso en la que tienen mucho acceso a CO₂, al agua y entre otros nutrientes vitales que son muy eficientes para la conversión de la energía solar o biomasa (Dineshkumar et al., 2018). Se han encontrado microalgas con formas esféricas,

elípticas, cilíndricas o en espiral, que pueden crecer y desarrollarse también en zonas maderables o húmedas (Castro, 2018).

El cultivo de microalgas tiene múltiples aplicaciones combinando la producción de biocombustible, la mitigación de dióxido de carbono y proporcionando un método alternativo de tratamiento en agua residual (Cai et al., 2013). Siendo de suma importancia en la acuicultura, en biotecnología, biomedicina, como complemento alimenticio así mismo como biofertilizantes, biocombustible y biorremediación (Silva & Torzillo, 2008). Uno de los beneficios de las microalgas es que se pueden utilizar en la separación de sustancias con efectos nocivos dentro de estos encontramos los pesticidas, herbicidas, así como metales pesados, ya que poseen el espacio de acumulación de grandes cantidades en compuestos tóxicos sin afectar su actividad biológica y por su tendencia en liberar O₂ a través de la fotosíntesis (Ortiz et al., 2018).

Incluso estas microalgas tienen la capacidad de crecer en agua residual a través de su capacidad para utilizar gran cantidad de nitrógeno inorgánico y fósforo en agua residuales; mediante este uso las microalgas pueden contribuir significativamente en los sistemas acuáticos al proporcionar un sistema económico y accesible con el medio ambiente en tratamientos de aguas residuales (Yi et al., 2014). Permitiendo la reducción de contenido de metales pesados, así como también de componentes orgánicos tóxicos, pudiendo obtener un doble beneficio y generar efectos de biorremediación facilitando de esta manera el cultivo de microalgas.



Figura 01. Parámetros de cultivo de microalgas

Fuente: Abalde et al., 1995.

Las microalgas como fuentes de nutrientes son alimentadas en ambientes diferentes como en agua no salada, en las cuales se encuentran el magnesio, hierro y sílice, mientras que en las aguas marinas las algas tienen la capacidad de alimentarse de nutrientes como sulfato, cloruro, calcio, potasio, sodio y magnesio, entre otros nutrientes dichos nutrientes dentro de las aguas residuales son alimentadas por nutrientes que están presentes en dicha agua residual como son, nitrógeno, azufre, fósforo, amonio, hierro, toxinas y metales (químicos) en agua residual para producción de biomasa microalgal (Al Damarki et al., 2012). Como resultado dentro del aprovechamiento de nutrientes dichas microalgas pueden ser utilizadas en diferentes aplicaciones; ver Tabla 1

Tabla 01. Diferentes aplicaciones de las microalgas

| | |
|----------------------|--|
| Alimento | Proteínas, aminoácidos, carbohidratos, simples y complejos, perfil de ácidos grasos, vitaminas, minerales y oligoelementos |
| Fertiliza | Fertilizantes, acondicionadores de suelo y fuentes de alimentación del ganado |
| Energía | Biodiesel, bioetanol y blobutanol. Hidrógeno Calor y electricidad. |
| Contaminación | Tratamiento de aguas residuales Reducir los productos químicos tóxicos Reducir el porcentaje de dióxido de carbono |

Fuente: Al Darmaki et al., (2012)

Sobre todo, se ha demostrado que las microalgas se utilizan potencialmente para una variedad de condiciones de agua residual y son muy eficientes en eliminar la presencia de nutrientes en aguas residuales (Yi et al., 2014). Las posibles cepas de microalga *Chlorella* sp., han sido estudiadas enormemente demostrando que son eficaces para eliminar el fósforo y nitrógeno en aguas residuales con una amplia serie de concentraciones iniciales (Cai et al., 2013).

Sobre la especie en específico objeto de estudio de esta investigación, la *Chlorella* sp., forma parte del grupo de las algas verdes, llamadas Clorofita (Castro, 2018). Es un alga verde acuática en forma elipsoide, presentan un crecimiento de células simples no móviles, pertenecientes a la clase de *Chlorophyceae* y división *Chlorophyta* (figura 1) (Infante et al., 2012). Siendo cultivadas de forma intensiva con fines de producción alimenticios y de metabolitos, siendo los sistemas por lotes los más utilizados debido al bajo riesgo de contaminación y la facilidad de uso (Infante et al., 2012).

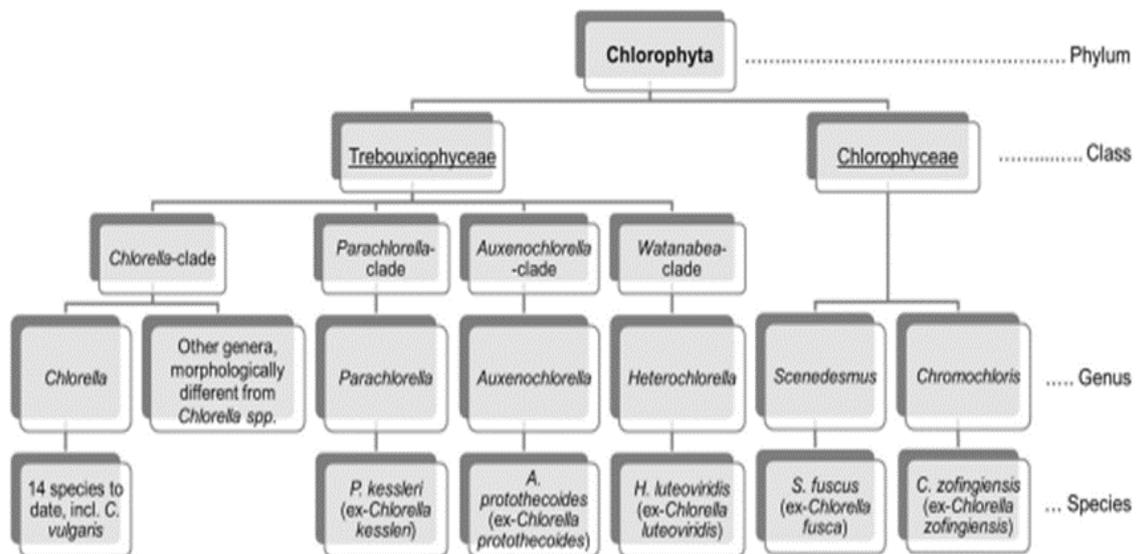


Figura 02. Clasificación de las especies de *Chlorella*

Fuente: Champenois et al. (2014) tomado de 10.1007/s10811-014-0431-2

El género *Chlorella* está siendo aprovechado para tratar aguas residuales, ya que se logró comprobar el efecto que producen en remoción de fósforo, nitrógeno, metales pesados y DQO. El uso en biorremediación ha ido incrementando, ya sea de modo inmóvil o suspendida mediante una solo especie o asociaciones con otros microorganismos no fotosintéticos (Garza et al., 2010).

Así mismo este género *Chlorella* también se viene usando en la industria cosmética, farmacéutica y agricultura, debido a que en su composición contiene proteínas, carotenoides, algunos polisacáridos, vitaminas y minerales (Silva et al., 2019). Las diferentes especies de *Chlorella* son: *Chlorella vulgaris*, *Chlorella volutis*, *Chlorella variabilis*, *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella singularis*, *Chlorella rotunda*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella pulchelloides*, *Chlorella pituita*, *Chlorella minutissima*, *Chlorella lewinii*, *Chlorella coloniales*, *Chlorella antrotrophica* (Rodriguez Y Guil, 2008; Zou et al., 2016).

Las microalgas dentro del género *Chlorella* es caracterizado por ser de forma elíptica o esférica, teniendo un simple ciclo de vida; con una reproducción eucariota por vía asexual de la cual cada célula madre madura puede producir entre 4 a 8 esporas; sus divisiones celulares se llevan a cabo durante la noche y por el día el aumento de volumen, estos ciclos dependen de la temperatura y de la luz, en las que la microalga está expuesta (Amavizca, 2014).

Las bacterias coliformes han sido utilizadas durante mucho tiempo como indicador de calidad del agua, en base a que la presencia de estos organismos está presente dentro de los intestinos de animales que poseen sangre caliente, su presencia en el agua podría indicar que se ha producido una contaminación fecal reciente; por lo que este grupo consta de bacterias de varios géneros perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* (Clesceri et al., 2017).

Siendo estos coliformes divididos en coliformes totales y termotolerantes para ser identificadas a nivel laboratorio, en lo que respecta a coliformes totales estas son bacterias Gramnegativos, con forma bacilar que poseen la capacidad de fermentar la lactosa en T de 35°C a 37°C, elaborando gas (CO₂) y ácidos en un periodo de 24 horas, además podemos encontrarlas tanto en aguas residual y aguas naturales, (Oblitas y Torres 2016).

Dentro de coliformes termotolerantes (CTE), llamados así porque estos soportan hasta 45°C de temperatura, abarcando un número muy reducido de microorganismos, ya que por su origen son indicadores de calidad, dentro de mayoría estos coliformes están representadas por *Escherichia coli*, y con menos frecuencia se pueden encontrar las especies *Klebsiella pneumoniae* y *Citrobacter freundii*; la primera aparte de pertenecer a los CTE, son de origen normalmente ambiental encontrándose en fuentes de vegetación, suelos y agua; formando de esta forma la microbiota normal (Murrell, et al., 2012).

Para obtener la presencia de coliformes debe utilizarse un medio que contenga lactosa y sales biliares (caldo de bilis verde brillante), al ser utilizadas las técnicas de fermentación de esta sección, estos coliformes se definen como todas las bacterias anaerobias facultativas, sin la capacidad de formar esporas y con formas de bastón que poseen la facultad de fermentar la lactosa cuando existe la presencia de ácido en sales biliares y gas dentro de 48 horas a temperatura de 35°C (Clesceri et al., 2017).

Las aguas residuales o también llamadas aguas “servidas” o “efluentes”, se convierten en un recurso infravalorado y subestimado a menudo que deber ser eliminado, o una molestia que debe de ignorarse (UNESCO,2017). Estás AR (aguas residuales) es considerada una mezcla en la salida de aguas domésticas,

consideradas aguas negras, presentes en estos lodos fecales, excremento y orina; las aguas grises procedentes de lavado y baño); aguas originadas por instituciones comerciales, hospitalarios; entre los industriales se encuentran las aguas pluviales y otras escorrentías acuícola, agrícola, urbana y hortícolas (Raschid y Jayakody, 2008).

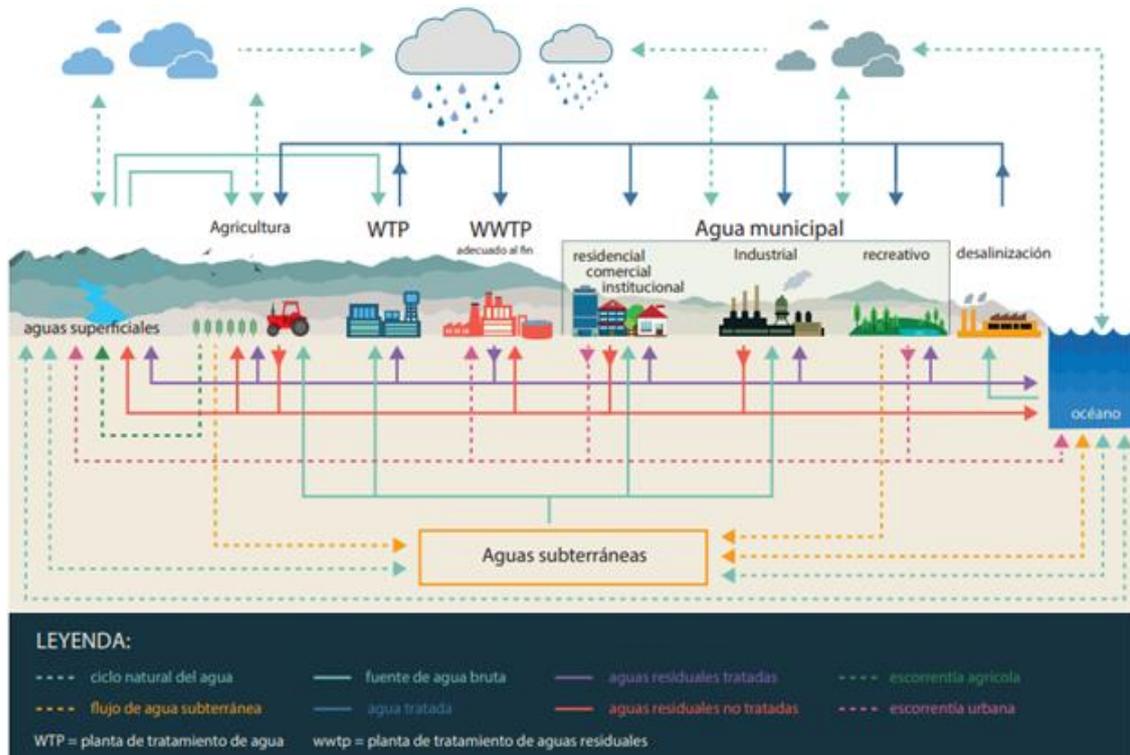


Figura 03. Aguas residuales y el ciclo del agua

Fuente: Informe de la UNESCO, 2017.

Una de las características de estas aguas residuales es son modificadas por las diferentes actividades antropogénicas, por tal motivo es necesario un tratamiento preliminar, con el fin de que tenga un uso adecuado para luego poder verterlas a un cuerpo natural de agua o sean depositados en sistemas de alcantarillados (OEFA, 2014). Siendo este medio muy valorado por los agricultores, por poseer un alto contenido de nutrientes como fósforo, nitrógeno y de materia orgánica, teniendo la función de mejorar los suelos, pero su uso de este tiene una desventaja de agentes patógenos dentro de estos podemos encontrar los huevos de helminto (Aguilar, 2010).

