

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Arquitectura e Ingeniería Civil y del Ambiente
Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental



DETERMINACIÓN DE LA BIOABSORCIÓN DE CROMO VI DE EFLUENTES DEL PARQUE INDUSTRIAL DE RÍO SECO (PIRS) MEDIANTE LA MICROALGA *Desmodesmus quadricauda*.

Tesis presentada por el bachiller:

Paredes Arenazas, Winder Giovanni

Para optar el título profesional de:

Ingeniero Ambiental

Asesor:

**Dr. Blgo. Arenazas Rodríguez, Armando
Jacinto**

Arequipa – Perú

2021

DICTAMEN APROBATORIO DE BORRADOR DE TESIS

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA AMBIENTAL

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR DE TESIS

Arequipa, 19 de Noviembre del 2020

Dictamen: 001887-C-EPIA-2020

Visto el borrador de tesis del expediente 001887, presentado por:

2014152171 - PAREDES ARENAZAS WINDER GIOVANNY

Titulado:

DETERMINACIÓN DE LA BIOABSORCIÓN DE CROMO VI DE EFLUENTES DEL PARQUE INDUSTRIAL DE RIO SECO (PIRS) MEDIANTE LA MICROALGA DESMODESMUS QUADRICAUDA

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**2478 - TERAN DIANDERAS ADILMI MILAGRO
DICTAMINADOR**



**2829 - ARENAZAS RODRIGUEZ ARMANDO JACINTO
DICTAMINADOR**



**3196 - CHANOVE MANRIQUE ANDREA MARIETA
DICTAMINADOR**

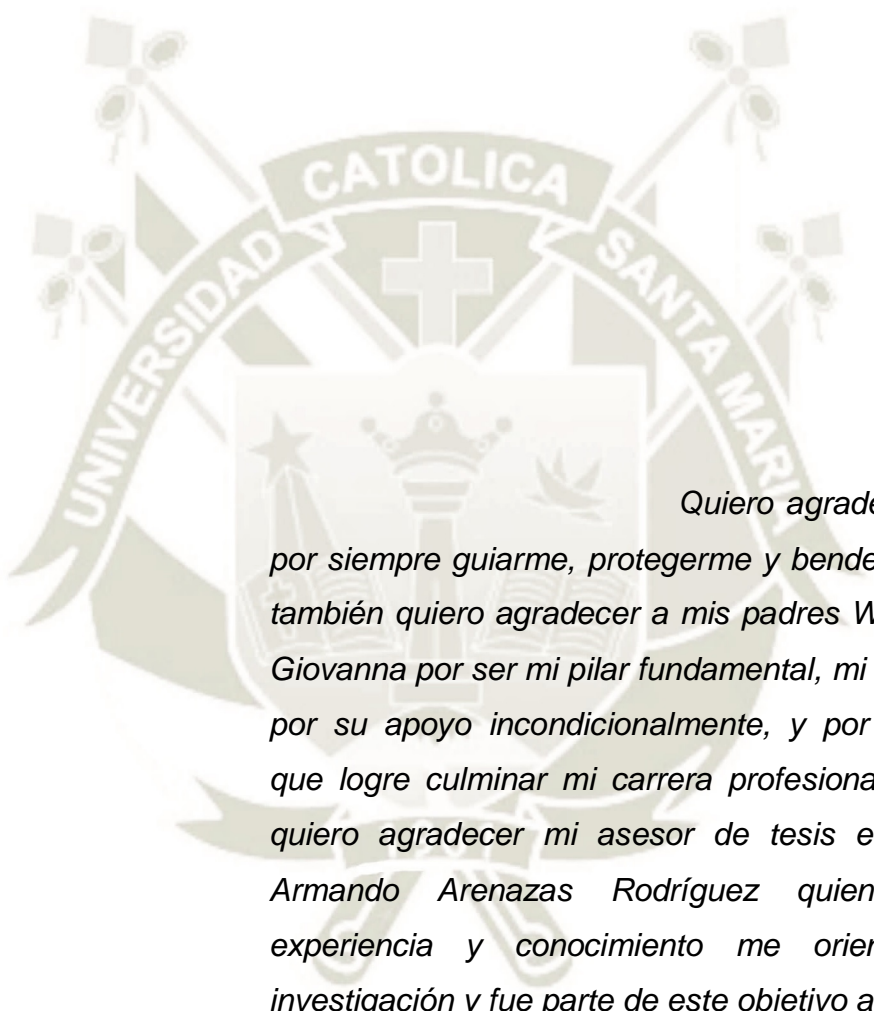


DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi querida Universidad Católica de Santa María, a la Escuela profesional de Ingeniería Ambiental y a todos los profesores por ayudarme en mi formación académica; también lo dedico a mis padres Wenceslao y Giovanna, a mi hermano Jamil y a mi abuelita Betty por estar siempre apoyándome en las diferentes etapas de mi carrera universitaria.



AGRADECIMIENTO



Quiero agradecer a Dios por siempre guiarme, protegerme y bendecir mi vida, también quiero agradecer a mis padres Wenceslao y Giovanna por ser mi pilar fundamental, mi motivación, por su apoyo incondicionalmente, y por permitirme que logre culminar mi carrera profesional. A la vez quiero agradecer mi asesor de tesis el Dr. Blgo. Armando Arenazas Rodríguez quien con su experiencia y conocimiento me orientó en la investigación y fue parte de este objetivo alcanzado.

RESUMEN

El vertido de aguas residuales de la industria de curtido de pieles tiene un alto contenido de cromo VI. En el Parque Industrial Río Seco-Arequipa los efluentes de curtido de pieles son vertidos al medio ambiente sin ningún tratamiento, originando un gran impacto negativo ya que contaminan el agua, suelo y aire, lo cual repercute en la salud humana y en cultivos de zonas aledañas. En esta investigación se realizó la bioabsorción de cromo VI de efluentes de curtiembres, utilizando la biomasa de la microalga *Desmodesmus quadricauda*, para lo cual primero se realizó un ensayo de tolerancia y adaptación a cromo VI usando Dicromato de Potasio como tóxico de referencia y luego se realizó el tratamiento del efluente real de curtiembre en un fotobioreactor Air-Lift. En el periodo de adaptación y tolerancia se alcanzó una densidad de 140.00×10^5 cel. /mL, a una concentración de 50ppm de cromo VI seguido de 102.67×10^5 cel./mL a la concentración de 100ppm. La medida de peso seco siguió un patrón similar, alcanzando el mayor valor a la concentración de 50ppm de cromo VI. El tratamiento en fotobioreactor Air-Lift, logró reducir la concentración de cromo VI desde 29.60 mg/L hasta 1.70 mg/L. La capacidad de bioabsorción de cromo VI fue de 94.24 % durante 9 días de evaluación. Se concluye que la microalga *Desmodesmus quadricauda* tiene gran potencial para reducir cromo VI de efluentes de curtiembres.

Palabras clave: Cromo VI, Bioabsorción, *Desmodesmus quadricauda*, fotobioreactor Air-Lift.

ABSTRAC

The wastewater discharge from the leather tanning industry is high in chromium VI. In the Río Seco Industrial Park-Arequipa the effluents from leather tanning are discharged into the environment without any treatment, causing a great negative impact since they contaminate the water, soil and air, which affects human health and crops in surrounding areas. . In this research, the bioabsorption of chromium VI from tannery effluents was carried out, using the biomass of the microalgae *Desmodesmus quadricauda*, for which a tolerance test and adaptation to chromium VI was first carried out using Potassium Dichromate as a reference toxicant and then carried out the treatment of the actual tannery effluent in an AirLift photobioreactor. In the adaptation and tolerance period, a density of 140.00×10^5 cel / mL, at a concentration of 50ppm of chromium VI followed by 102.67×10^5 cel./mL at the concentration of 100ppm. The dry weight measurement followed a similar pattern, reaching the highest value at the 50ppm concentration of chromium VI. The treatment in an Air-Lift photobioreactor managed to reduce the concentration of chromium VI from 29.60 mg / L to 1.70 mg / L, representing a 94.24% percentage of chromium VI bioabsorption from PIRS effluents during 9 days of evaluation. It is concluded that the microalgae *Desmodesmus quadricauda* has great potential to reduce chromium VI from tannery effluents.

Keywords: Chromium VI, Bioabsorption, *Desmodesmus quadricauda*, Air-Lift photobioreactor.

INTRODUCCIÓN

Las empresas de curtiembres producen residuos líquidos y residuos sólidos, dentro de los cuales se encuentran residuos orgánicos como grasas y proteínas solubles liberadas por las pieles que contienen remanentes químicos de productos utilizados, tales como sulfuros, sulfatos, cloruros y principalmente cromo (Saadi and Boulagouas,2017). En el Parque Industrial Río Seco, los efluentes son vertidos al medio ambiente sin ningún tratamiento, originando un gran impacto negativo ya que contaminan el agua, suelo y aire, lo cual repercute en la salud humana y en cultivos de zonas aledañas, en donde sus productos cosechados están contaminados con altas concentraciones de materia orgánica y metales pesados como el cromo.

Arequipa es uno de los principales productores de cueros, y durante su proceso los efluentes industriales son enviados directa o indirectamente al río Chili de esta ciudad, por lo que sus aguas presentan alta concentración de sales de cromo. Estos efluentes son vertidos desde las empresas de curtiembres, las cuales pasan a los pozos de oxidación ubicado en el Parque Industrial Río Seco, que después por rebose ingresa a las Canteras de Sillar para finalmente desembocar en el río Chili a la altura de Uchumayo.

Existen tecnologías para el tratamiento de efluentes, basados en procesos fisicoquímicos, pero estas tecnologías son muy costosas y poco accesibles. Uno de los retos para hacer frente a la contaminación por cromo VI, es el método natural de bioabsorción usando microorganismos (Lasindrang et al, 2015).

La biorremediación de estos efluentes contaminados utilizando microorganismos, representa una alternativa viable para nuestra realidad, ya que su costo es bajo y su especificidad es alta.

Debabrata et al., (2019) realizaron un estudio de biosorción utilizando la biomasa de la microalga *Scenedesmus sp.*, en el cual para evaluar su efecto se examinaron diferentes parámetros relevantes como el pH inicial, el

tiempo de contacto, la concentración inicial de Cr (VI), la dosis de biosorbente, el tamaño de las partículas y la temperatura. El análisis reveló la presencia de grupos funcionales fácilmente hidrolizados como los aldehídos, amidas, ácidos carboxílicos y fosfatos que podrían unirse al cromo. Este estudio recomendó que el Cr (VI) tóxico podría eliminarse de diferentes muestras de agua contaminada utilizando la biomasa de microalgas; sin embargo, requiere atención en otros lados, como la activación de la biomasa, la interferencia de otros iones, la elevación del pH experimental, la gran generación y recolección de biomasa, la desorción de la biomasa cargada con cromo y la recuperación del valor energético de la biomasa residual.

Entre las técnicas biotecnológicas, la bioabsorción es vista como una de las opciones más valiosas para la eliminación de contaminantes de aguas residuales. Recientemente, el descubrimiento de biosorbentes, se muestra favorable cuando se compara con las técnicas convencionales, como la del uso de carbón activado y resinas de intercambio iónico (Calfa y Torem, 2008).

Hasta donde se sabe actualmente existen pocos estudios acerca del uso de microalgas en la remediación de efluentes con cromo. Por lo anteriormente descrito, esta investigación plantea el uso de tecnologías limpias usando la biomasa de *Desmodesmus quadricauda* como alternativa de solución para la remediación de efluentes de las curtiembres del Parque Industrial Río Seco, Arequipa.

ÍNDICE

DICTAMEN APROBATORIO DE BORRADOR DE TESIS	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
RESUMEN	v
ABSTRAC	vi
INTRODUCCIÓN	vii
ÍNDICE	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
GLOSARIO DE TERMINOLOGÍA	xv
CAPÍTULO 1: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1. DIAGNÓSTICO SITUACIONAL	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.3. HIPÓTESIS	1
1.4. OBJETIVOS	2
1.4.1. Objetivo general	2
1.4.2. Objetivos específicos	2
1.5. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.5.1. Ambiental	3
1.5.2. Económica	3
1.5.3. Social	3
1.5.4. Tecnológica.....	3
1.6. VARIABLES.....	4
1.6.1. Variable independiente (X)	4
1.6.2. Variables dependientes (Y)	4
1.6.3. Operacionalización de variables.....	4
CAPÍTULO 2: FUNDAMENTO TEÓRICO	6
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	6
2.2 MARCO TEÓRICO	8

2.2.1. Industria del Curtido	8
2.2.2. Contaminación ambiental generada por las curtiembres	8
2.2.3. El cromo	9
2.2.4. Biorremediación	9
2.2.5. Mecanismos de captura de metales pesados por microalgas.....	10
2.2.6. El mecanismo de intercambio iónico	12
2.2.7. El mecanismo de complejación	12
2.2.8. El mecanismo de microprecipitación	13
2.2.9. Factores que influyen en la biosorción de metales pesados en microalgas	13
2.2.10. Bioabsorción de cromo por microalgas.....	18
2.2.11. Las microalgas	19
2.2.12. Requisito para el crecimiento de microalgas	20
2.2.13. Nutrientes.....	21
2.2.14. Luz	23
2.2.15. Temperatura.....	24
2.2.16. Salinidad	24
2.2.17. pH	25
2.2.18. Aireación y mezcla	25
2.2.19. Producción de biomasa	26
2.2.20. Crecimiento de biomasa	26
2.2.21. Fotobiorreactores	27
2.2.22. Tratamiento de efluentes y aguas residuales	28
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	30
3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	30
3.2 MATERIALES Y EQUIPOS	30
3.2.1. Equipos:	30
3.2.2. Material de vidrio:	30

3.2.3. Material de campo	31
3.2.4. Reactivos:	31
3.3 MÉTODOS	31
3.3.1 Colecta de muestras	31
3.3.2 Determinación de parámetros fisicoquímicos del efluente de la industria del curtido de pieles del Parque Industrial de Río Seco (PIRS). 32	
3.3.3 Aislamiento de la microalga <i>Desmodesmus quadricauda</i>	33
3.3.4 Método de aislamiento por diluciones	33
3.3.5 Método de aislamiento en placa	34
3.3.6 Cultivo de <i>Desmodesmus quadricauda</i>	35
3.3.7 Determinación de la tolerancia de <i>Desmodesmus quadricauda</i> a cromo VI.	36
3.3.8. Diseño del fotobiorreactor Air-Lift para la bioabsorción de cromo VI con biomasa de la microalga <i>Desmodesmus quadricauda</i>	38
3.3.9. Determinación de la concentración residual y capacidad de bioabsorción de cromo.....	41
3.3.10. Análisis estadístico	41
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1 AISLAMIENTO Y CULTIVO DE MICROALGAS NATIVAS DE LA REGIÓN AREQUIPA.....	43
4.2 PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS.....	44
4.3 TOLERANCIA DE <i>Desmodesmus quadricauda</i>	46
4.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN RESIDUAL Y CAPACIDAD DE BIOABSORCIÓN DE CROMO VI EN EFLUENTES INDUSTRIALES DEL PIRS, TRATADOS MEDIANTE CON <i>Desmodesmus quadricauda</i>	51
CONCLUSIONES	61
RECOMENDACIONES	62
REFERENCIAS	63
ANEXOS.....	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Definición operacional y conceptual de las variables en condiciones de laboratorio (ENSAYO DE TOLERANCIA).	4
Tabla 2. Definición operacional y conceptual de variables en condiciones de fotobiorreactor (condiciones ambientales)	5
Tabla 3. Condiciones experimentales óptimas utilizadas en el caso de la bioabsorción de metales pesados en algunas microalgas.	15
Tabla 4. Tratamientos para ensayos de tolerancia	38
Tabla 5. Ensayo de bioabsorción de cromo VI en efluente real de curtiembre, a diferentes tiempos de exposición, en fotobiorreactor (condiciones ambientales).	40
Tabla 6. Valores de parámetros fisicoquímicos encontradas en los fluentes de curtiembres del Parque industrial Rio Seco.	44
Tabla 7. Evaluación de la tolerancia medida a través de la densidad celular de Desmodesmus quadricauda a diferentes concentraciones de cromo VI.	46
Tabla 8. Evaluación de la tolerancia medida a través de peso seco Desmodesmus quadricauda a diferentes concentraciones de cromo VI.	48
Tabla 9. Concentración residual de cromo VI de efluentes del Parque Industrial de Rio Seco según tiempo de evaluación en fotobiorreactor AirLift	51
Tabla 10. Demanda Química de Oxígeno (DQO) en efluentes del Parque Industrial de Río Seco según tiempo de evaluación en fotobiorreactor Air-Lift.	53
Tabla 11. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) en efluentes del Parque Industrial de Rio Seco según tiempo de evaluación en fotobiorreactor Air-Lift.	54
Tabla 12. Concentración residual y porcentaje de bioabsorción de cromo VI en efluentes del Parque Industrial de Rio Seco según tiempo de evaluación en fotobiorreactor Air-Lift.	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización del Parque Industrial de Río Seco, en donde se ubican las empresas de curtiembres y la laguna de oxidación (Se puede observar la cercanía de la laguna y las pozas de oxidación a poblados y zonas turísticas).....	32
Figura 2. Método de aislamiento por dilución en tubos de ensayo	34
Figura 3. Método de aislamiento en placas con agar (tratamientos para el ensayo de tolerancia)	35
Figura 4. Ensayo de tolerancia de la microalga a diferentes concentraciones de Cromo VI (condiciones de laboratorio). Cada tratamiento se evaluó por triplicado.....	37
Figura 5. Sistema de fotobiorreactor para la bioabsorción de cromo VI. (Fuente: Elaboración propia).....	39
Figura 6. Inóculo de microalga para ensayos en fotobiorreactor.....	39
Figura 7. Medio de cultivo e inoculación de la Biomasa	40
Figura 8. Inoculación con efluente de curtiembres.	40
Figura 9. Sistema de fotobiorreactor en funcionamiento.....	41
Figura 10. Medida de tolerancia mediante densidad celular de <i>Desmodesmus quadricauda</i> a diferentes concentraciones de cromo VI durante 5 días de tratamiento.	48
Figura 11. En este gráfico de barras podemos observar la adaptación y tolerancia evaluada mediante peso seco de <i>Desmodesmus quadricauda</i> a diferentes concentraciones de cromo VI durante 5 días de tratamiento. ..	50
Figura 12. Variación de la concentración de cromo VI de efluentes del Parque Industrial de Río Seco según tiempo de evaluación en fotobiorreactor Air-Lift.....	53

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1	78
ANEXO 2	80
ANEXO 3	82
ANEXO 4	85
ANEXO 5	87



GLOSARIO DE TERMINOLOGÍA

Absorción: Es una operación que consiste en la transferencia selectiva de uno o más componentes presentes en una fase gaseosa hacia la fase líquida con la que se pone en contacto.

APHA: (American Public Health Association) Asociación Estadounidense de Salud Pública.

Bioabsorción: Proceso que consiste en la separación o asimilación de uno o más componentes (iones, nutrientes, metales, etc.) de una mezcla mediante el uso biomasa de microorganismos.

Biomasa: La biomasa es materia orgánica acumulada en un individuo utilizado como fuente energética.

Desorción: Es una operación donde uno o más componentes de la fase líquida se transfieren selectivamente a la fase gaseosa.

Fotobiorreactor: Son dispositivos que tienen como objetivo el cultivo masivo de microalgas, para lo cual tienen que mantener un medio estable (temperatura, pH, luz y nutrientes) para garantizar su crecimiento.

FTIR: Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier, es un método efectivo para una identificación y un análisis cuantitativo de sustancias extrañas.

LMP: El Límite Máximo Permissible es la medida de la concentración o grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a un efluente o una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente.

Metales pesados: Los metales pesados son un grupo de elementos químicos que presentan densidad alta y que son en general tóxicos para los seres humanos y el ambiente.

PIRS: Parque Industrial del Río Seco.

Remediación: Es el conjunto de actividades a desarrollarse en un sitio contaminado con la finalidad de eliminar o reducir contaminantes, a fin de asegurar la protección de la salud.



CAPÍTULO 1: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DIAGNÓSTICO SITUACIONAL

En Arequipa, las curtiembres del PIRS (Parque Industrial Río Seco) producen residuos líquidos y sólidos, dentro de los cuales se encuentran residuos orgánicos como las grasas y las proteínas solubles, las cuales son liberadas por los cueros; a la vez también se generan remanentes químicos por los productos utilizados, tales como sulfuros, sulfatos o cloruros y principalmente cromo.

Estos efluentes son vertidos al medio ambiente sin antes tener tratamiento alguno, originando un gran impacto negativo ya que contamina el agua, suelo y aire lo cual repercute en la salud humana y en cultivos de zonas aledañas, cuyos productos cosechados están contaminados con concentraciones elevadas de materia orgánica y metales pesados como el cromo.

El departamento de Arequipa es uno de los principales consumidores del sulfato de cromo, ya que existen aproximadamente 60 curtiembres entre formales e informales; estas curtiembres utilizan sulfato de cromo para curtir el cuero, que posteriormente después del proceso del curtido, los efluentes industriales son enviados directa o indirectamente al río Chili, contaminando el agua con altas concentración de sales de cromo.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Será posible la bioabsorción de cromo VI en efluentes del Parque Industrial Río Seco (PIRS) mediante la microalga *Desmodesmus quadricauda*?

1.3. HIPÓTESIS

La biomasa de la microalga *Desmodesmus quadricauda* presenta una alta capacidad de bioabsorción de cromo VI presente en los efluentes de la industria de curtido de pieles del Parque Industrial Río Seco (PIRS).

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Determinar la bioabsorción de cromo VI en efluentes de la industria del curtido de pieles del Parque Industrial de Río Seco (PIRS), mediante la microalga *Desmodesmus quadricauda*.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar los parámetros fisicoquímicos en efluentes de la industria del curtido de pieles del Parque Industrial de Río Seco (PIRS).
- Determinar la tolerancia de la microalga *Desmodesmus quadricauda* a diferentes concentraciones de cromo VI.
- Diseñar un sistema de fotobioreactor Air-Lift para la bioabsorción de cromo VI en efluentes de la industria del curtido de pieles del PIRS, con biomasa de la microalga *Desmodesmus quadricauda*.
- Determinar la concentración residual y capacidad de bioabsorción de cromo VI en efluentes de la industria del curtido de pieles del PIRS, tratados mediante la microalga *Desmodesmus quadricauda*.

