



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

**EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE METALES
PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y TOTORA
Scirpus californicus. PARA SU USO EN HUMEDALES
ARTIFICIALES**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO QUÍMICO

AUTOR: MICHAEL ALCIDES SERRANO ENRIQUEZ

DIRECTORA: Ing. CRISTINA GABRIELA CALDERÓN TAPIA. MsC.

Riobamba - Ecuador

2022

©2022, Michael Alcides Serrano Enríquez

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, MICHAEL ALCIDES SERRANO ENRIQUEZ, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 11 de febrero del 2022

Michael Alcides Serrano Enríquez

1600471633

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación; tipo: proyecto de investigación. **EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE METALES PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y TOTORA *Scirpus californicus*. PARA SU USO EN HUMEDALES ARTIFICIALES**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Segundo Hugo Calderón, Mgs. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	_____	2022-02-11
Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia, MsC. DIRECTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN	_____	2022-02-11
Ing. Cesar Arturo Puente Guijarro, PhD. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	2022-02-11

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi Padre Celestial, Dios, quien me ayudó y guio a desarrollar esta carrera universitaria junto con este trabajo de titulación, y que a pesar de los errores cometidos en el camino hemos logrado darle finalización.

Michael

AGRADECIMIENTO

Principalmente agradezco a mis papás quienes me ayudaron en todo el camino de esta carrera universitaria. A mi amigo Ricardo Tulcanaza y su familia, quienes me brindaron su apoyo en este trabajo de titulación. Al departamento de control de calidad de la empresa pública AGUAPEN E.P. quienes me ayudaron con los equipos respectivos para los análisis de este trabajo de titulación. A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, donde aprendí y observé los conocimientos de mi carrera. Al equipo del Ministerio REDIL y CLEM los cuales me alentaron en momentos difíciles haciéndome entender los propósitos que Dios tiene en mi vida.

Michael

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
SUMMARY/ABSTRACT	xvi
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	4
1.1.	Antecedentes de la Investigación	4
1.2.	Marco Conceptual o Glosario	6
1.2.1.	<i>El agua como recurso vital</i>	6
1.2.2.	<i>Metales pesados</i>	6
1.2.3.	<i>Características generales, usos y peligros a la salud de algunos metales pesados ..</i>	7
1.2.4.	<i>Contaminación del agua con metales pesados</i>	10
1.2.5.	<i>Salinidad en aguas residuales.....</i>	11
1.2.6.	<i>Técnicas de tratamiento para remoción de metales pesados</i>	12
1.2.7.	<i>Técnicas Convencionales</i>	12
1.2.8.	<i>Técnicas No Convencionales</i>	13
1.2.9.	<i>Técnicas de determinación de metales pesados en el agua.....</i>	13
1.2.10.	<i>Humedales Artificiales</i>	14
1.2.11.	<i>Tipos de humedales artificiales.....</i>	15
1.2.12.	<i>Humedales artificiales basados en macrófitas de hojas flotantes</i>	16
1.2.13.	<i>Humedales artificiales basados en macrófitas sumergidas</i>	16
1.2.14.	<i>Humedales artificiales basados en macrófitas enraizadas emergentes</i>	16
1.2.15.	<i>Humedales artificiales de flujo superficial.....</i>	16
1.2.16.	<i>Humedales artificiales de flujo subsuperficial.....</i>	17
1.2.17.	<i>Humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal.....</i>	17
1.2.18.	<i>Humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical.....</i>	18
1.2.19.	<i>Generalidades Scirpus Californicus</i>	19
1.2.20.	<i>Taxonomía y características morfológicas de Scirpus Californicus</i>	19
1.2.21.	<i>Microalgas</i>	20

1.2.22.	<i>Generalidades Chlorella sp.</i>	21
1.2.23.	<i>Alginatos</i>	22
1.2.24.	<i>Uso de alginatos en inmovilización biotecnológica de células y enzimas</i>	22

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	24
2.1.	Hipótesis y Variables	24
2.1.1.	<i>Hipótesis General</i>	24
2.1.2.	<i>Hipótesis Específicas</i>	24
2.2.	Identificación de Variables	25
2.3.	Operacionalización de Variables	26
2.4.	Tipo y Diseño de investigación	29
2.5.	Unidad de Análisis	29
2.6.	Población de Estudio	29
2.7.	Tamaño de muestra	29
2.8.	Selección de muestra	30
2.9.	Localización del trabajo de titulación	30
2.10.	Técnicas de Recolección de datos	31
2.10.1.	<i>Recolección y tratamiento de la especie vegetal Scirpus californicus</i>	31
2.10.2.	<i>Medición de pH de las especies vegetales</i>	32
2.10.3.	<i>Ensayos de Remoción de metales pesados (Pb), con el uso de agua sintética</i>	33
2.10.4.	<i>Medición de pH de las especies vegetales durante el período de remoción</i>	34
2.10.5.	<i>Procesamiento de las raíces de la especie vegetal Scirpus californicus</i>	35
2.10.6.	<i>Tratamiento de raíces de Scirpus californicus para análisis en Espectrofotometría de Absorción Atómica</i>	36
2.10.7.	<i>Obtención del inóculo de microalga Chlorella sp. y cultivo</i>	38
2.10.8.	<i>Control de Crecimiento mediante conteo en cámara de Neubauer</i>	39
2.10.9.	<i>Alimentación de cultivo de microalga Chlorella sp.</i>	41
2.10.10.	<i>Medición y reducción de Salinidad de cultivo de microalga Chlorella sp.</i>	42
2.10.11.	<i>Medición y ajuste de pH del cultivo de microalga Chlorella sp.</i>	44
2.10.12.	<i>Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio sin Chlorella sp.</i>	45
2.10.13.	<i>Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio con Chlorella sp.</i>	46
2.10.14.	<i>Ensayos de remoción de metales pesados (Cd), con el uso de agua sintética, sin Chlorella sp.</i>	47
2.10.15.	<i>Ensayos de remoción de metales pesados (Cd), con el uso de agua sintética, con Chlorella sp.</i>	49

2.10.16.	<i>Tratamiento de las muestras para espectrofotometría de absorción atómica</i>	51
2.10.17.	<i>Proceso de encendido y calibración del equipo de absorción atómica AA500 Atomic Absorption Spectrometer-PG Instruments</i>	52
2.10.18.	<i>Proceso para elaboración de curva de calibración y lectura de muestras de Pb en el equipo AA500-PG Instruments</i>	53
2.10.19.	<i>Proceso para elaboración de curva de calibración y lectura de muestras de Cd en el equipo AA500-PG Instruments</i>	55

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
3.1.	Análisis de resultados	57
3.1.1.	<i>Fase de recolección y adaptación a nuevo medio de crecimiento de las especies vegetales Scirpus Californicus</i>	57
3.1.2.	<i>Medición de pH de las especies vegetales</i>	60
3.1.3.	<i>Ensayos de remoción de Pb</i>	61
3.1.4.	<i>Control de pH y estado de especies vegetales durante el período de remoción de Pb</i>	63
3.1.5.	<i>Procesamiento de raíces de Scirpus Californicus para lectura de muestras mediante absorción atómica (horno grafito)</i>	65
3.1.6.	<i>Cuantificación de Pb absorbido por la especie vegetal Scirpus Californicus</i>	65
3.1.7.	<i>Período de bio-aumentación de células de microalga Chlorella sp.</i>	69
3.1.8.	<i>Reducción de salinidad y ajuste de pH del cultivo de Chlorella sp.</i>	70
3.1.9.	<i>Elaboración de perlas de alginato sin Chlorella sp.</i>	70
3.1.10.	<i>Elaboración de perlas de alginato con Chlorella sp.</i>	71
3.1.11.	<i>Ensayos de Remoción de Cd con perlas de alginato sin Chlorella sp.</i>	71
3.1.12.	<i>Ensayos de Remoción de Cd con perlas de alginato con Chlorella sp.</i>	73
3.1.13.	<i>Comparación de Ensayos a 2ppm</i>	75
3.1.14.	<i>Comparación de ensayos a 5ppm</i>	76
3.1.15.	<i>Comparación de ensayos a 10ppm</i>	77
3.1.16.	<i>Planteamiento de diseño de humedal artificial</i>	78
3.2.	Discusión	79