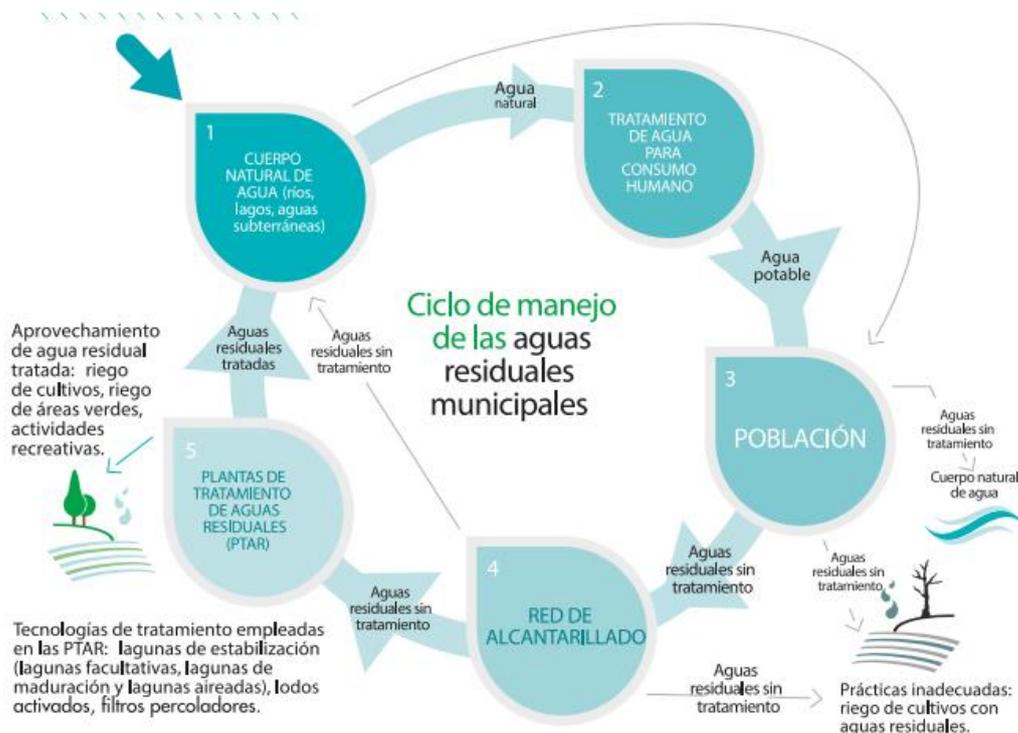


Figura 04. Ciclo de manejo de las aguas residuales municipales

Fuente: OEFA, 2014

Dentro de las aguas residuales encontramos a las aguas residuales municipales provenientes de actividades diarias como son industriales, comerciales y domésticas, que al término de su proceso estas terminan generando aguas residuales, siendo depositadas a las redes de alcantarillado de las Empresas Prestadores de Servicios de Saneamiento u otras similares, estas aguas al no tener un tratamiento adecuado pueden llegar a ser vertidas en cuerpos naturales o en terrenos baldíos y llegar a ser utilizados por los agricultores en el riego de sus sembríos (OEFA, 2014). En comparación con las aguas residuales provenientes de los animales, con agua residual municipal presentan menos fósforo y nitrógeno; mientras que en las aguas residuales municipales hay presencia de metales pesados que se vierten sin tratar (Aguilar, 2010). El dren 3100 está implementado para que discurran aguas residuales provenientes de la agricultura y lluvias producidos por los fenómenos climáticos, pero debido al manejo inadecuado de las aguas residuales municipales por parte de las empresas prestadoras de servicios y saneamiento, el dren 3100 también alberga el vertimiento de aguas residuales municipales.

Tabla 02. Etapas del tratamiento de agua residual

| Etapas de tratamientos | Objetivo | Ejemplo |
|-----------------------------------|--|---|
| Pre- Tratamiento | Retirar las arenas y materia de tamaño relevante | Desengrasado |
| | | Tamizado y desbaste |
| | | Desarenado |
| T. Primario | Remover los sólidos en suspensión (SS) | Digestión primaria de lodos, fosas sépticas, tanques de doble acción, sedimentación, floculación y coagulación, |
| T. Secundario | Disminución de la materia orgánica | Lechos bacterianos, filtros, procesos de lodos activados y lagunas aireadas |
| T. avanzado/ Terciario | Eliminar color, olor, microorganismos patógenos y la carga orgánica Se hace la coloración para tener un agua con mayor pureza | Coloración, carbón activado, rizofiltración y osmosis inversa |

Fuente: Obtenida de Rossi, (2010)

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

3.1.1 Tipo de investigación

Es aplicada y con un enfoque cuantitativo puesto que busca mediante la teoría resolver problemas prácticos y mejorar la toma de decisiones mediante guías, protocolos, metodología y tecnologías (CONCYTEC, 2020). Como es el uso de la microalga *Chlorella* sp. para remover coliformes de aguas residuales del dren 3100.

3.1.2 Diseño de investigación

Es experimental, porque se evaluó la eficiencia de la microalga *Chlorella* sp. para remover coliformes de las aguas residuales del dren 3100. Este diseño permite someter a la variable independiente en determinados tratamientos, estímulos o condiciones, con el fin de observar cada una de las reacciones o efectos que se dan en la variable dependiente. Además, es caracterizada principalmente por la alteración y control de variables que utiliza el que se investiga a lo largo del experimento (Gallardo, 2017). Se hicieron 3 tratamientos, los cuales fueron analizados 3 veces cada uno.

Tabla 03. Descripción de los tratamientos

| Tratamiento | Descripción |
|-------------|---|
| T1 | 20% <i>Chlorella</i> sp + agua residual |
| T2 | 30% <i>Chlorella</i> sp + agua residual |
| T3 | 40% <i>Chlorella</i> sp + agua residual |

Fuente: Elaboración propia

Tabla 04. Repeticiones de los tratamientos

| Muestras | Tratamientos (Dosis) | | |
|------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Tratamiento 1: 20% | Tratamiento 2: 30% | Tratamiento 3: 40% |
| A (aguas abajo) | T1-A | T2-A | T3- C |
| B (Vertimiento) | T1- B | T2-B | T3- C |
| C (aguas arriba) | T1- C | T2- C | T3- C |

Fuente: Elaboración propia

3.2. Variables y operacionalización

3.2.1. **Variable dependiente**, en este trabajo se tiene como variable dependiente la remoción de coliformes presentes en las aguas residuales que discurren el dren 3100. Una variable dependiente indica el reflejo o resultado de una investigación (Gallardo, 2017), cuyo valor es dependiente del modo en que la variable independiente varía (Gorschek y Davis, 2008).

3.2.2. **Variable independiente**, siendo en esta investigación las dosis de la microalga *Chlorella* sp., la variable independiente se encarga de representar a los condiciones o tratamientos que los investigadores controlan para acreditar su efecto hacia algún resultado (Gallardo, 2017), es capaz de modificar o permitir cambios en el proceso de la investigación (Gorschek y Davis, 2008).

La matriz de operacionalización se visualiza en el Anexo 1

3.3. Población, muestra y muestreo.

3.3.1 **Población**, es un conjunto de casos, definidos, limitados y accesibles en un determinado tiempo y espacio, que forma la referencia para dar paso a la toma de muestra, además tiene que cumplir con algunas reglas preestablecidas (Gómez, Villasís y Miranda, 2016). En esta investigación se ha considerado como población las aguas residuales que discurren por el dren 3100.

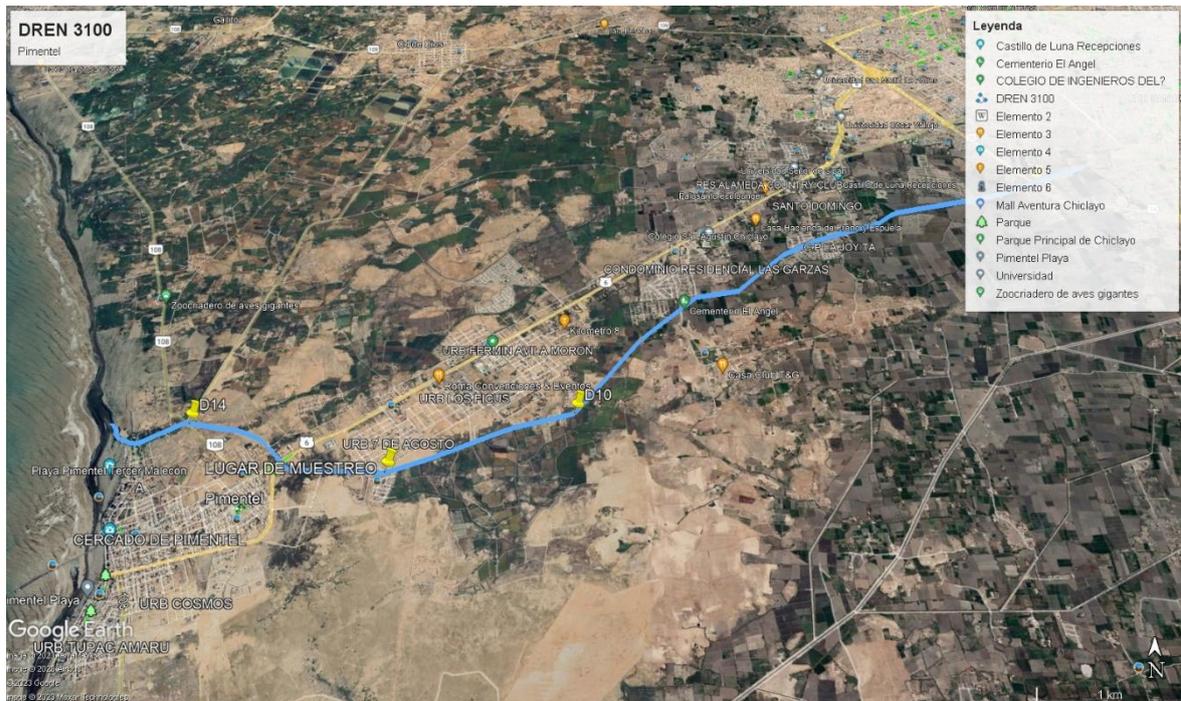


Figura 05. Recorrido y zona de influencia del Dren 3100

Fuente: Google earth

Criterios de inclusión:

- Aguas que se encuentren recorriendo el dren 3100.
- Aguas con corrientes homogéneas.

Criterios de exclusión:

- Aguas provenientes de otros drenes.
- Aguas profundas y detenidas.
- Aguas con presencia de residuos sólidos.

3.3.2 Muestra, una cantidad representativa de la población, con cierta asociación y características similares (Singh y Masuku, 2014). La muestra en este trabajo está compuesta por 6 litros de agua residual del dren 3100.

3.3.3 Muestreo, tiene relación con la forma en que es seleccionado un subconjunto de sujetos dentro de una población con el fin de apreciar sus características de toda una población (Singh y Masuku, 2014). Se trabajó con el muestreo no probabilístico por conveniencia en este estudio.

3.3.4 Unidad de análisis, fue representada por 1 litro de agua residual.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica empleada para la recolección de datos fue la observación y mediante los protocolos de monitoreo se hizo la mediación. La recolección se dio inicio con el muestreo de agua residual que circula por el dren 3100 y para la toma de muestras se tuvo en cuenta el protocolo de monitoreo de la calidad sanitaria de los recursos hídricos superficiales. Así mismo para el cultivo de las microalgas se siguió lo indicado por el INIA. La identificación de coliformes se inició con la esterilización de instrumentos utilizados en el laboratorio y la preparación del medio de cultivo, posterior a ello se tuvo en cuenta la técnica de fermentación en múltiples tubos para miembros del grupo coliformes. El instrumento utilizado fue la ficha de registros de datos, en el cual se plasmaron.

Siendo los siguientes materiales y equipos utilizados para determinar coliformes tanto totales y termotolerantes.

- Tubos Durham
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pipeta graduada
- Mecheros
- Agua de dilución
- Caldo lactosado verde brillante bilis a 2%.
- Caldo Lactosado
- Mango Kolle con asa
- Incubadora
- Autoclave
- Balanza
- Frascos para tomar las muestras
- Matraces
- Medio de cultivo EC
- Baño maría

3.5. Procedimientos

Seguidamente se detalla el procedimiento de la investigación, la cual se presenta de forma resumida en la **Figura 10**.

3.5.1 Cultivo de la microalga *Chlorella sp.* Se adquirió una cepa de 50 ml de la empresa ALGATEX BIOTECHNOLOGY INC. Esta cepa fue verificada en el microscopio a 40X en el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo -Filial Chiclayo.

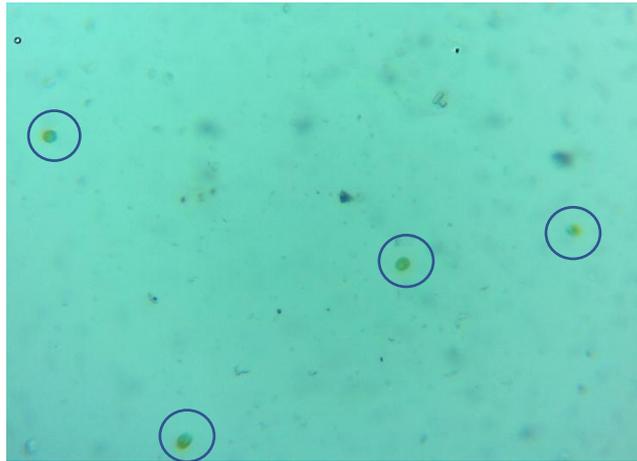


Figura 06. Microalga *Chlorella sp.* expuesta al microscopio

Fuente: Elaboración propia

Posterior a la verificación se procedió a aumentar la masa microalgal en volumen (Ver Figura 7), se inoculó 25 ml de cepa en un matraz de 500ml usando como medio de cultivo 2g/l de Nitrofoska a una temperatura de $18^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 15 días, con iluminación lateral de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad conectada a mangueras de acuarios de 4 L/min mediante el cual fue introducido aire al sistema.



Figura 07. Incrementación del volumen de la microalga *Chlorella* sp.

Fuente: Elaboración propia

3.5.2 Toma de muestras, para ejecutar la extracción de la muestra se tuvo en cuenta el protocolo de monitoreo de la calidad sanitaria de los recursos hídricos superficiales.

Se tomaron 3 muestras simples de 2 litros de agua residual en tres puntos, iniciando con la muestra A (aguas abajo) ubicado a 100 m del punto de vertimiento, muestra B (vertimiento) y C (aguas arriba) ubicado a 50 m del punto de vertimiento. En la **figura 08** se observa la ubicación de los puntos de toma de muestras y en anexo 2 se aprecia con mayor detalle.



Figura 08. Ubicación de los puntos de toma de muestras

Fuente: Google Earth, 2023

3.5.4 Determinación de coliformes

Para identificar los coliformes se tuvo en cuenta el manual práctico de análisis de agua (4ª edición) y métodos estándar para la examinación de agua y agua residual, usando la técnica de fermentación en múltiples tubos para miembros del grupo coliformes.