1.5. JUSTIFICACIÓN

Uno de los retos para hacer frente a la contaminación por la industria del curtido del cuero, es la eliminación de cromo y la materia orgánica de las aguas residuales industriales de forma natural por el método de bioabsorción usando microorganismos. (Lasindrang *et al.*, 2015)

1.5.1. Ambiental

El uso de microalgas en biorremediación presenta ciertas ventajas frente a otras alternativas tradicionales; resultando ser mucho más selectivas, de mayor eficacia para grandes volúmenes y generando pocos o ningún subproducto contaminante en su proceso, obteniendo como resultado un mínimo impacto ambiental. (Zheng et al., 2008)

1.5.2. Económica

La implementación de sistemas eficientes de remoción de metales como el cromo mediante el cultivo de microalgas permitirá reemplazar algunos métodos convencionales de purificación de aguas que son complejos en su implementación y monitoreo, así como su elevado costo de insumos químicos, energía y gastos de operación. (Lasindrang et al, 2015)

1.5.3. Social

Es importante reconocer que el entorno social es quien más se verá beneficiado, pues permitirá la posibilidad de implementación de una mejor opción al manejo de residuos de la industria de curtiembres, minimizando de manera casi completa las molestias a los residentes cercanos a las zonas afectadas por la contaminación que producen los efluentes con este metal toxico. (Jena et al., 2014)

1.5.4. Tecnológica

Entre las técnicas biotecnológicas, la bioabsorción es vista como una de las opciones más valiosas para la eliminación de contaminantes de las aguas residuales. Recientemente, el descubrimiento de biosorbentes, se muestran favorables cuando se compara con las técnicas convencionales como el uso de carbono activado y resinas de intercambio iónico. (Calfa and Torem, 2008)

1.6. VARIABLES

1.6.1. Variable independiente (X)

- Concentración de cromo VI
- Tiempo de exposición al contaminante

1.6.2. Variables dependientes (Y)

- Biomasa de la microalga

1.6.3. Operacionalización de variables

Tabla 1. Definición operacional y conceptual de las variables en condiciones de laboratorio (ENSAYO DE TOLERANCIA).

	VARIABLE	INDICADOR	TÉCNICA	INSTRUMENTO
VARIABLE INDEPENDIENTE	Concentración de cromo VI	Concentración residual de cromo VI	Método colorimétrico	Espectrofotómetro
VARIABLE DEPENDIENTE	Biomasa de la microalga	Recuento celular	Conteo celular en cámara de Neubauer	Cámara de Neubauer
		Peso seco	Medida del peso seco	Balanza analítica

Tabla 2. Definición operacional y conceptual de variables en condiciones de fotobiorreactor (condiciones ambientales)

	VARIABLE	INDICADOR	TÉCNICA	INSTRUMENTO
VARIABLE INDEPENDIENTE	Tiempo de exposición de la Biomasa de <i>Desmodesmus quadricauda</i> al contaminante	Días	Observación a intervalos de 2,4, y 6 días	Cronómetro
VARIABLE DEPENDIENTE	Concentración residual de cromo VI	Concentración residual de cromo VI	Método colorimétrico	Espectrofotómetro

CAPÍTULO 2: FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Actualmente el género *Scenedesmus* fue renombrado como género *Desmodesmus* (Hegewald and Braband, 2017).

Realizaron un estudio de biosorción utilizando la biomasa de la microalga *Scenedesmus* sp. como adsorbente para la eliminación de cromo hexavalente de la solución. Para evaluar su efecto se examinaron diferentes parámetros relevantes como el pH inicial, el tiempo de contacto, la concentración inicial de Cr (VI), la dosis de biosorbente, el tamaño de las partículas y la temperatura. Se encontró que eran efectivos con un máximo de 92.89% de carga de cromo VI en la biomasa. El análisis FTIR reveló la presencia de grupos funcionales fácilmente hidrolizados como los aldehídos, amidas, ácidos carboxílicos, fosfatos y haluros, que se cargaron positivamente por debajo del punto de carga cero a pH 2,65. La biosorción procedió a través del mecanismo de adsorción aniónica y siguió el modelo cinético de primer orden. Su viabilidad se confirmó, ya que los datos experimentales se ajustaron a las isotermas de Langmuir y Freundlich. La biosorción fue espontánea la cual aumentó con la temperatura. El cambio de entropía positivo sugirió la aleatoriedad en la interfaz sólido-líquido. Este estudio recomendó que el Cr (VI) tóxico podría eliminarse de diferentes muestras de agua contaminada en las minas de cromita cercanas utilizando la biomasa de microalgas. Sin embargo, requería atención en otros lados, como la activación de la biomasa, la interferencia de otros iones, la elevación del pH experimental, la gran generación y recolección de biomasa, la desorción de la biomasa cargada con cromo y la recuperación del valor energético de la biomasa residual. (Debabrata et al., 2019)

Estudiaron las respuestas fisiológicas de *Scenedesmus quadricauda* al exceso de Cr VI y Cr III. El contenido total de Cromo VI que se administró fue de 1 µg de ambos estados de oxidación y de 10 µg de Cr VI, se detectó un alto potencial de acumulación (80-82% y 41-65% en tratamientos de 1 y 10 µg, respectivamente). El indicador de fluorescencia específico confirmó la reducción parcial de Cr VI a Cr III en condiciones de exposición. La

viabilidad y la autofluorescencia de clorofila se agotaron más con Cr (VI) mientras que Cr III estimuló el aumento de ROS (especies reactivas de oxígeno) y la peroxidación lipídica. Las actividades enzimáticas antioxidantes mostraron valores significativamente más altos en los tratamientos de ambos estados de oxidación de cromo. No se reflejó alteración de proteínas mitocondriales solubles totales, lo que indica que la sensibilidad de este orgánulo al Cromo, no mostraron un claro efecto relacionado con el estado de oxidación. Se demostró que el Cr (VI) no es más tóxico que Cr (III)" al menos para algunos parámetros. (Kováčik et al., 2015)

En la investigación "Remoción de cromo mediante el uso de un bioreactor utilizando *Scenedesmus obliquus* inmovilizado" realizaron la remoción de cromo presente en aguas residuales galvánicas reales, empleando un reactor con cultivo inmovilizado de *Scenedesmus obliquus*. La eficiencia de remoción de cromo fue del 92,40 %, recuperándose el 83 % de la masa de cromo presente en el efluente residual original. La temperatura del efluente residual estuvo entre 29,4 y 34 °C, condición óptima para el buen desarrollo del alga y del proceso de remoción de los metales pesados. (Pellón et al., 2011)

En la investigación, "Bioadsorción de Pb^{2+} en una columna empacada con biomasa", realizaron la bioadsorción de Pb^{2+} a escala de laboratorio utilizando una columna empacada con biomasa del alga *Chlorella sp.* inmovilizada en pellets de alginato de calcio, variando el tamaño de partícula, el pH, y la concentración de Pb^{2+} , determinando que la mejor bioadsorción del metal fue a pH 5 y con un tamaño de pellet de 5mm de diámetro, tanto en disoluciones metálicas de concentración de 100 como de 500 mg/L. Posteriormente la bioadsorción de Pb^{2+} fue estudiada en el mismo sistema a escala de banco de laboratorio con un rango de flujo de 40 a 80 mL/min. El coeficiente de transferencia de masa fue determinado ajustando los datos experimentales a las ecuaciones de continuidad, resultando mayor la transferencia de masa a 80 mL/min. (Almaguer et al., 2010)

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1. Industria del Curtido

El proceso de transformación de la piel de animal en cuero se caracteriza por el consumo de elevadas cantidades de agua, como consecuencia de este elevado consumo de agua, los efluentes generados en cada actividad contienen altas concentraciones de cromo, sulfuro y/o materia orgánica. (Karl ,2017)

En Arequipa, las curtiembres del Parque Industrial de Río Seco (PIRS) utilizan grandes cantidades de sales de cromo y sulfuros por lo que se han convertido en una actividad industrial altamente contaminante del sector, generando residuos líquidos con elevadas concentraciones de cromo que sin ningún tratamiento son descargadas a una “laguna artificial” formada por estancamiento de las aguas residuales, contaminando los sembríos de la parte baja de la provincia conforme el agua avanza por la cuenca, sin considerar que hay sectores de la población que consumen directamente esta agua sin previo tratamiento. (MINAM, 2010)

2.2.2. Contaminación ambiental generada por las curtiembres

La industria del cuero es considerada uno de los sectores más contaminantes, pues en el proceso del curtido son necesarios alrededor de 500 kilos de productos químicos para el procesamiento de una tonelada de cuero crudo, se estima que un 85% no se incorporan en el cuero acabado, así este se convierte en contaminante del medio ambiente: agua, suelo y aire. (Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, 2012)

La industria de la curtiembre tiene un enorme impacto desde el punto de vista ambiental, dada las características de los efluentes que elimina a los cursos de agua. Ello determinó que, en los últimos años, se hicieran importantes esfuerzos para el desarrollo en el área de los insumos químicos, para responder a la demanda creciente por productos menos agresivos y más compatibles con las pautas establecidas por la ecología. Se precisa, por tanto, que en los efluentes de la curtiembre se destacan: el

cromo, ácido sulfúrico, el sulfuro, los sólidos en suspensión y el nitrógeno amoniacal. Se considera también la enorme demanda de agua y, en consecuencia, las descargas no son sólo abrumadoras, sino que transportan una carga contaminante muy alta. (Lazo, 2017)

2.2.3. El cromo

El cromo es un metal de transición localizado en el grupo VI-B de la Tabla Periódica. Aunque puede existir en varios estados de oxidación, las formas más comunes y estables en el ambiente son el Cr+3 y Cr+6, los cuales poseen propiedades químicas distintas. El Cr+6, considerado la forma más tóxica del cromo, se encuentra usualmente asociado al oxígeno en forma de cromatos (CrO_4^{-2}) y dicromatos ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$), que debido a su gran solubilidad son altamente móviles en el suelo y en ambientes acuáticos. El cromo se encuentra en el medio ambiente en su forma natural como Cr (III). Sin embargo, la generación de Cr (VI) se crea por la oxidación de Cr (III) durante varios procesos industriales y se descarta como desechos industriales. El transporte de Cr (VI) dentro de los ambientes terrestres y acuáticos se ve muy afectado por la especiación química. La afinidad por los procesos químicos y fotoquímicos de transformación redox, precipitación, disolución, adsorción y procesos de sorción que ocurren a nivel trófico en el ambiente determina el ciclo biogeoquímico de Cr (VI). (Debabrata, 2017)

El Cr (VI) es finalmente consumido por diferentes plantas y animales del medio ambiente. Esto puede causar serios problemas de salud. Por ejemplo, Cr (VI) actúa como oxidante directamente en la superficie de la piel o puede ocurrir absorción a través de la piel, especialmente si la superficie de la piel está dañada. El cromo absorbido en el sistema sanguíneo a través de los pulmones es excretado por el riñón y el hígado. La absorción prolongada causa daño renal y hepático agudo debido a una inflamación severa dentro de las células. (Debabrata, 2017)

2.2.4. Biorremediación

Uno de los mayores problemas ambientales es la acumulación de metales pesados en los ecosistemas producto de desechos industriales mal

tratados, una alternativa eficiente y rentable es el tratamiento a través de técnicas de biorremediación. (Castro et al., 2003)

La biorremediación es una técnica que utiliza organismos biológicos para remediar, restablecer o devolver un suelo, agua o aire a un estado limpio, libre de contaminantes o, al menos disminuir la concentración de contaminantes a niveles no tóxicos. Uno de los objetivos del uso de la biorremediación es aumentar y mejorar la biodegradación por los organismos nativos, lo que se conoce como biorremediación intrínseca, o por medio de la adición de organismos para llevar a cabo un cambio en ese ambiente. (Harman, 2004)

El rol de los microorganismos es fundamental en los ciclos biogeoquímicos de los metales y su utilización en los procesos de biorremediación de desechos sólidos y líquidos es esencial para el cuidado del medio ambiente. Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y/o tolerantes que son de particular interés como captadores de metales en sitios contaminados, debido a que ambos pueden extraer los contaminantes y participar en el proceso de biorremediación. (Chaudhuri and Lovely, 2003)

Los microorganismos modifican la concentración de metales pesados en el ambiente, pues estos cuentan con mecanismos enzimáticos y no enzimáticos para remover metales en solución. (Rajendran, et al., 2003)

La capacidad de remoción de metales por bacterias, microalgas y hongos es superior a la capacidad reportada con métodos fisicoquímicos convencionales, también se conoce que la adquisición y remoción de los metales pesados puede ser selectiva teniendo en cuenta la capacidad metabólica de cada especie biorremediadora y el tipo de metal. (Zheng et al., 2008)

2.2.5. Mecanismos de captura de metales pesados por microalgas

La biosorción es un fenómeno superficial, que es rápido, reversible e independiente del metabolismo de la célula. (Bulgariu, 2015)

La pared celular de las microalgas está compuesta de proteínas, cadena polimérica de diferentes moléculas de azúcar tales como almidón, celulosa, hemicelulosa y lípidos que constituyen diferentes grupos funcionales (-COOH, -OH, -PO₃, -SH₂ y -NH₂). (Bulgariu, 2015)

Estos grupos funcionales conducen a la unión eficiente de diferentes metales pesados, lo que convierte a las microalgas en una excelente superficie de bioabsorción. (Anastopoulos, 2015)

La bioabsorción se puede clasificar en dos procesos: adsorción física y adsorción química. La adsorción física puede definirse como la retención de iones metálicos en el bioabsorbente, es decir, la biomasa de algas en virtud de la fuerza de Van der Waals y la interacción electrostática, mientras que la bioabsorción química implica una reacción química como el intercambio iónico. (Anastopoulos, 2015)

Estos dos mecanismos pueden diferenciarse en función de su cambio en la entalpía, que se calcula mediante la isoterma de adsorción a diferentes temperaturas. (Bulgariu, 2015)

El valor del cambio en la entalpía entre 2.1 y 20.9 kJ / mol indica el proceso como adsorción física, mientras que un valor que varía de 80 a 400 kJ / mol define el proceso como adsorción química. (Bulgariu, 2015)

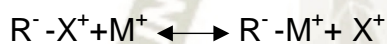
En función de los procesos elementales involucrados en el proceso de adsorción, el mecanismo de biosorción se puede clasificar como: biosorción química, que implica una reacción química, y biosorción física, donde la retención de iones metálicos ocurre a través de Van der Waals o interacción electrostática. La diferencia entre estos dos tipos de mecanismos de biosorción está dada por la magnitud del cambio de entalpía (ΔH) para un proceso de biosorción dado, calculado a partir de las isotermas de biosorción obtenidas a diferentes temperaturas. (Senthilkumar et al., 2006)

Por lo tanto, se consideró que un cambio de entalpía que varía de 0.5 a 5 kcal/ mol (2.1- 20.9 KJ/mol) indica un mecanismo de biosorción física, mientras que un valor de cambio de entalpía entre 5 y 100 kcal/mol (20.9- 418.4 kJ/mol) muestra que las interacciones químicas son predominantes en el proceso de biosorción.(Deng et al., 2007).En general, el proceso de biosorción en microalgas no vivas sigue un mecanismo químico, mientras que los principales factores importantes que determinan la naturaleza de los

procesos elementales son:(1) Tipos de grupos funcionales presentes en la superficie de las microalgas; (2) Naturaleza de las especies de metales pesados a partir de una solución acuosa; (3) Características de la solución acuosa (pH, fuerza iónica, presencia de iones competidores, etc.). (Deng et al., 2007)

2.2.6. El mecanismo de intercambio iónico

El mecanismo dominante de la biosorción de metales pesados se considera en microalgas (Herrero et al., 2006), donde las interacciones elementales pueden variar desde físicas (fuerzas electrostáticas o de van der Waals) a químicos (iónicos o covalentes). En general, las microalgas contienen en su estructura iones metálicos móviles como K^+ , Na^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} , que están unidos al grupo ácido funcional de las microalgas. En el proceso de biosorción, estos aniones se intercambian con metales pesados, de acuerdo con la reacción:



Donde R^- es el grupo funcional de la superficie de microalgas; X^+ es un ion móvil (por ejemplo, K^+ , Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , etc.); y M^+ es el ion de metal pesado presente en solución acuosa. Las microalgas pueden retener iones de metales pesados de una solución acuosa y liberar tales iones móviles en solución. La biosorción de varios metales pesados (como $Pb(II)$, $Cd(II)$, $Cu(II)$, $Zn(II)$, etc.) usando diferentes tipos de microalgas (*Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoidosa*) ocurre predominantemente por intercambio iónico interacción (Zhou et al., 2012; Mirghaffari et al., 2014). Los estudios experimentales han demostrado que la cantidad de iones metálicos ligeros es mayor al final del proceso de biosorción.

2.2.7. El mecanismo de complejación

Es otro posible mecanismo que puede aparecer en el proceso de biosorción, que implica la formación de un complejo en la superficie celular, entre iones de metales pesados a partir de una solución acuosa y grupos funcionales de microalgas. (Aksu et al., 1992)

Aksu et al. (1992) ha demostrado que la biosorción de iones Cu (II) en *Chlorella vulgaris* se produce a través de un mecanismo de complejación que implica la formación de enlaces de coordinación entre iones metálicos y grupos amino y carboxilo de los polisacáridos de la pared celular de las microalgas. Cabe señalar que en el mecanismo de complejación, están involucradas tanto las interacciones electrostáticas como las interacciones covalentes y / o coordinadas, y, en comparación con un mecanismo de intercambio iónico, los complejos superficiales resultantes son más estables. Debido a esto, la regeneración de tales biosorbentes requiere la utilización de agentes complejación fuertes, como el ácido etilendiaminotetraacético. Sin embargo, las interacciones de complejación se han evidenciado como interacciones elementales en muchos procesos de biosorción en varios tipos de microalgas, especialmente a una alta concentración inicial de iones de metales pesados.

2.2.8. El mecanismo de microprecipitación

Puede tener lugar cuando el pH de la solución aumenta drásticamente durante la biosorción y / o incluso cuando las concentraciones de iones metálicos en los efluentes acuosos aumentan hasta su saturación. En este caso, los metales pesados de la solución pueden precipitar, y los microprecipitados obtenidos se depositan en la superficie de la biomasa. La microprecipitación puede tener lugar dependiendo o no de la naturaleza de las microalgas, y puede producir una distorsión de los resultados de biosorción y dificultar la determinación de la cantidad de absorción de iones metálicos. (Han et al., 2007)

2.2.9. Factores que influyen en la biosorción de metales pesados en microalgas

El diseño de un proceso eficiente de bioremediación de metales pesados para efluentes acuosos por biosorción en microalgas supone principalmente la identificación y optimización de los factores más importantes que pueden influir en la capacidad de absorción del biosorbente. Esto sucede porque es bien sabido que la eliminación de iones metálicos de la solución acuosa mediante biosorción se lleva a cabo con la máxima eficiencia solo en

condiciones experimentales bien definidas. En el caso de las microalgas, los factores más importantes que afectan su rendimiento biosorptivo pudiéndose dividir en dos categorías: (1) factores de biomasa, tales como medio de crecimiento, propiedades superficiales específicas de las microalgas, pretratamiento de células, etc.; y (2) factores del proceso, como el pH inicial de la solución acuosa, la concentración de biosorbente, el tiempo de contacto, la temperatura, la metodología experimental, la altura del lecho, el caudal de la solución, la concentración de metales pesados, etc. (Han et al., 2007)

a. La biomasa

Las condiciones de crecimiento y desarrollo pueden influir en el rendimiento bioabsorción de microalgas. Los datos presentados en diversos estudios indican que el crecimiento de microalgas en medio salino tiene un mayor contenido de polisacáridos que los desarrollados en agua dulce, por tanto su eficiencia en el proceso de biosorción varía en un amplio intervalo. Sin embargo, se demostró que las microalgas que tienen una gran cantidad de grupos funcionales disponibles en su superficie, exhiben mejores características de biosorción, pero esto depende tanto de la naturaleza de las microalgas como del pretratamiento de biomasa antes de su utilización como biosorbente. (Bulgariu, 2015)

Por lo general, la biomasa de microalgas se centrifuga a diferentes velocidades e intervalos de tiempo, para obtener la biomasa cruda. Esta biomasa se trata previamente, en la mayoría de los casos mediante secado, y por lo tanto el biosorbente da como resultado, que se conserve más fácilmente y pueda usarse durante un largo período. Este paso de pretratamiento se realiza con mayor frecuencia a un intervalo de temperatura de 50° – 60° C durante 12-24 h, porque en estas condiciones la biomasa no se degrada y los grupos funcionales superficiales no se alteran. (Bulgariu, 2015)

b. Factores de proceso

Dependiendo de la metodología, los principales factores de proceso que influyen significativamente en el rendimiento biosorptivo de las microalgas y

que deben optimizarse son :**(1)** Para el sistema de lotes: pH de la solución, dosis de biosorbente, tiempo de contacto, temperatura; **(2)** para sistemas continuos: altura del lecho biosorbente, velocidad de flujo de solución acuosa que contiene metales pesados, concentración inicial de iones de metales pesados. El pH de la solución es uno de los parámetros experimentales más importantes que influye no solo en la especiación y solubilidad de los iones de metales pesados, sino también en el grado de disociación de los grupos funcionales de la superficie biosorbente (p. Ej., Hidroxilo, carboxilo, carbonilo, amino, etc.), considerados como sitios de biosorción. Desde este punto de vista, muchos estudios han demostrado que los valores de pH en el intervalo de 3 y 6.5 conducen a una mayor capacidad de biosorción de la mayoría de las especies de metales pesados en microalgas (Tabla 3). (Gao and Wang, 2007)

Tabla 3. Condiciones experimentales óptimas utilizadas en el caso de la bioabsorción de metales pesados en algunas microalgas.