CONCLUSIONES	81
RECOMENDACIONES	82
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Principales actividades industriales generadoras de metales pesados	11
Tabla 2-1: Taxonomía <i>Scirpus Californicus</i>	19
Tabla 1-2: Identificación de Variables	25
Tabla 2-2: Operacionalización de Variables	26
Tabla 3-2: Recolección y tratamiento de la especie vegetal <i>Scirpus californicus</i>	31
Tabla 4-2: Medición de pH de las especies vegetales	32
Tabla 5-2: Ensayos de Remoción de metales pesados (Pb), con el uso de agua sintética	33
Tabla 6-2: Medición de pH de las especies vegetales durante el período de remoción	34
Tabla 7-2: Procesamiento de las raíces de la especie vegetal <i>Scirpus californicus</i>	35
Tabla 8-2: Tratamiento de raíces de <i>Scirpus californicus</i> para análisis en Espectrofotometría de Absorción Atómica	36
Tabla 9-2: Obtención del inóculo de microalga <i>Chlorella sp</i> y cultivo	38
Tabla 10-2: Control de Crecimiento mediante conteo en cámara de Neubauer	39
Tabla 11-2: Alimentación de cultivo de microalgas <i>Chlorella sp</i>	41
Tabla 12-2: Medición y reducción de salinidad de cultivo de <i>Chlorella sp</i>	42
Tabla 13-2: Medición y ajuste de pH del cultivo de microalga <i>Chlorella sp</i>	44
Tabla 14-2: Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio sin <i>Chlorella sp</i>	45
Tabla 15-2: Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio con <i>Chlorella sp</i>	46
Tabla 16-2: Ensayos de remoción de metales pesados (Cd), con el uso de agua sintética, sin <i>Chlorella sp</i>	47
Tabla 17-2: Ensayos de remoción de metales pesados (Cd), con el uso de agua sintética, con <i>Chlorella sp</i>	49
Tabla 18-2: Tratamiento de las muestras para espectrofotometría de absorción atómica	51
Tabla 19-2: Proceso de encendido y calibración del equipo de absorción atómica AA500 Atomic Absorption Spectrometer-PG Instruments	52
Tabla 20-2: Proceso para elaboración de curva de calibración y lectura de muestras de Pb en el equipo AA500-PG Instruments	53
Tabla 21-2: Proceso para elaboración de curva de calibración y lectura de muestras de Cd en el equipo AA500-PG Instruments	55
Tabla 1-3: Características del sustrato HAWITA	59
Tabla 2-3: Control de pH de las especies vegetales posterior a los 15 días de adaptación	60
Tabla 3-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 2ppm sin <i>Chlorella sp</i>	71
Tabla 4-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 5ppm sin <i>Chlorella sp</i>	72
Tabla 5-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 10ppm sin <i>Chlorella sp</i>	72

Tabla 6-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 2ppm con <i>Chlorella sp.</i>	73
Tabla 7-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 5ppm con <i>Chlorella sp.</i>	73
Tabla 8-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 10ppm con <i>Chlorella sp.</i>	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Humedal de flujo superficial.....	17
Figura 2-1: Humedal subsuperficial de flujo horizontal	18
Figura 3-1: Humedal subsuperficial de flujo vertical	18
Figura 1-3: Localización del punto de recolección de la especie vegetal <i>Scirpus Californicus</i>	57
Figura 2-3: Recolección de las especies vegetales de su medio	58
Figura 3-3: Substrato HAWITA	58
Figura 4-3: Proceso de sembrado y etiquetado individual de las especies vegetales para los diferentes ensayos	59
Figura 5-3: Desarrollo en el período de adaptación.....	60
Figura 4-3: Reactivo $Pb(NO_3)_2$	61
Figura 5-3: Dosificación de agua sintética a las especies vegetales	62
Figura 6-3: Procesamiento de las raíces para lectura en espectrofotometría de absorción atómica	65
Figura 7-3: Inóculo de <i>Chlorella sp.</i> y botellón de cultivo.....	69
Figura 8-3: Conteo por cámara de Neubauer de cultivo <i>Chlorella sp.</i>	69

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2: Selección de muestra, especie vegetal <i>Scirpus Californicus</i>	30
Gráfico 2-2: Selección de muestra, microalga <i>Chlorella sp</i>	30
Gráfico 1-3: Variación de pH vs días transcurridos de remoción de metal pesado Pb Tratamiento 1	63
Gráfico 2-3: Variación de pH vs días transcurridos de remoción de metal pesado Pb Tratamiento 2	64
Gráfico 3-3: Variación de pH vs días transcurridos de remoción de metal pesado Pb Tratamiento 3	64
Gráfico 4-3: Test de Ryan-Joiner a datos de tratamiento 2ppm Pb en software Minitab	66
Gráfico 5-3: Porcentaje de remoción de Pb a 2ppm	66
Gráfico 6-3: Test de Ryan-Joiner a datos de tratamiento 5ppm Pb en software Minitab	67
Gráfico 7-3: Porcentaje de remoción de Pb a 5ppm	67
Gráfico 8-3: Test de Ryan-Joiner a datos de tratamiento 10ppm Pb en software Minitab	68
Gráfico 9-3: Porcentaje de remoción de Pb a 10ppm	68
Gráfico 10-3: Comparación de remoción de Cd a 2ppm	75
Gráfico 11-3: Comparación de remoción de Cd a 5ppm	76
Gráfico 12-3: Comparación de remoción de Cd a 10ppm	77

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: ANÁLISIS ANOVA DE TRATAMIENTOS DE REMOCIÓN DE CD CON PERLAS DE ALGINATO

ANEXO B: RECOLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA ESPECIE VEGETAL *SCIRPUS CALIFORNICUS*

ANEXO C: CONTROL DE PH Y ENSAYOS DE REMOCIÓN DE PB

ANEXO D: PROCESAMIENTO DE RAÍCES DE *SCIRPUS CALIFORNICUS* PARA LECTURA EN EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA

ANEXO E: FILTRADO, AFORO DE MUESTRAS *SCIRPUS CALIFORNICUS*, ELABORACIÓN DE SOLUCIONES PATRÓN Y CALIBRACIÓN DEL EQUIPO Y LECTURA DE MUESTRAS

ANEXO F: PROCESO DE CRECIMIENTO DE *CHLORELLA SP.*

ANEXO G: ELABORACIÓN DE PERLAS DE ALGINATO DE SODIO SIN *CHLORELLA SP.* Y CON *CHLORELLA SP.*

ANEXO H: REALIZACIÓN DE ENSAYOS DE REMOCIÓN DE CADMIO, TOMA DE MUESTRAS Y LECTURA DE LAS MISMAS

ANEXO I: RESULTADOS DE ANÁLISIS DE CD Y PB POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad de remoción de metales pesados por parte de microalga *Chlorella sp.* y totora *Scirpus californicus* para su uso en humedales artificiales. Donde se procedió a extraer las especies *Scirpus californicus* de su medio natural de desarrollo, las cuales fueron adaptadas a un nuevo medio de desarrollo de composición conocida; que posteriormente fueron sometidas a la remoción del metal pesado plomo a partir de la elaboración de agua sintética (solución de nitrato de plomo) a concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm. De igual manera se realizó con la especie *Chlorella sp.* la cual fue sometida a crecimiento celular hasta una concentración de $6,24 \times 10^6$ cel./ml; posteriormente fue inmovilizada en perlas de alginato de sodio, para usarla en los ensayos de remoción de cadmio a concentraciones de 2ppm 5ppm y 10ppm; en donde se observó que las especies usadas fueron tolerantes a la presencia de los metales pesados seleccionados al no presentar deficiencias cualitativas. Posteriormente las muestras obtenidas de los ensayos fueron sometidas a tratamiento para poder realizar su lectura correctamente en el equipo de espectrofotometría de absorción atómica, donde se obtuvieron porcentajes de remoción considerablemente efectivos en el ensayo de 10 ppm de plomo para la especie *Scirpus californicus* removiendo del medio 74,20% del metal pesado. Mientras que para la especie *Chlorella sp.* se obtuvieron valores de remoción significativos removiendo más del 70% del metal pesado en las tres concentraciones usadas en los ensayos. A partir de lo cual, se concluyó que la especie vegetal *Scirpus californicus* y la microalga *Chlorella sp.* pueden ser consideradas para su uso en humedales artificiales como agentes purificadores de metales pesados, recomendando un tratamiento de adaptación de las especies *Scirpus californicus*, y mantener un ambiente limpio y desinfectado para evitar la contaminación de la microalga *Chlorella sp.*

Palabras clave: <REMOCIÓN DE METALES PESADOS>, <TOTORA (*Scirpus californicus*)>, <*Chlorella sp.*>, <CADMIO>, <PLOMO>, <ABSORCIÓN ATÓMICA>, <HUMEDALES ARTIFICIALES>, <ALGINATO>.

LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0009621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.02.17 15:12:31 -05'00'



0322-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the removal capacity of heavy metals by the microalgae *Chlorella sp.* and *totora Scirpus californicus* for use in artificial wetlands. Where the *Scirpus californicus* species were extracted from their natural environment of development, which were adapted to a new development environment of known composition; which were subsequently subjected to the removal of the heavy metal lead from the production of synthetic water (lead nitrate solution) at concentrations of 2ppm, 5ppm and 10ppm. Similarly, it was done with the species *Chlorella sp.* which was subjected to cell growth up to a concentration of 6.24×10^6 cells/ml; later it was immobilized in sodium alginate beads, to be used in the cadmium removal tests at concentrations of 2ppm, 5ppm and 10ppm; where it was observed that the species used were tolerant to the presence of the selected heavy metals as they did not present qualitative deficiencies. Subsequently, the samples obtained from the tests were subjected to treatment to be able to read them correctly in the atomic absorption spectrophotometry equipment, where considerably effective removal percentages were obtained in the test of 10 ppm of lead for the species *Scirpus californicus*, removing 74.20% of the heavy metal from the medium. While for the species *Chlorella sp.* significant removal values were obtained by removing more than 70% of the heavy metal in the three concentrations used in the tests. From which, it was concluded that the plant species *Scirpus californicus* and the microalgae *Chlorella sp.* They can be considered for use in artificial wetlands as heavy metal purifying agents, recommending an adaptation treatment of the *Scirpus californicus* species, and maintaining a clean and disinfected environment to avoid contamination by the microalgae *Chlorella sp.*

Keywords: <REMOVING HEAVY METALS>, <COLLICA (*Scirpus californicus*)>, <*Chlorella sp.*>, <CADMIUM>, <LEAD>, <ATOMIC ABSORPTION>, <ARTIFICIAL WETLANDS>, <ALGINATE>.



INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

El uso del agua en las industrias textiles, de pinturas, de plástico, de cuero, de fabricación de ciertas prendas de ropa, entre otras; ha causado que la misma sea contaminada gravemente con metales pesados y como consecuencia de esto, no pueda volver a ser apta para el consumo humano, animal o vegetal; debido a que si es usada en actividades como la agricultura o ganadería, sin un previo tratamiento para disminuir las concentraciones de los metales pesados presentes en estas aguas, pueden provocar un potencial riesgo en la salud y sostenibilidad de la cadena trófica (Londoño Franco, Londoño Muñoz y Muñoz Garcia, 2016, p.147). Es decir, que, si no recibe un adecuado tratamiento de purificación para ser devuelta a su efluente natural, puede llegar a ser un gran problema de contaminación.

Por tal motivo se han desarrollado técnicas de purificación y remediación de este recurso vital, mencionas por (Caviedes Rubio *et al.*, 2015, p.75) como “técnicas convencionales” las cuales son: filtración por membrana, electrodiálisis, osmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración, etc. ya que son los tratamientos más comúnmente usados para el tratamiento.

Muchas de estas técnicas deben ser desarrolladas con un capital de inversión considerable que las empresas, municipios o entidades encargadas del cuidado del agua deben aportar, para así poder aplicarlas y mantener el agua en condiciones óptimas, sujetadas a los estándares de calidad que impongan las normas de los diferentes campos de uso de la misma. Además, para poder hacer un correcto uso y obtener el máximo rendimiento de estas técnicas denominadas convencionales, se requiere de personal capacitado, que tenga un conocimiento elemental del funcionamiento de las técnicas mencionadas, para su respectiva operación y mantenimiento (Patiño Gómez, 2012, p.33).

Por tal motivo es que en muchas ocasiones por falta de recursos y de información con respecto a los tratamientos convencionales, no se procede al respectivo tratamiento de las aguas contaminadas. Este hecho se da con mayor incidencia en los sectores rurales, o sectores alejados de las ciudades donde por falta de control y regulación de la calidad del agua, se ven afectados por el desecho de aguas residuales sin previo tratamiento por parte de las pequeñas industrias o comercios que debido a su labor generan este tipo de contaminantes.

Justificación de la investigación

El agua al ser un recurso natural vital, tanto de la especie humana, vegetal y animal, debe ser preservada y cuidada de la manera más eficiente posible; para así garantizar que este recurso se

encuentre en óptimas condiciones para su uso en las diferentes áreas (uso agrícola, uso doméstico, uso industrial, etc.) y a su vez por las diferentes especies. Por tal motivo el agua debe mantenerse con parámetros de calidad adecuados para poder consumirla sin problema alguno.

Uno de las problemáticas importantes de contaminación que se presenta en el agua, es la contaminación con metales pesados, los cuales al ser elementos que en concentraciones muy elevadas, son nocivos para los seres vivos y que al presentarse de esta manera en el agua, pueden causar enfermedades e intoxicaciones muy graves (Reyes *et al.*, 2016, p.67).

En los últimos años el uso de recursos naturales como plantas, microorganismos y residuos orgánicos para el proceso de remoción de metales pesados del recurso agua se han visto como una buena alternativa; (Caviedes Rubio *et al.*, 2015, p.75) los describe como “tratamientos no convencionales” ya que son métodos nuevos e innovadores, que buscan el uso de los recursos mencionados, para ofrecer una alternativa con bajo coste económico, eficacia de remoción, amigable con el medio ambiente y de una gran facilidad de aplicación; permitiendo así que el recurso agua pueda mantenerse en condiciones óptimas.

En el campo de los tratamientos no convencionales, en el área del uso de flora vegetal como recurso, se han usado una gran variedad de especies herbáceas en base a la capacidad que la especie vegetal posee para remover determinado metal pesado, presentado diferentes rendimientos en cada planta. A su vez en el área de microorganismos han sido varios los sujetos de estudio, entre bacterias, microalgas, hongos, observando de la misma manera diferentes capacidades de remoción de determinados metales pesados por ciertos microorganismos.

La presente investigación se enfocó en el estudio de los tratamientos no convencionales, concretamente el uso de especies vegetales y microalgas, para observar su capacidad de remoción de determinados metales pesados mediante la aplicación de agua sintética, para lograr determinar si su uso en humedales artificiales es factible.

Objetivos de la investigación

General

Evaluar la capacidad de remoción de metales pesados por parte de microalga *Chlorella sp.* y totora *Scirpus californicus* para su uso en humedales artificiales.

Objetivos Específicos

- Realizar la recolección, obtención y tratamiento de las especies vegetales *Scirpus Californicus* y microalgas *Chlorella sp.* para su valoración.
- Realizar ensayos con el uso de *Scirpus Californicus* y los microorganismos *Chlorella sp.*, en 3 concentraciones diferentes, mediante aplicación de agua sintética.
- Evaluar la capacidad de remoción de los metales pesados con las plantas y microorganismos seleccionados.
- Revisar la mayor eficiencia de remoción de metales pesados obtenida, para el diseño del humedal artificial.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de la Investigación

En los últimos años los estudios de aguas contaminadas con metales pesados y los tratamientos alternativos a utilizar en su remediación han tomado relevancia considerable, esto debido a que las actividades industriales y demográficas se han incrementado y como consecuencia este recurso se ha visto gravemente contaminado, buscando así alternativas de tratamiento económicas, de fácil operación que permitan su aplicación pronta, para devolver así, la calidad esencial del agua para el uso de las diferentes especies.

En la investigación realizada por Kumar, Acharya, Pradhan, Kumar Patra “Plantas de *Poaceae* como potenciales fito remediadores de metales pesados y eco-restauración en sitios mineros contaminados” Se destaca el potencial uso de la fitorremediación con el uso de las plantas de tipo gramíneas, *Poaceae*, la cual se identificó como una especie de planta con buena capacidad de remoción de metales tóxicos presentes en el ecosistema generados por la actividad minera.(Patra *et al.*, 2021, p.2).

Arshad, Imran en su investigación “Materiales vegetales de desecho autóctono: un enfoque fácil y rentable para la eliminación de metales pesados del agua” recalca el uso de desechos de plantas del ecosistema regional tales como: cáscara de almendra, cáscara de nuez, residuos de madera de neem, eucalipto, piña de pino y aserrín, como biosorbentes para eliminar metales pesados del agua. Donde se resalta que el uso de material orgánico en el proceso de remoción de metales pesados del agua presenta grandes ventajas al tener un bajo costo de operación, poseer selectividad mejorada para determinados metales por parte del sustrato orgánico y la reutilización del biomaterial, a comparación de los métodos fisicoquímicos convencionales, tales como: reducción química, tratamiento electroquímico, intercambio iónico y precipitación química (Arshad y Imran, 2020, p1).

La investigación de Anastopoulos & Kyzas “Progreso en la biosorción por lotes de metales pesados en algas” han realizado una recopilación de información del uso de algas (micro y macro) en el proceso de adsorción (biosorción al usar material orgánico), la cual es una tecnología altamente efectiva para aplicar en la purificación de aguas residuales, donde la facultad para remover los metales pesados es gracias a las macromoléculas presentes en las algas como

carboxilos, fenoles, hidroxilos, carbonilos, los cuales pueden formar complejos de coordinación con los metales pesados y de esta manera ser extraídos del agua. Este método a su vez presenta bajo costo de aplicación en comparación con métodos tales como coagulación, oxidación avanzada y separación por membrana (Anastopoulos y Kyzas, 2015, p.8).

En cuanto al uso de microalgas en el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados (Saavedra Concha, 2020, p.26), expresa en su investigación la efectividad de las especies *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus almeriensis* y *Chlorophyceae sp* en la remoción de los elementos As, B, Cu, Mn y Zn; elementos que están presentes como contaminantes en el agua del río Loa. Dando como resultados altas tasas de eliminación, destacándose los procesos frente a Cu, (88%, *Chlorophyceae sp.*, pH 7.0, 10 min), Mn (99,4%, *C. vulgaris*, pH 7,0, 180 min) y Zn (91,9% *Chlorophyceae sp.*, pH 5,5, 180 min), determinando que tanto el pH como el tiempo de contacto influyen considerablemente en la remoción de los metales pesados mencionados.