Ejecución de la prueba para agua residual

Prueba presuntiva, consistió en diluir agua residual con agua de dilución de 10^{-1} hasta 10^{-5} , luego se distribuyó 5 tubos de ensayo en cada dilución seriada que contenían 10ml de caldo lactosa simple concentración. Luego fue mezclado e incubado a una temperatura de $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas. Posterior a 24 a 48 horas al ver la existencia de gas en el interior de los tubos de Durham, indica que la prueba presuntiva es positiva. Se procede hacer la prueba confirmativa con los positivos y se descarta a los tubos que no tiene presencia de gas.

Prueba confirmativa para coliformes totales, consiste en usar la misma cantidad de tubos que resultaron positivos en la prueba presuntiva. Los tubos contienen el medio de cultivo verde brillante bilis a 2%, mediante la ayuda de un mango Kolle fría antes flameada en un mechero, se retiró una porción de muestra de cada tubo positivo para inocular en cada tubo que contenga el medio de cultivo. Los tubos debidamente rotulados, se dejaron incubar durante 24 a 48 horas a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Después de verificar los tubos, si se observa gas en el interior de los tubos Durham, la prueba es positiva, de contrario la prueba es considerada negativa.

Prueba confirmativa para coliformes termotolerantes, consiste en usar la misma cantidad de tubos que hayan salido positivos en la prueba presuntiva (crecimiento después de 48 horas). Los tubos contienen el medio EC y mediante la ayuda de un mango Kolle fría antes flameada en un mechero, se retiró una porción de muestra de cada tubo positivo para inocular en cada tubo que contenga el medio de cultivo, posteriormente fue mezclado y dejado los tubos en baño de agua por un periodo de 30 minutos. Finalmente, los tubos debidamente rotulados, se dejaron incubar durante 24 ± 2 , con $44.5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ de temperatura, en baño maría. Después se verificó los tubos y si se observa gas en el interior de los tubos Durham, la prueba es positiva para coliformes termotolerantes.

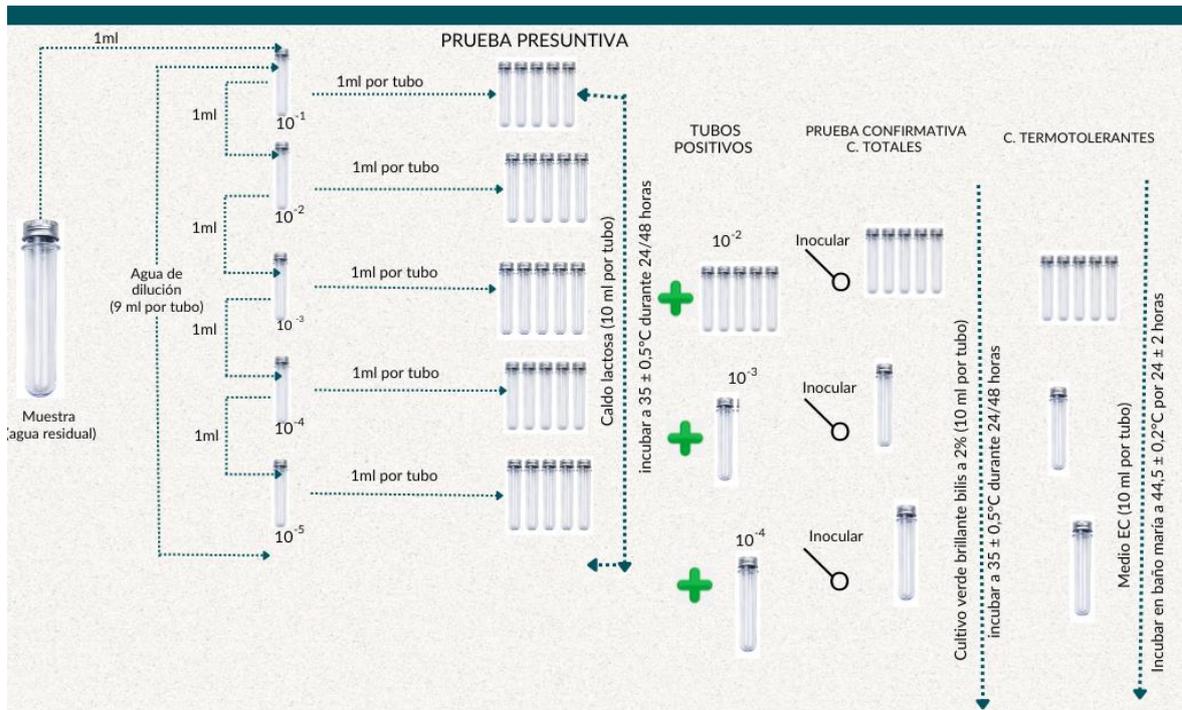


Figura 09. Técnica de fermentación en tubos múltiples para miembros del grupo coliformes.

Fuente: Elaboración propia adaptado de American Public Health Association, 1998

Resultados, son expresados en Número Más Probable (NMP)/100ml de muestra y la determinación se da según la combinación que forma el número de tubos positivos que presentan las diluciones 1:100, 1:10 y 1:1 en la prueba confirmativa de la Tabla 5.

Luego usar la siguiente fórmula para determinar el resultado final

$$\text{Aprox. de NMP/100ml} = \frac{(\text{Valor de NMP según Tabla 5}) (10)}{\text{Volumen mayor estudiado}}$$

Ejemplo:

Tabla 05. *Ejemplo con los resultados obtenidos*

| Resultados | Dilución seriada | | | | | Combinación de positivos | NMP/100 mL |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------------|------------|
| | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁵ | | |
| Muestra A | | | | | | | |
| Positivos para coliformes totales | - | 5 de 5 | 1 de 5 | 1 de 5 | - | 5-1-1 | 50 |
| positivos para coliformes termotolerantes | - | 5 de 5 | 0 de 5 | 2 de 5 | - | 5-0-2 | 40 |

Fuente: Elaboración propia adaptada de American Public Health Association, 1998

$$\text{Coliformes totales} = \frac{(50) (10)}{10^{-2}} = 50\,000 \text{ NMP/100ml}$$

$$\text{Coliformes termotolerantes} = \frac{(40) (10)}{10^{-2}} = 40\,000 \text{ NMP/100ml}$$

Tabla 06. Número más probable (NMP) de resultados positivos para diferentes combinaciones al usar 5 tubos por cada dilución (0.1 ml, 1,0 ml y 10 ml) con un límite de confiabilidad de 95%.

| Combinación de positivos | NMP/100 mL | Combinación de positivos | NMP/100 mL |
|--------------------------|------------|--------------------------|------------|
| 5-5-5 | ≥1600 | 4-2-0 | 26 |
| 5-5-4 | 1600 | 4-1-2 | 22 |
| 5-5-3 | 900 | 4-1-1 | 21 |
| 5-5-2 | 500 | 4-1-0 | 17 |
| 5-5-1 | 300 | 4-0-1 | 17 |
| 5-5-0 | 240 | 4-0-0 | 13 |
| 5-4-4 | 350 | 3-2-1 | 17 |
| 5-4-3 | 280 | 3-2-0 | 14 |
| 5-4-2 | 220 | 3-1-1 | 14 |
| 5-4-1 | 170 | 3-1-0 | 11 |
| 5-4-0 | 130 | 3-0-1 | 11 |
| 5-3-3 | 170 | 3-0-0 | 8 |
| 5-3-2 | 140 | 2-3-0 | 12 |
| 5-3-1 | 110 | 2-2-0 | 9 |
| 5-3-0 | 80 | 2-1-1 | 9 |
| 5-2-2 | 90 | 2-1-0 | 7 |
| 5-2-1 | 70 | 2-0-1 | 7 |
| 5-2-0 | 50 | 2-0-0 | 4 |
| 5-1-2 | 60 | 1-2-0 | 6 |
| 5-1-1 | 50 | 1-1-1 | 6 |
| 5-1-0 | 30 | 1-1-0 | 4 |
| 5-0-2 | 40 | 1-0-1 | 4 |
| 5-0-1 | 30 | 1-0-0 | 2 |
| 5-0-0 | 23 | 0-2-0 | 4 |
| 4-4-0 | 34 | 0-1-0 | 2 |
| 4-3-1 | 33 | 0-0-1 | 2 |
| 4-3-0 | 27 | 0-0-0 | < 2 |
| 4-2-1 | 26 | | |

Fuente: American Public Health Association, 1985

3.5.3 Aplicación de las dosis en cada tratamiento

Una vez obtenida la microalga *Chlorella* sp. a un volumen mayor está se aplicó directamente al agua residual. El tratamiento 1 estuvo compuesto por 20 ml de *Chlorella* sp. y 80 ml de agua residual, el tratamiento 2 contuvo 30 ml de *Chlorella* sp. y 70 ml de agua residual y el tratamiento 3 estuvo compuesto por 40 ml de *Chlorella* sp. y 60 ml de agua residual. Cada uno de los tratamientos fueron analizado en la hora 0 y 72 horas, dónde se determinaron los siguientes parámetros.

Tabla 07. Análisis de parámetros

| Parámetros | Periodo de análisis |
|----------------------------|---------------------|
| Coliformes totales | 0 y 72 horas |
| Coliformes termotolerantes | |
| Temperatura | 0 y 72 horas |
| pH | 0 y 72 horas |

Fuente: Elaboración propia

Para de determinar la eficiencia de remoción de coliformes se usó la siguiente fórmula:

$$\% \text{Eficiencia} = \left(\frac{\text{Con. Inicial} - \text{Con. Final}}{\text{con. Inicial}} \right) \times 100$$

Donde:

- %Eficiencia: Eficiencia de remoción de coliformes expresado en porcentaje
- Con. Inicial: concentración inicial de coliformes es decir antes del tratamiento
- Con. Final: concentración final de coliformes es decir después del tratamiento

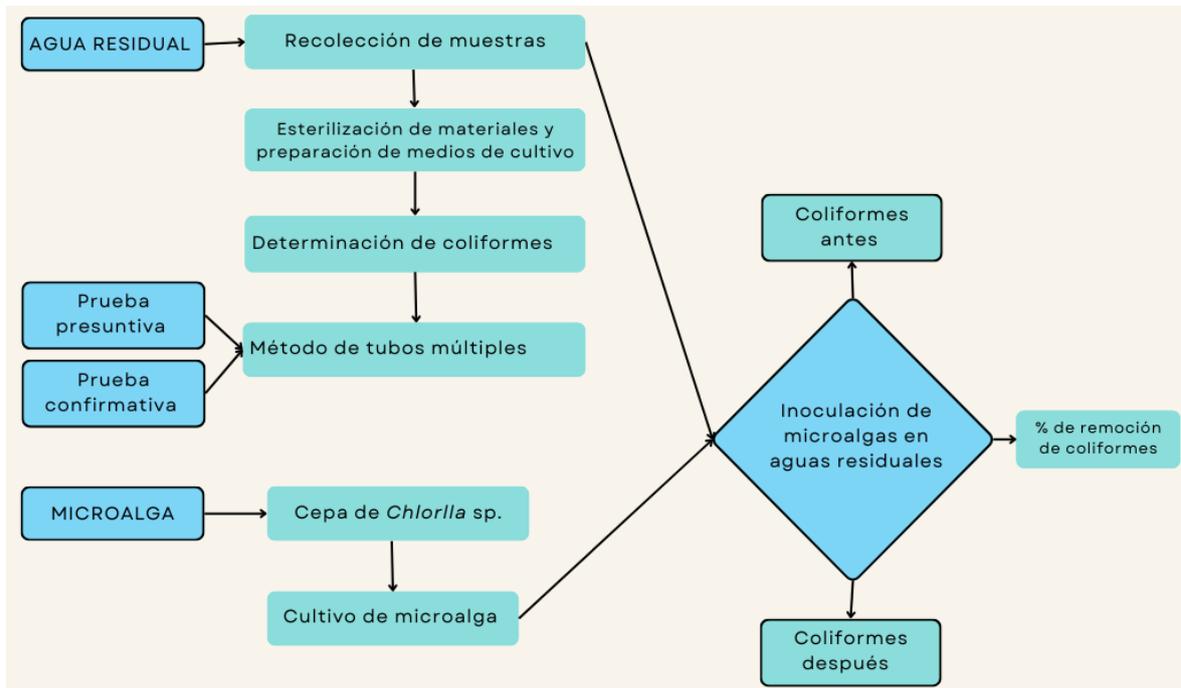


Figura 10. Esquema del proceso de investigación

Fuente: Elaboración propia

3.6. Método de análisis de datos

Para analizar los datos obtenidos se utilizaron las técnicas de estadística descriptiva mediante el software SPSS y la hoja de cálculo Excel 2016.

3.7. Aspectos éticos

Este trabajo de investigación se basó en la autenticidad y respeto de las fuentes de información, realizando las citas de los autores de manera correcta reconociendo sus derechos de estos, citando apropiadamente en estilos internacionales (ESTILO ISO), además de ello considerando el cumplimiento de la ética de investigación normada por la Universidad César Vallejo RCU N°062–2023-VI/UCV, en el que indica que para la realización de un estudio de investigación se basan en una serie de normas en la cual se rigen en los principios éticos y las buenas prácticas con el fin de avalar la responsabilidad de los investigadores. Así mismo el documento durante el desarrollo del proyecto es sometido al software Turnitin para su evaluación de autenticidad.

IV. RESULTADOS

Para la realización de esta investigación se siguió los objetivos específicos propuestos:

4.1. Ubicación de la zona de estudio y la toma muestra en el sector Las Dunas – Pimentel



Figura 11. Recolección de muestras

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la figura 11, se puede observar la ubicación del lugar donde se llevó a cabo la toma de muestras para su posterior análisis en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad César Vallejo-Filial Chiclayo. Así mismo se realizó un análisis in situ de cómo está el área, observándose una contaminación hacia el dren 3100 por parte de la población de la Urbanización Las Dunas – Pimentel; quienes arrojan sus residuos sólidos, excrementos de animales y lo más perjudicial para la salud es el vertimiento directo de aguas residuales sin ningún control alguno por parte de la empresa prestadora de servicios y saneamiento – EPSEL, siendo una fuente de contaminación del medio acuático, el mismo que tiene como desembocadura en el mar de Pimentel.

Otra de las actividades que amenaza la salud es el uso de las aguas residuales del dren 3100 para el riego de los cultivos, puesto que varios agricultores han instalado tubos y mediante motobombas extraen agua del dren 3100 para regar cultivos de hortalizas como camote, cereales como el maíz y arroz, verduras como lechuga,

zanahoria, cebolla china, tomate, caigua y rabanito. Detallando a continuación los puntos de muestreo.