MICROALGA	METAL PESADO	PH	BIOMASA (G/L)	TIEMPO DE CONTACTO (MINUTOS)	TEMP (°C)	REFERENCIA
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Zn(II)	6.0-7.0	0.02	90	Temperatura ambiente	Monteiro et al. (2011) Kumar et al. (2014)
	Cu(II)	5.0-7.0	0.03	60		
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Cd(II)	5.0	0.20	60	Temperatura ambiente	Mirghaffari et al. (2014)
	Pb(II)					
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Cr(VI)	2.0	0.10	120	Temperatura ambiente	Arica et al. (2005) Bayramoglu et al. (2006)
	Pb(II),	5.0-6.0	0.20	60		
	Cd(II)					
<i>Chlorella vulgaris</i>	Cd(II), Ni(II)	4.0	-	120	25	Aksu and Donmez (2006)

<i>Chlorella sorokiniana</i>	Cr(III)	4.0-5.0	0.1	60	25	Nasreen et al. (2008)
<i>Oedogonium hatei</i>	Cr(VI)	2.0	0.8	110	25	Gupta and Rastogi (2009)
	Ni(II)	5.0	0.7	80	45	Gupta et al. (2010)

Esto está de acuerdo con la química de la solución metálica, donde los metales pesados poseen una alta solubilidad y están presentes en la solución como especies iónicas simples, que tienen el efecto más tóxico y una mayor biodisponibilidad. (Stumm y Morgan, 1996)

En consecuencia, la especiación y solubilidad de metales pesados en función de las variaciones de pH es uno de los criterios más importantes para seleccionar el tipo de biosorbente de microalgas. A valores de pH inferiores a 3, la capacidad de absorción de las microalgas es menor, principalmente debido a la competencia entre los protones y los iones de metales pesados por los sitios de unión del biosorbente. (Zhao et al., 2013)

Por encima de pH 6.5, los iones de metales pesados tienden a precipitar como hidróxidos, y solo una pequeña cantidad de metales pesados permanece en solución y puede ser retenida por interacciones con grupos funcionales presentes en las microalgas. La dosis de biosorbente es otro parámetro que debe optimizarse para garantizar la viabilidad económica y ambiental del proceso de biorremediación. Por lo tanto, la utilización de grandes cantidades de biosorbente no solo aumentará el costo de los procesos de biosorción, sino que también generará grandes cantidades de desechos cargados con metales pesados, lo que tendrá un impacto negativo en el medio ambiente. Por otro lado, una cantidad demasiado pequeña de microalgas afectará significativamente la eficiencia de la biosorción, y los procesos de biorremediación serán inadecuados para aplicaciones a gran escala. Por lo tanto, para diseñar un sistema de biorremediación económicamente viable para la biosorción de iones de metales pesados, la dosis óptima de biosorbente debe seleccionarse después de una cuidadosa

comparación de los resultados experimentales. La Tabla 3 resume los valores de la dosis óptima de biosorbente utilizada para la eliminación de iones de metales pesados de ambientes acuosos, en diferentes tipos de microalgas. El tiempo de contacto también tiene un papel importante para garantizar la eficiencia del proceso de biosorción. El valor insatisfactorio de este parámetro podría limitar drásticamente el uso práctico de un proceso de biosorción dado, incluso si su eficiencia en la eliminación de iones de metales pesados es alta. En la mayoría de los estudios, las observaciones experimentales han demostrado que no se observan más biosorciones significativas después de 3 h en el caso de los biosorbentes de microalgas. (Wang y Chen, 2008)

En muchos estudios de la literatura científica se ha demostrado que un aumento drástico de la temperatura (hasta 40° C) determinó un ligero aumento o disminución de la capacidad de biosorción de microalgas (con 5 - 15 mg/g). (Febrianto et al., 2009).

Teniendo en cuenta estos resultados, se recomienda que, para la aplicación a gran escala, la biosorción de metales pesados de una solución acuosa en microalgas se realice a temperatura ambiente (ver Tabla 3), ya que el costo de operación se mantendrá bajo en estas condiciones. Desafortunadamente, los sistemas discontinuos generalmente se limitan a la biorremediación de pequeños volúmenes de efluentes acuosos. El uso de sistemas continuos parece ser más adecuado para la aplicación a gran escala de procesos de biorremediación utilizando biosorbentes de microalgas, donde el biosorbente puede usarse en múltiples ciclos de biosorción y desorción. (Febrianto et al. 2009)

Sin embargo, debe mencionarse que la utilización de microalgas en sistemas continuos tiene una desventaja importante ya que la columna se obstruye, debido al pequeño tamaño de las partículas biosorbentes. En el caso de células de microalgas inmovilizadas el atrapamiento de estas se realiza en polímeros o sobre materiales inertes y porosos, como sílice, agar, poliácridamida, alginatos, celulosa y diferentes agentes de reticulación. La biosorción de iones de metales pesados en microalgas en sistemas continuos, está influenciada principalmente por tres parámetros

experimentales clave: altura del lecho, caudal de solución acuosa y concentración inicial de iones de metales pesados. Según los resultados encontrados en la literatura, la capacidad de absorción de metal y el tiempo de avance, aumentan con el crecimiento de la altura del lecho, lo que significa un área de superficie total aumentada de biosorbente. Además, el aumento del caudal afecta directamente la eficiencia del proceso de biorremediación y el volumen del efluente tratado al disminuir el tiempo de penetración y el tiempo de agotamiento. La capacidad de absorción del metal durante la biosorción disminuye con el aumento de la concentración inicial de metal en solución, porque el biosorbente se satura más rápido a altas concentraciones. Por esta razón, los valores óptimos que aseguran la entrega eficiente del proceso de biorremediación deben establecerse para cada uno de estos parámetros, para aplicaciones prácticas. El uso de microalgas para la biosorción de metales pesados en sistemas continuos facilita el tratamiento de grandes volúmenes de efluentes acuosos, pero aún se están realizando investigaciones en otras áreas relacionadas con la biosorción en sistemas continuos. (Valdman y Leite, 2000)

2.2.10. Bioabsorción de cromo por microalgas

Un grupo de organismos fácilmente disponible y potencial para ser utilizado como bioasorbentes metálicos son las microalgas. Las microalgas contienen grupos funcionales, como carboxilo (COO^-), amino (NH_2^-), sulfato (SO_4^{2-}) e hidroxilo (OH^-), que sirven como sitios de unión para metales. (Kumar et al., 2009 ; Al-Homaidan et al., 2014)

Las interacciones entre cromo y microalgas terrestres o acuáticas, se han estudiado con menos intensidad que las interacciones entre Cr-bacterias y Cr-hongos, como es el caso con otros contaminantes metálicos y orgánicos. Hay informes de tolerancia o resistencia de un número limitado de microalgas a Cr, dependiendo de su especiación, pero no se entienden los mecanismos implicados en la resistencia a las microalgas. La reducción de Cr (VI) a Cr (III) y la disminución de la absorción de cromo por las células de microalgas probablemente no están involucradas en la resistencia de las microalgas a cromo. El secuestro de cromo por complejación con compuestos orgánicos en exudados de microalgas es una posibilidad, pero

necesita confirmación. La interferencia en la reproducción sexual se ha implicado en la evolución de las microalgas tolerantes al Cr. (Corradi et al., 1995)

Megharaj (2002), recientemente encontró supresión total del crecimiento de microalgas en un suelo contaminado con desechos de curtiduría a largo plazo con altos niveles de Cr [Cr total, 62,000 mg / kg; Cr (VI), 40 mg / kg], cuando el suelo contaminado se incubó en condiciones húmedas durante 6 meses o más (Datos no publicados).

Viti y Giovannetti (2001), examinaron el impacto de la concentración de cromo en microorganismos fotosintéticos en tres suelos cuya concentración de cromo oscilaba entre 67 y 5490 mg / kg. Las concentraciones crónicamente altas de cromo afectaron negativamente a los microorganismos fotosintéticos aeróbicos y redujeron drásticamente la población de cianobacterias fijadoras de nitrógeno. Los suelos contaminados con Cr (VI) presentaron una baja población de cianobacterias del género *Nostoc* con pocos heterocistos.

Sin embargo en suelos con bajos niveles de Cr (VI), presentaban una cantidad numerosa de heterocitos (estructuras fijadoras de nitrógeno). (Megharaj et al., 2002)

Se sabe que las cianobacterias producen y liberan ligandos orgánicos complejos que pueden unir metales. (Megharaj et al., 2002)

Durante el crecimiento de 18 días, *Anabaena variabilis* redujo casi todo el cromato a Cr (III) en cantidades estequiométricas, con un 50% de este último en las células y un 50% restante en el medio. (Garnham y Green, 1995)

La reducción de Cr (VI) por *Anabaena variabilis* presumiblemente ocurrió en los heterocistos. Vale la pena mencionar que la reducción de cromato por *Anabaena variabilis* se realizó a un ritmo lento en comparación con lo informado en cultivos bacterianos. (Garnham y Green, 1995)

2.2.11. Las microalgas

El término microalgas cubre todos los organismos oxigénicos con clorofila "a" como pigmento fotosintético común. (Richmond, 2008)

La biodiversidad de las microalgas es sobresaliente, y se estima que existen entre 200,000 especies y varios millones de especies en la naturaleza; sin embargo, se ha estudiado y analizado un número muy limitado. (Mata et al., 2010)

Entre las microalgas, los grupos más importantes de microalgas en términos de abundancia son las diatomeas, las algas verdes, las algas verdeazuladas y las algas pardas. Las algas clorofitas (algas verdes) incluye una gran cantidad de microalgas con gran variabilidad morfológica como flagelados cocoides, unicelulares o coloniales y filamentos multicelulares o multinucleados. Contienen clorofila a, b que le da un color verde. Junto con las clorofilas, los carotenoides se sintetizan y se acumulan en el cloroplasto. (Richmond, 2008)

2.2.12. Requisito para el crecimiento de microalgas

Los medios utilizados para el cultivo de microalgas deben suministrar todos los componentes necesarios para el crecimiento y mantenimiento del organismo. Los parámetros óptimos, así como el rango tolerado, son específicos de cada especie, y cada parámetro debe determinarse individualmente. (Lavens y Sorgeloos, 1996)

Todos estos parámetros no solo afectan la fotosíntesis y la productividad de la biomasa celular, sino que también influyen en el patrón, la ruta y la actividad del metabolismo celular y, por lo tanto, cambian la composición celular. (Richmond y Hu Q, 2013). Por lo tanto, al cultivar microalgas, se deben considerar varios factores, y los parámetros más importantes que regulan el crecimiento de algas incluyen:

- Cantidad y calidad de nutrientes
- Luz
- Dióxido de carbono
- Temperatura
- pH

- Turbulencia y salinidad

2.2.13. Nutrientes

Los nutrientes son compuestos inorgánicos u orgánicos distintos del CO₂ y el agua, utilizados para el crecimiento. Los medios utilizados para cultivar las microalgas deben tener cantidades suficientes de nutrientes en proporción adecuada para su crecimiento adecuado. El medio de cultivo de microalgas introducido por primera vez por Pringsheim (1950), consiste en un medio bifásico de suelo y agua.

Sin embargo, la composición química de los medios no se definió adecuadamente. Por lo tanto, para superar el problema, Vonshak (1986), estableció otro medio de cultivo de microalgas que contiene fuente de carbono (orgánico o inorgánico), fuente de nitrógeno, oligoelementos y agentes quelantes, vitaminas, contenido de sal y otros componentes iónicos (potasio, magnesio, sodio, sulfato y fosfato) basados en la composición celular. Se ha diseñado una gran cantidad de medios de cultivo con diversas proporciones de nutrientes, mientras que algunos medios se derivan del análisis del agua en el hábitat nativo y la ecología de las microalgas. Además, algunos medios son específicos de la especie, mientras que otros son muy generales para diversas microalgas. Algunos de los medios de uso común se describen a continuación:

- Medios basales. (Bold, 1949; Bischoff y Bold, 1963; Stein, 1973)
- Medio de crecimiento de medios BG11 para algas verdeazuladas y algas verdes de agua dulce. (Rippka et al., 1979)
- El medio F / 2 es un medio ampliamente utilizado (generalmente enriquecido con agua de mar) para diatomeas y microalgas marinas. (Guillard y Ryther, 1962 ; Guillard, 1975)
- Medio Walne (Walne, 1970) y ASN-III (Rippka et al., 1979) utilizados para el cultivo de cianobacterias marinas y algas verdes eucariotas. Sin embargo, debido a la complejidad y el costo de los medios de cultivo anteriores, puede que no sea factible usarlos para la producción a gran escala de biomasa microalgal. Los medios de crecimiento alternativos

compuestos de fertilizantes de grado agrícola disponibles comercialmente (NPK, urea, potasa, superfosfato) son adecuados para el cultivo de microalgas a gran escala. Entre los nutrientes, el nitrógeno representa alrededor del 7-10% del peso seco de las células (DCW) y es un componente esencial de todas las proteínas estructurales y funcionales en las células de algas. Las microalgas tienen una capacidad limitada para producir materiales almacenados en nitrógeno cuando crecen en condiciones de nitrógeno suficiente. La decoloración de las células de microalgas es común en los medios deficientes en nitrógeno debido a la disminución del contenido de clorofila y al aumento de los carotenoides. La limitación adicional de nitrógeno muestra una degradación activa y específica de los ficobilisomas, y la fotosíntesis continúa a una velocidad lenta. Como resultado, el carbono fotosintéticamente fijo, se desvía de la síntesis de proteínas a las vías para la síntesis de carbohidratos y lípidos. Una mayor deficiencia de nitrógeno puede causar varios cambios en las células, donde la limitación de nitrógeno podría activar el diacilglicerol aciltransferasa que convierte la acil-CoA en triglicérido (TAG). (Xin et al., 2010)

El nitrógeno se puede suministrar en forma de urea, nitrato y amoníaco. Entre todas las fuentes de nitrógeno, el nitrato se usa principalmente; sin embargo, la urea y el amoníaco también muestran un crecimiento similar de microalgas. Una combinación de urea y nitrato de sodio para el organismo *Desmodesmus* sp. mostró el mayor contenido de biomasa seca libre de cenizas con un rendimiento de 4,15 0,38 g/L. (Lin y Lin, 2011)

Además del consumo de urea por las microalgas, el átomo de carbono presente en la urea se libera como CO_2 y se utiliza como fuente de carbono en la fotosíntesis. (Neenan et al., 1986)

Además del nitrógeno, el fósforo es otro elemento importante para llevar a cabo muchos procesos celulares, como la transferencia de energía y la biosíntesis de ácido nucleico. Además del nitrógeno y el fósforo, el azufre, el potasio, el sodio, el hierro, el magnesio, el calcio y los oligoelementos como el magnesio, el zinc, el molibdeno, el cobalto y el vanadio también

son importantes para el crecimiento de microalgas.(Grobbelaar, 2004). El silicato adicional se usa como una fuente principal para algunos cultivos de microalgas (diatomeas) para su síntesis de la pared celular. Además de todo esto, algunas microalgas necesitan algunas vitaminas como la tiamina (B1), la cianocobalamina (B12) y, a veces, la biotina.

2.2.14. Luz

Al igual que las plantas, las microalgas requieren luz como fuente principal de energía para llevar a cabo la fijación de CO₂ en la materia orgánica en el proceso de fotosíntesis. Para una fotosíntesis adecuada, tres variables de luz son importantes, como la intensidad, la calidad espectral y el fotoperíodo (período claro/oscuro). (Lavens y Sorgeloos, 1996).

Por lo general, la mayor parte del problema en el cultivo de microalgas está relacionado con la intensidad de la luz, ya que la baja intensidad causa fotolimitación y la mayor intensidad causa fotoinhibición. La fuente de luz para el crecimiento de microalgas puede ser natural (luz solar) o artificial suministrada por tubos fluorescentes. El requerimiento de luz varía mucho con el crecimiento del cultivo (densidad) y el sistema de cultivo (profundidad). En general, a medida que las microalgas crecen y se reproducen, aumenta la densidad de biomasa. Como resultado, las microalgas distantes de la superficie están sombreadas por el cultivo de microalgas presente entre esta y la fuente de luz, recibiendo así una menor cantidad de luz. En este caso, la intensidad de la luz debe aumentarse para penetrar a través del cultivo (se necesitan 1,000 lux de luz para el matraz Erlenmeyer y 5,000–10,000 para un volumen mayor). Además, una intensidad de luz demasiado alta (que la necesaria) puede dar lugar a una fotoinhibición que provoca una disminución de los pigmentos fotosintéticos . (Adir et al., 2003)

Aunque el rango de radiación solar es muy amplio, las microalgas solo pueden usar radiación entre 400 y 700 nm. Esta parte del espectro solar se llama "radiación activa fotosintética" (PARS) y representa el 43% de la radiación solar. Las células de microalgas cultivadas en condiciones de luz

limitada asimilan el carbono hacia la síntesis de aminoácidos y otros constituyentes celulares esenciales, pero en condiciones de luz saturada, los azúcares y el almidón se forman a través de la vía reductora de fosfato de pentosa, lo que sugiere la dependencia de la composición de biomasa con la luz. (Harun et al., 2014)

Los tubos fluorescentes que emiten en el espectro de luz azul o roja pueden ser preferidos ya que son la porción más activa del espectro de luz para la fotosíntesis. Además, a diferencia de la intensidad de la luz, el fotoperíodo (ciclo claro / oscuro) juega un gran papel en el cultivo de microalgas. Esto se debe a que la división celular ocurre en condiciones oscuras para muchos cultivos fotosintéticos unicelulares, mientras que, para otros, la división celular ocurre tanto en la fase oscura como en la iluminada. Aunque el fotoperíodo varía de un organismo a otro, para aplicaciones industriales que relacionan la relación entre el costo de la energía y la producción de biomasa correspondiente, 12-15 h de iluminación se considera el periodo óptimo. (Harun et al., 2014)

2.2.15. Temperatura

La temperatura óptima para el cultivo de fitoplancton es generalmente entre 20°C y 24°C. Además, el rango de temperatura varía con la composición del medio de cultivo y el organismo cultivado. Las microalgas más comúnmente utilizadas toleran temperaturas entre 16°C y 27°C. La temperatura por debajo de la óptima no puede matar las microalgas, pero reduce la tasa de crecimiento, mientras que las altas temperaturas matarán a la mayoría de las microalgas. (Pellón et al., 2011)

2.2.16. Salinidad

La concentración total de sal depende principalmente del origen ecológico del organismo. Los cambios de salinidad normalmente afectan a las microalgas de tres maneras: estrés osmótico, estrés iónico y cambios en la concentración de iones celulares debido a la permeabilidad selectiva del ion a través de la membrana. Las microalgas marinas son extremadamente tolerantes a los cambios en la salinidad. La mayoría de los organismos

crecen mejor con una salinidad ligeramente inferior a la de su hábitat nativo. Se ha encontrado que las salinidades de 2.0 a 2.5% son óptimas para las microalgas. (Lavens y Sorgeloos, 1996)

2.2.17. pH

La mayoría de las microalgas crecen en el rango de pH de 7 a 9, mientras que el rango óptimo es de 8,2 a 8,7. A medida que crece el cultivo, el pH del medio de cultivo aumenta con el tiempo como resultado del consumo continuo de CO₂. Si el pH no se mantiene dentro del rango óptimo, puede provocar la interrupción de muchos procesos celulares, lo que lleva a la inhibición del crecimiento de la biomasa. El pH del cultivo en crecimiento se puede mantener ya sea mediante aireación simple o mediante la adición de CO₂ adicional. (Lavens y Sorgeloos 1996)

2.2.18. Aireación y mezcla

La mezcla continua del cultivo es esencial para la producción exitosa de biomasa de microalgas. La mezcla proporciona una distribución adecuada de nutrientes, luz, CO₂ disuelto, eliminación de O₂, mantenimiento del pH, gradiente de temperatura y evade la formación de sedimento de algas (Lavens y Sorgeloos 1996). Además, mejora el intercambio de gases entre el medio de cultivo y el aire. Al crecer las algas, el CO₂ disuelto en el cultivo se vuelve limitado. En este caso, la difusión del cultivo con CO₂ como microburbujas se puede llevar a cabo enriqueciendo la aireación (solo aire que contenga 0,03% de CO₂) o mezclando gas CO₂ puro con aire en caso la densidad de biomasa sea pesada (a una tasa del 1% del volumen de aire) para un crecimiento adecuado de microalgas. Este proceso no solo proporciona CO₂ para un mejor crecimiento, sino que también mantiene el pH mediante el equilibrio de CO₂/HCO₃ y proporciona una mejor mezcla del cultivo de algas. Dependiendo del volumen de cultivo, la mezcla se logra mediante el uso de agitador en biorreactores o agitador orbital fotosintético, pero para operaciones a gran escala como estanques de canalización, las ruedas de paletas son más adecuadas. Además, la mezcla de cultivos es específica de la especie. (Gouveia, 2011)

2.2.19. Producción de biomasa

En condiciones de crecimiento natural, las algas fotoautotróficas absorben la luz solar y asimilan el CO₂ del aire y los nutrientes de los hábitats acuáticos. Por lo tanto, cualquier producción artificial debería intentar replicar y mejorar las condiciones naturales óptimas. (Brennan y Owende, 2009)

La producción de microalgas se puede realizar en una variedad de sistemas, ya sea como cultivo puro o como consorcio con un mínimo de sofisticación y equipos. Comprender y aprovechar la biología de las cepas de algas seleccionadas para su uso en los sistemas de producción, es la base para procesar la materia prima en combustibles y productos. (Chisti, 2007)

2.2.20. Crecimiento de biomasa

Después de seleccionar la cepa de microalgas, es necesario desarrollar una gama de bioprocesos que hagan viable su comercialización. Por lo tanto, el diseño y la optimización de biorreactores para cultivar estos microorganismos, es un paso importante para transformar los hallazgos científicos en un producto comercializable. Desde un punto de vista comercial, un sistema de cultivo de microalgas debe tener tantas de las siguientes características como sea posible: alta productividad de área, alta productividad volumétrica, bajo costo (tanto en términos de costos de inversión como de mantenimiento), control simple de los parámetros de cultivo (temperatura, pH, CO₂, turbulencia), eficiencia energética y fiabilidad. (Olaizola, 2003)

Los métodos de cultivo adoptados para las microalgas son tradicionalmente en estanques abiertos, conocidos como estanques de alta velocidad o estanques de canalización, o en sistemas cerrados conocidos como fotobiorreactores. Para minimizar los costos, las algas a menudo se cultivan utilizando la luz solar como fuente de luz gratuita, aunque esta es variable con los cambios diarios, con los cambios estacionales y la cantidad de luz disponible. Cada sistema tiene sus propias ventajas y desventajas. (Olaizola, 2003)

2.2.21. Fotobiorreactores

Los fotobiorreactores son sistemas de cultivo que controlan casi todos los parámetros biotecnológicamente importantes. Presentan un riesgo reducido de contaminación y pérdidas de CO₂, además que en este sistema se puede contralar las condiciones de cultivo reproducibles, hidrodinámica, la temperatura y es un diseño técnico flexible. (Pulz, 2001)

Los avances recientes en el cultivo en masa de microalgas requieren sistemas cerrados, ya que deben cultivarse libres de contaminación. (Janssen et al., 2003; Tredici, 2004)

Los fotobiorreactores generalmente están hechos de vidrio/fibra/plástico con suficiente resistencia contra fallas. Reciben luz solar directa a través de las paredes transparentes del recipiente o indirectamente a través de fibras ligeras o tubos que la canalizan desde los colectores de luz solar. Algunos fotobiorreactores tienen fuentes de luz artificial. El suelo debajo del colector solar a menudo está pintado de blanco o cubierto con láminas de plástico blanco para aumentar la luz recibida por los tubos. La mezcla se logra a través de la circulación del cultivo o la inyección de gas a través del fluido de cultivo. Se han informado varios diseños de fotobiorreactores, pero el diseño básico en muchos de ellos es común. Las categorías principales incluyen **(1)** tubular (helicoidal, múltiple y serpentina), **(2)** placa plana (paneles alveolares y placas de vidrio), **(3)** columna (columnas de burbujas y puente aéreo) y **(4)** reactor de tanque agitado. Se ha realizado una gran cantidad de trabajo en la optimización de diferentes sistemas de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. (Chaumont, 1993; Janssen et al., 2003; Tredici 2004; Carvalho et al. 2006; Li et al. 2007; Aishvarya et al. 2012).