En la investigación realizada por (Ruiz-López *et al.*, 2010, p.27), menciona que, entre las alternativas estudiadas para dar tratamiento a efluentes contaminados, se encuentra el uso de los sistemas de humedales artificiales. Esta técnica está siendo utilizada en diferentes países para el tratamiento de aguas residuales, que contienen diferentes metales, debido a su facultad de remover distintos metales dependiendo del organismo vegetal usado, con lo cual existe variedad en cuanto a la capacidad de remoción por este sistema. En este caso el autor utilizó plantas acuáticas (*Typha latifolia*) para realizar un análisis a escala de laboratorio para el nivel de remoción de cadmio y zinc, donde se obtuvieron como resultados valores de remoción del orden del 90% de los metales pesados mencionados. Además, se resaltó que la especie vegetal utilizada presentó capacidad de resistencia a la acidez que presentan las aguas contaminadas.

En la investigación de (Oquendo Andino, 2016, p.1) se realizó la propuesta de implementación de humedales artificiales en la laguna de Yahuarcocha para tratar metales pesados, en este caso el plomo (Pb), con el uso de la especie vegetal *Typha latifolia*. Esta especie fue previamente analizada su capacidad de remoción de plomo del agua a nivel de laboratorio, con la aplicación de solución de nitrato de plomo con concentración conocida, al sustrato en cual se encontraba plantada la especie vegetal, dando como resultados un porcentaje de remoción del 62%. Esta evidencia permitió el planteamiento de realización de humedales artificiales en puntos estratégicos de la laguna de Yahuarcocha.

Como conclusión de las investigaciones recopiladas se puede afirmar que, en cuanto al uso de especies vegetales, microorganismos y/o de desechos de especies vegetales en la remoción de metales pesados, se han establecido como un método alternativo muy efectivo con respecto a los métodos tradicionales de tratamiento, habiendo obtenido ventajas a la hora de su aplicación en reducción de costos e impactos ambientales, facilidad de instalación y mejor eficiencia de remoción. Además, se evidencia que el uso de humedales artificiales se presenta como un método factible con el uso la especie vegetal totora (*Typha latifolia*) para la remoción de los contaminantes del agua. Como punto final también se considera que el uso de microorganismos tales como las microalgas, presentan una capacidad de remoción significativa de varios contaminantes, agregando que no solo benefician a la eliminación de los metales pesados, sino también a otros parámetros analizados del recurso agua.

1.2. Marco Conceptual o Glosario

1.2.1. El agua como recurso vital

El agua es considerada como un recurso natural indispensable, el cual se encuentra en 2,8% dulce y el 97,2% restante en agua salada. Además, forma parte de toda la materia viva, y el ser humano ha usado este recurso para actividades de agricultura, industria, entre otras. No es un alimento, sin embargo, es considerada como uno de los componentes indispensable en la dieta del ser humano (Bravo, 2006, p.179).

Además, el agua es un recurso que tiene un ciclo de renovación, sin embargo, es finito. Pese a que se evaporan cerca de 505.000km³ de agua de los océanos agua, estos al precipitar nuevamente en el océano, no permite que sea usada como agua dulce (Cirelli, 2012, p.148).

1.2.2. Metales pesados

Los metales en general según (Reyes Navarrete et al., 2012, p.1) “se definen en base a sus propiedades físicas en el estado sólido como son: alta reflectividad, alta conductividad eléctrica, alta conductividad térmica, propiedades mecánicas como fuerza y ductilidad.”

En cuanto al termino “metales pesados”, el uso científico más antiguo de este término se lo puede hallar en el libro “Inorganic Chemistry” del autor ingles Niels Bjerrum publicado en 1936, en donde su definición se basa en propiedad física de la densidad, cuando el metal se encuentra en

su forma elemental, definiendo como metales pesados a aquellos metales que presentan una densidad mayor a 7g/cm^3 (Smith y Nordberg, 2015, p.16).

En la actualidad se puede definir como metal pesado a aquel elemento químico con un peso atómico mayor a 20 y con una densidad mayor a 4g/cm^3 , el cual es también tóxico a una baja concentración, tales como: aluminio (Al), cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb) entre otros (Londoño Franco, Londoño Muñoz y Muñoz Garcia, 2016, p.147).

Los metales pesados se encuentran presentes de manera natural en las superficies terrestres y acuáticas en concentraciones que no presentan ningún efecto adverso o peligro para las diferentes especies. Los metales y metales pesados se pueden encontrar en las siguientes formas como lo indica (Londoño Franco, 2014, p.34):

- En la solución que se generan en el suelo terrestre, en cantidades muy pequeñas.
- En la fracción intercambiable, en cantidades importantes.
- En la fracción absorbida, ligada o quelada.
- En la fracción de los minerales caracterizados como secundarios, arcillosos y en los óxidos metálicos insolubles.
- En el porcentaje de minerales primarios

1.2.3. Características generales, usos y peligros a la salud de algunos metales pesados

Cadmio: Es un elemento químico con valor 48 de número atómico, 112 de masa atómica y con una densidad relativa de 8. Muy difícil de ser encontrado en estado puro en la naturaleza puesto que posee afinidad con el metal zinc, este elemento no está presente en estado libre y el mineral greenockita (sulfuro de cadmio) es el único mineral compuesto por este metal. Es por esta razón que todo el metal cadmio que se produce, es el resultado de la fundición y refinado de los minerales de zinc donde se obtiene como subproducto de este proceso. Los países más importantes que lo producen son: Estados Unidos, México, Canadá, Bélgica, Australia y la República de Corea (Londoño Franco, Londoño Muñoz y Muñoz Garcia, 2016, p.148).

El uso del cadmio en la industria se debe en gran medida a las propiedades electroquímicas que posee y a la gran resistencia a la corrosión. Su uso está principalmente en la galvanización, galvanostelia y galvanoplastia, así como pigmentos para crear tintes, pinturas en diferentes colores usando sulfuro de cadmio para producir color amarillo brillante, naranja y rojo con el uso selenito de cadmio. Puede encontrarse en llantas, radiadores para automóviles, conductores

eléctricos, productos de cloruro de polivinilo (PVC), calefactores y componentes electrónicos (Esmeralda et al., 2012, p.200).

En cuanto a efectos sobre la salud, se conoce que, al ingerir cadmio en agua o alimentos contaminados, en concentraciones cercanas a 15 ppm puede causar los siguientes síntomas: náuseas, vómitos, dolores abdominales y cefalea. Además, la exposición baja pero continua a este elemento puede traer principalmente consigo daños en la función renal, huesos y pulmones. Se almacena principalmente en los riñones y el hígado; con una media de retención en el cuerpo muy larga causando una desintoxicación lenta (Esmeralda et al., 2012, p.201).

Arsénico: Elemento químico con un número atómico de 33 y peso atómico 74. Se lo puede localizar en la naturaleza en forma de mineral FeAsS (arsenopirita). Fácil de romper y de baja ductilidad. Además, se lo puede localizar en la naturaleza en la superficie de las rocas, combinado con azufre o metales como Mn, Fe, Co, Ni, Ag o Sn (Londoño Franco, Londoño Muñoz y Muñoz Garcia, 2016, p.148).

Este metal es usado como sales de arsénico en tratamiento de maderas, vidrio, cerámica, pinturas, pigmentos, productos agrícolas (pesticidas, herbicidas), anticorrosivos. En alimentación animal como factor de crecimiento, gases venenosos de uso militar, etc. (Londoño Franco, Londoño Muñoz y Muñoz Garcia, 2016, p.148).

Se conoce además el uso de compuestos arsenicales dentro de la medicina, un ejemplo de ello es el arsenito de potasio al 1%, también conocida como solución de Fowler la cual que se utilizó para tratar enfermedades como la anemia, reumatismo y colera (Carabantes y De Fernicola, 2003, p.367).

En cuanto a sus efectos nocivos en la salud humana, por la ingestión de agua contaminada se registró las primeras evidencias en 1888 por el investigador Hutchinson, donde en sus estudios relaciono la presencia de arsénico en el agua con lesiones en la piel como hiperpigmentación, hiperqueratosis y cáncer cutáneo. Esto se comprobó al realizar estudios poblacionales expuestos a arsénico donde presentaban este tipo de lesiones en la piel. Se conoce también que la ingestión de agua con arsénico puede llevar a un incremento de abortos espontáneos en las mujeres y de recién nacidos muertos (Carabantes y De Fernicola, 2003, p.368).

Plomo: Elemento químico con número atómico 82, de peso atómico 207, es un elemento que forma muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos. Los óxidos y tetraetilo de plomo son los compuestos más importantes en la industria, forma aleaciones con estaño, cobre, arsénico,

bismuto, cadmio y sodio. Además el plomo al ser proceder de la división radioactiva, se encuentra en metales de uranio y de torio (Londoño Franco, Londoño Muñoz y Muñoz Garcia, 2016, p.149).