Tabla 08. *Coordenadas de ubicación de los puntos de muestreo*

| Puntos | Coordenadas | |
|-----------------|-------------|---------|
| | x | y |
| A: aguas abajo | 619200 | 9244899 |
| B: vertimiento | 619267 | 9244896 |
| C: aguas arriba | 619327 | 9244892 |

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 08, se encuentran las coordenadas de donde se ha extraído las muestras, donde A es el punto de aguas abajo, B es el punto de vertimiento de agua residual doméstica y C es el punto de aguas arriba.

4.2. Cultivo e incorporación de la microalga *Chlorella* sp. en diferentes dosis.

4.2.1 Resultado de concentración de coliformes totales y termotolerantes antes de ser aplicado la microalga *Chlorella* sp.

Tabla 09. *Concentración de coliformes termotolerantes y totales antes del tratamiento*

| Muestras | NMP/100 ml de muestra | |
|----------|-----------------------|--------------------|
| | C. Totales | C. Termotolerantes |
| A | 50000 | 40000 |
| B | 40000 | 34000 |
| C | 30000 | 30000 |

Fuente: Elaboración propia

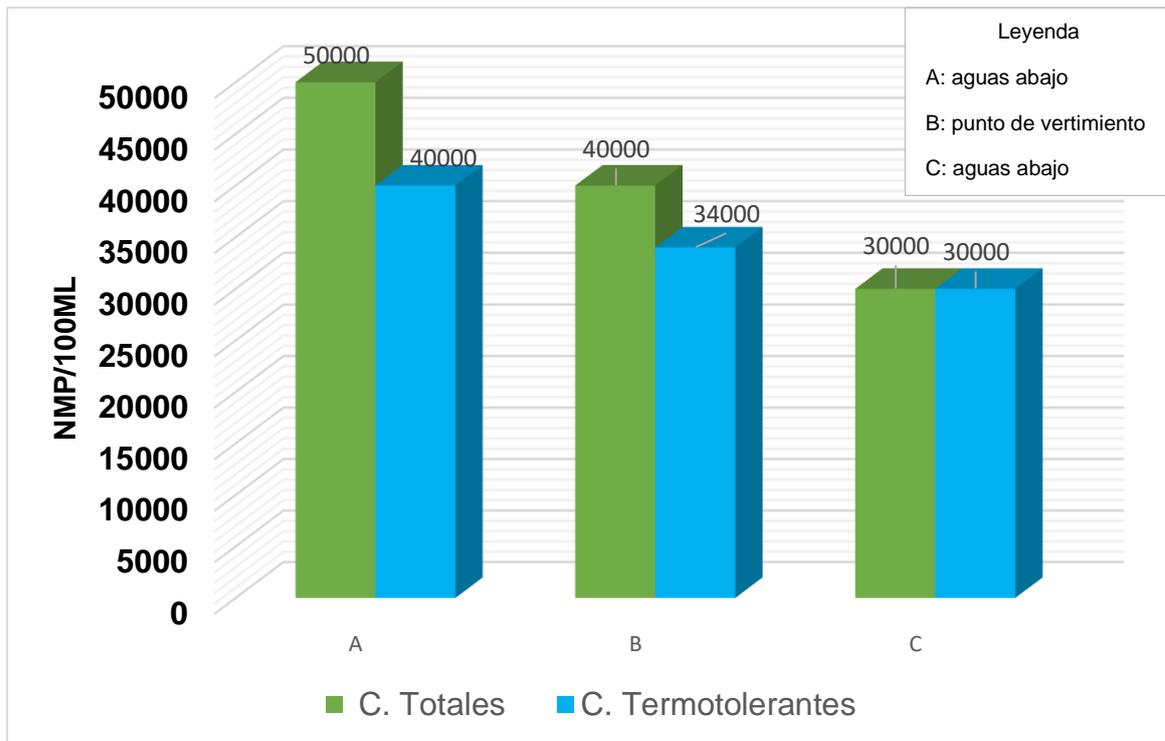


Figura 12. Concentración de coliformes antes de incorporar dosis de microalga *Chlorella* sp.

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Se analizó tres muestras de agua residual del dren 3100 de diferentes puntos y en la tabla 09 y Figura 12 se observa la concentración de coliformes termotolerantes y totales antes del tratamiento donde la muestra A que corresponde a aguas abajo tuvo mayor concentración de coliformes termotolerantes y totales con valores de 4×10^4 NMP/100 ml y 5×10^4 NMP/100 ml respectivamente.

Seguido la muestra B (vertimiento de agua servidas) con valores de 4×10^4 NMP/100 ml de coliformes totales y 34×10^3 NMP/100 ml de coliformes termotolerantes y la muestra C que pertenece a aguas arriba es la que contiene una concentración menor de coliformes con 3×10^4 NMP/100 ml tanto de coliformes termotolerantes y totales, pero todos sobrepasan los Estándares de Calidad Ambiental aprobado por el Decreto Supremo N°004-2017-MINAM, específicamente dentro de la categoría 3: agua para riego de vegetales, nos indica que el LMP es de 1×10^3 NMP/100 ml para agua de riego no restringido y 2×10^3 NMP/100 para agua de riego restringido.

4.2.2 Resultado de concentración de coliformes totales y termotolerantes después de aplicar la microalga *Chlorella* sp.

Tabla 10. Resultado de tratamiento 1 (20% de *Chlorella* sp. + agua residual)

| Tratamiento 1 | NMP/100 ml de muestra | |
|---------------|-----------------------|--------------------|
| | C. Totales | C. Termotolerantes |
| Muestra A | 2000 | 2000 |
| Muestra B | 1600 | 1600 |
| Muestra C | 1600 | 1600 |

Fuente: Elaboración propia

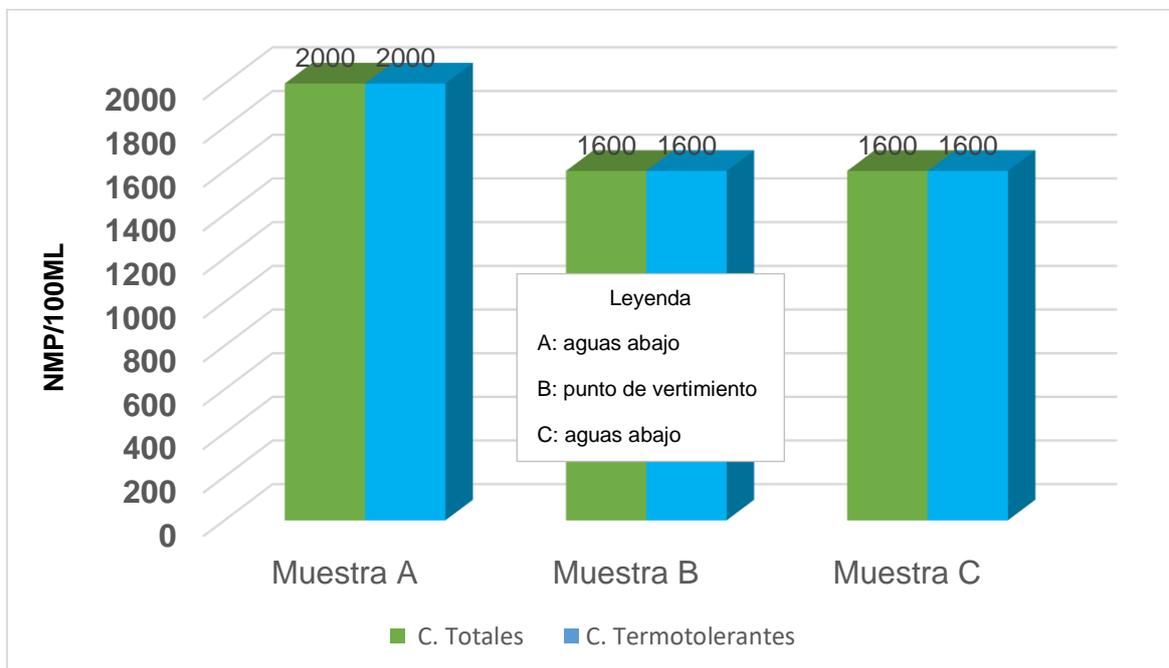


Figura 13. Concentración de coliformes después de aplicar 20% de *Chlorella* sp.

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la Tabla 10 y figura 13, se muestra las concentraciones de coliformes totales y termotolerantes donde la muestra A, correspondiente a aguas abajo posee un valor de 2×10^3 NMP/100 ml, tanto la muestra B que pertenece al vertimiento de aguas servidas y la muestra C que forma parte de aguas abajo tienen como resultado la misma concentración de coliformes totales y termotolerantes con un valor de 16×10^2 NMP/100 ml.

Tabla 11. Resultado de tratamiento 2 (30% de *Chlorella* sp. + agua residual)

| Tratamiento 2 | NMP/100 ml de muestra | |
|---------------|-----------------------|--------------------|
| | C. Totales | C. Termotolerantes |
| Muestra A | 900 | 900 |
| Muestra B | 900 | 900 |
| Muestra C | 900 | 900 |

Fuente: Elaboración propia

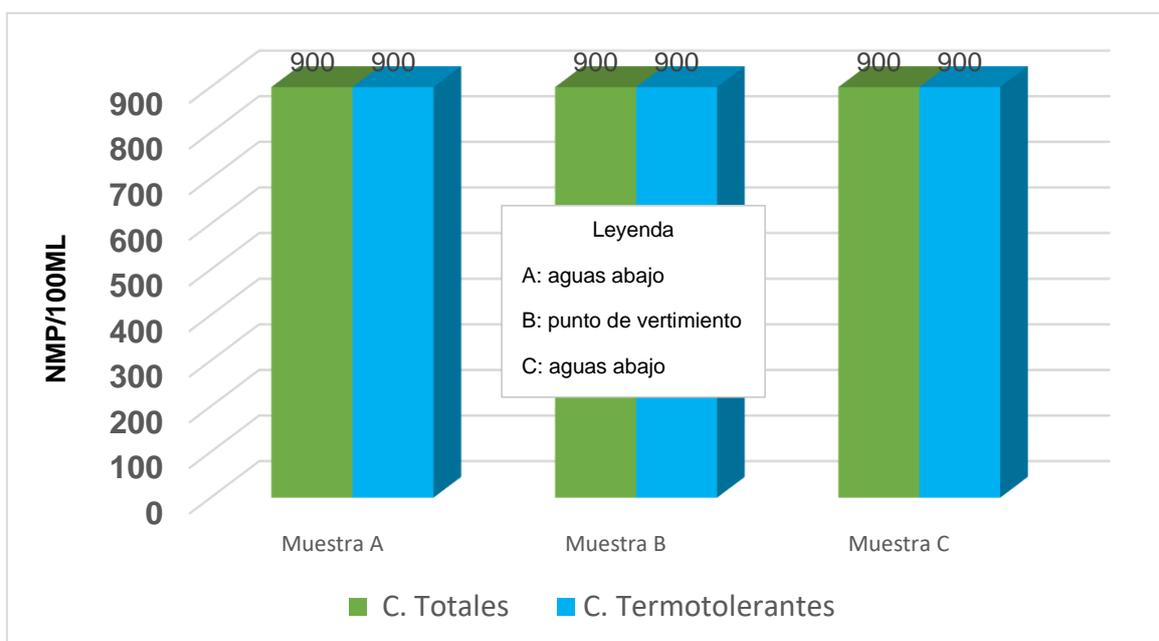


Figura 14. Concentración de coliformes después de aplicar 30% de *Chlorella* sp.

Fuente: Elaboración propia

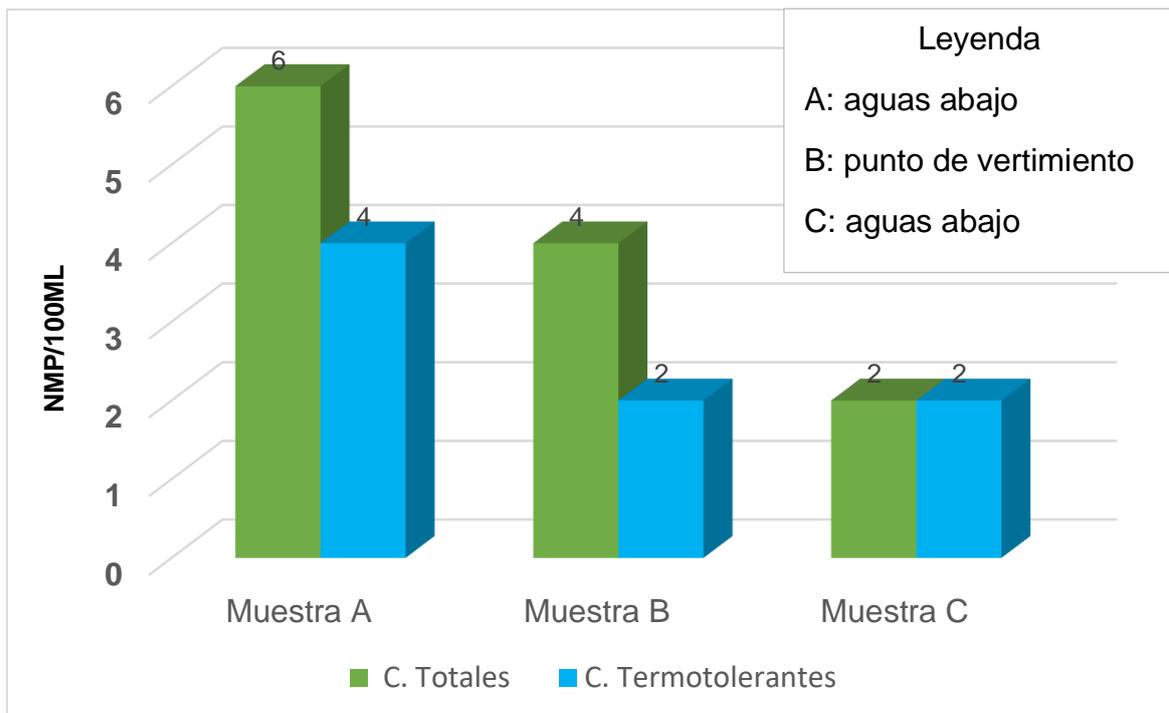
Interpretación:

En la Tabla 11 y figura 14, se muestra las concentraciones de coliformes totales y termotolerantes teniendo como resultados 9×10^2 NMP/100 ml para las tres muestras: A correspondiente a aguas abajo, B punto de vertimiento de aguas servidas y C perteneciente a aguas abajo.