Un fotobiorreactor tiene entrada para alimentación fresca, salida para recirculación o cosecha y una columna para eliminación de gases y propósito de sedimentación. Los fotobiorreactores tubulares tienen tubos horizontales transparentes a la luz solar que encierran el cultivo, y el diámetro del tubo suele ser inferior a 0.1 m, ya que la penetración de la luz es difícil en tubos más grandes. (Chisti, 2007)

Las columnas de burbujas consisten en una columna larga conectada a un depósito, y el cultivo líquido y el gas circulan en la misma dirección o en direcciones opuestas. Como la superficie efectiva expuesta a la luz es menor en comparación con los reactores tubulares, las columnas de burbujas requieren iluminación artificial a lo largo de su longitud para una buena productividad. Debido a las limitaciones de diseño, solo los reactores tubulares (tipo serpentina) se han utilizado ampliamente a gran escala, lo que produce una energía razonable y una rentabilidad eficiente. (Chisti, 2007)

2.2.22. Tratamiento de efluentes y aguas residuales

Dado que la mayoría de los nutrientes que las algas necesitan a menudo se encuentran en los desechos, como nitrógeno, fósforo y amoníaco, la utilidad de las algas en el tratamiento de aguas residuales se ha convertido en una noción generalizada. El crecimiento exponencial de las algas bajo cargas ideales de nutrientes ha llevado a la idea de las algas como una herramienta de ficoremediación. (Olguin, 2003). Algunas especies de microalgas verdes unicelulares son particularmente tolerantes a las condiciones de efluentes de aguas residuales, especialmente las del género *Chlorella* y *Desmodesmus*. (Pittman et al., 2011). Se demostró que el crecimiento de microalgas en aguas residuales asentadas primarias aumenta significativamente en condiciones de fotoperíodo prolongado después de la adición de CO₂, mientras que el aumento de la temperatura disminuye la concentración de biomasa de algas. (Ip et al., 1982). Varias especies de *Chlorella* y *Desmodesmus* pueden proporcionar una eliminación muy alta (> 80%) y en muchos casos casi completa de amoníaco, nitrato y fosfato del agua residual tratada secundaria. (Ruiz-Marin et al., 2010). En los tratamientos a pequeña escala, las algas se pueden usar de manera efectiva en un estanque o tanque como configuración. Dado que el control de especies no es una prioridad en muchos casos de tratamiento, el consorcio puede funcionar mejor que una sola especie. Se ha utilizado un consorcio de algas para tratar las corrientes de desechos de las fábricas de alfombras y al mismo tiempo acumular lípidos con fines de combustible. (Chinnasamy et al., 2010)

Los metales pesados en los efluentes de desechos de las industrias de galvanoplastia, cerámica y plásticos que a menudo contaminan las fuentes de agua abiertas son tóxicos y se acumulan en la cadena alimentaria. El tratamiento biológico de tales aguas que contienen metales pesados es posible con microalgas mediante biosorción, bioacumulación, retención y desorción. (Chojnacka, 2010). La biosorción de metales pesados se ha estudiado en iones metálicos como Cr^{3+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , etc. (Jena et al., 2014)



CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de estudio corresponde a una investigación experimental por la manipulación de variables de interés (causa – efecto) y prospectiva longitudinal por las evaluaciones periódicas realizadas.

3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Para la ejecución del trabajo se utilizó material biológico, químico, equipos, entre otros, que a continuación se detalla:

3.2.1. Equipos:

- Bomba de Aire Hailea (3600 L h^{-1}).
- Centrífuga KERLAB
- Microscopio Binocular ZEISS
- Balanza analítica SARTORIUS
- Pipetas automáticas de $20 \mu\text{L}$, $200 \mu\text{L}$ y $1000 \mu\text{L}$ (Eppendorf).
- Agitador orbital
- PH- METRO HANNA
- Autoclave
- Estufa

3.2.2. Material de vidrio:

- Botellas de vidrio 100, 250, 500 y 1000 mL (Boeco).
- Pipetas de 2 y 10 mL (Kyntel).
- Vasos de precipitado de 500 mL (Kyntel).
- Pipeta de 1 mL (Boeco).

- Tubos de ensayo, 12x75 mL borosilicato (Giardino).
- Probeta de 250 mL (Kyntel).
- Probeta de 500 mL (Kyntel).
- Matraz de 1000 mL.
- Tubería de vidrio de 5 mm.
- Embudo de vidrio.
- Tubos de ensayo de 75x100 mL.
- Porta objetos y cubre objetos.

3.2.3. Material de campo

- Frascos de boca ancha de 500 ml.
- Recipiente estéril de 15 litros de volumen.
- Cooler
- pHchmetro
- Termómetro

3.2.4. Reactivos:

- Medio de Cultivo BG-11

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Colecta de muestras

Las empresas de curtiembres se ubican en el Parque Industrial de Río Seco, Distrito de Cerro Colorado en Arequipa (ver figura 1).

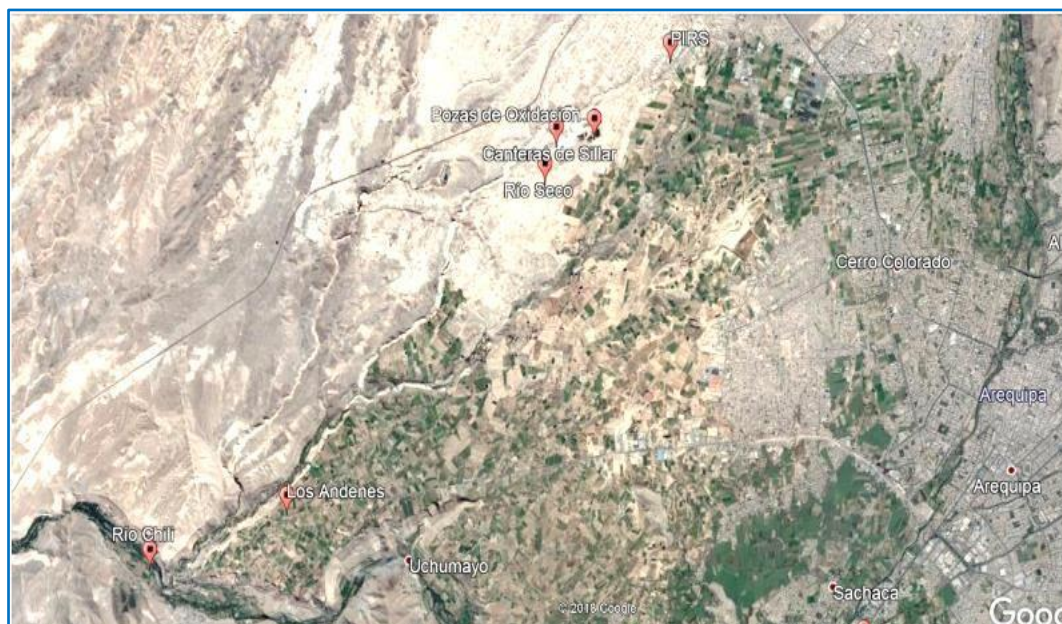


Figura 1. Localización del Parque Industrial de Río Seco, en donde se ubican las empresas de curtiembres y la laguna de oxidación (Se puede observar la cercanía de la laguna y las pozas de oxidación a poblados y zonas turísticas).

Las muestras de efluentes se obtuvieron de la laguna de oxidación del Parque Industrial de Río Seco. Las muestras fueron colectadas, en frascos de boca ancha de 500 ml y en un recipiente estéril de 15 litros de volumen. Las muestras de efluente de los frascos se utilizaron para aislar microalgas y el recipiente de 15 litros se usó para evaluar la bioabsorción a condiciones ambientales del fotobiorreactor. La toma de muestra se realizó directamente de la columna de agua y se registraron datos de temperatura, y pH. Los frascos con muestras fueron rotulados con anotaciones tales como; descripción del punto de muestreo, fecha y código de muestra, finalmente las muestras fueron transportadas hasta el laboratorio para realizar los aislados y para ensayos de bioabsorción.

3.3.2 Determinación de parámetros fisicoquímicos del efluente de la industria del curtido de pieles del Parque Industrial de Río Seco (PIRS).

Para la evaluación de los parámetros fisicoquímicos, se tomaron muestras de efluentes del PIRS. Estas muestras se tomaron usando frascos estériles debidamente rotulados. El análisis de Cromo VI en agua se realizó mediante el método Colorimétrico. (APHA, 2005)

La DBO se realizó mediante el método Yodométrico Azida Sodio (APHA, 2005). La DQO mediante el método Colorimétrico (APHA, 2005). Los Sólidos Totales en Suspensión (SST) y el pH mediante un multiparámetro. (HANNA Instruments). Las muestras fueron trasladadas a laboratorio debidamente refrigeradas (4°C), para evitar cualquier cambio fisicoquímico en el efluente antes de su análisis. (Rose y Dunn, 2013).

Las muestras fueron analizadas mediante servicio en un Laboratorio de análisis acreditado. Todos los parámetros fueron analizados siguiendo el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater USA APHA WDC 2005 19th ed. (APHA, 2005)

3.3.3 Aislamiento de la microalga *Desmodesmus quadricauda*

Para obtener un cultivo puro, se debe aislar una especie de todas las demás, para esto se usa diversas técnicas microbiológicas, a continuación, se describen los métodos usados para el aislamiento de la microalga *Desmodesmus quadricauda*.

3.3.4 Método de aislamiento por diluciones

Se preparó una batería de 6 tubos de ensayo conteniendo 9 ml de medio BG-11.

Usando una pipeta estéril, se tomó 1 ml de la muestra a aislar (microalgas), la cual se añadió al tubo N.º 1, se agitó y luego usando otra pipeta estéril, se repitió el paso anterior tomando 1ml de inóculo del tubo N.º 1 hacia el tubo N.º 2. Se repitió el mismo procedimiento con los tubos restantes hasta terminar con el tubo N.º.6, resultando diluciones a concentraciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} . Cada tubo se rotuló colocando su respectiva concentración (figura 2). Los tubos inoculados con las microalgas fueron colocadas y se dejaron crecer en cámara de cultivo a temperatura de 25°C y fotoperiodo de 12/12. Todo este procedimiento se llevó a cabo en condiciones asépticas utilizando cámara de flujo laminar.

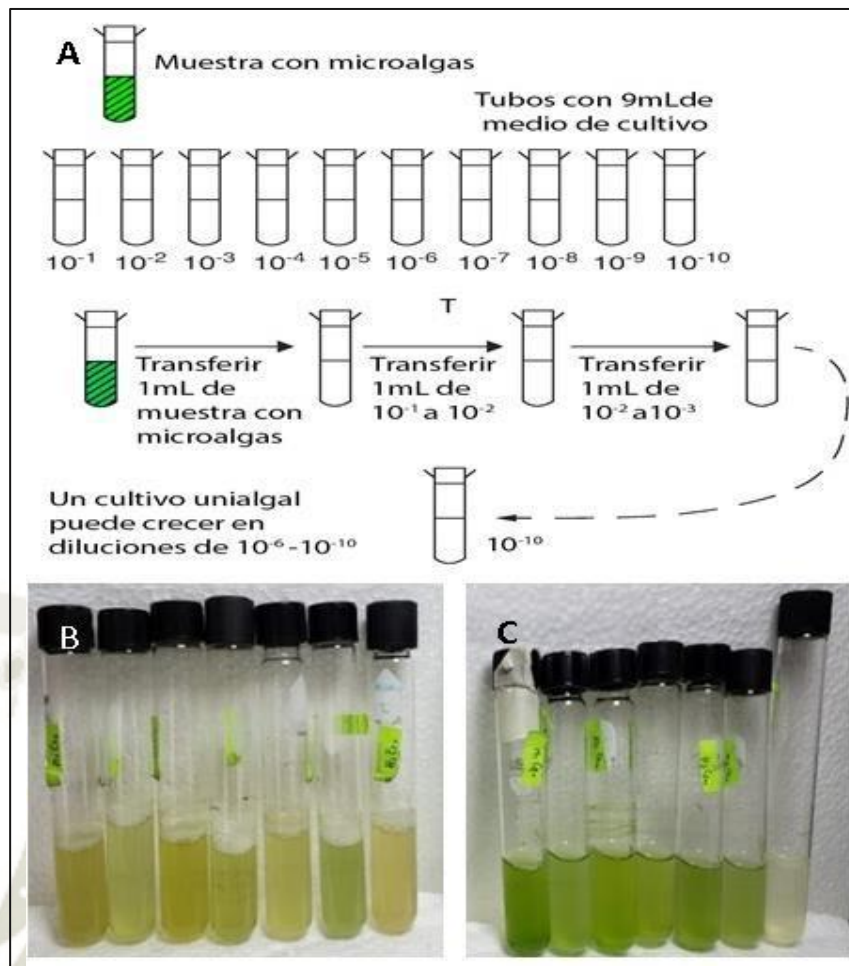


Figura 2. Método de aislamiento por dilución en tubos de ensayo

3.3.5 Método de aislamiento en placa

Se prepararon placas Petri con agar al 1% (placas de 9 x 15 mm) que contenían 20 ml de medio agarizado, usando medio de cultivo BG-11. Previo al aislamiento de las muestras de campo, se prepararon 4 tubos de ensayo conteniendo 9 ml de medio BG-11 y a cada uno de los tubos se agregó 1 ml de muestra de microalga, resultando diluciones a las concentraciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} .

De cada una de las diluciones se transfirió 10 microlitros a una placa con medio agarizado (BG-11) y mediante un asa de siembra se extendió uniformemente por toda la superficie mediante la técnica de estriado por agotamiento (figura 3). Las placas sembradas fueron colocadas en cámara de cultivo a temperatura de 25°C y fotoperiodo de 12/12. Todo este procedimiento se llevó a cabo en condiciones asépticas utilizando cámara

de flujo laminar. Las placas se verificaron semanalmente para observar el crecimiento y detectar posible contaminación). Las colonias que crecieron en las placas se distinguieron por el color verde. Cuando se observó crecimiento de colonias, se procedió a transferir a nuevas placas de agar mediante un asa de siembra estéril. Este procedimiento fue para purificar y seleccionar cada especie, obteniendo monocultivos en cada placa Petri.

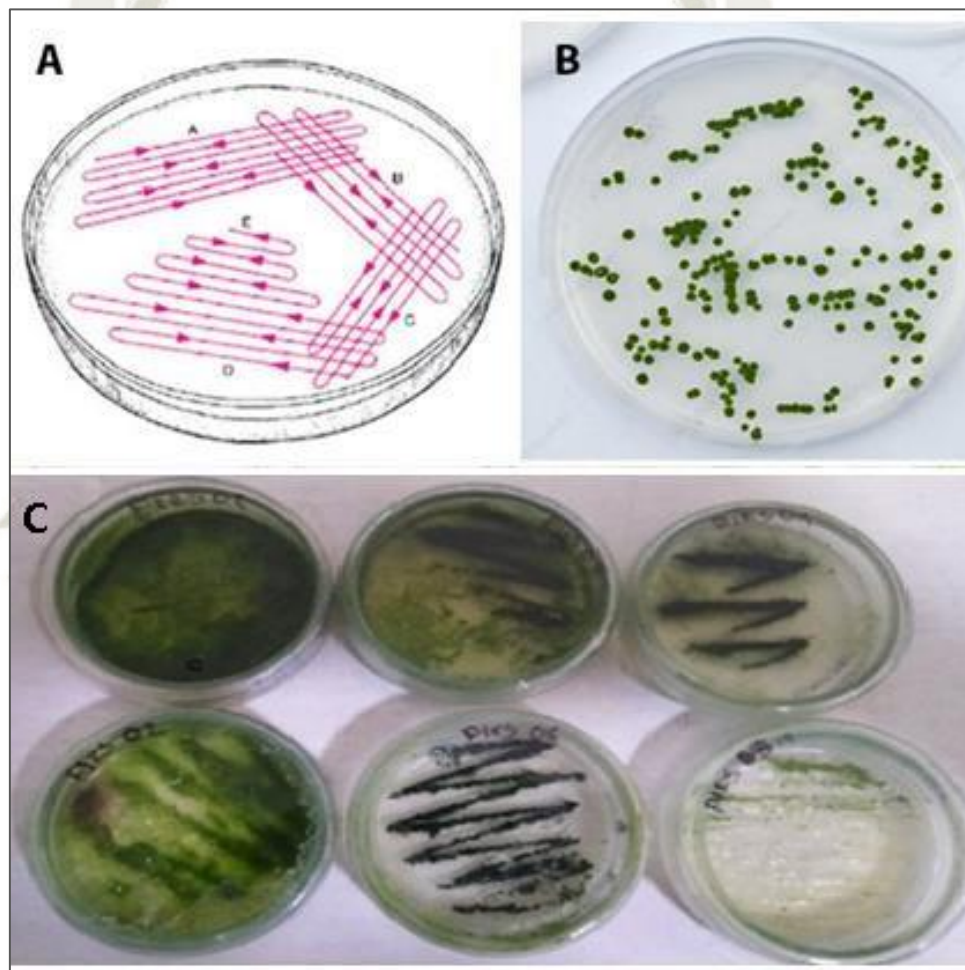


Figura 3. Método de aislamiento en placas con agar (tratamientos para el ensayo de tolerancia)

3.3.6 Cultivo de *Desmodemus quadricauda*

Luego de la purificación, cada colonia fue transferida a tubos de ensayo con tapa rosca, conteniendo 50 ml de medio BG-11. La transferencia se realizó usando un asa de siembra estéril. Los tubos inoculados se colocaron en una

cámara de cultivo a temperatura ambiente de 20-25 °C, aproximadamente a 2000 LUX) donde se dejó crecer durante aproximadamente 4 semanas. Los tubos en crecimiento se monitorearon tomando una muestra y observando mediante un microscopio de luz con un aumento de 40 y 100X. Después de cuatro semanas de crecimiento en tubo de ensayo, el cultivo se inoculó en 50 mL de medio de cultivo usando frascos de 100 mL. Se dejó crecer agitando con agitador orbital a 141 rpm (figura 4A).

3.3.7 Determinación de la tolerancia de *Desmodesmus quadricauda* a cromo VI.

La evaluación de tolerancia a Cromo VI por la microalga *Desmodesmus quadricauda* se realizó aplicando diferentes concentraciones de Cromo VI disueltos en el medio de cultivo usando Dicromato de potasio. Los tratamientos a condiciones de laboratorio se realizaron a 50,100 y 200 ppm de Cr VI y un control sin presencia de metal (0 ppm) cada uno en frascos de 100 ml (Tabla 4). Cada tratamiento se evaluó por triplicado. El volumen de trabajo fue 80 ml (30ml de inóculo de microalga y 50 ml de medio de cultivo conteniendo cromo VI. El tratamiento para cada ensayo tuvo tres repeticiones y la disposición de los tratamientos se realizó aleatoriamente. Los frascos con los tratamientos fueron agitados mediante un agitador orbital a 150 rpm (figura 4B).

Para evaluar la tolerancia se tomaron muestras periódicamente a los 0, 2, 4 y 6 días, y se cuantificó la densidad celular mediante recuentos en cámara de Neubauer y microscopio óptico a 10X. La metodología para evaluar la tolerancia se realizó por medida de crecimiento de la microalga, para lo cual se realizó recuento celular en cámara de Neubauer. En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de muestra de cada unidad experimental y se añadió 9 mL de agua destilada para obtener una dilución de 1:10. Para el recuento de cada muestra se tomó 10uL de la dilución y se contaron 4 campos y para establecer el recuento total, a la sumatoria de los campos se multiplico por 16 (total de campos) y por 10 por ser la dilución utilizada (Serrano B., et al., 2011). Adicionalmente se realizó la medida del peso seco de la microalga a los 0, 2, 4 y 6 días del ensayo de tolerancia. El peso seco se realizó

mediante filtración de la biomasa de microalga del medio líquido a condiciones de laboratorio y a condiciones ambientales de fotobiorreactor. Para la filtración de la microalga se utilizará filtros de membranas de nitrato de celulosa de 47 mm de diámetro y 0.45 μm de tamaño de poro. Se filtraron 10ml de muestra de cada tratamiento utilizando una bomba de vacío. Los filtros con las microalgas retenidas se secaron en estufa por 24 h a 80°C. El peso de la biomasa se realizó por diferencia de peso antes y después del secado.