El uso del plomo en las diferentes industrias se lo realiza en los tres estados de la materia, además se calcula que un 40% del plomo se utiliza en forma metálica, 25% en aleaciones y un 35% en forma de compuesto químico. En algunos casos es usado de manera casera e inapropiada en trabajos informales de acumuladores eléctricos por extracción secundaria de plomo a partir de baterías recicladas. Es usado en el revestimiento de cables, en tuberías (viviendas viejas), protección de materiales expuestos a la intemperie, fabricación de municiones, como aditivo de la gasolina industria automotriz, pigmentos para pinturas y barnices, fabricación de cristales, esmaltado de cerámica, la soldadura de latas, instrumentos de pesca y caza, protector de rayos X y radiación gamma (Rodríguez Rey et al., 2016, p.255).

En cuanto a la exposición al plomo, se conoce que puede afectar adversamente a los sistemas nervioso, inmunológico, reproductivo y cardiovascular. La absorción de este se produce en gran medida por medio de los sistemas respiratorio y gastrointestinal; esta absorción se puede incrementar si existen deficiencias de hierro o calcio. Además, la vida media del plomo dentro del cuerpo humano es muy persistente, ya que puede permanecer en el cuerpo por un período de 20 a 30 años en los tejidos del cuerpo humano y puede movilizarse en situaciones como embarazo, hipertiroidismo y edad avanzada. Se conoce también que puede afectar al feto en el período de embarazo el cual daña la función neurocognitiva en bebés y niños pequeños generando problemas de conducta, disminución del coeficiente intelectual y del aprendizaje (Azcona Cruz, Ramírez Ayala y Vicente Flores, 2015, p.73).

Cromo: Elemento químico de numero atómico 24 con peso atómico 51.99; es un elemento duro, blanco y brillante, el cual se presenta en los estados de oxidación de II a VI, donde el estado hexavalente (cromatos y dicromatos) son fuertemente oxidante y más tóxico. Tanto el estado hexavalente como trivalente del cromo son los dos estados de oxidación que se encuentran más frecuentes en la naturaleza y a su vez fácilmente interconvertibles entre sí, esta interconversión depende de condiciones como: pH del medio, condiciones aerobias o anaerobias, y temperatura (Jacinto Soto, 2006, p.60).

En cuanto a su uso cada año se utilizan grandes cantidades de cromo o materias primas que contienen al metal, para la elaboración de diversos productos en industrias como:

- Industria siderúrgica
- Industria galvanotecnia

- **Industria de curtiembre**

En la industria de la curtiembre el cromo es utilizado como alumbres y sulfatos de cromo, para el curtido de pieles en donde se generan miles de toneladas de desechos sólidos, potencialmente tóxicos debido al alto contenido de cromo (Jacinto Soto, 2006, p.61).

Los efectos de este elemento en la salud de las personas son mucho más tóxicos cuando se expone al cromo hexavalente a comparación del cromo trivalente, el cual es conocido como potencial cancerígeno cuando se está en contacto directo con el metal. El cromo hexavalente puede absorberse mediante vía respiratoria, cutánea y digestiva; estos pueden llegar al interior de los eritrocitos, se combinan con la fracción globina de la hemoglobina, y se produce una reacción en donde se reducen posteriormente a estado trivalente. La principal vía de eliminación del cromo del cuerpo humano es la renal (80%). En cuanto a la ingesta de este metal pesado puede producir dolores abdominales fuertes, vómitos, diarreas y hemorragias intestinales que pueden provocar la muerte o una insuficiencia renal aguda (Jacinto Soto, 2006, p.90).

1.2.4. Contaminación del agua con metales pesados

La contaminación del agua, en años recientes, se posiciona como uno de los problemas más importantes que están afectando a la humanidad de este siglo ya que se estima que la tasa de contaminación del agua en forma general es de alrededor de 200 millones de metros cúbicos diarios. Ante tales cifras en septiembre de 2015, la Asamblea general de la ONU, ha establecido como objetivo primordial: “asegurar la disponibilidad y la gestión sostenible de agua y saneamiento para todos”, dando al agua un carácter prioritario para todos los países miembros (Reyes et al., 2016, p.66).

En cuanto a la contaminación del agua por metales pesados, esta se ha generado principalmente por la vía antrópica, esto debido a la implementación de varios metales en los procesos industriales, lo que ha generado que grandes concentraciones de metales pesados extremadamente tóxicos, sean emitidos a la atmósfera y vertidos en los ambientes acuáticos y terrestres. Las principales fuentes de emisión de contaminantes al agua vienen siendo las aguas residuales que se generan de diferentes tipos de industrias, las plantas térmicas, las fundiciones y las acerías, dando lugar a que se produzcan cantidades cercanas a 109 Kg/año de metales traza las que se han vertido y causado la contaminación (Caviedes Rubio et al., 2015, p74).

Tabla 1-1: Principales actividades industriales generadoras de metales pesados

Industria	Metales	Contaminación derivada
Minería de metales ferrosos	Cd, Cu, Ni, Cr, Co, Zn	Drenaje de ácido de mina, relaves, escombreras
Extracción de minerales	As, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn	Presencia en las menas como en los subproductos
Fundición	As, Cd, Pb, Ti	Procesado del mineral para obtención de metales
Metalúrgica	Cr, Cu, Mn, Pb, Sb, Zn	Procesado térmico de metales
Aleaciones y aceros	Pb, Mo, Ni, Cu, Cd, As, Te, U, Zn	Fabricación, eliminación y reciclaje de metales, Relaves y escoriales
Gestión de residuos	Zn, Cu, Cd, Pb, Ni, Cr, Hg, Mn	Incineración de residuos o en lixiviados
Corrosión Metálica	Fe, Cr, Pb, Ni, Co, Zn	Inestabilidad de los metales expuestos al medio ambiente
Galvanoplastia	Cr, Ni, Zn, Cu	Los efluentes líquidos de procesos de recubrimiento
Pinturas y pigmentos	Pb, Cr, As, Ti, Ba, Zn	Residuos acuosos procedentes de la fabricación y el deterioro de la pintura vieja
Baterías	Pb, Sb, Zn, Cd, Ni, Hg	Fluido de la pila de residuos, la contaminación del suelo y las aguas subterráneas
Electrónica	Pb, Cd, Hg, Pt, Au, Cr, As, Ni, Mn	Residuos metálicos acuosa y sólida desde el proceso de fabricación y reciclaje
Agricultura y ganadería	Cd, Cr, Mo, Pb, U, V, Zn, As, Mn, Cu	Contaminación de escorrentía, aguas superficiales y subterráneas, la bioacumulación planta

Fuente: Caviades Rubio et al. 2015.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

1.2.5. Salinidad en aguas residuales

Las aguas residuales presentan salinidad debido a varios factores, uno de ellos es el uso de agua de mar para actividades como la descarga de inodoros, debido a la escasez de agua dulce que puede existir en el sector; tal es el caso de Hong Kong en donde en los años de 2008 y 2009 se usaba cerca de 750000 m³/día de agua de mar. El otro factor es el uso de agua de mar y sales inorgánicas en diferentes industrias tales como fabricación de conservas de productos marinos y vegetales, las cuales aportan para un incremento en el porcentaje de salinidad del agua a tratar (Lorenzo, 2012, p.3).

La presencia de sal en concentraciones muy elevadas (mayores a 24g/L), provoca que los sistemas biológicos diseñados para el tratamiento de las aguas residuales, no puedan efectuar su trabajo correctamente y como consecuencia un ineficiente tratamiento de las aguas residuales (Lorenzo, 2012, p.68). Además, se conoce que, en muchos de los sectores rurales, los cuales son dedicados a la agricultura, en la mayoría de los casos usan aguas residuales provenientes de los

sistemas de tratamiento de las mismas, creando así un peligro potencial a largo plazo al afectar al suelo y los cultivos al ser regados con aguas que no cumplen los requisitos para su uso (Ontiveros et al., 2013, p136).

En la investigación de Lorenzo (2012, p.87), en los diferentes experimentos realizados, los índices de salinidad idónea fueron aquellos que se encuentran en concentraciones menores o iguales a 10g/L, puesto que no afectaba a los agentes biológicos a usar en los sistemas de tratamiento establecidos, donde además se resaltó que a concentraciones del 1% de NaCl en las aguas a tratar el sistema de tratamiento no se vio perjudicado sino que, al contrario, mostro un efecto positivo.

1.2.6. Técnicas de tratamiento para remoción de metales pesados

La clasificación de las técnicas de tratamiento de metales pesados en las aguas residuales en general depende de varios factores, (Caviedes Rubio et al., 2015, p.75) las ha clasificado en dos grupos siendo las técnicas convencionales, a aquellas técnicas que habitualmente se emplean para la remoción de estos contaminantes las cuales se caracterizan por ser usadas desde hace mucho tiempo; y las no convencionales, las cuales son procesos innovadores para la eliminación de metales en aguas residuales generalmente de origen industrial debido principalmente a que se prioriza el uso de materia orgánica vegetal.

1.2.7. Técnicas Convencionales

En cuanto a estas técnicas (Caviedes Rubio et al., 2015, p.76) menciona técnicas tales como: filtración por membrana, electrodiálisis, osmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración, intercambio iónico, entre otras.