Tabla 12. Resultado de tratamiento 3 (40% de *Chlorella* sp. + agua residual)

| Tratamiento 3 | NMP/100 ml de muestra | |
|---------------|-----------------------|--------------------|
| | C. Totales | C. Termotolerantes |
| Muestra A | 6 | 4 |
| Muestra B | 4 | 2 |
| Muestra C | 2 | 2 |

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Al analizar las tres muestras de agua residual del dren 3100 luego de aplicar 40% de *Chlorella sp.* se observa en la Tabla 12 y Figura 15 la concentración mínima de coliformes totales y termotolerantes donde la muestra A que corresponde a aguas abajo tuvo valores de 6 NMP/100 ml y 4 NMP/100 ml respectivamente, la muestra B perteneciente al vertimiento de aguas servidas con valores de 4 NMP/100 ml de coliformes totales y 2 NMP/100 ml de coliformes termotolerantes y la muestra C que pertenece a aguas arriba es la que contiene una concentración de coliformes con un valor de 2 NMP/100 ml tanto de coliformes totales y termotolerantes.

4.2.3 Remoción de coliformes totales y termotolerantes

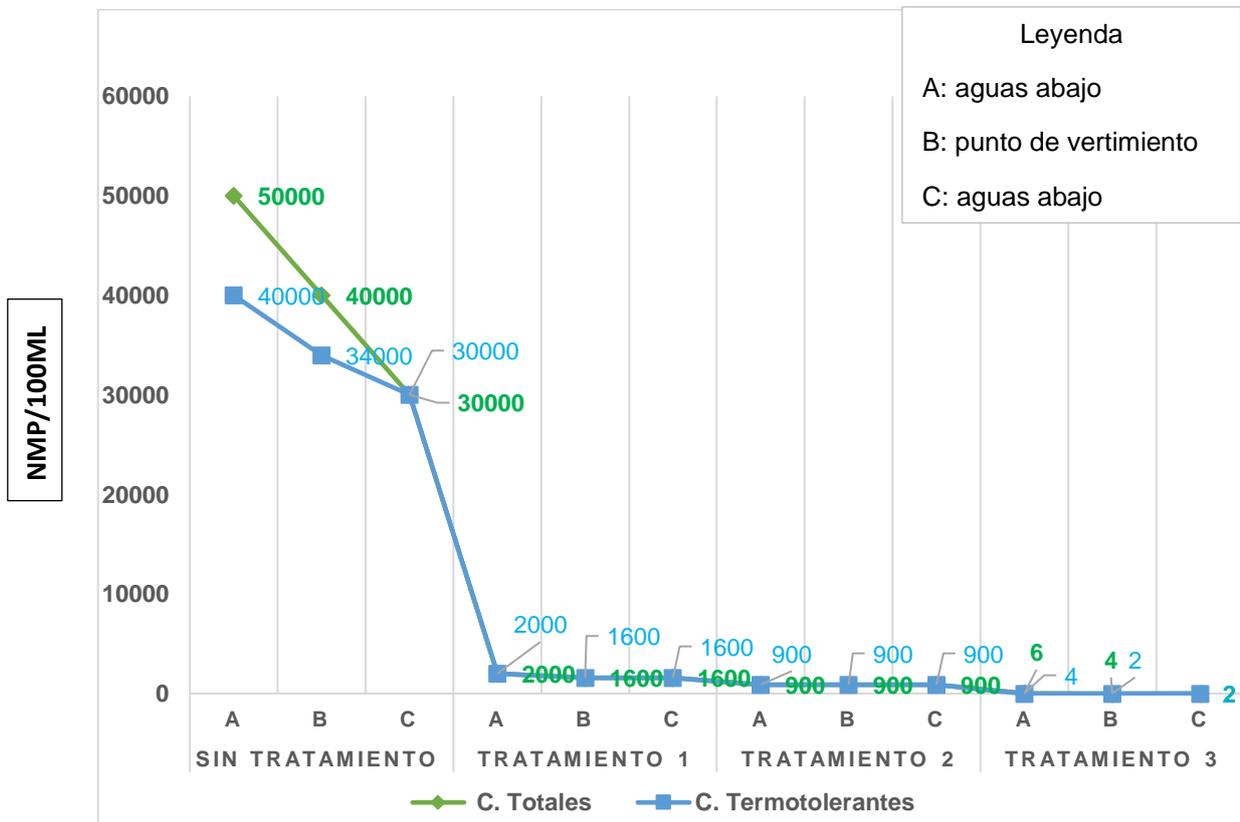


Figura 16. Concentración de coliformes antes y después de aplicar la microalga *Chlorella sp.*

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la Figura 16 se muestra la reducción de la concentración de coliformes totales y termotolerantes de las aguas del dren 3100, las muestras sin tratamiento o en la hora 0 poseen una elevada cantidad de coliformes, luego de 72 horas todos los tratamientos reducen una cantidad muy significativa de coliformes, siendo el tratamiento 3 el que reduce la mayor cantidad de coliformes.

Tabla 13. Porcentaje de remoción de coliformes

| | % de remoción | | | | | |
|-----------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|
| | Tratamiento 1 | | Tratamiento 2 | | Tratamiento 3 | |
| | C. | C. | C. | C. | C. | C. |
| | Totales | Termotolerantes | Totales | Termotolerantes | Totales | Termotolerantes |
| Muestra A | 96.00% | 95.00% | 98.20% | 97.75% | 99.99% | 99.99% |
| Muestra B | 96.00% | 95.29% | 97.75% | 97.35% | 99.99% | 99.99% |
| Muestra C | 94.67% | 94.67% | 97.00% | 97.00% | 99.99% | 99.99% |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

La tabla 13, evidencia el porcentaje de remoción de coliformes, resultado obtenido a partir de aplicar la fórmula de % de eficiencia, en los tratamientos 1, 2 y 3 analizados en 0 y 72 horas, se observa que la cantidad de coliformes termotolerantes y totales fue reducido.

Siendo el tratamiento 1 donde se usó un 20% de *Chlorella* sp. en cada una de las muestras se logró una remoción menor de coliformes totales con un 96.00% en la muestra A (aguas abajo) y B (punto de Vertimiento de aguas servidas) y un 94.67% en la muestra C (aguas arriba) de la misma forma para coliformes termotolerantes con un 95.00% en la muestra A, 95.29% en la muestra B y un 94.67% en la muestra C. El tratamiento 3 donde se usó un 40% de *Chlorella* sp. es el que remueve casi en su totalidad tanto coliformes termotolerantes y totales con un valor de 99.99% en cada una de las muestras, por ende, es el tratamiento más eficiente para remover coliformes.

4.3 Comparación de los resultados iniciales y finales del tratamiento de las aguas residuales municipales que discurren por el dren 3100 con los valores estándares de calidad ambiental – ECA.

4.3.1 Categorías de las aguas para aplicar los ECA

Tabla 14. ECA de cantidad de coliformes pertenecientes a la categoría 1

| Categoría 1: recreacional y poblacional | | Coliformes totales (NMP/100 ml) | Coliformes termotolerantes (NMP/100 ml) |
|---|---|---------------------------------------|---|
| Subcategoría A: Aguas para potabilización | A1: Aguas potabilizadas con desinfección | 50 | 20 |
| | A2: Aguas potabilizadas con tratamiento convencional | - | 2 000 |
| | A3: Aguas potabilizadas con tratamiento avanzado | - | 20 000 |
| Subcategoría B: aguas para recreación | B1: contacto primario | - | 200 |
| | B2: contacto secundario | - | 1 000 |

Fuente: DS N°004-2017-MINAM

Interpretación:

La tabla 14, en la subcategoría A, muestra el Límite Máximo Permisible de coliformes termotolerantes y totales en aguas pertenecientes a la categoría 1, subcategoría A, siendo éstas las aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable.

En la tabla 14 en la subcategoría B, se observa el LMP de coliformes termotolerantes en aguas pertenecientes a la subcategoría B, las cuales son aguas superficiales para recreación.

Tabla 15. ECA de concentración de coliformes en aguas pertenecientes a la categoría 3: bebida de animales y riego de vegetal

| Parámetro | Unidad de medición | D1: riego de vegetal | | B2 |
|----------------------------|--------------------|----------------------|-------------|--------------------|
| | | no restringido | restringido | Bebida de animales |
| Coliformes Termotolerantes | NMP/100 ml | 1 000 | 2 000 | 1 000 |

Fuente: DS N°004-2017-MINAM

Interpretación:

La tabla 15 muestra el LMP de coliformes termotolerantes presentes en aguas pertenecientes a la categoría 3, donde pertenecen las aguas usadas para el riego de vegetales y aguas que pueden beber los animales.

Tabla 16. Concentración de coliformes al inicio y final del tratamiento

| | MUESTRAS | C. Totales | C. Termotolerantes |
|-----------------|----------|------------|--------------------|
| Sin tratamiento | A | 50000 | 40000 |
| | B | 40000 | 34000 |
| | C | 30000 | 30000 |
| Tratamiento 1 | A | 2000 | 2000 |
| | B | 1600 | 1600 |
| | C | 1600 | 1600 |
| Tratamiento 2 | A | 900 | 900 |
| | B | 900 | 900 |
| | C | 900 | 900 |
| Tratamiento 3 | A | 6 | 4 |
| | B | 4 | 2 |
| | C | 2 | 2 |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla 16 se muestra que la concentración de coliformes antes de aplicar la microalga *Chlorella* sp. supera los Estándares de Calidad Ambiental para agua establecidos en el Decreto Supremo N°004-2017-MINAM. Por otro lado, la tabla 16 muestra que al aplicar la microalga *Chlorella* sp. hay una disminución de la cantidad de coliformes llegando a cantidades mínimas que están muy por debajo de los LMP establecidos por el MINAM. El tratamiento 3 permite la mayor remoción de coliformes, convirtiéndose en el mejor tratamiento.

4.3.2 Resultados de propiedades físicas

Resultados de pH

Tabla 17. pH de las muestras antes y después de los tratamientos

| | Muestra A | Muestra B | Muestra C |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|
| Sin tratamiento | 7.53 | 7.28 | 7.83 |
| Tratamiento 1 | 8.03 | 7.23 | 8.15 |
| Tratamiento 2 | 8.41 | 8.57 | 8.61 |
| Tratamiento 3 | 8.97 | 8.72 | 9.02 |

Fuente: Elaboración propia

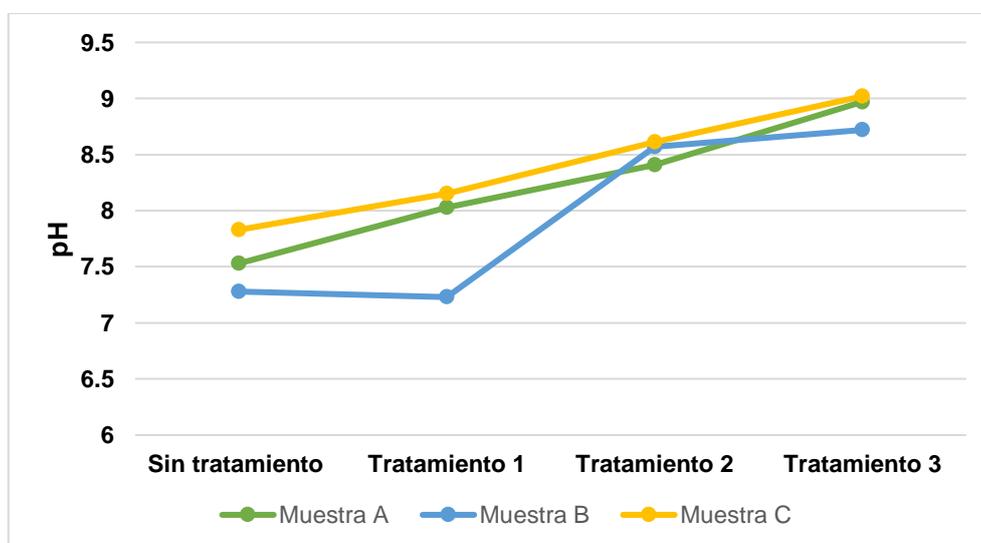


Figura 17. pH de las muestras antes y después de los tratamientos

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla 17 y la figura 17 muestra que el pH en las muestras A (aguas abajo), B (punto de vertimiento) y C (aguas arriba) antes de los tratamientos fueron 7.53, 7.28 y 7.83 respectivamente. Luego de aplicar el tratamiento 1 (20% de *Chlorella* sp.), el tratamiento 2 (30% de *Chlorella* sp.) y tratamientos 3 (40% de *Chlorella* sp.) en pH aumenta. El pH de las muestras en cada uno de los tratamientos está en un rango 7.23 a 9.02.

Resultados de Temperatura

Tabla 18. Temperatura de las muestras antes y después de los tratamientos

| | Muestra A | Muestra B | Muestra C |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Sin tratamiento | 13.2 | 14 | 13.4 |
| Tratamiento 1 | 17.2 | 17.3 | 18.2 |
| Tratamiento 2 | 18.1 | 18.9 | 19.1 |
| Tratamiento 3 | 18.1 | 18.5 | 18 |

Fuente: Elaboración propia

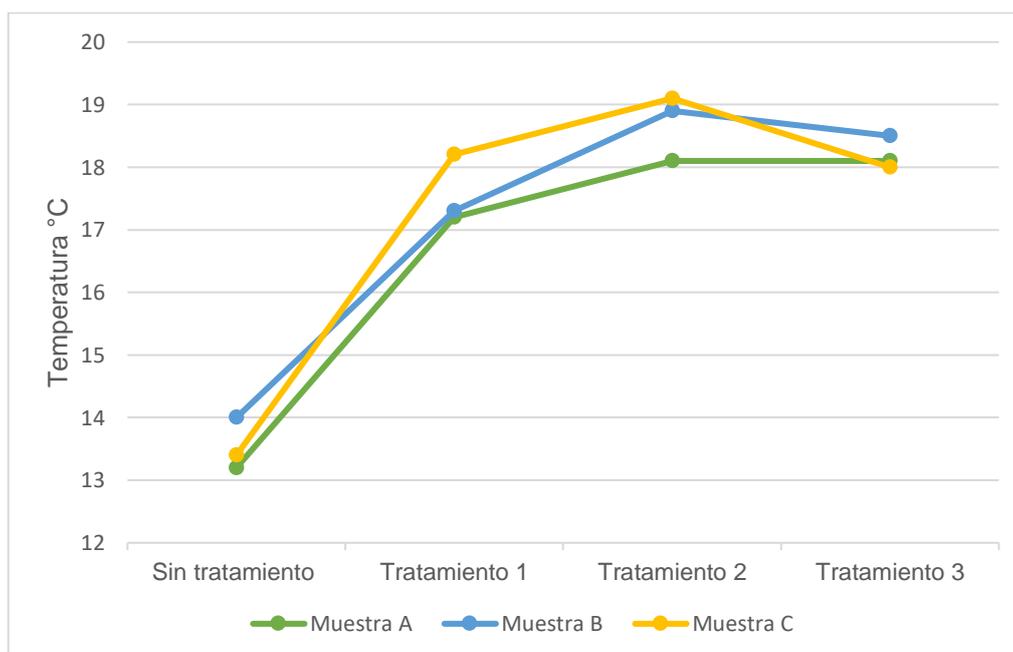


Figura 18. Temperatura de las muestras antes y después de los tratamientos

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla 18 y la figura 18 muestra que la temperatura en las muestras A (aguas abajo), B (punto de vertimiento) y C (aguas arriba) antes de los tratamientos fueron 13.2°C, 14°C, 13.4°C respectivamente. Luego de aplicar el tratamiento 1 (20% de *Chlorella* sp.) y el tratamiento 2 (30% de *Chlorella* sp.) y tratamientos 3 (40% de *Chlorella* sp.) se observa aumento de temperatura con respecto a las muestras sin tratamiento.