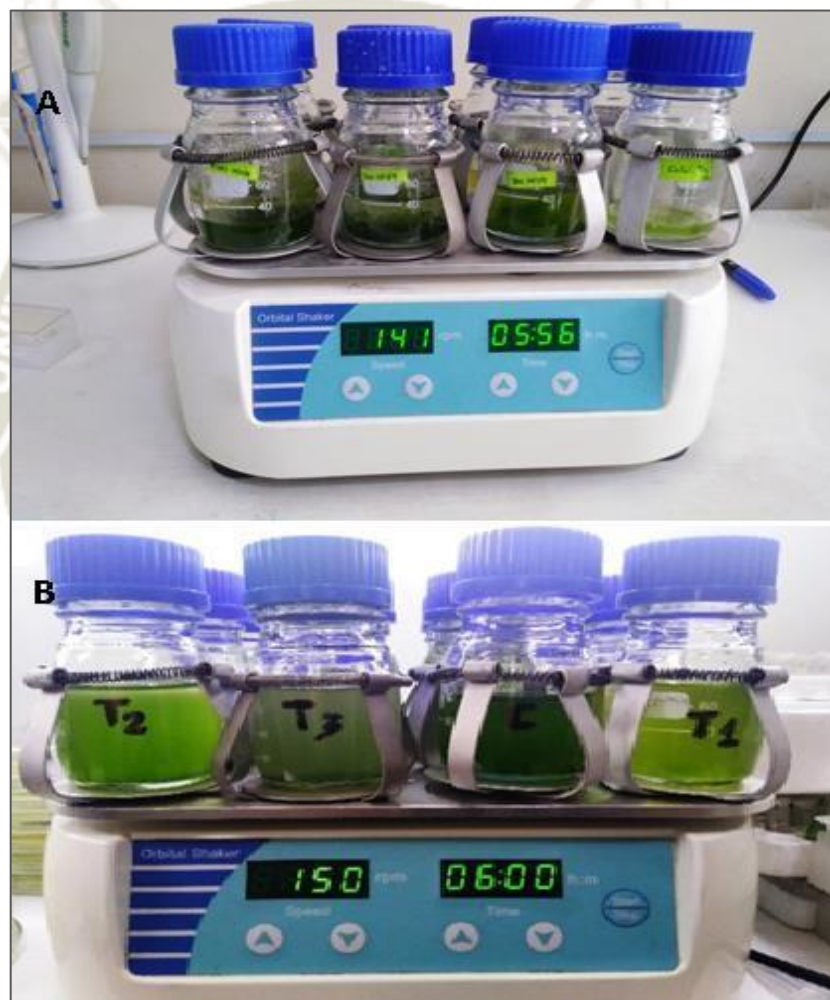


Figura 4. Ensayo de tolerancia de la microalga a diferentes concentraciones de Cromo VI (condiciones de laboratorio). Cada tratamiento se evaluó por triplicado

Tabla 4. Tratamientos para ensayos de tolerancia

Tolerancia en medio líquido en condiciones de laboratorio	Concentración de cromo VI
Biomasa de <i>Desmodesmus quadricauda</i>	0.0 ppm
	50 ppm
	100 ppm
	200 ppm

* Cada tratamiento se evaluó por triplicado

3.3.8. Diseño del fotobiorreactor Air-Lift para la bioabsorción de cromo VI con biomasa de la microalga *Desmodesmus quadricauda*.

Se diseñó un fotobiorreactor que fue construido de material acrílico transparente de 100 cm de longitud, 16 cm de diámetro interno, de 10L de capacidad y 8 litros de volumen de trabajo (figura 5). El fotobiorreactor presentó un puerto para la toma de muestras y para la medida del pH, además de un desgasificador para la salida del aire. El sistema de aireación estará conformado por un difusor de aire e impulsada con una bomba de aire modelo LP 100 MARCA BOYU con un flujo de 2L/ min. El fotobiorreactor fue cubierto con una lámina de plástico anti-UV y malla Rachel de 50% para evitar la excesiva radiación UV ocasionada por la exposición directa a la luz solar. El fotobiorreactor se cargó con un inóculo de 40% de *Desmodesmus quadricauda* (porcentaje del volumen de trabajo del fotobiorreactor) y 60% de efluente de curtiembre conteniendo cromo VI (figura 6 y 7). El ensayo de bioabsorción de cromo VI fue realizado usando efluente real de curtiembre (figura 8). El ensayo se realizó a diferentes tiempos de exposición de 0, 3, 6, 9 días (Tabla 5). La microalga *Desmodesmus quadricauda* fue suspendida en la columna del líquido en contacto con el efluente (agitada mediante difusor). Todo el sistema operó a condiciones ambientales (figura 9).

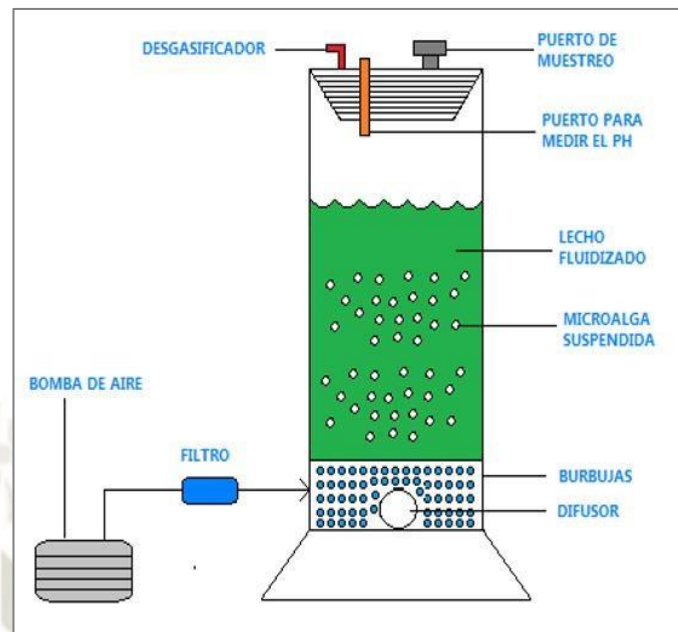


Figura 5. Sistema de fotobiorreactor para la bioabsorción de cromo VI.
(Fuente: Elaboración propia).



Figura 6. Inóculo de microalga para ensayos en fotobiorreactor.

Tabla 5. Ensayo de bioabsorción de cromo VI en efluente real de curtiembre, a diferentes tiempos de exposición, en fotobiorreactor (condiciones ambientales).

FACTOR	TRATAMIENTOS
Tiempo de exposición de la microalga al efluente de curtiembre en el fotobiorreactor	T0: 0 días
	T1: 3 días
	T2: 6 días
	T2: 9 días



Figura 7. Medio de cultivo e inoculación de la Biomasa



Figura 8. Inoculación con efluente de curtiembres.



Figura 9. Sistema de fotobiorreactor en funcionamiento

3.3.9. Determinación de la concentración residual y capacidad de bioabsorción de cromo

Para la determinación de cromo VI, DBO, DQO y SST, se tomaron muestras a los 0, 3, 6 y 9 días. Estas muestras fueron analizadas según el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater USA APHA WDC2005 19th ed (APHA, 2005).

La evaluación de la capacidad de bioabsorción de cromo VI se expresó en porcentaje, según la ecuación usada por Saavedra et al., (2018):

$$C = \left(\frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \times 100$$

Donde, C_i = concentración inicial de Cr (VI) (mg.L^{-1}); C_f = concentración final de Cr (VI) (mg.L^{-1}).

3.3.10. Análisis estadístico

El procesamiento de datos correspondientes a la densidad celular, peso seco y concentración residual de cromo VI en diferentes tiempos de evaluación, se realizó mediante la prueba de comparación múltiple de análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de especificidad de Tukey. Se registró también los promedios y estadísticas descriptivas por tratamiento. El análisis de datos se

realizó mediante el software estadístico SPSS versión 20, y las representaciones gráficas se efectuarán mediante el software GraphPad Prism 6.



CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 AISLAMIENTO Y CULTIVO DE MICROALGAS NATIVAS DE LA REGIÓN AREQUIPA.

Se aisló e identificó una especie de microalga denominada *Desmodesmus quadricauda*, la cual habita en las pozas de oxidación de aguas residuales de Río seco. *Desmodesmus quadricauda* es una especie de agua dulce (Hegewald y Braband, 2017). Presentan un cenobio (agrupación o colonia de células) con cuatro células y 4 espinas (de aquí proviene el nombre quadricauda) en las paredes laterales de las células externas e internas. Las células son de $15,6 - 21,6 \times 5,6 - 8,4 \mu\text{m}$ (promedio: $19,0 \pm 2,1 \times 7,2 \pm 0,9 \mu\text{m}$). La capa más externa de la pared celular entre los polos celulares a menudo es apenas visible. Rosetas más anchas que altas (aberturas en la capa exterior de la pared celular para la excreción de las espinas). Los miembros del género *Desmodesmus* son comunes en aguas eutróficas de todo el mundo (Hegewald y Braband, 2017).

Esta microalga mostró una buena adaptación a altas concentraciones de materia orgánica y de cromo VI persistentes en este ambiente. Azim et al., (2002) informaron que *Desmodesmus* sp es una microalga común en todo tipo de cuerpos de agua dulce, instalaciones de aguas residuales y agua contaminada con metales pesados, jugando un papel importante en la producción primaria y en la recuperación de aguas eutróficas. Se han realizado varios estudios en la cual se han aislado esta especie para tratamiento de aguas residuales, esto debido a su alto porcentaje de eliminación de nutrientes, altas tasas de crecimiento y tolerancia a diferentes tipos aguas residuales. (Ruiz-Marín et al., 2010; Zhang et al., 2008; Martínez et al., 2000). Esta característica se debe a que *Scenedesmus* presenta el fenómeno de plasticidad fenotípica en respuesta a la presencia de metales pesado como cobre, cadmio y cromo hexavalente. (Peña et al., 2004)

Segura et al., (2016) aislaron la microalga *Desmodesmus* sp. de aguas residuales de curtiembres y evaluaron su crecimiento en tres concentraciones diferentes de aguas residuales de curtiembres: 100%, 50% y 20% (V/V). Ellos

obtuvieron valores altos de biomasa en agua no diluida (100%), seguido de una dilución del 50%, y finalmente un crecimiento más bajo a la concentración del 20%. En su investigación no obtuvieron una fase estacionaria, lo que indica que los nutrientes del efluente residual permitieron el crecimiento durante los 15 días del experimento. Arunakumara y Zhang, (2008) mencionan que las bacterias presentes en el agua degradan la materia orgánica y recirculan los nutrientes, lo que puede prolongar la fase de crecimiento exponencial de las microalgas.

4.2 PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS.

Tabla 6. Valores de parámetros fisicoquímicos encontradas en los fluentes de curtiembres del Parque industrial Río Seco.

PARAMETROS	VALORES	ESTÁNDAR DE CALIDAD AMBIENTAL (ECA)
CROMO VI	29.60 mg/L	0.1 mg/L
DQO	1522.00 mg/L	40 mg/L
DBO	1183.00 mg/L	15 mg/L
SOLIDOS TOTALES DISUELTOS	1381 mg/L	500 mg/L
PH	9.40	6.5- 8.5

En la tabla 6 se muestra que la DBO residual de efluentes se redujo desde 1183.00 mg/L hasta 456.87 mg/L), representando una disminución porcentual de 38.61% a los 9 días de evaluación. La concentración de la DQO residual total se redujo desde 1522.00 (mg/L) hasta 740.00 mg/L), representando una disminución porcentual 48.62% a los 9 días de evaluación. Según los análisis de laboratorio los parámetros fisicoquímicos; cromo VI, DQO, DBO, sólidos suspendidos totales, y pH exceden los estándares de calidad Categoría 3: para riego de vegetales y bebidas de

animales. (D.S. N°004-2017 MINAM). Este resultado es posible que se deba a una mayor aireación constante por parte del sistema aplicado, ya que es una razón importante para la reducción de la DBO en el tratamiento; por lo tanto, la eliminación de la materia orgánica y los nutrientes de las aguas residuales es un aspecto importante del tratamiento biológico. La reducción de los valores de la DQO podría ser debido a la gran cantidad de nutrientes presentes en la forma de materia orgánica disuelta utilizado para el crecimiento de las microalgas. (Porwal, Mane y Velhal, 2014). La utilización de microalgas ha demostrado ser eficiente en la reducción de DBO y DQO. (Abdel-Raouf et al. 2012)

De los resultados obtenidos en esta investigación se vio que las empresas de curtiembres del Parque industrial de río Seco, presentan un mal manejo de sus efluentes. Según los análisis de los parámetros se verifica la presencia de un sitio contaminado con sustancias químicas (Criterios para la Gestión de Sitios Contaminados. (D.S. N°012-2017-MINAM). Los valores elevados de la DQO, DBO y sólidos totales disueltos están asociados principalmente a la presencia de la alta carga de materia orgánica tales como pelo, grasa y trozos de carne producto del proceso de descarte, los cuales es responsable 80% el proceso de pelambre. (Cerón, 2011).

El alto valor del pH está asociado al proceso de pelambre, donde se utilizan bases fuertes como cal y sulfuro de sodio, estas sales dan soluciones fuertemente alcalinas donde se llega hasta valores de pH de 12. Del 100% de los productos químicos empleados, sólo el 15% es retenido en el cuero mientras que el 85% se elimina en el efluente líquido. La principal causa de la presencia de cromo VI se debe a que la sal de dicromato se fija solo el "60 - 80% el resto se elimina en los efluentes líquidos aumentando su toxicidad por ser un metal pesado. (CPTS, 2006)

La demanda bioquímica de oxígeno es uno de los parámetros principales para evaluar las características de las aguas residuales. Segura et al., (2016), encontró que el efluente de curtiembres presentó un valor inicial de DBO de 17363 mg/ L, que se redujo a 2085 mg/L durante el tratamiento con *Scenedesmus* sp, lo que representa un porcentaje de eliminación del 88%, superior a lo informado en el trabajo de Ajayan et al., (2015). Aunque los

principales protagonistas en la degradación de la materia orgánica son las bacterias, existe evidencia de reducción de la DBO por microalgas (Muñoz y Guieysse 2006). Esto debido a que la fotosíntesis realizada por las microalgas genera cantidades significativas de oxígeno que pueden utilizar los organismos heterotróficos para la oxidación de material orgánico (Grobbelaar et al., 2008). Por otro lado, se sabe que ciertas microalgas tienen capacidad mixotrófica y pueden combinar su metabolismo fotoautotrófico con la absorción de materia orgánica disuelta como fuente adicional o complementaria de carbono para el crecimiento. (Grobbelaar et al., 2008)

4.3 TOLERANCIA DE *Desmodesmus quadricauda*

Tabla 7. Evaluación de la tolerancia medida a través de la densidad celular de *Desmodesmus quadricauda* a diferentes concentraciones de cromo VI.

CONCENTRACIÓN (PPM)	TIEMPO DE EVALUACIÓN					
	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$
50 ppm	42.64±32.50	60.67±26.50	90.00±9.00	158.00±2.00	172.00±13.00	140.00±2.00
100 ppm	42.66±2.52	54.67±1.53	66.67±14.50	94.00±56.00	110.00±37.00	102.67±16.50
200 ppm	42.67±32.50	48.67±96.50	56.67±31.50	72.67±35.50	94.67±11.50	80.00±9.00
Control	42.00±4.00	74.00±12.30	114.48±3.50	170.00±24.00	195.00±40.00	198.30±22.50

ANOVA						
F	21.238	5.502	46.670	6.010	0.016	23.850
P	0.002	0.044	0.000	0.037	0.984	0.001

* Todos los valores de crecimiento deben de multiplicarse por un factor de 10^5

La tabla 7, muestra los promedios y desviaciones estándar del ensayo de tolerancia, medida a través de la densidad celular de *Desmodesmus quadricauda* a diferentes concentraciones de cromo VI de 0, 50, 100 y 200 ppm. Se muestra que a los 5 días de tratamiento a concentración de 50ppm de cromo VI se alcanza una densidad de $140.00 \pm 2.00 \times 10^5$ cel. /mL, seguido de $102.67 \pm 16.50 \times 10^5$ cel. /mL a la concentración de 100ppm. El tratamiento a la concentración de 200ppm mostro menos densidad celular con $80.00 \pm 9.00 \times 10^5$ cel. /mL a los 5 días de evaluación.

También se muestra la prueba estadística de comparación de ANOVA, la que presentó un estadístico de Fisher $F=596.40$ que indica que existe diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en la concentración de cromo presente en los efluentes del PIRS en los diferentes tiempos de evaluación.

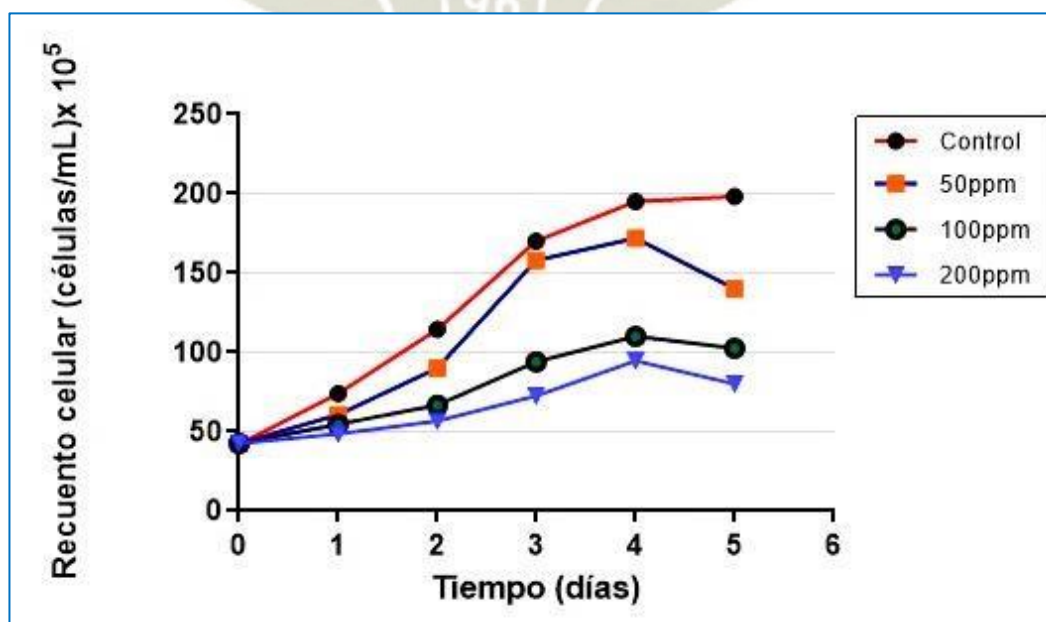


Figura 10. Medida de tolerancia mediante densidad celular de *Desmodesmus quadricauda* a diferentes concentraciones de cromo VI durante 5 días de tratamiento.

En la figura 10 se muestra que el tratamiento con 50 ppm de cromo VI presento mayor densidad celular, por tanto la microalga *Desmodesmus quadricauda* presentan mejor tolerancia a esta concentración de cromo VI. A concentraciones de 100 y 200 ppm la microalga muestra baja densidad celular comparada con el tratamiento a 50 ppm y el control. Se observa como la densidad celular va disminuyendo cuando la concentración de cromo aumenta.

Ali et al., (2018) encontró que la bioabsorción de Cromo VI aumento con mayor biomasa de las algas (*Cladophora glomerata*, *Enteromorpha intestinalis* y *Microspora amoena*) de hasta 1,0 g/100 ml y, posteriormente, disminuyó con un aumento adicional de la concentración. El aumento probablemente se atribuya a la disponibilidad de más biomasa y, en consecuencia, a una mayor disponibilidad de la superficie para la bioabsorción de iones metálicos.

Varios estudios demuestran que la progenie de ciertas algas sometidas al tratamiento prolongado con Cromo adquiere tolerancia al metal, ya que puede sobrevivir y crecer en presencia de concentraciones que serían letales para las células normales. Por otro lado, la microalga usada en este estudio podría desempeñar el papel de remoción de cromo a las concentraciones óptimas evaluadas. (Aoyama, 2003)

Tabla 8. Evaluación de la tolerancia medida a través de peso seco *Desmodesmus quadricauda* a diferentes concentraciones de cromo VI.

CONCENTRACIÓN (PPM)	TIEMPO DE EVALUACIÓN mg /mL					
	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5

	$X \pm S$	$X \pm S$	$X \pm S$	$X \pm S$	$X \pm S$	$X \pm S$
50 ppm	0.48±8.00	0.60±16.50	0.98±3.51	1.67±26.00	1.72±42.00	1.42.±23.50
100 ppm	0.40±7.00	0.56±27.00	0.67±73.50	0.94±59.00	1.10±42.00	1.04±0.58
200 ppm	0.42±29.51	0.46±28.00	0.56±2.00	0.70±21.50	0.90±18.50	0.80±47.00
Control	0.44±6.00	0.70±12.50	1.40±3.40	1.70±28.00	1.90±40.00	1.92±23.50
ANOVA						
F	15.025	29.216	10.689	6.292	0.100	10.505
P	0.005	0.001	0.011	0.034	0.907	0.011

La tabla 8, muestran los promedios y desviaciones estándar del ensayo de tolerancia medida a través de peso seco de *Desmodemus quadricauda* a diferentes concentraciones de cromo VI de 0, 50, 100 y 200 ppm. Se muestra que a los 5 días de tratamiento a la concentración de 50ppm de cromo VI se alcanza un peso seco de 1.42.±23.50 mg/mL, seguido de 1.04±0.58mg/mL a la concentración de 100ppm. El tratamiento a la concentración de 200ppm mostro un valor menor en el peso seco con 0.80±47.00 mg/mL a los 5 días de evaluación. También se muestra la prueba estadística de comparación de ANOVA, la que presentó un

estadístico de Fisher $F=596.40$ que indica que existe diferencias altamente significativas ($P<0.01$) en la concentración de cromo presente en los efluentes del PIRS en los diferentes tiempos de evaluación.