Electrocoagulación: Este método consiste en inducir corriente eléctrica en el agua mediante el uso de placas metálicas de hierro o aluminio como electrodos, que, conectadas a una fuente de corriente, aportan iones desestabilizadores de partículas coloidales en el proceso, aplicando los principios de la coagulación floculación, mediante el uso de corriente eléctrica, la cual reemplaza a los compuestos químicos que se utilizan en otros tratamientos (Caviedes Rubio et al., 2015, p.79).

Coagulación-Floculación: Dentro de este método es importante considerar la dosis química correcta para el tratamiento y el tiempo de mezcla del mismo para obtener el mejor rendimiento. Este método consiste en desestabilizar el coloide y posteriormente aglomerarlo; en la primera etapa la coagulación se encarga de eliminar la doble capa del coloide y en la floculación estos se

aglomeran mediante la atracción de partículas con el aglutinamiento de los floculantes. Los químicos que mayormente se utilizan son el alumbre ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$), cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$), sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y cal ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) (Caviedes Rubio et al., 2015, p.80).

1.2.8. Técnicas No Convencionales

Adsorbentes de Bajo Costo y Nuevos Adsorbentes: Dentro de los nuevos materiales a usar para este método se encuentran varios materiales biológicos tales como levaduras, hongos, algas, bacterias; esto debido a que presentan un buen rendimiento bajo coste de operación y cantidades grandes de material disponibles. Estos materiales cumplen el proceso de adsorción el cual es un proceso de transferencia de masa, en el cual una sustancia se transfiere desde la fase líquida a la superficie de un sólido (Caviedes Rubio et al., 2015, p.82).

Adsorción de metales pesados por materiales naturales agrícolas e industriales: Dentro de este campo se han abierto grandes áreas de investigación en las cuales se busca aprovechar los residuos que cultivos pueden generar como fuente de posibles adsorbentes muy accesibles y económicos, para ser usados en procesos de eliminación de metales pesados, ofreciendo una alternativa de bajo costo comercial en comparación al carbón activado, el cual pese a ser un excelente material, tiene un costo elevado (Caviedes Rubio et al., 2015, p.83).

Fitorremediación: Esta técnica se caracteriza por usar microorganismos del suelo y diferentes plantas para reducir los contaminantes presentes. Esta técnica ofrece ventajas puesto que puede ser ampliamente aplicable debido a la disponibilidad de material y como consecuencia de ello ser de bajo coste para su obtención y aplicación. Además de que estas tecnologías presentan una buena eficiencia de remoción, han sido también impulsadas gracias a la buena aceptación del público en general, lo cual ha causado una mayor investigación de las mismas (Caviedes Rubio et al., 2015, p.83).

1.2.9. Técnicas de determinación de metales pesados en el agua

Para la determinación de estos elementos se han utilizado diferentes métodos como la fluorescencia de rayos x por reflexión total, un método nuevo con el cual se puede determinar Cr, Mn, Fe, Co, Ni Cu, Zn y As al mismo tiempo y a niveles de trazas en la muestra a analizar. Otro de ellos es la voltamperometría de redisolución anódica, método que consiste en el uso de tres electrodos (el de trabajo, referencia y el auxiliar), donde el electrodo de trabajo aplica el potencial

deseado y ejecuta la transferencia de electrones, donde el metal deseado a medir debe poder ser oxidado o reducido sobre el electrodo para su cuantificación. Bajo este método se han determinado los metales pesados Zn, Pb y Cu en licores (Chávez Vallarino, 2011, p.10).

Otro de los métodos es el uso del compuesto ditizona el cual, a pH adecuados, puede formar compuestos con color con 21 elementos metálicos de la tabla periódica, lo cual lo hace útil para su trabajo en el rango visible de la espectrofotometría, sin embargo, para obtener resultados precisos y sin interferencias es esencial el uso de agentes enmascarantes (Acuña Ruiz, 2012, p.13).

La espectrofotometría de absorción atómica es uno de los métodos mayormente usados para la detección de metales pesados en muestras de agua, gracias a que es una técnica extremadamente sensible y específica gracias a que las energías de transición electrónica son únicas para cada elemento; al igual que las líneas de absorción atómica son estrechas (0,002 a 0,005 nm) (Gallegos, Vega y Noriega, 2012, p.20).

1.2.10. Humedales Artificiales

Empezando desde la definición de humedal natural, se denomina así a toda zona o área que se encuentra inundada por aguas dulces o saladas, que pueden estar saturadas de agua constantemente o por ciertos tiempos parciales, las cuales tienen como característica poseer una vegetación que está adaptada para vivir a las condiciones que presenta el medio. Funcionan además como ecosistemas ribereños (cerca de los ríos) participan en el ambiente como escurridero de nutrientes de tierras altas y, por lo tanto, estos humedales naturales son considerados como tierras de amortiguamiento importantes para la interacción que existe entre tierras agrícolas y arroyos (Arteaga Cortez et al., 2019, p.323).

Dentro del campo y los lugares de cultivo a grandes cantidades para mitigar el problema de contaminación con plaguicidas, se usan técnicas como barreras vegetativas (franjas de vegetación densa, que funcionan como una barrera porosa filtrante para el agua de escorrentía), bordes de campo, zanjas con vegetación, y a los humedales tanto naturales como los creados (artificiales), como filtro y separador de sus cultivos. De esta forma los humedales artificiales proporcionan una superficie con vegetación creciente y desarrollo de microorganismos, los cuales son los encargados de la filtración y adsorción de los contaminantes (Arteaga Cortez et al., 2019, p.332).

En base a lo expuesto se entiende que los humedales artificiales son sistemas de fitodepuración-fitorremediación de aguas, tanto residuales como de escorrentía natural. Este sistema de humedal

artificial consiste en que las plantas macrófitas enraizadas en el lecho de cultivo, mediante las interacciones físicas, químicas y biológicas que tenga con el afluente de agua pueda ser depurada progresiva y lentamente (Delgadillo et al., 2010, p.7).

Según Delgadillo, los humedales artificiales construidos se han utilizado para tratar una amplia gama de aguas residuales como:

- Aguas domésticas y urbanas.
- Aguas industriales, incluyendo fabricación de papel, productos químicos y farmacéuticos, cosméticos, alimentación, refinerías y mataderos entre otros.
- Aguas de drenaje de extracciones mineras.
- Aguas de escorrentía superficial agrícola y urbana.
- Tratamiento de fangos de depuradoras convencionales, mediante deposición superficial en humedales de flujo subsuperficial donde se deshidratan y mineralizan (García 2004; citado por Delgadillo et al., 2010, p.7).

Los humedales artificiales se han convertido en un método alternativo atractivo para utilizar en el tratamiento de aguas, debido a que son capaces de fijar los contaminantes físicamente tanto en la materia orgánica que se encuentra en el humedal así como en el suelo del mismo; además de que los microorganismos intervienen transformando los elementos, logrando así, que los resultados de tratamiento sean consistentes, con un bajo consumo energético y con poco mantenimiento de los mismos, con lo cual pueden ser utilizados sin mayor problema (Delgadillo et al., 2010, p.8).

1.2.11. Tipos de humedales artificiales

Según Delgadillo (2010, p. 8) los humedales artificiales pueden ser clasificados inicialmente por el tipo de plantas macrófitas que se encuentran en el humedal; en este caso se pueden clasificar en aquellas que se encuentran enraizadas al sustrato del humedal o en las plantas macrófitas flotantes libres en el humedal. A partir de esta clasificación principal se presentan otras subdivisiones las cuales se detallan a continuación.

1.2.12. Humedales artificiales basados en macrófitas de hojas flotantes

En este tipo de humedal se caracterizan las plantas de tipo angiospermas donde sus órganos reproductores son flotantes o aéreos, donde las especies más utilizadas son la lenteja de agua (*Lemna sp.*) o el jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) (Delgadillo et al., 2010, p.8).

1.2.13. Humedales artificiales basados en macrófitas sumergidas

Estos humedales poseen plantas que se encuentran en la zona fótica, es decir aquellas plantas sumergidas en el agua que aun perciben la luz solar. Sus órganos reproductores son aéreos, flotantes o sumergidos: se usan comúnmente cierto tipo de helechos, numerosos musgos y angiospermas (Delgadillo et al., 2010, p.8).

1.2.14. Humedales artificiales basados en macrófitas enraizadas emergentes

Son humedales en los cuales se caracteriza el uso de plantas perennes que crecen en suelos anegados ya sea por cierto tiempo o constantemente. Estos humedales también pueden ser clasificados según el flujo de agua que presenten dentro del sistema, pueden ser de flujo superficial o de flujo subsuperficial (Delgadillo et al., 2010, p.8).

1.2.15. Humedales artificiales de flujo superficial

Conocidos también como FWS por sus siglas en inglés (free wáter surface). Este tipo de humedales artificiales se caracterizan por tener poca profundidad que oscila entre los 0,3m a 0,6m; comúnmente son construidos como especie de canales o de estanques en donde sus paredes están recubiertas por algún material impermeable, pueden poseer dispositivos de control de flujo en cuanto a su entrada y salida. En cuanto al recorrido del agua, esta se realiza por medio de los tallos de las plantas que están enraizadas a un sustrato muy sólido con baja conductividad de agua, por lo cual no permite su recorrido a través de las raíces de las plantas (Fernández et al., 2005, p.80).