V. DISCUSIÓN

Una vez obtenido los resultados del tratamiento de las aguas residuales del dren 3100-Pimentel usando la microalga *Chlorella* sp. se procedió a contrastarlos con las diversas investigaciones llevadas a cabo por otros autores, relacionadas con nuestro tema, con la finalidad de consolidar y sustentar los resultados de esta investigación.

Las aguas que discurren por el dren 3100 contienen bacterias coliformes, según los resultados obtenidos se evidenció la presencia de coliformes termotolerantes y totales, al analizar la muestra A que corresponde a aguas abajo se tuvo concentraciones de coliformes termotolerantes y totales con valores de 4×10^4 NMP/100 ml y 5×10^4 NMP/100 ml respectivamente, la muestra B (vertimiento de agua servidas) con valores de 4×10^4 NMP/100 ml de coliformes totales y 34×10^3 NMP/100 ml de coliformes termotolerantes y en la muestra C que pertenece a aguas arriba se encontró un valor de 3×10^4 NMP/100 ml de coliformes termotolerantes y totales. Siendo la muestra A con mayor cantidad de bacterias coliformes. Las concentraciones anteriormente mencionadas sobrepasan los Estándares de Calidad Ambiental establecidos en la legislación peruana.

El Decreto Supremo N°004-2017-MINAM, establece los LMP de coliformes en las aguas según la categoría que corresponda (ver tablas 14 y 15). Específicamente dentro de la categoría 3 se encuentra el agua para riego de vegetales, donde la concentración de coliformes termotolerantes no debe superar 1×10^3 NMP/100 ml para agua de riego no restringido y 2×10^3 NMP/100 ml para agua de riego restringido. Con relación a lo anterior los agricultores están vulnerando la salud ya que las aguas residuales del dren 3100 son usada para el riego de los cultivos, mediante la instalación de tubos y extracción con motobombas de dichas aguas para regar cultivos de hortalizas como camote, cereales como el maíz y arroz.

Por otra parte, en la categoría 1 está los valores de concentración de coliformes termotolerantes para agua de uso recreacional, las aguas superficiales destinadas para recreación no deben superar los 200 NMP/100 ml de coliformes termotolerantes cuando existe contacto primario y 1000 NMP/100 ml de coliformes termotolerantes cuando hay contacto secundario. Por ello se hizo el tratamiento de dichas aguas, puesto que la disposición final de las aguas residuales del dren 3100 son en la playa de Pimentel donde se genera contaminación del ecosistema marino y la incomodidad de los visitantes y pobladores que viven en el distrito de Pimentel.

El uso de aguas residuales domésticas no tratadas para riego representa un serio riesgo, debido que contienen elevadas cantidades de agentes patógenos como helmintos (lombrices), protozoarios, virus y bacterias, que ocasionan daños en la salud (Veliz, 2009), para disminuir la peligrosidad de las aguas residuales se ha implementado diferentes formas para tratarlos (Rossi, 2010), con el objetivo de obtener una calidad del agua con sus tres dimensiones: ambiental, agronómica y sanitaria (Veliz, 2009). Siendo los tratamientos con microorganismos una opción con mayor sostenibilidad y menos contaminantes.

De modo que Mendoza et al. (2018) mediante su investigación demostraron que la microalga *Chlorella* sp. pueden usarse eficazmente para eliminar materia orgánica de los efluentes de curtiembre. Así mismo indicaron Ahmad et al. (2014). en su estudio, que las algas para el tratamiento de aguas residuales son muy efectivas para la reducción de bacterias coliformes de las aguas residuales municipales.

En esta investigación se encontró como resultado que la remoción de coliformes tanto totales y termotolerantes es de un 99.99% al usar una dosis de 40% de microalga *Chlorella* sp. (Tratamiento 3), seguido por el tratamiento 2 mediante el cual se logró una remoción promedio de 97.65% de coliformes totales y 97.36% de Coliformes termotolerantes y por último el tratamiento 1 con el que se logró una remoción promedio de 95.56% de coliformes totales y 94.99% de Coliformes termotolerantes. Siendo el tratamiento 3 el más eficiente para remover los coliformes presentes en las aguas residuales del dren 3100.

El mencionado resultado anterior concuerda con Chambi (2020) quien utilizó la especie *Chlorella Vulgaris* para remover coliformes termotolerantes hasta un 99.99% en un periodo de 100 horas. Del mismo modo al tratar efluentes provenientes de criaderos de animales bovinos y porcinos con microalga *Chlorella vulgaris* mostró una efectividad de reducción superior al 99% coliformes totales y del 100% en *Escherichia coli* (Alarcón, 2018) y en efluentes secundarios el potencial de la microalga *Chlorella* sp. en la remoción coliformes termotolerantes también es de 99.99% en un periodo de 6 horas (Cavalcante, 2011).

La remoción de las bacterias del grupo coliforme se produce por la actividad fotosintética de las microalgas (Cavalcante, 2011) y la formación de sustancias tóxicas (Flores, 2019), Además la *Chlorella* sp. es una microalga que tiene las características de fácil adaptación y son capaces de reproducirse hasta en ambientes con nutrientes limitadas (Lam y Lee, 2012) y como mencionó Pahazri et al. (2016) las microalgas tienen potencial para crecer en agua residuales.

Es así como la microalga *Chlorella* es efectiva en cuanto a tratamiento de aguas residuales, procedentes de la industria pesquera (Candela, 2016), efluentes de curtiembre (Mendoza, et al. 2018), aguas residuales de la industria dedicada a la textilería (Vacca et al., 2017), aguas residuales que provienen de criaderos de animales porcinos y bobinos (Alarcón, 2018), aguas residuales domésticas (Ansa et al., 2012, Chambi, 2020, López y Meza, 2017).

Barreto (2017), mediante la aplicación de un biofiltro a base de microalga *Chlorella* remueve los coliformes en un 59.2% en un periodo de 10 horas, a comparación de nuestra investigación que se tuvo un tiempo de 72 horas donde se logró remover hasta un 99.99% de coliformes termotolerantes y totales. Siendo el tiempo y la remoción de coliformes directamente proporcional pues a mayor tiempo mayor es la remoción.

Por otro lado, la cantidad o la dosis de microalga al aplicar al agua residual juega un rol muy importante ya que a mayor cantidad de microalga aplicada el tiempo de remoción es menor, como lo indicó Ansa et al. (2010) que a medida que la concentración de clorofila aumenta la *Escherichia coli* se descompone, de igual modo cuando Chambi (2020) analizó en 72 horas la remoción de coliformes

termotolerantes fue de 99.56%, con respecto a esta investigación que en 72 horas se removi6 casi en su totalidad (99.99%) de coliformes. En virtud de lo anterior el tiempo y la densidad microalgal juegan un rol muy importante para una eficiente remoci6n de coliformes termotolerantes y totales.

En el crecimiento de las microalgas, las condiciones apropiadas de luz, temperatura, aireaci6n, mezcla y el pH, contribuyen a la calidad y cantidad del crecimiento (Pahazri et al. 2016). Est6s condiciones son esenciales para la obtenci6n de resultados 6ptimos en tratamiento de aguas residuales usando la microalga *Chlorella* sp. Teniendo en cuenta los par6metros f6sicos se evalu6 la Temperatura y el pH.

Con respecto a la temperatura durante el periodo de nuestra investigaci6n este par6metro ha aumentado con respecto al tipo de tratamiento, manteniendo un rango de 17.2°C y 19.1°C en su mayor6a 18°C, con respecto a ello Ramos y Pizarro (2018) indicaron que la mayor6a de las microalgas tiene el rango 6ptimo de temperatura entre los 18°C y 25°C.

En su investigaci6n de Ramos y Pizarro (2018) indican que el pH 6ptimo para su cultivo de las microalgas es 7 a 8. Adem6s, mencionaron que cuando sucede un descenso del pH suele ser letal, por lo contrario, pueden soportar mejor la incrementaci6n del pH, hasta un l6mite determinado, siendo los mayores crecimientos experimentados por *Chlorella vulgaris* en un rango de pH entre 8,0 a 9,0.

Con respecto al pH durante el periodo de nuestra investigaci6n este par6metro se mantuvo en todos los tratamientos en un rango pH de 7,1 a 9. De acuerdo con Ramos y Pizarro (2018) este rango de pH permiti6 el crecimiento adecuado de la microalga *Chlorella* sp. Adem6s, Alarc6n (2018) en su investigaci6n indic6 que la microalga *Chlorella vulgaris* no mantiene la neutralidad del pH por m6s de dos semanas, esto debi6ndose a la actividad metab6lica de la microalga con los gases y elementos suspendidos en los efluentes.

VI. CONCLUSIONES

1. Las aguas que discurren por el dren 3100, contienen bacterias coliformes totales y termotolerantes que sobrepasan los ECA, establecido mediante Decreto supremo N°004-2017-MINAM. Específicamente en la categoría 3: agua para riego de vegetales y en la categoría 1: agua de uso recreacional.
2. En esta investigación se aplicó tres tratamientos: usando una dosis de 20% de *Chlorella* sp. para el tratamiento 1, 30% de *Chlorella* sp. para el tratamiento 2 y 40% de *Chlorella* sp. para el tratamiento 3. Los tratamientos aplicados a las aguas del dren 3100, permitieron remover bacterias del grupo coliformes, desde valores de 50 000 NMP/100 ml hasta 2 NMP/100 ml en coliformes totales y valores desde 40 000 NMP/100 ml hasta 2 NMP/100 ml en coliformes termotolerantes en un tiempo de 72 horas. Tratar el agua residual del dren 3100 con dosis (20%, 30% y 40%) de microalga *Chlorella* sp. es eficiente, específicamente para remover coliformes termotolerantes y totales. Siendo la dosis de 40% (tratamiento 3) la óptima, puesto que logra remover hasta un 99.99% de coliformes termotolerantes y totales.
3. Posterior a los tratamientos las aguas que discurren por el dren 3100-Pimentel usando dosis (20%, 30% y 40%) de microalga *Chlorella* sp. cumplen con los Estándares de Calidad Ambiental en agua para uso recreacional y riego de cultivos vegetales establecidos por el Ministerio del Ambiente.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a las autoridades regionales, a tomar en cuenta la problemática que se genera por la contaminación de las aguas que discurren por el dren 3100 del distrito de Pimentel ya que los agricultores que tienen su sembrío a lo largo del dren 3100 utilizan estas aguas para riego de sus cultivos.
2. A los futuros tesisistas continuar con la investigación sobre la efectividad de la microalga *Chlorella* sp. en la remoción de coliformes termotolerantes y totales de agua residual.
3. A los investigadores utilizar la microalga *Chlorella* sp. para el tratamiento de agua residual a gran escala.
4. A la Gerencia Regional de Agricultura hacer un análisis de la calidad de los productos de los cultivos que se desarrollan usando las aguas del dren 3100.

REFERENCIAS

AGUILAR, Alonso. (2010). Calidad del agua: un enfoque multidisciplinario. Universidad Nacional Autónoma De México - UNAM, Instituto de Investigaciones económicas. Disponible en: <https://ru.iiec.unam.mx/65/1/CalidadAgualmpr.pdf>

AHMAD, F., Iftikhar, A., Ali, A., Shabbir, S., Wahid, A., Mohy, N. y Rauf, A. (2014) Eliminación de bacterias coliformes de aguas residuales municipales por algas [en línea]. Pakistán. 129–138. Disponible: <https://acortar.link/YWfiWn>

Al Damarki, A., Govindrajan, L., Talebi, S., Al Rajhi, S., Al Barwani, T., & Al Bulashi, Z. (2012). Cultivation and Characterization of Microalgae for Wastewater Treatment. Proceeding of the World Congress on Engineering. Disponible en: https://www.iaeng.org/publication/WCE2012/WCE2012_pp599-602.pdf

ALARCÓN, Luis. Efecto de la microalga (*Chlorella vulgaris*) en el tratamiento de efluentes provenientes de la explotación bovina y porcina ubicados en la granja experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Tesis (Licenciado en Zootecnia). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia -USAC, Regional para Centroamérica, 2018. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/8488/>

AMAVIZCA, Edgar. Evaluación del efecto remoto por bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP) sobre la microalga *Chlorella vulgaris*. Tesis (Maestro en Ciencias). La Paz, Baja California Sur: Centro de Investigaciones Biológicas del Boroeste, 2014. Disponible en: <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/272>

Autoridad Nacional Del Agua - ANA. Protocolo de monitoreo de la calidad de los recursos hídricos Superficiales (2016). Resolución Jefatural N°010-2016-ANA. Disponible en: <https://acortar.link/EhGjpY>

Autoridad Nacional Del Agua – ANA, Ministerio de Agricultura. Protocolo Nacional de monitoreo de la calidad en cuerpos naturales de agua superficial, 2011. Disponible en: <https://www.senace.gob.pe/download/senacenormativa/NAT-3-5-04-Protocolo-Nacional-Monitoreo.pdf>

ANSA, E., LUBBERDING, H. y GIJZEN, H. El efecto de la biomasa de algas en la eliminación de coliformes fecales de las aguas residuales domésticas. *Appl Water Sci* 2, 87–94. 2012. [Fecha de consulta: 25 de octubre de 2023]. Disponible: <https://doi.org/10.1007/s13201-011-0025-y>

ANSA, E., LUBBERDING, H., AMPOFO, J. y GIJZEN, H. The role of algae in the removal of *Escherichia coli* in a tropical eutrophic lake, *Ecological Engineering* [en línea]. Volume 37, Issue 2, 2010. [Fecha de consulta: 25 de octubre de 2023]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2010.11.023>.