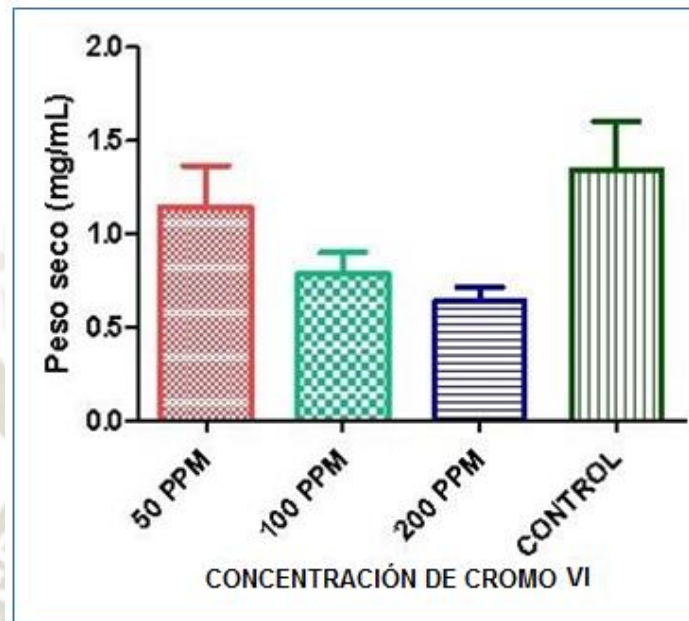


Figura 11. En este gráfico de barras podemos observar la adaptación y tolerancia evaluada mediante peso seco de *Desmodesmus quadricauda* a diferentes concentraciones de cromo VI durante 5 días de tratamiento.

En la figura 11 se evidencia que el tratamiento a 50 ppm de cromo VI presentó mayor crecimiento, por tanto la microalga *Desmodesmus quadricauda* presenta mejor tolerancia a esta concentración de cromo VI. A concentraciones de 100 y 200 ppm la microalga muestra baja densidad celular comparada con el tratamiento a 50 ppm y el control. Se puede evidenciar que la tolerancia evaluada mediante peso seco tiene el mismo comportamiento que la tolerancia medida por crecimiento mediante el recuento.

El cromo es un contaminante común en las aguas naturales debido a la descarga de diversas aguas residuales industriales. (Ai et al., 2008, Boddu et al., 2003 y Mak y Lo, 2011).

Estudios previos han demostrado que la toxicidad de Cr (VI) en las algas verdes producen daño al sistema de enzimas antioxidantes. (Rai et al.,

2014) y a la fotosíntesis (Giotta et al., 2006 y Hörcsik et al., 2007). En el presente estudio la microalga *Desmodesmus quadricauda* mostró una tolerancia al cromo, hasta el valor de 200 ppm de cromo VI. Esto muestra que las altas concentraciones de cromo disminuyeron el crecimiento, pero no tuvo gran efecto sobre la viabilidad en *Desmodesmus quadricauda*. Se alcanzaron valores de absorción de hasta 18.60 mg/L, y no se evidenció daños celulares en *Desmodesmus quadricauda*. Una de las causas de la alta capacidad de tolerar cromo VI por *Desmodesmus quadricauda* es que esta microalga habita en ambientes con alta concentración de cromo VI de hasta 29.60 mg/L como es el caso de los pozos de oxidación del Parque Industrial Rio Seco. En los ensayos de tolerancia se encontraron resultados comparables con los reportados por Ajayan et al., (2015) quienes encontraron un mayor crecimiento a menores concentraciones de cromo, esto lo consiguieron realizando diluciones de agua de curtiembres. Del mismo modo, Balaji et al., (2014) encontró un efecto de la concentración de varios metales pesados en el efluente de la curtiembres, como cromo, plomo y cadmio, sobre el crecimiento de la microalga *Spirulina*, donde lograron demostrar que los metales en altas concentraciones inhiben el aumento de biomasa.

4.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN RESIDUAL Y CAPACIDAD DE BIOABSORCIÓN DE CROMO VI EN EFLUENTES INDUSTRIALES DEL PIRS, TRATADOS MEDIANTE CON *Desmodesmus quadricauda*.

Tabla 9. Concentración residual de cromo VI de efluentes del Parque Industrial de Rio Seco según tiempo de evaluación en fotobioreactor AirLift

EVALUACIÓN	CONCENTRACIÓN $\bar{x} \pm S$ (mg/L)	F	SIGNIFICANCIA P
0 DÍAS (EFLUENTE)	29.60 ± 1.48	596.40	0.000...
3 DÍAS	26.00 ± 1.36		(P < 0.01)

6 DÍAS	7.40 ± 1.16	A.S.
9 DÍAS	1.70 ± 0.17	

La tabla 9, muestran los promedios y desviaciones estándar de la concentración residual de cromo VI presente en el efluente del PIRS al inicio y cada 3 días de evaluación después de ser sometido a tratamiento en un fotobioreactor Air-lift, siendo la concentración inicial de Cr (VI) en el efluente de 29.60 ± 0.94 (mg/L), y a los 9 días se presentó una concentración de 1.70 ± 0.17 (mg/L) de cromo VI. También se muestra la prueba estadística de comparación de ANOVA, la que presentó un estadístico de Fisher $F=596.40$ que indica que existe diferencias altamente significativas ($P<0.01$) en la concentración de cromo presente en los efluentes del PIRS en los diferentes tiempos de evaluación. Ali et al., (2018) obtuvo valores más bajos en la remoción de Cromo VI, con valores de 55,01, 54,58 y 43,1% de Cr VI utilizando biomasa de *C. glomerata*, *M. amoena* y *E. intestinalis* respectivamente. Estos autores encontraron una eliminación más alta a la concentración de 10 mg/ml, Los experimentos de biosorción se realizaron en matraces Erlenmeyer de 250 ml.

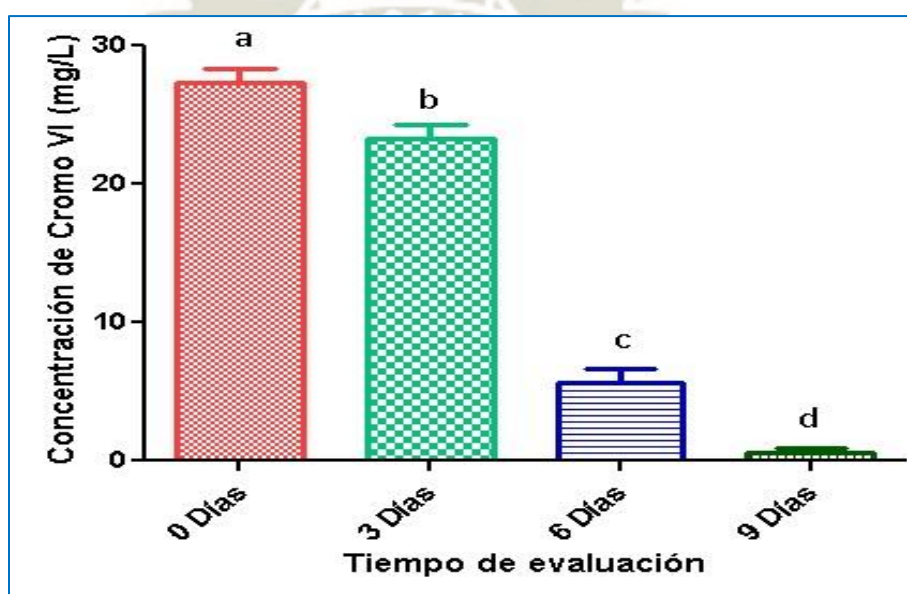


Figura 12. Variación de la concentración de cromo VI de efluentes del Parque Industrial de Río Seco según tiempo de evaluación en fotobiorreactor Air-Lift.

La figura 12, muestran la variación de la concentración residual de cromo VI presente en el efluente del PIRS al inicio y cada 3 días de evaluación después de ser sometido a tratamiento en un fotobiorreactor Air-lift, siendo la concentración inicial de Cr VI en el efluente de 29.60 ± 0.94 (mg/L), y a los 9 días se presentó una concentración de 1.70 ± 0.17 (mg/L) de cromo Cr VI. En la figura 6 también se observa que en el día 0 se presentó mayor concentración de Cr VI con 29.60mg/L (a), mientras que la evaluación a los 9 días presentó la menor concentración de Cr VI con 1.70 mg/L (d). La presente cepa mostro una mejor bioabsorción de cromo hexavalente en comparación con otros sistemas de microalgas reportados por Gupta et al., (2001) y Arica et al., (2005) con las microalgas *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis* sp., *Spirogyra* sp. y *C. crispata* donde se alcanzó una absorción máxima de Cr (VI) de 18,0, 34,0, 39,0, 15,0 y 40,0 mg / g, respectivamente. Douglas et al., (2008) encontraron que *Spirogyra condensata* y *Rhizoclonium hieroglyphicum* removieron el Cromo del efluente de curtiembres. *S. condensata* exhibió una bioabsorción máxima de aproximadamente 14 mg de Cr /g de biomasa mientras que *R. hieroglyphicum* 11.81 mg de Cr (III) / g de biomasa.

Tabla 10. Demanda Química de Oxígeno (DQO) en efluentes del Parque Industrial de Río Seco según tiempo de evaluación en fotobiorreactor Air-Lift.

EVALUACIÓN	CONCENTRACIÓN $\bar{x} \pm S$ (mg/L)	F	SIGNIFICANCIA P
0 DÍAS (EFLUENTE)	1522.00 \pm 20.78	14.13	0.000...
3 DÍAS	1210.00 \pm 19.08		(P < 0.01)

6 DÍAS	1006.00 ± 19.29		A.S.
9 DÍAS	740.00 ± 26.46		

La tabla 10, muestran los promedios y desviaciones estándar de la Demanda Química de Oxígeno DQO presente en el efluente del PIRS al inicio y cada 3 días de evaluación después de ser sometido a tratamiento en un fotobiorreactor tubular Air-Lift, siendo la concentración inicial del efluente 1522.00 ± 20.78 (mg/L), y a los 9 días se presentó una concentración de 740.00 ± 26.46 de DQO. También se muestra la prueba estadística de comparación de ANOVA, la que presentó un estadístico de Fhiser F=14.13 que indica que existe diferencias altamente significativas (P<0.01) en la Demanda Química de Oxígeno DQO de los efluentes del PIRS en los diferentes tiempos de evaluación.

Tabla 11. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) en efluentes del Parque Industrial de Rio Seco según tiempo de evaluación en fotobiorreactor Air-Lift.

EVALUACIÓN	CONCENTRACIÓN $\bar{x} \pm S$ (mg/L)	F	SIGNIFICANCIA P
0 DÍAS (EFLUENTE)	1183.00 ± 9.17	138.41	0.000...
3 DÍAS	997 ± 9.54		(P< 0.01)
6 DÍAS	694.50 ± 6.26		A.S.
9 DÍAS	456.87 ± 5.67		

La tabla 11, muestran los promedios y desviaciones estándar de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) presente en el efluente del PIRS al inicio y cada 3 días de evaluación después de ser sometido a tratamiento en un fotobiorreactor tubular Air-Lift, siendo la concentración inicial del efluente 1183.00 ± 9.17 (mg/L), y a los 9 días se presentó una concentración de

456.87 ± 5.67 (mg/L) de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO). También se muestra la prueba estadística de comparación de ANOVA, la que presentó un estadístico de Fisher F=138.41 que indica que existe diferencias altamente significativas (P<0.01) en la Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO de los efluentes del PIRS en los diferentes tiempos de evaluación.

Tabla 12. Concentración residual y porcentaje de bioabsorción de cromo VI en efluentes del Parque Industrial de Rio Seco según tiempo de evaluación en fotobiorreactor Air-Lift.

EVALUACIÓN	CONCENTRACIÓN RESIDUAL DE Cr VI $\bar{x} \pm S$ (mg/L)	BIOABSORCIÓN DE Cr VI $\bar{x} \pm S$ (mg/L)	BIOABSORCIÓN DE Cr VI (%)
0 DÍAS (EFLUENTE)	29.60	0.00	0.00
3 DÍAS	26.00	3.60	12.16
6 DÍAS	7.40	18.60	62.83
9 DÍAS	1.70	5.70	19.25
		Total	94.24

La tabla 12, muestra los promedios de la concentración de cromo presente en efluentes del PIRS al inicio y cada 3 días de evaluación después de ser sometido a tratamiento en fotobiorreactor Air-litf, siendo la concentración inicial de Cromo VI en el efluente de 29.60 mg/L, el cual a los 9 días presentó una concentración de 1.70 mg/L, representando un porcentaje de bioabsorción de 94.24 % de cromo VI en el efluentes del PIRS por efecto del tratamiento en fotobiorreactor. Según Ali et al., (2018) encontró que el aumento de las concentraciones de Cromo por encima de 20 mg/L da como resultado una disminución gradual en el porcentaje de eliminación. Esto puede deberse a la saturación de los sitios de unión (Kiran et al., 2007, Al-

Homaidan et al., 2014; Al-Homaidan et al., 2015 y Al-Homaidan et al., 2016). La máxima concentración residual de Cromo VI se presentó a los 6 días de evaluación presentando una concentración de 7.40 mg/L y 62.83% de bioabsorción. Estudios llevados a cabo por Gupta et al., (2001) y Pagnanelli et al., (2013), muestran una eficacia mayor de la reducción de Cr VI obteniendo una tasa de reducción de Cr (VI) de 95% a través de cloroplastos extraídos de *C. vulgaris* en comparación a la de utilizar algas directamente, lo que infiere que los cloroplasto puede ser uno de los organelos clave para la reducción de Cr VI. En otro estudio por Husien et al., (2019) removieron el Cr VI de una solución acuosa utilizando biomasa de las algas pardas marinas *Sargassum dentifolium*. Los resultados alcanzaron una máxima eficiencia del 99,68% aplicando 1,5 g /100 / ml de biomasa.

En la presente investigación el experimento de bioabsorción se realizó en un fotobiorreactor Arlift, esto posiblemente se deba a la agitación continua. Esto puede atribuirse a que la agitación mejora la superficie del área de contacto, aumentando la propagación y penetración de iones de cromo dentro de los poros de las microalgas, lo que lleva a una mayor bioabsorción de Cromo (Rajasimman y Murugaiyan, 2010).

La eficiencia de remoción también podría haber diferido porque las especies de algas y microalgas probablemente tienen diferentes tipos y cantidades de grupos funcionales activos disponibles para la bioabsorción en sus paredes celulares. (Ali et al 2018)

Bala et al., (2007) obtuvieron resultados similares alcanzando una reducción de 90.1% de Cromo VI en experimentos en matraces de 250 ml usando 0,1 g/100 ml de biomasa de *Lyngbya putealis* con agitación a 120 rpm y concentración máxima de Cr VI de 100 mg/l.

Jácome et al., (2009) realizó estudios de eliminación de Cr VI por *Scenedesmus* sp. en fotobiorreactor, el cual estuvo alimentado continuamente con efluente sintético conteniendo 1.0 mg de Cr/L VI. Este tratamiento disminuyó el contenido de pigmentos fotosintéticos y alteró la morfología celular, pero la ganancia de peso seco no se vio afectada. La eficiencia de eliminación de Cr VI fue de 43.5 % y la absorción de Cr (VI) fue de 1.7 mg Cr VI. El sistema alcanzó una tasa de extracción de metal

específica de 458 μg de Cr VI, y una tasa de extracción volumétrica de 132 μg Cr VI L-1d-1.

El efluente de curtiembres además de la presencia de metales pesados presentaba cantidades considerables de nitratos y fosfatos, ambos utilizables por las microalgas, lo que permite su crecimiento. Las características de las aguas residuales industriales y su efecto sobre el crecimiento de microorganismos son ampliamente reconocidos y han llevado a muchos a examinar su potencial como sustratos alternativos para producir biomasa, con el objetivo de reducir los costos de producción para procesos biotecnológicos como producción de biogás y bioetanol. (Raouf, Al-Homaidan 2012).

Algunas especies de microalgas, pueden crecer naturalmente en agua contaminada por metales pesados debido a su tolerancia al estrés por metales pesados (Balaji et al., 2016). Las especies de microalgas tienen múltiples estrategias de mecanismos de autoprotección únicos contra la toxicidad de los metales pesados, como la inmovilización de metales pesados, la regulación de genes, la exclusión y la quelación, así como los antioxidantes o enzimas reductoras que reducen los metales pesados mediante reacciones redox (Gómez-Jacinto et al., 2015). Las microalgas pueden formar complejos celulares de proteínas y metales pesados sin cambiar su propia actividad (Priatni et al., 2017). Los complejos organometálicos se separan en el interior de las vacuolas para ayudar a regular la concentración de iones de metales pesados en el citoplasma, lo que posteriormente mitiga sus efectos tóxicos (Balaji et al., 2016b). Además, los metales pesados activan la biosíntesis de las fitoquelatinas (PC) que son péptidos y proteínas ricos en tiol que minimizan el estrés por metales pesados al interactuar con ellos (Gómez-Jacinto et al., 2015). Para contrarrestar los radicales libres liberados por los metales pesados durante la adsorción, las microalgas sintetizan enzimas antioxidantes como la ascorbato peroxidasa, catalasa, glutatión reductasa, peroxidasa y superóxido dismutasa (SOD), así como antioxidantes no enzimáticos como carotenoides, cisteína, ácido ascórbico (ASC), glutatión (GSH) y prolina (Upadhyay et al., 2016). La SOD actúa como la primera línea de defensa

contra el anión superóxido al descomponerlo en moléculas de oxígeno y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno se degrada aún más por la catalasa en moléculas de agua y oxígeno (Balaji et al., 2016b). La cisteína actúa indirectamente o directamente como precursor de PC, GSH, metalotioneínas y otros compuestos que contienen azufre, por lo que sirve como indicador para la síntesis de diferentes antioxidantes. GSH y ASC son importantes antioxidantes endógenos sintetizados por microalgas y juegan un papel clave en la reducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales libres (Devars et al., 2000). Además de mantener el equilibrio de la producción y eliminación de ROS, ASC protege las células de microalgas regulando la actividad enzimática que contiene metales y la vía del ácido ascórbico-glutión (ASC-GSH), así como manteniendo la disipación del exceso de energía de excitación y eliminando ROS. Además, las microalgas secretan un alto nivel de ASC como tampón redox hidrófilo que es responsable de la protección del citosol y otros componentes celulares contra las amenazas oxidativas.

Por otro lado, un alto nivel de GSH protege a las microalgas proporcionando tolerancia, eliminando los radicales libres, facilitando la síntesis de PC y ASC, así como la restauración del sustrato para otros antioxidantes (GómezJacinto et al., 2015; Upadhyay et al., 2016). La eliminación de metales pesados por microalgas se logra mediante un mecanismo de dos etapas. La primera etapa es la adsorción pasiva extracelular rápida (biosorción), mientras que la segunda etapa es la difusión y acumulación positivas intracelulares lentas (bioacumulación). Además de las sustancias poliméricas celulares como péptidos y exopolisacáridos con grupos urónicos, la pared celular de las microalgas está compuesta principalmente por polisacáridos (celulosa y alginato), lípidos y proteínas orgánicas, proporciona muchos grupos funcionales (como amino, carboxilo, hidroxilo, imidazol, fosfato, sulfonato, tiol y otros) capaces de unirse a metales pesados (Priatni et al., 2017). Además, tiene una gran cantidad de alcoholes monoméricos, laminaran, sulfato desprotonado y grupos carboxilo que atraen tanto especies aniónicas como catiónicas de diferentes metales pesados. La biomasa de microalgas también tiene diferentes grupos funcionales, como

amida, carbonilo, ácido carboxílico, éter e hidroxilos que contribuyen a la bioabsorción (Pradhan et al., 2019).

Se han propuesto varios mecanismos para la reducción y eliminación de Cr (VI) por microalgas, dependiendo de las propiedades de unión de los grupos funcionales y la naturaleza de las condiciones de operación. Se ha informado que la bioabsorción de Cr (VI) en las sustancias poliméricas extracelulares es el principal mecanismo que contribuye a la biorremediación del cromo por las microalgas (Hedayatkhan et al., 2018). Los orgánulos, gránulos y péptidos y proteínas citosólicos termoestables acumulan la mayor parte del Cr (VI) dentro de las células de microalgas (Aharchaou et al., 2017). Además de la adsorción extracelular y la acumulación intracelular de Cr (VI), la cromo reductasa enzimática también es responsable de la eliminación de los iones de metales pesados (Lee et al., 2017; Yen et al., 2017). Además, el Cr (VI) también interactúa con el donante de electrones de los agentes reductores (como el grupo hidroxilo y los grupos alcohol secundario) en la superficie de la biomasa y se reduce a Cr (III), que posteriormente se une al grupo funcional cargado negativamente (tales como grupo sulfonato y grupo carboxilo).