Además este tipo de humedales se caracteriza por tener una combinación de espacios con vegetación acuática flotante junto con especies vegetales sumergidas y otras partes con espacios de agua a la vista sin vegetación de manera alternada, emulando a lo que ocurre comúnmente en el espacio natural (Fernández et al., 2005, p.80).

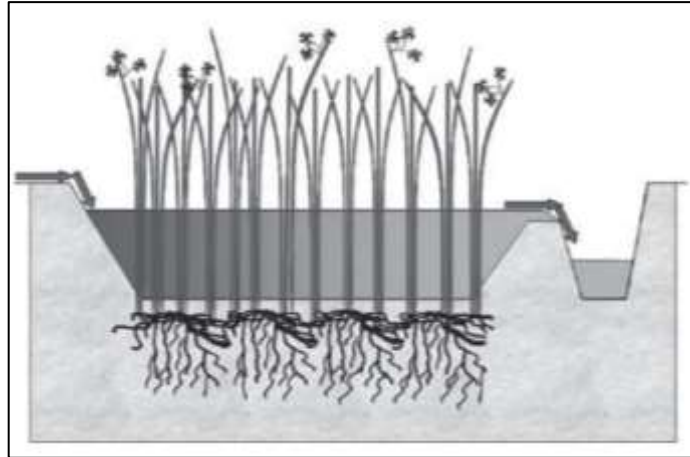


Figura 1-1: Humedal de flujo superficial.

Fuente: Delgadillo et al. 2010, p. 9.

1.2.16. Humedales artificiales de flujo subsuperficial

Conocidos también como SsF por sus siglas en inglés (Sub-surface Flow), estos sistemas son diseñados al igual que los de flujo superficial ya que cuenta con paredes impermeables, dispositivos de control de flujo y las debidas canalizaciones de los mismos (Fernández González et al., 2004, p.81). En estos sistemas el flujo del agua se realiza por debajo de la superficie, por el medio granular, es decir, que pasa por el sustrato en el que se encuentran los rizomas de las especies vegetales existentes en el humedal artificial, en el cual la profundidad del agua es cercana a los 0,6m. Este humedal puede ser de dos tipos: humedal de flujo subsuperficial horizontal y humedal de flujo subsuperficial vertical (Delgadillo et al., 2010, p.9).

1.2.17. Humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal

Este tipo humedal también contienen una membrana impermeable el cual ayuda a que el agua a tratar no entre en interacción con otros elementos ajenos al humedal artificial. Además ha sido el que mayor uso ha tenido, sobre todo en Europa gracias a las investigaciones de Kickuth en 1977 y Seidel en 1967 (Delgadillo et al., 2010, p.10).

El sustrato utilizado generalmente está compuesto por tierra o arena y grava que permitan el desarrollo normal de las raíces de las especies plantulares al igual que el flujo del agua. En estos tipos de humedales el agua que ingresa pasa primeramente por una zona de amortiguación compuesta por grava de grosor alto (generalmente entre 50mm-100mm), posteriormente pasa por el medio granular donde se desarrollan las raíces de las especies vegetales y nuevamente ingresan al medio de amortiguamiento para salir por un tubo de drenaje cribado (Delgadillo et al., 2010, p.10).

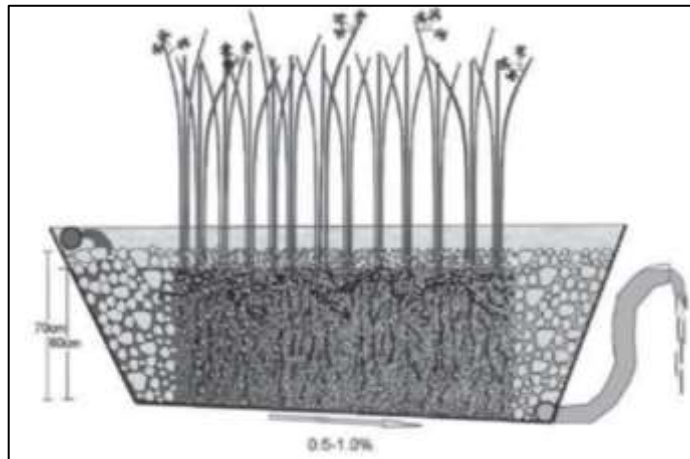


Figura 2-1: Humedal subsuperficial de flujo horizontal.

Fuente: Delgadillo et al. 2010, p. 10.

1.2.18. Humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical

Adicional a la clasificación anterior, esta subclasificación se debe al tipo de flujo del agua al ingresar al humedal artificial. En este tipo de humedales el agua, la cual es suministrada hacia el humedal por una tubería en el espacio superior del mismo, realiza el recorrido verticalmente ingresando por el medio poroso fino inerte (grava, arena), atraviesa el medio donde se desarrollan las raíces de las especies vegetales y finalmente pasan a una red de drenaje instalada en el fondo del humedal. Además dentro de estos sistemas se utiliza un sistema de tuberías cribadas que tiene salida a la parte superior del humedal como fuentes de aeración y favorecer las condiciones aerobias en todo el medio poroso del humedal artificial (Delgadillo et al., 2010, p.10).

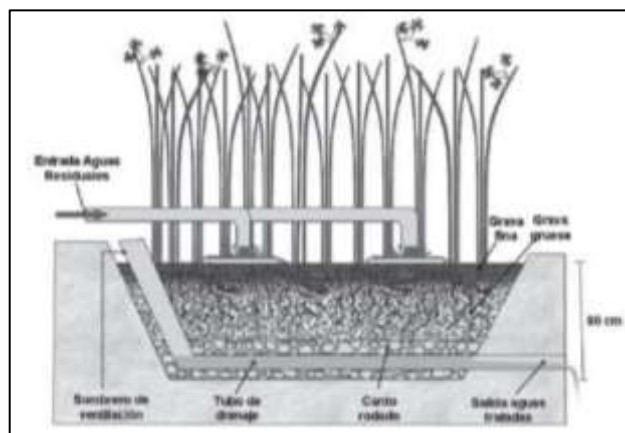


Figura 3-1: Humedal subsuperficial de flujo vertical.

Fuente: Delgadillo et al. 2010, p. 10.

1.2.19. Generalidades *Scirpus Californicus*

La especie vegetal *Scirpus Californicus*, comúnmente conocida como totora es una planta que tiene la capacidad de soportar condiciones de inundación del suelo y excesiva humedad, siempre y cuando no sean cubiertas en su totalidad con agua; es decir que esta especie soporta una fuerte carencia de oxígeno en el suelo. Al poseer estas capacidades la totora pertenece al grupo de plantas de tipo halófitas (Delgadillo et al., 2010, p.22).

Al pertenecer a este tipo de plantas la totora posee características que son idóneas para ser usada en humedales artificiales ya que puede mejorar los procesos físicos de separación de partículas, servir de soporte para el desarrollo de biopelículas de microorganismos que purifican el agua a través de procesos de degradación de tipo aerobios, es capaz de asimilar nutrientes y metales directamente y poder transportar oxígeno de sus tallos hasta sus rizomas para su uso (Delgadillo et al., 2010, p.22).

1.2.20. Taxonomía y características morfológicas de *Scirpus Californicus*

Tabla 2-1: Taxonomía *Scirpus Californicus*

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Liliopsida</i>
Orden:	<i>Cyperales</i>
Familia:	<i>Cyperaceae</i>
Genero:	<i>Scirpus</i>
Especie:	<i>Scirpus californicus</i>

Fuente: Delgadillo et al. 2010.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

En cuanto a su morfología se puede decir que tienen la capacidad de transferir oxígeno desde el aire y sus órganos fotosintéticos hacia las raíces, todo esto gracias a que su epidermis es muy delgada, evitando la resistencia al paso de nutrientes, gases y agua. Además las totoras en su estructura de tallos poseen grandes espacios intercelulares que les permite formar una red de conductos huecos en los que puede circular el aire con oxígeno con cierta facilidad (Bernabe Valerio, 2020, p.31).

Tallos: De acuerdo con Diaz y Peralta (2017, p.19) se pueden clasificar en dos:

Tallos aéreos: Son aquellos sobresalen a la superficie, encima del suelo y del agua del medio, se pueden extender de 1m a 4m de altura, son próximos entre sí, siendo varios los que puede poseer una sola planta; son de color verde intenso por la gran cantidad de clorofila que poseen. Su forma varía entre triangular y circular.

Tallos sumergidos: Es la parte del tallo que se encuentra cubierta por el suelo y el agua que los rodea, este comienza desde el rizoma maduro y posee color blanco debido a la falta de clorofila en ese sector, este tallo sumergido también es denominado chullo, el cual sirve también como alimento.