APHA-American Public Health Association (2017). *Standard methods for the examination of water & wastewater*. 23rd Edition: American Public Health Association, Washington, D.C. 20001-3710

BARRETO, Mauricio. Eficiencia de biofiltro a base de un tipo de microalga para minimizar la contaminación de las aguas subterráneas en la universidad cesar vallejo. Tesis (Título de Ingeniero Ambiental). Perú-Chiclayo: Universidad César Vallejo. 2017. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/33227>

Bhatt, A., Arora, P., & Prajapati, S. (2023). *Chlorella pyrenoidosa*-mediated removal of pathogenic bacteria from municipal wastewater – multivariate process optimization and application in the real sewage. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109494>

Cai, T., Park, S., & Li, Y. (2013). Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.11.030>

CANDELA, Rubén. *Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones*. Una revisión bibliográfica. Tesis (Ingeniero Ambiental). Bucaramanga: Universidad Nacional Abierta y a Distancia Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, 2016. Disponible en: <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/12170>

CASTRO, Juan. *Diseño de una planta piloto para el crecimiento de microalga heterótrofas*. Valladolid: Tesis (Ingeniero Químico). Valladolid: Universidad de Valladolid, 2018. Disponible en: <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/32691>

CAVALCANTE, Silvia. Tratamiento terciario de efluentes Secundarios, utilizando la microalga *Chlorella* Sp. inmovilizado en matriz de alginato de calcio. Tesis (Máster en Ciencia y Tecnología Ambiental). Universidad Estadual de Paraíba, Campina Grande, 2011. Disponible en: <http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/tede/1661>

CHAMBI, Jazmín. Remoción optima de coliformes fecales por la microalga *Chlorella Vulgaris* del rio Torococha en efluentes de tratamiento de aguas residuales de las ciudades de Juliaca y Puno. Tesis (Ingeniero Sanitario y Ambiental). Juliaca: Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez, 2020. Disponible en: <http://repositorio.uancv.edu.pe/handle/UANCV/5051>

CONCYTEC (Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (2020). Guía práctica para la formulación y ejecución de proyectos de investigación y desarrollo (I+D). Disponible en: <https://acortar.link/fpsmtx>

DAR, Rouf., SHARMA, Karamjeet., PHUTELA, Urmila (2019). Factibilidad de Tecnologías de Microalgas en la Eliminación de Patógenos de Aguas Residuales [en línea]. Aplicación de microalgas en el tratamiento de aguas residuales. Springer, Cham 2019. [Fecha de consulta: 25 de octubre de 2023]. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-13913-1_12

DEL PEZO, Nancy. Propuesta de fitorremediación de coliformes totales y *Escherichia coli* mediante la implementación de islas flotantes en aguas negras. Tesis (Título de Ingeniera Ambiental). Ecuador-Guayaquil: Universidad de Guayaquil. 2019. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/reduq/39596>

Ministerio de Salud. Dirección General de Salud Ambiental - DIGESA. Protocolo de monitoreo de la calidad sanitaria de los recursos hídricos superficiales. Dirección de Ecología y Protección del Ambiente Área de Protección de dos Recursos Hídricos. Lima, 2007. Disponible en: <https://acortar.link/4wMSSq>

Dineshkumar, R., Subramanian, J., Arumugam, A., Rasheeq, A., & Sampathkumar, P. (2018). Exploring the Microalgae Biofertilizer Effect on Onion Cultivation by Field Experiment. Wasteand Biomasa Valorization. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0466-8>

FLORES, Diego. Uso de tres especies de microalgas en la remoción de coliformes totales y fecales presentes en lixiviados. Tesis (Licenciado en Ecología). Loreto: Universidad Científica del Perú, 2019. Disponible en: <http://repositorio.ucp.edu.pe/handle/UCP/1918>

GALLARDO, E. (2017). Metodología de la Investigación: manual autoformativo interactivo. Universidad Continental, Huncayo. Disponible en: <https://acortar.link/fSzSD>

Garza Gonzales, M., Almaguer Cantú, V., Rivera de la Rosa, J., & Loredo Medrano, J. (2010). Bioingeniería ambiental aplicada a una columna empacada con *Chlorella* sp. inmovilizada para la remoción de metales pesados. Ciencia UANL. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/402/40212389009.pdf>

Gómez, J., Villasís, M. y Miranda, M. (2016). El protocolo de investigación III: la población de estudio. Doi: 10.29262/ram.v63i2.181

GONZÁLEZ, Cyndi. (2016). Eficacia de un biofiltro de la microalga *Spirulina* sp para el tratamiento de las aguas residuales, 2016. Tesis (Ingeniero Ambiental). Chiclayo-Perú: Universidad César Vallejo. 2016. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/34566>

Gorschek, T. & Davis, A. (2008). Requirements engineering: In search of the dependent variables. Information and Software Technology, 50(1-2), 67-75. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.infsof.2007.10.003>

Infante, C., Angulo, E., Zárate, A., Florez, J., Barrios, F., & Zapata, C. (2012). Propagación de la microalga *Chlorella* sp. En cultivo por lote: Cinética de crecimiento celular. Avances en Ciencias e Ingeniería. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=323627686016>

Kiepper, B. (2013). Microalgae Utilization in Wastewater Treatment. The University of Georgia Cooperative Extension. College of Agricultural and Environmental Sciences College of Family and Consumer Sciences. Disponible en: https://secure.caes.uga.edu/extension/publications/files/pdf/B%201419_1.PDF

Lam, MK y Lee, KT (2012). Potencial del uso de fertilizante orgánico para cultivar *Chlorella vulgaris* para la producción de biodiesel. *Energía aplicada*, 94, 303–308. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.01.075>

Larrea, J., Rojas, M., Romeu Alvarez, B., Rojas, N., & Heydrich Pérez, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181229302004.pdf>

Lewandowski, I., Lippe, M., Montoya, J., & Langenberger, G. (2018). Bioeconomy/ Shaping the Transition to a Sustainable, Biobased Economy. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-68152-8>

LÓPEZ, Silvia. y MEZA, José. Eficiencia de la microalga *Chlorella* sp. Para la remoción de Nutrientes en las lagunas de Oxidación de la ciudad de Manta. Tesis (Ingeniero en Recursos Naturales y Ambientales). Ecuador-Manta: Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, 2017. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/157800189.pdf>

Mata, T., Martins, A., & Caetano, N. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>

MENDOZA, Jorge., LEÓN, Melissa., NUNJA, José., RODRÍGUEZ, Ronald., VERA, Manuel. e IPANAQUÉ, Juan. Remoción de demanda química de Oxígeno de efluentes de remojo de curtiduría utilizando microalgas *Chlorella* sp. viva en suspensión [en línea]. 2018. [Fecha de consulta: 25 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.51431/infinitum.v8i2.487>

Mezzari, M., Prandini, J., Kich, J., Silva, M. (2017). Elimination of antibiotic multi-resistant salmonella typhimurium from swine wastewater by microalgae-induced antibacterial mechanisms. *Bioremed Biodegr*. Disponible en: 10.4172/2155-6199.1000379

Muñiz, Rafael (2019). Los fotobiorreactores de microalgas: Un recurso y desarrollo para el tratamiento terciario de aguas residuales. Caracas: Universidad Católica Andrés Bello, Centro de Investigación y Desarrollo de Ingeniería. Disponible en: <https://revistasenlinea.saber.ucab.edu.ve/index.php/tekhne/article/view/4062>

Oblitas, Y., & Torres, L. (2016). Identificación de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* aisladas del agua potable del distrito de Cajamarca. Carrera profesional de farmacia y bioquímica. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/454>

OEFA-Organismo de Evaluación y fiscalización Ambiental. (2014). Ficalizaion Ambiental en Aguas Residuales. Disponible en: <https://acortar.link/7avYqL>

Ortiz Villota, M., Romero Morales, M., & Meza Rodríguez, L. (2018). The bioremediation with microalgae (*Spirulina maxina*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) as an alternative to treat the eutrophization of the Ubaque lagoon, Colombia. Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación. Disponible en: <https://doi.org/10.19053/20278306.v9.n1.2018.8153>

Pahazri, N., Mohamed, R., Al-Gheethi, A. y Kassim, A (2016). Producción y recolección de biomasa de microalgas a partir de aguas residuales: una revisión crítica. Revisiones de tecnología ambiental, 5(1), 39–56. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/21622515.2016.1207713>

Programa Mundial de la UNESCO de Evaluación de los Recursos Hídricos. (2017). Informe mundial de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos, 2017. Disponible en: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247647>

Ramos, R., & Pizarro, R. (2018). Crecimiento y capacidad de biorremediación de *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cultivada en aguas residuales generadas en el cultivo del pez dorado *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae). Revista de Biología Marina y Oceanografía, 53(1), 75–86. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572018000100075>

RASOUL, S., MONTAZERI, N., SHAKER, S., SAFARI, A., KAZEMI, A., MOUSAVI, P., GHASEMI, Y. (2014). Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae free cells in bath culture system. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.003>

ROSSI, M., Ortega, R. y Justo, J. 2010. Oportunidades de mejoras ambientales por el tratamiento de aguas residuales en el Perú. FONAM - Fondo Nacional del Ambiente - Perú. Disponible en: <https://acortar.link/hjn4B5>

SANTACLARA, Jennyfer. Diferentes especies de la Microalga *Chlorella* como complemento dietético: una revisión sistemática. Máster en asistencia e investigación sanitaria, 2017. Universidad da Coruña, Facultad de ciencias de la salud. Disponible en: <http://hdl.handle.net/2183/23081>

Silva, A., Sili, C. y Torzillo, G. (2008). Cyanoprocaryota y microalgas (Chlorophyceae y Bacillariophyceae) bentónicas dominantes en ríos de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*. San Pedro de Montes de Oca, Universidad de Costa Rica. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=44919934019>

Singh, A. y Masuku, M. (2014). Sampling techniques & determination of sample size in applied statistics research: an overview. *Revista Internacional de Economía, Comercio y Gestión*, 2 (11), 1-22. Disponible en: <https://ijecm.co.uk/wp-content/uploads/2014/11/21131.pdf>

VACCA, Víctor., ANGULO, Edgardo., PUENTES, Diana., TORRES, José. y PLAZA, Martin. Uso de la microalga *Chlorella* sp. viva en suspensión en la decoloración del agua residual de una empresa textil [en línea]. 2017. [Fecha de consulta: 25 de octubre de 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15665/rp.v15i1.829>

Veliz, Eliet., Llanes, José., Asela, Lidia. y Bataller, Mayra. Reúso de aguas residuales domesticas para riego agrícola. Valoración crítica *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, vol. 40, núm. 1, enero-abril, 2009, pp. 35-44 Centro Nacional de Investigaciones Científicas Ciudad de La Habana, Cuba Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181221574007>

Wu, K., Atasoy, M., Zweers, H., Rijnaarts, H., Langenhoff, A., & Fernandes, T. V. (2023). Impact of wastewater characteristics on the removal of organic micropollutants by *Chlorella sorokiniana*. *Journal of Hazardous Materials*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131451>

Yi Chiu, S., Ya Kao, C., Yu Chen, T., Bin Chang, Y., Mei Kuo, C., & Sheng Lin, C. (2014). Cultivation of Microalgal *Chlorella* for Biomass and Lipid Production Using Wastewater as Nutrient Resource. *Bioresource Technology*. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.080>

ANEXOS

Anexo 1: Tabla de operacionalización de variables.

| Variables de estudio | Definición conceptual | Definición operacional | Dimensión | Indicadores | Escala de medición |
|---|--|--|--------------------------|--|---|
| Dosis de microalga <i>Chlorella</i> sp. (variable independiente) | Es un alga verde de forma elipsoidal, la cual crece en forma de células simples y es aplicado en el tratamiento biológico de aguas residuales de manera suspendida o inmovilizada, como cepa pura o en asociación con otros microorganismos no fotosintéticos (Infante et al, 2011). | Son microorganismos que se desarrollan en ambientes acuíferos como por ejemplo en drenes y estos microorganismos son utilizados en diferentes dosis para remover coliformes. | Condiciones de cultivo | pH Temperatura Luz Nutrientes (Nitrofosca) Agitación | Intervalo Intervalo Intervalo Razón Razón |
| | | | Dosis del microorganismo | 20%, 30% y 40% | Razón |
| Remoción de coliformes de las aguas residuales municipales (variable dependiente) | Es la capacidad de quitar, apartar, mover o eliminar los contaminantes de un cuerpo, usando diferentes métodos (Bhatt et al. 2023) | Es la reducción o eliminación de la cantidad de bacterias patógenas presentes en los efluentes del Dren 3100, llevando a una concentración por debajo de ECA. | Coliformes | Coliformes totales (NMP/100ml) Coliformes termotolerantes (NMP/100ml) | Intervalo Intervalo |
| | | | Propiedades físicas | T° pH | Intervalo Intervalo |

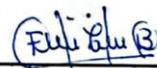
Anexo 2: Instrumento de recolección de datos.