Muchas especies de microalgas pueden tolerar y acumular altas concentraciones de Cr (VI). *Chlorella sorokiniana* puede tolerar hasta 100 ppm de Cr (VI) durante tres días y logró una eficiencia de eliminación de hasta 99,7% después de 24 h de tiempo de contacto (Husien et al., 2019). *Navicula subminuscula* puede tolerar altas concentraciones de Cr (VI) hasta 10 mg / L y 4 mg 18 respectivamente, en condiciones de laboratorio y agua que contiene cromo natural. Las microalgas pueden eliminar casi por completo el metal pesado hasta en un 98% en cultivos que contienen 20 mg / L de Cr (VI) (Cherifi et al., 2016). *Phaeodactylum tricornutum* y *Navicula pelliculosa* pueden tolerar Cr (VI) hasta 1 mg / L. *Pediastrum duplex* pueden tolerar Cr (VI) hasta 1.936 y 0.224 g / L, respectivamente, y el primero tiene una eficiencia de eliminación de Cr del 71% (Dao et al., 2018). Cuatro microalgas presentaron diferente tolerancia cuando se cultivaron con Cr (VI) en el siguiente orden; *Lyngbya* sp. > *Chlorella* sp. > *Scenedesmus dimorphus* > *Oscillatoria* sp. (Nath et al., 2017). Además, *Scenedesmus acutus* y *Chlorella vulgaris* pueden tolerar Cr (VI) hasta 15 y 45 mg / L,

respectivamente (Travieso et al., 1999). Para la eliminación de Cr (VI) utilizando *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Phormidium* y *Spirogyra* sp. Los grupos funcionales responsables de la unión de iones metálicos en la pared celular de las microalgas fueron los grupos carboxilato, éster e hidroxilo (Balaji et al., 2016). Jacome-Pilco y sus colegas han estudiado la eliminación de Cr (VI) en un sistema de cultivo continuo utilizando *Desmodesmus incrassatulus* cultivado en un fotobiorreactor Air-lift. El cultivo alcanzó un estado estable después de 14 días; La eficiencia de absorción y remoción de Cr (VI) lograda fue de 1,7 mg / g y 43,5%, respectivamente (Jácome-Pilco et al., 2009). Shen y colaboradores han estudiado el potencial de eliminación de Cr (VI) de tres cepas de microalgas heterotróficas, a saber, *Botryococcus* sp. , *Scenedesmus* sp. y *Chlorella* sp. y la cepa NJD-1 mostraron una mayor tolerancia a Cr (VI) en comparación con las otras dos cepas. Cultivando al 3% v / v de acetato de sodio y 5 mg / L de Cr (VI), las microalgas lograron una eficiencia de eliminación del 94,2%, 66,9%, 99,2% y 98,2% de Cr (VI), NO₃, PO₄ y carbono orgánico tota respectivamente (Shen et al., 2019). Los grupos funcionales como -OH, -NH, CH alifático, amino, carboxilo y grupos alcohol secundario participan como donantes de electrones en la reducción de Cr (VI) a Cr (III) hasta un 87,2% (Shen et al., 2019). Por otro lado, la literatura ha reportado la utilización de biomasa muerta de microalgas como biosorbente para la remoción de Cr (III) y Cr (VI), donde *S. platensis* demostró una eficiencia de eliminación satisfactoria > 80% para Cr (VI) hasta 25 mg/L con biomasa de 2-4 g/L (Finocchio et al., 2010). La eliminación de Cr (VI) también puede explicarse por un mecanismo de reducción acoplado por adsorción en el que el Cr (VI) se elimina por reducción directa del donante de electrones de biomasa (Park et al., 2007). Los grupos funcionales tales como aldehídos, cadenas de alquilo, amida, amina, alcoholes/fenoles, carboxílico, éster, compuestos de haluro orgánico, fosfato, sulfóxido y cadenas orgánicas alifáticas de celulosa se identificaron como grupos funcionales para la biosorción de cromo (Kit et al., 2020).

CONCLUSIONES

PRIMERA: Se logró cuantificar valores altos en los parámetros fisicoquímicos de los efluentes del PIRS. Los valores fueron: Cromo VI, 29.60 mg/L; DQO, 1522.00 mg/L; DBO, 1183.00 mg/L; Solidos totales disueltos 1381 mg/l y pH 9.40.

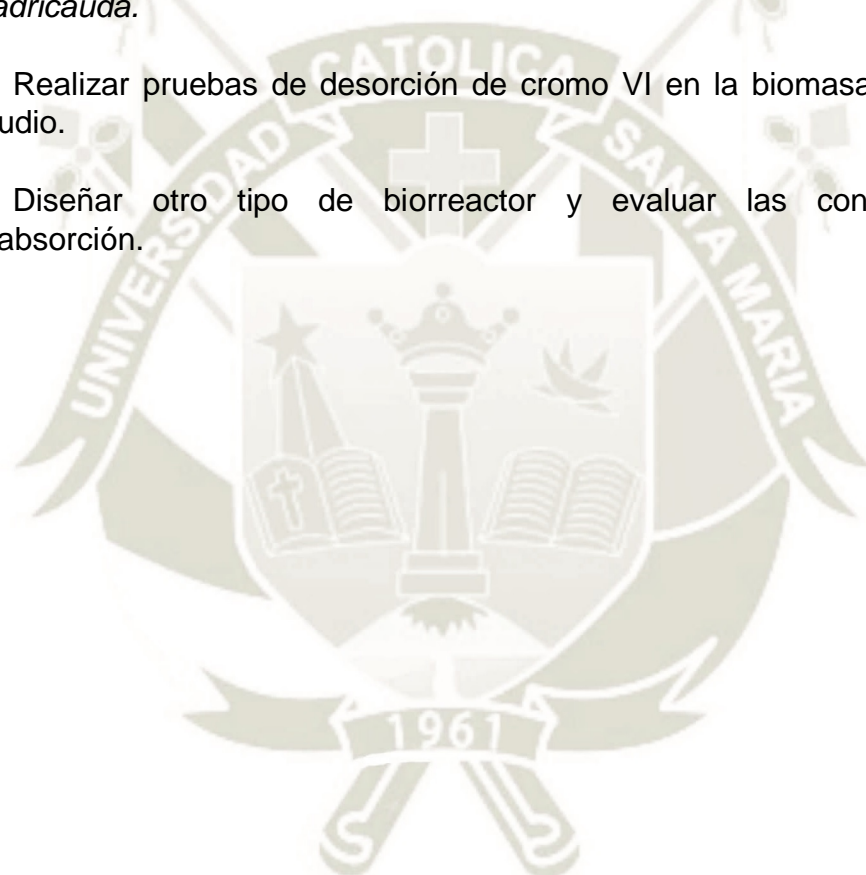
SEGUNDA: Durante el periodo de adaptación y tolerancia se encontró que el mayor crecimiento de *Desmodesmus quadricauda* fue a la concentración de 50ppm de cromo VI.

TERCERA: Se diseñó un sistema de bioabsorción de cromo VI de efluentes industriales del PIRS, en la cual se redujo la concentración de cromo desde 29.60 mg/L a 1.70 mg/L durante 9 días de evaluación.

CUARTA: Se alcanzó una concentración residual de 1.70 mg/L de cromo VI y una capacidad de bioabsorción de cromo VI con el fotobioreactor Air-Lift, fue de 94.24 % durante 9 días de evaluación. Se sugiere que la microalga *Desmodesmus quadricauda* presenta gran potencial para reducir cromo VI de efluentes de curtiembres.

RECOMENDACIONES

1. Trabajar con efluentes de las otras lagunas de estabilización del PIRS, para comprobar que el método es efectivo en todas las lagunas existentes.
2. Realizar más pruebas con otras concentraciones de cromo VI, para tener más datos, realizar más comparaciones y así tener un valor mucho más exacto en cuanto a la tolerancia de la microalga *Desmodesmus quadricauda*.
3. Realizar pruebas de desorción de cromo VI en la biomasa del alga en estudio.
4. Diseñar otro tipo de biorreactor y evaluar las condiciones de bioabsorción.



REFERENCIAS

1. Adir N, Zer H, Shochat S, Ohad I (2003) Photoinhibition a historical perspective. *Photosynth Res* 76:343-370.
2. Aharchaou, I., Rosabal, M., Liu, F., Battaglia, E., Vignati, D.A.L., Fortin, C. (2017). Bioaccumulation and subcellular partitioning of Cr(III) and Cr(VI) in the freshwater green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquatic Toxicology*, 182, 49-57
3. Ai, Z., Cheng, Y., Zhang, L., Qiu, J. (2008). Efficient removal of Cr(VI) from aqueous solution with Fe and Fe₂O₃ core-shell nanowires. *Environ. Sci. Technol.* 42, 6955 - 6960.
4. Aishvarya V, Pradhan N, Nayak RR, Sukla LB, Mishra BK (2012) Enhanced inorganic carbon uptake by *Chlorella* sp. IMMTCC-2 under autotrophic conditions for lipid production and CO₂ sequestration. *J Appl Phycol* 24:1455-1463.
5. Ajayan K. V, Selvaraju M., Unnikannan P. and Sruthi, P. "Phycoremediation of tannery waste water using microalgae *Scenedesmus* species," *International journal of phytoremediation*, vol. 17, pp. 907-916, 2015.
6. Aksu, Z., Donmez, G., 2006. Binary biosorption of cadmium(II) and nickel(II) onto dried *Chlorella vulgaris*: Co-ion effect on mono-component isotherm parameters. *Process. Biochem.* 41, 860-868.
7. Aksu, Z., Sag, Y., Kutsal, T., 1992. The biosorption of copper (II) by *Chlorella vulgaris* and *Zoogloea ramigera*. *Environ. Technol.* 13, 579-586.
8. Al-Homaidan et al., 2014 A.A. Al-Homaidan, H.J. Al-Houri, A.A. Al Hazzani, G. Elgaaly, N.M.S. Moubayed Biosorption of copper ions from aqueous solutions by *Spirulina platensis* biomass Arab. J. Chem., 7 (2014), pp. 57-62.
9. Al-Homaidan et al., 2014 A.A. Al-Homaidan, H.J. Al-Houri, A.A. AlHazzani, G. Elgaaly, N.M.S. Moubayed Biosorption of copper ions from aqueous solutions by *Spirulina platensis* biomass Arab. J. Chem., 7 (2014), pp. 57-62
10. Al-Homaidan et al., 2015 A.A. Al-Homaidan, J.A. Alabdullatif, A.A. AlHazzani, A.A. Al-Ghanayem, A.F. Alabbad Adsorptive removal of cadmium ions by *Spirulina platensis* dry biomass Saudi J. Biol. Sci., 22 (2015), pp. 795-800.

11. Ali A. Al-Homaidan, Hussein S. Al-Qahtani, Abdullah A. Al-Ghanayem, Fuad Ameen, Ibraheem B.M. Ibraheem, Potential use of green algae as a biosorbent for hexavalent chromium removal from aqueous solutions, *Saudi Journal of Biological Sciences*, Volume 25, Issue 8, 2018, Pages 1733-1738.
12. Almaguer-Cantú, V.; Garza-González, M. T.; Rivera de la Rosa, J.; Loredó Medrano, J. A. (2010). Biosorption of Pb (II) and Cd (II) in Fix Bed Column by immobilized *Chlorella* sp. Biomass. *Water Sci. Tech.*, 58(5), 1061–1069 (9 pages).
13. Anastopoulos Ioannis, George Z. Kyzas. 2015. Progress in batch biosorption of heavy metals onto algae, *Journal of Molecular Liquids*, Volume 209, Pages 77-86, ISSN 0167-7322
14. Aoyama, 2003 M. Aoyama Removal of Cr (VI) from aqueous solution by London plane leaves *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 78 (2003), pp. 601-604.
15. APHA (2005) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st Edition, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC.
16. Arica, M.Y. Tuzun, I. Yalcin, E. O. Ince, G. Bayramoglu, Utilisation of native, heat and acid-treated microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* preparations for biosorption of Cr(VI) ions, *Process Biochem.* 40 (2005) 2351- 2358.
17. Arica, Y.M., Tuzun, I., Yalcin, E., Ince, O., Bayramoglu, G., 2005. Utilisation of native, heat and acid-treated microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* preparations for biosorption of Cr (VI) ions. *Process Biochem.* 40, 2351-2358.
18. Arunakumara K and Zhang, X. "Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae," *Journal of ocean university of china*, vol. 7, pp. 60-64, 2008.
19. Azim, M.E., Wahab, M.A., Van-Dam, A.A., Van-Rooij, J.M., Beveridge, M.C.M., & Verdegem, M.C.S. (2002) The effects of artificial substrates on freshwater pond productivity and water quality and the implications for periphyton-based aquaculture. *Aquatic Living Resources* 15 (4), 231-241.

20. Balaji S. T., Kalaivani C, Rajasekaran, M. Shalini, R. Siva, R. K. Singh, et al., "Arthrospira (*Spirulina*) Species as Bioadsorbents for Lead, Chromium, and Cadmium—a Comparative Study," *CLEAN—Soil, Air, Water*, vol. 42, pp. 1790-1797, 2014.
21. Balaji, S., Kalaivani, T., Shalini, M., Gopalakrishnan, M., Rashith Muhammad, M.A., Rajasekaran, C. (2016). Sorption sites of microalgae possess metal binding ability towards Cr(VI) from tannery effluents—a kinetic and characterization study. *Desalination and Water Treatment*, **57**(31), 14518-14529.
22. Balaji, S., Kalaivani, T., Sushma, B., Pillai, C.V., Shalini, M., Rajasekaran, C. (2016). Characterization of sorption sites and differential stress response of microalgae isolates against tannery effluents from ranipet industrial area—An application towards phycoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 18(8), 747-753.
23. Bayramoglu, G., Tuzun, I., Celik, G., Yilmaz, M., Arica, M.Y., 2006. Biosorption of mercury(II), cadmium(II) and lead(II) ions from aqueous system by microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* immobilized in alginate beads. *Int. J. Mineral Process.* 81, 35-43.
24. Bischoff HW, Bold HC (1963) Phycological studies IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. *Univ Tex Publ* 6318:1-95.
25. Boddu, Veera M. Krishnaiah Abburi, Jonathan L. Talbott, and Edgar D. Smith. (2003). Removal of Hexavalent Chromium from Wastewater Using a New Composite Chitosan Biosorbent *Environmental Science & Technology*, 37 (19), 4449-4456
26. Bold HC (1949) The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama* sp. nov. *Bull Torrey Bot Club* 76:101-108
27. Brennan L, Owende P (2010) Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew Sustain Energy Rev* 14:557-577
28. Bulgariu, Laura Gavrilescu, (2015) Maria. Chapter 30 - Bioremediation of Heavy Metals by Microalgae, Editor(s): Se-Kwon Kim, *Handbook of Marine Microalgae*, Academic Press, Pages 457-469.
29. Calfa, B. A., and Torem, M. L. (2008). On the fundamentals of Cr(III) removal from liquid streams by a bacterial strain. *Miner. Eng.* 21:48–54.

30. Carvalho AP, Meireles LA, Malcata FX (2006) Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances. *Biotechnol Prog* 22:1490-1506
31. Castro, S., Oliveira, S., Batista, J., Lima de Souza y Rubi, L. (2003). Heavy metal resistance of microorganisms isolated, *Environmental MicrobeMetal Interactions*. American Society for Microbiology, Washington D.C. from coal mining environments of Santa Catarina. *Brazilian Journal of Microbiology* 34 : 45-47.
32. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. (2012). "Guía Técnica para la Minimización de Residuos en Curtiembres". Lima. Edit. Talleres Gráficos. Recuperado de: <http://www.bvsde.paho.org>.
33. Cerón, P. (2011). Estudio de un sistema físico-químico a escala prototipo de tratamiento de aguas residuales provenientes de una curtiembre. Universidad San Francisco de Quito- Ecuador
34. Chaudhuri S. y Lovely D. (2003). Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediator less microbial fuel cells. *Nat. Biotechnol.* 21 (10), 1129-1232. DOI: 10.1038/nbt867.
35. Chaumont D (1993) Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. *J Appl Phycol* 5:593-604
36. Cherifi, O., Sbihi, K., Bertrand, M., Cherifi, K. (2016). The siliceous microalga *Navicula subminuscula* (Manguin) as a biomaterial for removing metals from tannery effluents: a laboratory study. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8(3), 884-893.
37. Chinnasamy S, Bhatnagar A, Hunt RW, Das KC (2010) Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *Bioresour Technol* 101:3097-3105
38. Chisti Y (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv* 25:294-306
39. Chojnacka, Katarzyna (2010). Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications, *Environment International*, Volume 36, Issue 3, Pages 299-307, ISSN 0160-4120
40. Corradi MG, Gorbi G, Ricci A, Torelli A, Bassi AM (1995) Chromium induced sexual reproduction gives rise to a Cr-tolerant progeny in *Scenedesmus acutus*. *Ecotoxicol Environ Saf* 32:12-18.

41. CPTS.206. Centro de promoción de tecnologías sostenibles. Estudio de caso No.14 Empresa: Curtiembre San Lorenzo. Implementación de las recomendaciones de producción más limpia. Tarija, Bolivia <https://www.cpts.org/>.
42. Criterios para la Gestión de Sitios Contaminados Norma: Decreto Supremo N° 012-2017-MINAM Fecha: Diciembre 2017 Fuente: Ministerio del Ambiente.
43. Dao, T.-S., Le, N.-H.-S., Vo, M.-T., Vo, T.-M.-C., Phan, T.-H., Bui, T.-N.-P. (2018). Growth and metal uptake capacity of microalgae under exposure to chromium. *Journal of Vietnamese Environment*, 9(1), 38-43.
44. Debabrata Pradhan, Lala Behari Sukla, Bibhuti Bhusan Mishra, Niharbala Devi. (2019). Biosorption for removal of hexavalent chromium using microalgae *Scenedesmus* sp., *Journal of Cleaner Production*, Volume 209, Pages 617-629, ISSN 0959-6526
45. Deng, L., Su, Y., Su, H., Wang, X., Zhu, X., 2007. Sorption and desorption of lead (II) from wastewater by green algae *Cladophora fascicularis*. *J. Hazard. Mater.* 143, 135e146.
46. Devars, S., Avilés, C., Cervantes, C., Moreno-Sánchez, R. (2000). Mercury uptake and removal by *Euglena gracilis*. *Archives of Microbiology*, 174(3), 175-180.
47. Douglas Onyancha, Ward Mavura, J. Catherine Ngila, Peter Ongoma, Joseph Chacha, Studies of chromium removal from tannery wastewaters by algae biosorbents, *Spirogyra condensata* and *Rhizoclonium hieroglyphicum*, *Journal of Hazardous Materials*, Volume 158, Issues 2–3, 2008, Pages 605-614.
48. Dunn, Kevin, Maart, Brenton y Rose, Peter. (2013). *Arthrospira (Spirulina)* en aguas residuales de tenerías. Parte 2: Evaluación de aguas residuales de tenerías como medio de producción para el cultivo masivo de biomasa de *Arthrospira*. *Agua SA* , 39 (2), 279-284.
49. Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua Norma: Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM Agente: Agua Fecha: Junio 2017 Fuente: Ministerio del Ambiente.

50. Febrianto, J., Kosasih, A.N., Sunarso, J., Ju, Y.H., Indrawati, N., Ismadji, S., 2009. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: a summary of recent studies. *J. Hazard. Mater.* 162, 616-645.
51. Finocchio, E., Lodi, A., Solisio, C., Converti, A. (2010). Chromium (VI) removal by methylated biomass of *Spirulina platensis*: The effect of methylation process. *Chemical Engineering Journal*, 156(2), 264-269.
52. Fontoura JT DA, Rolim GS, Farenzena M, Gutterres M. Influência da intensidade luminosa e da concentração de efluente de curtume na produção de biomassa e na remoção de nitrogênio amoniacal e fósforo pela microalga *Scenedesmus* sp. In: 10° Simpósio internac. de qualidade ambiental, Porto Alegre, 2016.
53. Gao, R., Wang, J., 2007. Effects of pH and temperature on isotherm parameters of chlorophenols biosorption to anaerobic granular sludge. *J. Hazard. Mater.* 145, 398-403.
54. Garnham GW, Green M (1995) Chromate(VI) uptake by and interactions with cyanobacteria. *J Ind Microbiol* 14:247-251.
55. Giotta, Livia Angela Agostiano, Francesca Italiano, Francesco Milano, Massimo Trotta. (2006). Heavy metal ion influence on the photosynthetic growth of *Rhodobacter sphaeroides*, *Chemosphere*, Volume 62, Issue 9, Pages 1490-1499, ISSN 0045-6535
56. Gómez-Jacinto, V., García-Barrera, T., Gómez-Ariza, J.L., Garbayo-Nores, I., Vílchez-Lobato, C. (2015). Elucidation of the defence mechanism in microalgae *Chlorella sorokiniana* under mercury exposure. Identification of Hg-phytochelatins. *Chemico-Biological Interactions*, 238, 82-90.
57. Gouveia L (2011) *Microalgae as a feedstock for biofuels*. Springer, Heidelberg
58. Grobbelaar J., Soeder C., J. Groeneweg, Stengel E., and Hartig P. "Rates of biogenic oxygen production in mass cultures of microalgae, absorption of atmospheric oxygen and oxygen availability for wastewater treatment," *Water Research*, vol. 22, pp. 1459-1464, 2008.
59. Grobbelaar JU (2004) Algal nutrition. In: Richmond A (ed) *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Blackwell, Ames, IA, pp 97-115 .