A. Registro de campo

LABORATORIO: Lab. de Microbiología - Universidad César Vallejo REALIZADO POR: Tesistas
 TIPO DE ANALISIS: Microbiológico RESPONSABLE: ② Aguinaga C. Karen y Calderon B. Fatima ②

| Punto de muestreo | Descripción Origen/ubicación | Localidad | Distrito | Provincia | Departamento | Coordenadas | | Altura | Fecha | Hora | ph | T° | Observaciones |
|-------------------|------------------------------|-----------|----------|-----------|--------------|-------------|-----------|--------|----------|-------|------|------|---------------|
| | | | | | | Este/Oeste | Norte/Sur | msnm | | | | °C | |
| A | Aguas abajo | Las Dunas | Pimentel | Chiclayo | Lambayeque | 619200 | 9244899 | 20 | 02/05/23 | 14:20 | 7:53 | 18.5 | |
| B | Vertimiento | Las Dunas | Pimentel | Chiclayo | Lambayeque | 619267 | 9244896 | 20.3 | 02/05/23 | 14:26 | 7:28 | 18. | |
| C | Aguas arriba | Las Dunas | Pimentel | Chiclayo | Lambayeque | 619327 | 9244892 | 21 | 02/05/23 | 14:33 | 7:33 | 18.6 | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |

① 
 Firma del representante de toma de muestras

② 
 Firma del representante de toma de muestras

B. Etiqueta para las muestras de agua residual

| | |
|--|--|
| Solicitante: Aguinaga C. Karen y Calderon B. Fatima | |
| Nombre laboratorio: Lab. de Microbiología - Universidad Cesar Vallejo | |
| Código punto de monitoreo: A (Aguas abajo) | |
| Tipo de cuerpo de agua : Agua de Dren | |
| Fecha de muestreo: 02/05/23 | Hora: 14:20 |
| Muestreo por: Aguinaga C. Karen y Calderon B. Fatima | |
| Parámetro requerido: Microbiológico | |
| Preservada: | SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> Tipo reactivo: |

| | |
|--|--|
| Solicitante: Aguinaga C. Karen y Calderon B. Fatima | |
| Nombre laboratorio: Lab. de Microbiología - Universidad Cesar Vallejo | |
| Código punto de monitoreo: B (Vertimiento) | |
| Tipo de cuerpo de agua : Agua de Dren | |
| Fecha de muestreo: 02/05/23 | Hora: 14:26 |
| Muestreo por: Aguinaga C. Karen y Calderon B. Fatima | |
| Parámetro requerido: Microbiológico | |
| Preservada: | SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> Tipo reactivo: |

| | |
|--|--|
| Solicitante: Aguinaga C. Karen y Calderon B. Fatima | |
| Nombre laboratorio: Lab. de Microbiología - Universidad Cesar Vallejo | |
| Código punto de monitoreo: C (Aguas arriba) | |
| Tipo de cuerpo de agua : Agua de Dren | |
| Fecha de muestreo: 02/05/23 | Hora: 14:33 |
| Muestreo por: Aguinaga C. Karen y Calderon B. Fatima | |
| Parámetro requerido: Microbiológico | |
| Preservada: | SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> Tipo reactivo: |

C. Constancia de resultados de análisis de agua del dren 3100



LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA

TIPO DE ANÁLISIS : Análisis microbiológico
USUARIO : Agulnaga Chonlon, Karen Eliana
Calderón Barrios, Fátima Emiliana
CANTIDAD DE MUESTRAS : 3 (A, B y C)
TIPO DE MUESTRA : Agua de Dren
FECHA DE EMISIÓN : 18 de Mayo del 2023
RESULTADOS :

| N° DE MUESTRA | RESULTADO | | UNIDAD | EQUIPO |
|---------------|--------------------|----------------------------|------------|----------------------------|
| | COLIFORMES TOTALES | COLIFORMES TERMOTOLERANTES | | |
| A | 50000 | 40000 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| B | 40000 | 34000 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| C | 30000 | 30000 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| T1-A | 2000 | 2000 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| T1-B | 1600 | 1600 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| T1-C | 1600 | 1600 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| T2-A | 900 | 900 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| T2-B | 900 | 900 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| T2-C | 900 | 900 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| T3-A | 6 | 4 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| T3-B | 4 | 2 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |
| T3-C | 2 | 2 | NMP/100 ml | TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLES |

Nota: La muestra fue tomada por el usuario, el laboratorio no se responsabiliza.


CRISTIAN MICHEL GÓMEZ CORNEJO
INGENIERO AMBIENTAL
REG CIP 255514

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA

ING. CRISTIAN MICHEL GÓMEZ CORNEJO

CIP: 255514

UCV, licenciada para que
puedas salir adelante.





LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA

TIPO DE ANÁLISIS : Análisis físico
USUARIO : Aguinaga Chonlon, Karen Eliana
Calderón Barrios, Fátima Emiliana
CANTIDAD DE MUESTRAS : 3 (A, B y C)
TIPO DE MUESTRA : Agua subterránea
FECHA DE EMISIÓN : 18 de Mayo del 2022
RESULTADOS :

| N° DE MUESTRA | PARÁMETRO | RESULTADO | UNIDAD | EQUIPO |
|---------------|-------------|-----------|--------|------------------------|
| A | TEMPERATURA | 13.2 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| B | TEMPERATURA | 13 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| C | TEMPERATURA | 13.4 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| T1-A | TEMPERATURA | 17.2 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| T1-B | TEMPERATURA | 17.3 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| T1-C | TEMPERATURA | 18.2 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| T2-A | TEMPERATURA | 18.1 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| T2-B | TEMPERATURA | 18.9 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| T2-C | TEMPERATURA | 19.1 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| T3-A | TEMPERATURA | 18.1 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| T3-B | TEMPERATURA | 18.5 | ° C | Multiparámetro de mesa |
| T3-C | TEMPERATURA | 18 | ° C | Multiparámetro de mesa |

Nota: La muestra fue tomada por el usuario, el laboratorio no se responsabiliza.


CRISTIAN MICHEL GÓMEZ CORNEJO
INGENIERO AMBIENTAL
REG CIP 255514

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA

ING. CRISTIAN MICHEL GÓMEZ CORNEJO

CIP: 255514



LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA

TIPO DE ANÁLISIS : Análisis físico
USUARIO : Aguinaga Chonlon, Karen Eliana
Calderón Barrios, Fátima Emiliana
N° DE MUESTRA : 3 (A, B y C)
TIPO DE MUESTRA : Agua de Dren
FECHA DE EMISIÓN : 18 de Mayo del 2023
RESULTADOS :

| N° DE MUESTRA | PARÁMETRO | RESULTADO | UNIDAD | EQUIPO |
|---------------|-----------|-----------|--------|--|
| A | pH | 7.53 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| B | pH | 7.28 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| C | pH | 7.83 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| T1-A | pH | 8.03 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| T1-B | pH | 7.23 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| T1-C | pH | 8.15 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| T2-A | pH | 8.41 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| T2-B | pH | 8.57 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| T2-C | pH | 8.61 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| T3-A | pH | 8.97 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| T3-B | pH | 8.72 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |
| T3-C | pH | 9.02 | - | Phmetro digital portátil con electrodo |

Nota: La muestra fue tomada por el usuario, el laboratorio no se responsabiliza.



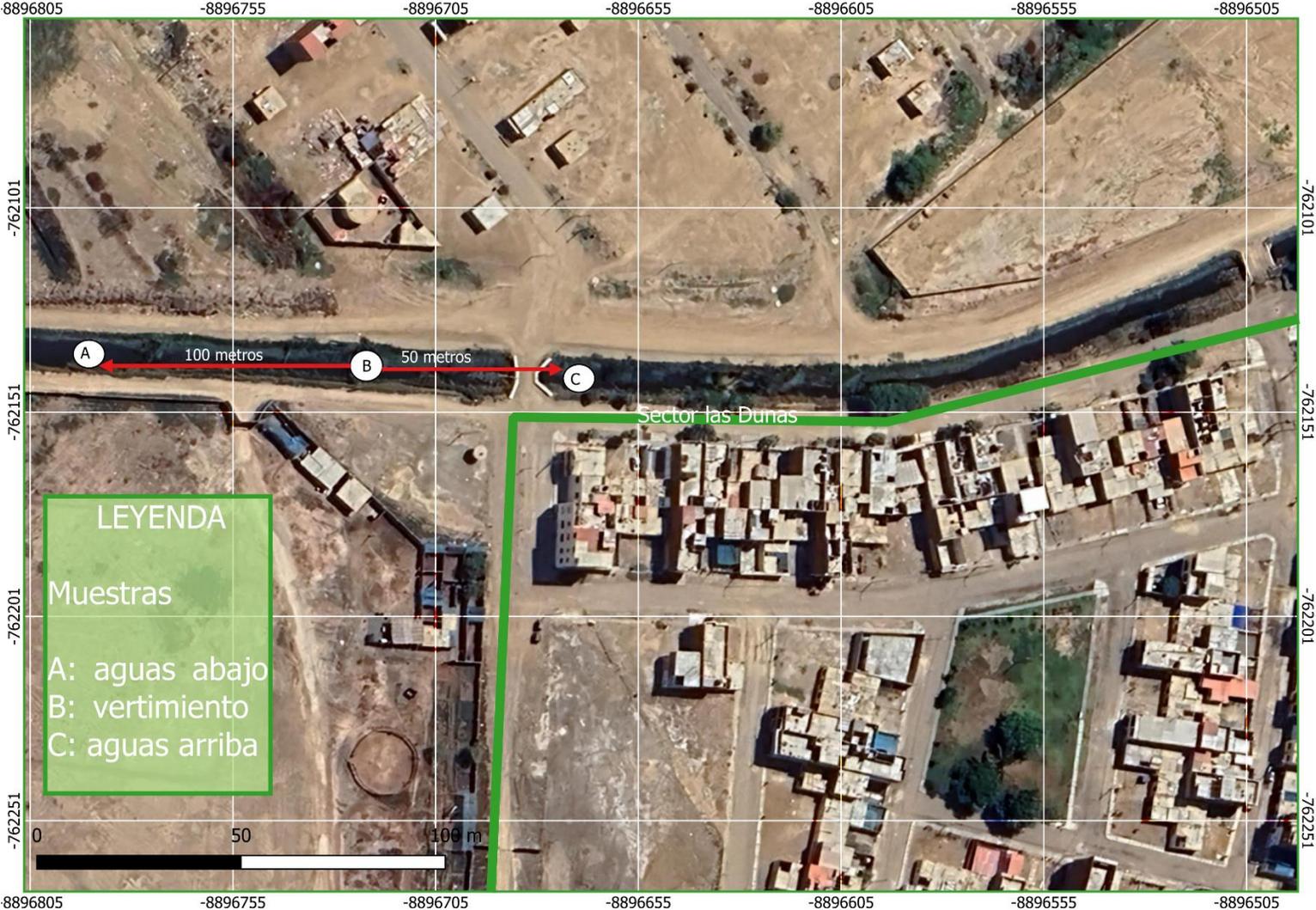
CRISTIAN MICHEL GÓMEZ CORNEJO
INGENIERO AMBIENTAL
REG CIP 255514

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA

ING. CRISTIAN MICHEL GÓMEZ CORNEJO

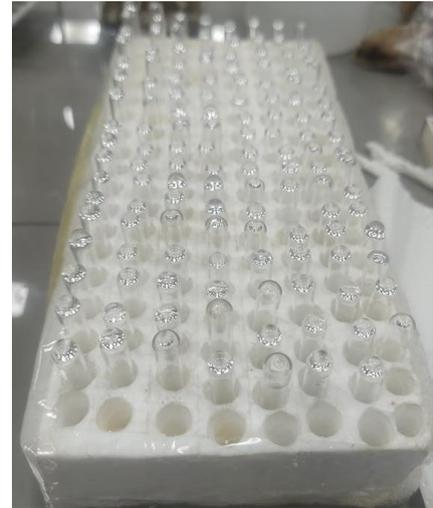
CIP: 255514

D: Área de recolección de muestras



Anexo 4: Registro fotografico

A. Insumos y materiales



A. Esterilización de materiales



B. Preparación de caldos

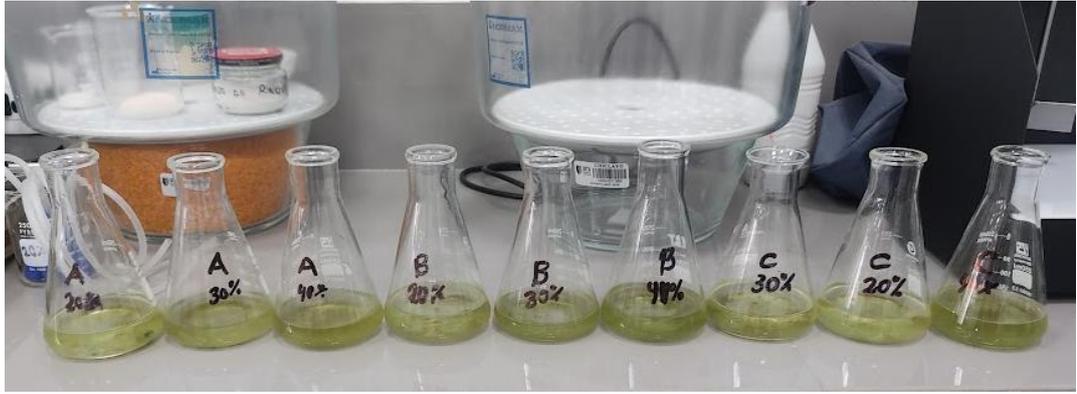


C. Determinación de Coliformes antes de tratar el agua residual

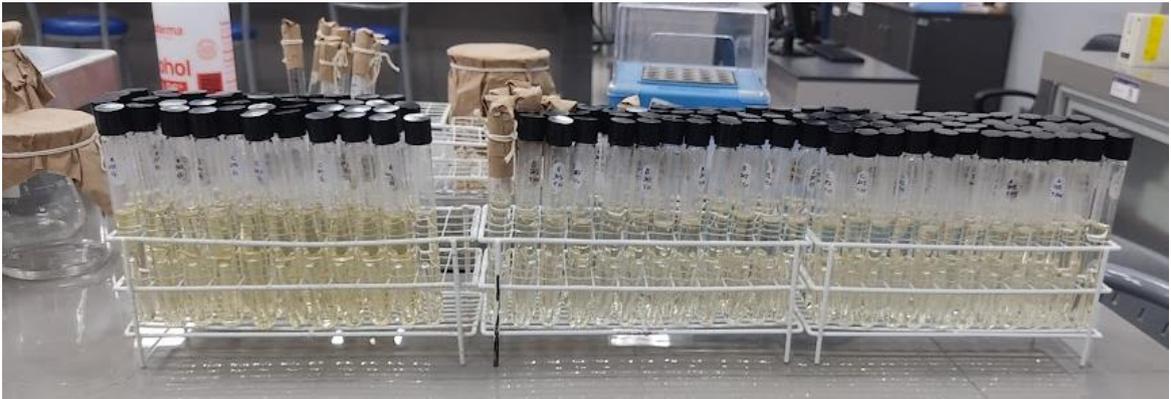


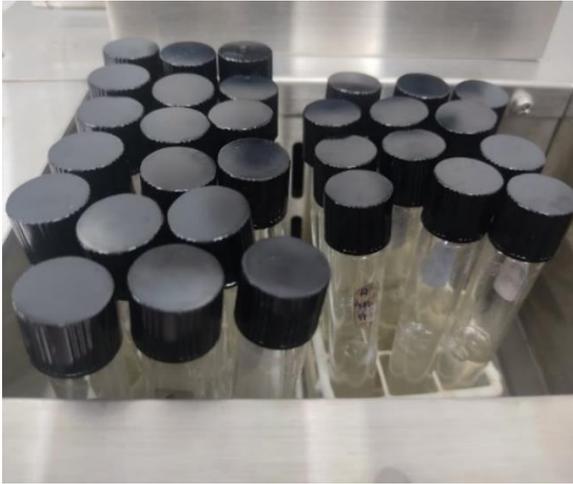
D. Aplicación de la microalga *Chlorella* sp. al agua residual





E. Determinación de coliformes después de tratar el agua residual con la Microalga *Chlorella* sp.





F. Medición de pH y Temperatura