60. Guillard RRL (1975) Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith WL, Chanley MH (eds) Culture of marine invertebrate animals. Plenum, New York, pp 26-60.
61. Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H. (1962). Studies on Marine Planktonic Diatoms I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. Canadian Journal of Microbiology, 8, 229-239.
62. Gupta, V.K. Shrivastava, A.K N. Jain, Biosorption of chromium(VI) from aqueous solution by green algae Spirogyra species, Biotechnol. Bioeng. 35 (2001) 4079-4085.
63. Gupta, V.K., Rastogi, A., 2009. Biosorption of hexavalent chromium by raw and acid-treated green alga Oedogonium hatei from aqueous solutions. J. Hazard. Mater. 163, 396e402. Gupta, V.K., Rastogi, A., Nayak, A., 2010. Biosorption of nickel onto treated alga (Oedogonium hatei): application of isotherm and kinetic models. J. Coll. Interf. Sci. 32, 533-539.
64. Han, X., Wong, Y.S., Wong, M.H., Tam, N.F.Y., 2007. Biosorption and bioreduction of Cr(VI) by a microalgal isolate. Chlorella miniata. J. Hazard. Mater. 146, 65-72.
65. Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., Lorito M. (2004). *Trichoderma*, especie oportunista, simbiontes de plantas avirulentas. Nat Rev. 2 : 43-56
66. Harun I, Yahya L, Chik MN, Abdul Kadir NN, Azmir Pang MAM (2014) Effects of natural light dilution on microalgae growth. Int J Chem Eng Appl 5:112-116
67. Hedayatkah, A., Cretoiu, M.S., Emtiazi, G., Stal, L.J., Bolhuis, H. (2018). Bioremediation of chromium contaminated water by diatoms with concomitant lipid accumulation for biofuel production. *Journal of Environmental Management*, 227, 313-320.
68. Hegewald, E., & Braband, A. (2017). A taxonomic revision of *Desmodesmus* serie *Desmodesmus* (Sphaeropleales, Scenedesmaceae). *Fottea, Olomouc* 17(2): 191-208.
69. Herrero, R., Cordero, B., Lodeiro, P., Rey-Castro, C., SastreDeVicente, M.E., 2006. Interactions of cadmium(II) and protons with dead biomass of marine algae Fucus sp. Marine Chem. 99 (1-4), 106-116.
70. Homaidan et al., 2016 A.A. Al-Homaidan, A.F. Al-Abbad, A.A. Al-Hazzani, A.A. Al-Ghanayem, J.A. Alabdullatif Lead removal by *Spirulina platensis*

- biomass Int. J. Phytoremediation, 18 (2016), pp. 184-189 CrossRefView Record in ScopusGoogle Scholar
71. Hörcsik, Z.T., Kovács, L., Láposi, R. et al. (2007). Effect of chromium on photosystem 2 in the unicellular green alga, *Chlorella pyrenoidosa*. *Photosynthetica* 45, 65–69
72. Husien, S., Labena, A., El-Belely, E.F., Mahmoud, H.M., Hamouda, A.S. (2019). Absorption of hexavalent chromium by green micro algae *Chlorella sorokiniana*: live planktonic cells. *Water Practice and Technology*, 14(3), 515-529.
73. Husien, Sh. Labena, A. Belely E.F. E, Hamada M. Mahmoud, Asmaa S. Hamouda, Adsorption studies of hexavalent chromium [Cr (VI)] on micro-scale biomass of *Sargassum dentifolium*, Seaweed, Journal of Environmental Chemical Engineering, Volume 7, Issue 6, 2019, 103444, ISSN 2213-3437.
74. Ip SY, Bridger JS, Chin CT, Martin WRB, Raper WGC (1982) Algal growth in primary settled sewage-the effects of five key variables. *Water Res* 16:621-632
75. Jácome Pilco, C.R., Cristiani-Urbina, E., Flores-Cotera, L.B., Velasco-García, R., Ponce-Noyola, T., Cañizares-Villanueva, R.O. (2009). Continuous Cr (VI) removal by *Scenedesmus incrassatulus* in an airlift photobioreactor. *Bioresource Technology*
76. Jácome-Pilco, C.R., Cristiani-Urbina, E., Flores-Cotera, L.B., Velasco-García, R., Ponce-Noyola, T., Cañizares-Villanueva, R.O. (2009). Continuous Cr(VI) removal by *Scenedesmus incrassatulus* in an airlift photobioreactor. *Bioresource Technology*, 100(8), 2388-2391.
77. Janssen M, Tramper J, Mur LR, Wijffels RH (2003) Enclosed outdoor photobioreactors: light regime, photosynthetic efficiency, scaleup, and future prospects. *Biotechnol Bioeng* 81:193-210
78. Jena J, Pradhan N, Nayak R, Dash BP, Sukla LB, Panda PK, Mishra BK (2014a) Microalga *Scenedesmus sp.*: a potential low-cost green machine for silver nanoparticle synthesis. *J Microbiol Biotechnol* 24:522–533
79. Karl E., C. C. (2017). Análisis de los flujos de materia en las industrias de curtido. En F. M. Gladys Vidal, Producción limpia en la industria de Curtiembres (págs. 63-78). Universidade de Santiago de Compostela.

80. Kiran et al., 2007 B. Kiran, A. Kaushik, C.P. Kaushik Biosorption of Cr (VI) by native isolate of *Lyngbya putealis* (HH-15) in the presence of salts J. Hazard. Mater., 141 (2007), pp. 662-667
81. Kit, Y., Chang, J.S. (2020). Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. *Bioresource technology*, vol 303
82. Kováčik Jozef Petr, Babula, Josef Hedbavny, Olga Kryštofová, Ivo Provaznik. (2015). Physiology and methodology of chromium toxicity using alga *Scenedesmus quadricauda* as model object, Chemosphere, Volume 120, Pages 23-30.
83. Kumar et al., 2009 J.I.N. Kumar, C. Oommen, R.N. Kumar Biosorption of heavy metals from aqueous solution by green marine macroalgae from Okha Port, Gulf of Kutch, India. Am. J. Agric. Environ. Sci, 6 (2009), pp. 317-323.
84. Lasindrang, M. H. Suwarno, S.D. Tandjung, H.N. Kamiso .(2015). Adsorption Pollution Leather Tanning Industry Wastewater by Chitosan Coated Coconut Shell Active Charcoal, Agriculture and Agricultural Science Procedia, Volume 3, Pages 241-247, ISSN 2210-7843
85. Lavens P, Sorgeloos P (1996) Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO fisheries technical paper 361
86. Lazo Cuentas, Estefanía Alejandra. (2017). Evaluación de la contaminación ambiental generada por efluentes industriales en el proceso productivo de una curtiembre de mediana capacidad del parque industrial de rio seco, AREQUIPA. Tesis presentada para optar el Grado Académico de Ingeniero Ambiental AREQUIPA – PERU.
87. Lee, L., Hsu, C.-Y., Yen, H.-W. (2017). The effects of hydraulic retention time (HRT) on chromium(VI) reduction using autotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 40(12), 1725-1731.
88. Li M, Hu C et al (2007) Outdoor mass culture of the marine microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae) for production of eicosapentaenoic acid (EPA). *Cryptogamie Algologie* 28:397-410

89. Liu KJ, Jiang J, Shi X, Gabrys H, Walczak T, Swartz M (1995) Low frequency EPR study of chromium(V) formation from chromium(VI) in living plants. *Biochem Biophys Res Commun* 206:829-834.
90. Mak MSH, Lo IMC. (2011). Influences of redox transformation, metal complexation and aggregation of fulvic acid and humic acid on Cr(VI) and As(V) removal by zero-valent iron. *Chemosphere* 84:234–240
91. Martínez M.E, S Sánchez, J.M Jiménez, F El Yousfi, L Muñoz. (2000). Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*, *Bioresource Technology*, Volume 73, Issue 3
92. Mata TM, Martins AA, Caetano NS (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renew Sustain Energy Rev* 14:217-232
93. McGrath, S.P., Smith, S. (1990). Chromium and nickel. In: Alloway, B.J. (Ed.). *Heavy Metals in Soils*. Wiley, New York, pp. 125-150.
94. Megharaj M, Ragusa SR, Naidu R (2002) Metal-microalgae interactions. In: Naidu R, et al (eds) *Bioavailability, Toxicity, and Risk Relationships in Ecosystems*. Science Publishers, Enfield, NH, pp 109-144.
95. MINAM. (2010). Mypes del Sector Curtiembre se capacitan en Gestión Ambiental rentable. Recuperado el 2018, de www.minam.gob.pe
96. Mirghaffari, N., Moeini, E., Farhadian, O., 2014. Biosorption of Cd and Pb ions from aqueous solutions by biomass of the green microalga, *Scenedesmus quadricauda*. *J. Appl. Phycol.* <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-014-0345-z>.
97. Monteiro, C.M., Castro, P.M.L., Malcata, F.X., 2011. Biosorption of zinc ions from aqueous solution by the microalga.
98. Moreno-Garrido I. Microalgae immobilization: current techniques and uses. *Bioresour Technol.* 2008;99(10):3949-64.
99. Muñoz R. and Guieysse B. "Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review," *Water research*, vol. 40, pp. 2799-2815, 2006.
100. Nasreen, K., Muhammad, I., Iqbal, Z.S., Javed, I., 2008. Biosorption characteristics of unicellular green alga *Chlorella sorokiniana* immobilized in loofa sponge for removal of Cr(III). *J. Environ. Sci.* 20, 231-239.

101. Nath, A., tiwari, P.K., Rai, A.K., Sundaram, S. (2017). Microalgal consortia differentially modulate progressive adsorption of hexavalent chromium. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(2), 269-280.
102. Neenan B, Feinberg D, Hill A, McIntosh R, Terry K (1986) Fuels from microalgae: technology status, potential, and research requirements. Report no. SERI/SP-231-2550, Solar Energy Research Institute, Golden, CO
103. Olaizola M (2003) Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. *Biomol Eng* 20:459-466
104. Olguin EJ (2003) Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnol Adv* 22:81-91
105. Pagnanelli, F., Jbari, N., Trabucco, F., Martínez, M.E., Sánchez, S., Toro, L. (2013). Biosorption-mediated reduction of Cr (VI) using heterotrophically-grown *Chlorella vulgaris*: Active sites and ionic strength effect. *Chemical Engineering Journal*, 231, 94-102.
106. Palmer, C.H., Wittbrodt, P.R. (1991). Processes affecting the remediation of chromium contaminated sites. *Environ Health Perspect*, 92:25-40.
107. Park, D., Lim, S.-R., Yun, Y.-S., Park, J.M. (2007). Reliable evidences that the removal mechanism of hexavalent chromium by natural biomaterials is adsorption-coupled reduction. *Chemosphere*, 70(2), 298-305.
108. Pellón A., Frades J., Chacón A., Pérez E., Oña A., Espinosa M., Ramos C., Mayarí R. y Escobedo R. (2011). "Eliminación de Cromo y Cadmio Mediante *Scenedesmus Obliquus* en Estado Inmovilizado". *Revista CNIC Ciencias Químicas*. vol. 36, núm. 3, pp. 175 - 180, Cuba.
109. Pena, Aline de Cassia Campos, Bertoldi, Crislaine Fabiana, Fontoura, Juliana Tolfo da, Trierweiler, Luciane Ferreira, & Gutterres, Mariliz. (2019). Consortium of Microalgae for Tannery Effluent Treatment. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62, e19170518. Epub June 13, 2019.
110. Pittman JK, Dean AP, Olumayowa O (2011) The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresour Technol* 102:17-25
111. Pradhan, D., Sukla, L.B., Mishra, B.B., Devi, N. (2019). Biosorption for removal of hexavalent chromium using microalgae *Scenedesmus* sp. *Journal of Cleaner Production*, 209, 617-629.

112. Priatni, S., Ratnaningrum, D., Warya, S., Audina, E. (2017). Phycobiliproteins production and heavy metals reduction ability of *Porphyridium* sp. *IOP Conf. Series: Earth Environ. Sci.*, 60.
113. Pringsheim E (1950) The soil-water culture technique for growing algae. In: *Culturing of algae*. Charles F. Kettering Foundation, Dayton, OH, pp 19–26
114. Pulz O (2001) Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol* 57:287-293
115. Rai, U., Deshar, G., Rai, B., Bhattarai, K., Dhakal, R., & Rai, S. (2014). Isolation and Culture Condition Optimization of *Chlorella vulgaris*. *Nepal Journal of Science and Technology*, 14(2), 43-48. <https://doi.org/10.3126/njst.v14i2.10414>
116. Rajasimman and Murugaiyan, 2010. Optimization of process variables for the biosorption of chromium using *Hypnea valentiae* Nov. *Biotechnol.*, 10 (2010), pp. 107-115.
117. Rajendran P, Muthukrishnan J, Gunasekaran P. (2003). Microbes in heavy metal remediation. *Indian Journal of Experimental Biology*, 41: 935-944.
118. Raouf Abdel N., Al-Homaidan A. A. and I. B. M. Ibraheem, "Microalgae and wastewater treatment," *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 19, pp. 257-275, 2012.
119. Richmond A (2008) *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Wiley-Blackwell, New York
120. Richmond A, Hu Q (2013) *Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology*. Wiley, Oxford, 736 pp.
121. Rippka R, Deruelles J, Waterbury JB, Herdman M, Stainer RY (1979) Generic assignment, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J Gen Microbiol* 111:1-61
122. Ruiz-Marin A, Mendoza Espinosa LG, Stephenson T (2010) Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semicontinuous cultures treating real wastewater. *Bioresour Technol* 101:58- 64.
123. Saadi, S., Djebabra, M. and Boulagouas, W. (2017). "Contribution to the evaluation of the environmental risks induced by the worn-water discharges

- of an Algerian tannery", World Journal of Science, Technology and Sustainable Development, Vol. 14 No. 4, pp. 268-278.
124. Segura Ballén, Hernández Miguel, Rodríguez Luisa, Parra Ospina, David, Vega Bolaños, Asly y Pérez, Karen. (2016) Usando *Scenedesmus sp.* para la Phycoremediation de Tannery Wastewater. *Tecciencia* , 11 (21), 69-75.
125. Senthilkumar, R., Vijayaraghavan, K., Thilakavathi, M., Iyer, P.V.R., Velan, M., 2006. Seaweeds for the remediation of wastewaters contaminated with zinc(II) ions. *J. Hazard. Mater.* 136, 791-799.
126. Serrano B., et al. 2011 Efecto del hierro en el crecimiento y acumulación de lípidos en la microalga colombiana *Chlorella Vulgaris* LAUN 0019. *ITECKNE* Vol. 8 Número 1, ISSN 1692 -1798, Colombia, Julio.15-22.
127. Shen, L., Saky, S.A., Yang, Z., Ho, S.-H., Chen, C., Qin, L., Zhang, G., Wang, Y., Lu, Y. (2019). The critical utilization of active heterotrophic microalgae for bioremoval of Cr(VI) in organics co-contaminated wastewater. *Chemosphere*, 228, 536-544.
128. Stein JR (ed) (1973) Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements. Cambridge University Press, Cambridge, 448 pp .
129. Stumm, W., Morgan, J.J., 1996. Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters. John Wiley & Sons Inc., New York.
130. Sudhakar G, Jyothi B, Venkateswarlu V (1991) Metal pollution and its impact on algae in flowing waters in India. *Arch Environ Contam Toxicol* 21:556-566.
131. Travieso, L., Canizares, R.O., Borja, R., Benitez, F., Dominguez, A.R., Dupeyron, R., Valiente, V. (1999). Heavy metal removal by microalgae. *Bull Environ Contam Toxicol*, 62(2), 144-51.
132. Tredici MR (2004) Mass production of microalgae: photobioreactors. In: Richmond A (ed) Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell, Oxford, pp 178-214
133. Upadhyay, A.K., Mandotra, S.K., Kumar, N., Singh, N.K., Singh, L., Rai, U.N. (2016). Augmentation of arsenic enhances lipid yield and defense responses in alga *Nannochloropsis sp.* *Bioresource Technology*, 221, 430-437.

134. Valdman, E., Leite, S.G.F., 2000. Biosorption of Cd, Zn and Cu by *Sargassum* sp. waste biomass. *Bioprocess. Eng.* 22, 171-173.
135. Viti C, Giovannetti L (2001) The impact of chromium concentration on soil heterotrophic and photosynthetic microorganisms. *Ecol Environ Microbiol* 51:201-214.
136. Volesky, B. (1990). *Biosorption of Heavy Metals*, CRC Press, Boca Ratón (Florida).
137. Vonshak A (1986) Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In: *Handbook of microalgal mass culture*. CRC, Boca Raton, FL, pp 117– 145
138. Walne PR (1970) Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. *Fish Invest* 26:162
139. Wang, J., Chen, C., 2008. Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnol. Adv.* 27, 195-226.
140. Xin L, Hu HY, Ke G, Sun YX (2010) Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresour Technol* 101:5494-5500
141. Yen, H.-W., Chen, P.-W., Hsu, C.-Y., Lee, L. (2017). The use of autotrophic *Chlorella vulgaris* in chromium (VI) reduction under different reduction conditions. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 74, 1-6.
142. Zhang Zulin, Andrew Hibberd, John L. Zhou. (2008). Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling, *Analytica Chimica Acta*, Volume 607, Issue 1, Pages 37-44.
143. Zhao, Y., Wang, B., Liu, C., Wu, Y., 2013. Biosorption of trace metals from aqueous multimetal solutions by green microalgae. *Chim. J. Geochem.* 32, 385-391.
144. Zheng Y, Fang X, Ye Z, Li Y, Cai W. (2008). Biosorption of Cu (II) on extracellular polymers from *Bacillus* sp. F19. *J. Environmental Science*, 119:1288-1293.

145. Zhou, G.J., Peng, F.Q., Zhang, L.J., Ying, G.G., 2012. Biosorption of zinc and copper from aqueous solutions by two freshwater green microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus*. Environ. Sci. Pollut. Res. 19, 2918-2929.





Fig. 2: Imágenes de zonas contaminadas por curtiembres

ANEXO 2

MUESTREO DE AGUAS RESIDUALES Y COLECTA DE MICROALGAS



Fig. 3: Imágenes de la colección de muestras de microalgas en el Parque Industrial Río Seco - Cerro Colorado



Fig. 4: Imágenes de las microalgas presentes en el Parque Industrial Rio Seco - Cerro Colorado

ANEXO 3

DISEÑO Y ELABORACIÓN DEL FOTOBIORREACTOR



Fig. 5: Diseñando varias configuraciones del fotobiorreactor



Fig. 6: Pruebas de funcionamiento del fotobiorreactor



Fig. 7: Pruebas de funcionamiento del fotobioreactor

ANEXO 4

ESCALAMIENTO DEL CULTIVO EN FOTOBIORREACTOR

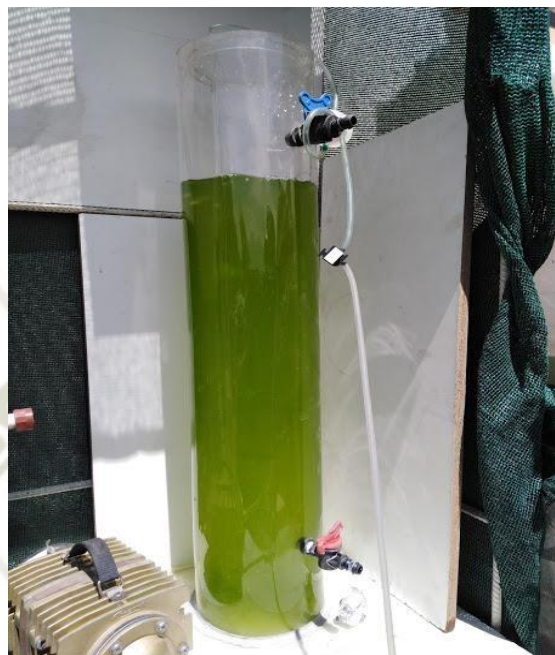


Fig. 8: Escalamiento del cultivo en fotobiorreactor



Fig. 9: Fotobiorreactor con el efluente del PIRS

ANEXO 5

ANÁLISIS DE LABORATORIO



**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
LA DIRECCIÓN DE ACREDITACIÓN DEL
INACAL CON REGISTRO N° LE-050**



INFORME DE ENSAYO LAS01-AG-AC-19-00323

Fecha de emisión : 24/07/2019

Página 1 de 3

Señores : WINDER GIOVANNY PAREDES ARENAZAS
Dirección : CALLE UNIÓN 107 PACHACUTEC VIEJO CERRO COLORADO
Atención : WINDER GIOVANNY PAREDES ARENAZAS
Proyecto : Biorremediación de los efluentes

PROTOCOLO DE MUESTREO

Muestreo realizado por : WINDER GIOVANNY PAREDES ARENAZAS
Registro de muestreo : 247-19
Procedimiento Aplicado : Muestreado por el cliente

Fecha de recepción : 16/07/2019
Fecha de ensayo : 16/07/2019
Nro de muestras : 1

Lugar de análisis : Parque Industrial de Río Seco C-1 Cerro Colorado Arequipa Perú

Cod. Interno L.A.S.	(c) Nombre de muestra	(c) Matriz de la muestra	(c) Zona, Urb, AAHH/Dist/Prov/Depart.	(c) Punto de muestreo y/o coordenadas	(c) Fecha de inicio de muestreo	(c) Hora de inicio de muestreo
AG19000588	AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL	Agua Residual - Agua Residual Industrial	PARQUE INDUSTRIAL RIO SECO MZ B LT 4 EL GRAN PODER-CERRO COLORADO - AREQUIPA	8150319 - 188883	16/07/2019	13:20

(c) : datos proporcionados por el cliente. El laboratorio no se responsabiliza por la información suministrada por el cliente.

Condiciones de recepción de la muestra

Cooler refrigerado, Temperatura de muestra : 4 C

Observación

-

Laboratorios Analíticos del Sur E.I.R.L.
Omar A. Juárez Soto
Gerente de Operaciones
M. Sc. Ingeniero Químico CIP 114426

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA.

^o<Valor numérico = Límite de detección del método, ^o<Valor Numérico = Límite de cuantificación del método.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Los resultados presentados solo están relacionados a la muestra ensayada.

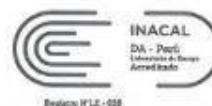
Está terminantemente prohibida la reproducción parcial o total de este documento sin la autorización escrita de LAS. Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente documento lo anula.

Parque Industrial Río Seco C - 1 Cerro Colorado - Arequipa - Perú
Teléfono (054) 443294 Fax (054) 444582 www.laboratoriosanaliticosdelsur.com

A-18 N° 7546



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
LA DIRECCIÓN DE ACREDITACIÓN DEL
INACAL CON REGISTRO N° LE-050



INFORME DE ENSAYO LAS01-AG-AC-19-00323

Fecha de emisión : 24/07/2019

Página 2 de 3

RESULTADOS DE ENSAYO FISICO QUIMICO

Código Interno	Nombre de Muestra	*226 Cr ⁶⁺ mg/L	859 DBO-5 mg/L	860 DQO mg O2/L
AG17001013	M1	29.80	1183.00	1522.00
AG17001014	M2	26.0	997.00	1210.00
AG17001015	M3	7.40	694.50	1006.00
AG17001016	M4	1.70	456.87	740.00

Laboratorios Analíticos del Sur E.I.R.L.
Omar A. Juárez Soto
Gerente de Operaciones
M. Sc. Ingeniero Químico CIP 116426

"Los ensayos acreditados del presente informe/certificado al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC"

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA.

"<Valor numérico" = Límite de detección del método, *<Valor Numérico" = Límite de cuantificación del método.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Los resultados presentados solo están relacionados a la muestra ensayada.

Está terminantemente prohibida la reproducción parcial o total de este documento sin la autorización escrita de LAS. Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente documento lo anula.

Parque Industrial Río Seco C - 1 Cerro Colorado - Arequipa - Perú
Teléfono (054) 443294 Fax (054) 444582 www.laboratoriosanaliticosdelsur.com

A-18 N° 7547

Fig. 11: Imagen del certificado del análisis de laboratorio de los parámetros fisicoquímicos