Hojas: Se presentan comúnmente en la parte inferior de la planta y forman una vaina que rodea a cada tallo de la planta en la base. Además pueden desarrollarse ocasionalmente en la superior del tallo (Bernabe Valerio, 2020, p.32).

Inflorescencia: Se pueden ubicar en la parte alta final de los tallos, de manera erecta, o de forma ramificada al tallo, las cuales se arquean debido al desarrollo de brácteas rígidas. Estas flores son en forma de espiguillas granuladas de color rojizo, agrupadas entre sí (Bernabe Valerio, 2020, p.33).

Raíces: la totora posee una raíz principal muy particular, la cual es un tallo subterráneo grueso el cual crece paralelamente al suelo de donde por un lado brotan las yemas hacia la superficie los cuales se convertirán en tallos, y por otro lado raíces adventicias que crecen hacia el suelo (Delgadillo et al., 2010, p.23).

Reproducción: Esta especie se produce vegetativamente es decir, no por semillas, sino por el desarrollo de propágulos vegetativos, los cuales poseen células que se han adaptado al medio de desarrollo y ayudan a propagar la planta (Delgadillo et al., 2010, p.24).

1.2.21. Microalgas

Las microalgas son microorganismos unicelulares los cuales poseen clorofila junto con otros pigmentos y realizan la fotosíntesis oxigénica. Las microalgas son uno de los organismos más antiguos del planeta y se estima que existen cerca de más de 100.000 especies a nivel global. Es debido a esta inmensa variedad, que para su estudio se han clasificado varias subdivisiones para poder estudiarlas, estas divisiones se basan fundamentalmente en la estructura de la microalga y

en los diferentes colores de sus pigmentos característicos; se las puede clasificar en cianofíceas, clorofíceas, criptofíceas, crisofíceas, diatomeas, dinofíceas, euglenofíceas y xantofíceas (Del Pozo Pérez y Ramos, 2012, p.248).

Al ser de un pequeño tamaño (5–50 μm en promedio) son de fácil manipulación y aprovechamiento, un ejemplo de esto es que varios organismos se alimentan en forma directa del fitoplancton compuesto parcialmente por estos microorganismos fotosintéticos, de esta manera la microalga ofrece nutrientes que en conjunto con otros microorganismos acuáticos proporcionan una excelente fuente de alimentación, en este caso primaria, para el organismo que los consume (Perenguez y Valdez, 2017, p.9).

En cuanto a las condiciones ideales de temperatura, intensidad luminosa, salinidad, nutrientes, pH, entre otras; para el cultivo de microalgas, cambian considerablemente de una especie a otra; estos parámetros fisicoquímicos, han sido determinados con anterioridad en laboratorios y nos permiten comprender las condiciones adecuadas para el crecimiento de las diferentes especies en cultivo (Perenguez y Valdéz, 2017, p.9).

1.2.22. Generalidades *Chlorella sp*

Chlorella sp. es una microalga que pertenece a la división *Chlorophyta* y a la clase de las *Chlorophyceae*. En cuanto a su morfología se caracteriza por ser de forma elipsoidal y color verde, la cual crece en forma de células simples. Esta microalga ha sido cultivada en gran manera para su uso como alimento y obtención de metabolitos, donde el sistema de crecimiento más utilizado es el crecimiento por lote, ya que su producción a gran escala reduce el riesgo de contaminación y así permite una fácil implementación. El color verde lo obtiene de los cloroplastos, que son las estructuras encargadas de realizar la fotosíntesis, requiriéndose relevantes cantidades de CO_2 , agua, luz solar; mientras que en pequeñas cantidades ciertos minerales (Infante et al., 2012, p.160).

La microalga *Chlorella sp.* fue descubierta en 1890 por el microbiólogo holandés M.W. Beijernick, donde su origen se remonta a más de 600 millones de años, lo que la convierte en una de las formas de vida más primitivas del planeta. Esta microalga presenta reproducción asexual con crecimiento en forma de células simples con un diámetro entre 2-10 μm , además en su estructura no posee flagelo (Ceibal, 2012, p.2).

Esta microalga ha sido aplicada en diferentes áreas, una de ellas el tratamiento biológico de aguas residuales, probando su efectividad en la remoción de nitrógeno, fósforo, demanda química de

oxígeno y metales pesados. Es así que su uso en aplicaciones de biorremediación ha sido bastante amplio, en forma suspendida o inmovilizada, como cepa pura o en asociación con otros microorganismos no fotosintéticos (Infante et al., 2012, p.160).

1.2.23. Alginatos

Los alginatos son biopolímeros, derivados del ácido algínico, el cual se extrae de las paredes celulares y de las zonas intercelulares de las algas de tipo feofitas (algas de color pardo), el cual tiene la función de dar flexibilidad y fuerza al tejido del alga. Este ácido se lo puede encontrar formando geles con iones Ca^{+2} , Na^+ , Mg^{+2} , Sr^{+2} y Ba^{+2} (Hernández Carmona et al., 2012, p.156). Además los alginatos, no presentan toxicidad alguna para el consumo humano, es biodegradable y gracias a la gran biocompatibilidad la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos ha aprobado para su consumo y uso en ciertas aplicaciones biomédicas (Hurtado, Selgas y Serrano, 2020, p.138).

En cuanto a su uso, se ramifica en varias utilidades, dentro de los campos de la industria farmacéutica puede servir como espesante, a pH neutro como un gel hidratante, ayuda a crear comprimidos de uso oral. Dentro de la industria química y textil puede usarse como espesante de tintas para impresión en celulosa, producir tejidos antibacterianos en conjunto con el TiO_2 , mejora las propiedades del nylon. Dentro del área de la gastronomía los alginatos ayudan a mejorar el sabor y textura de ciertos alimentos, además de su uso para las esferificaciones de diversos alimentos. En cuanto a la industria del congelamiento los alginatos permiten que se mantenga la textura suave y el descongelamiento uniforme del producto que lo contiene (Hurtado, Selgas y Serrano, 2020, p.138).

1.2.24. Uso de alginatos en inmovilización biotecnológica de células y enzimas

Dentro de este campo los alginatos han sido usados para formar esferas y con ellas lograr inmovilizar diferentes microorganismos y enzimas, que permiten usarlas de mejor manera, ya sea evitando que se filtren en el medio y sean más estables como en el caso de las enzimas, o permitan un mejor crecimiento de especies como *Bacillus Stearothermophilus* al ser fijadas con el alginato, gracias al aumento de la actividad enzimática. Además se ha usado para encapsulación de diferentes probióticos donde se obtiene mayor productividad, actividad catalítica durante un tiempo más largo y mejor control de los procesos (Hurtado, Selgas y Serrano, 2020, p.140).

Además, se conoce que el alginato posee la capacidad de remover ciertos metales pesados, mediante encapsulamiento, gracias a la afinidad iónica que presenta su estructura en sí, con este

tipo de elementos, en donde combinada con algún microorganismo que posea también la cualidad de retener metales pesados, aumentaría y mejoraría la capacidad de remoción de metales pesados del ambiente (Naula y Zuñiga, 2021, p.26).

Los estudios de inmovilización de la microalga *Chlorella sp.* en perlas de alginato de sodio para su uso en remoción de metales pesados de aguas contaminadas han demostrado una viabilidad considerable, debido a una mayor tolerancia por parte del microorganismo a los agentes tóxicos, gracias a factores como mayor concentración de nutrientes dentro de la esfera, que permite una mayor supervivencia de los microalgas y salvaguarda a los microorganismos de una exposición directa a los contaminantes (Naula y Zuñiga, 2021, p.26).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Hipótesis y Variables

La presente investigación consta de una hipótesis general y dos específicas, las cuales se presentan a continuación.

2.1.1. *Hipótesis General*

La eficiencia de remoción de metales pesados de aguas contaminadas con el uso de los microorganismos y especies vegetales seleccionadas es significativa para su uso como agentes purificadores en el planteamiento de diseño de un humedal artificial.

2.1.2. *Hipótesis Específicas*

- La especie vegetal *Scirpus Californicus* posee la capacidad natural de remoción de plomo de aguas contaminadas, mientras que, la microalga *Chlorella sp.* posee la capacidad natural de remoción de cadmio de aguas contaminadas.
- El porcentaje de remoción de metales pesados de aguas contaminadas por parte de la especie vegetal *Scirpus Californicus* (remoción de plomo) y la microalga *Chlorella sp.* (remoción de cadmio) es superior al 40%.

2.2. Identificación de Variables

Tabla 1-2: Identificación de Variables

Etapas de la investigación	Variables independientes	Variables Dependientes
Recolección y procesamiento de individuos de <i>Scirpus californicus</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sustrato 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estado de la especie vegetal. ▪ pH
Desarrollo y crecimiento de la cepa de microalga <i>Chlorella sp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Temperatura ▪ pH ▪ Medio de cultivo ▪ Porcentaje de salinidad 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estado de la microalga.
Ensayos de remoción de metales pesados con <i>Scirpus californicus</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Concentración del agua sintética a usar, preparada a partir de una solución estándar del metal pesado. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Porcentaje de remoción de metales pesados por parte de las especies seleccionadas. ▪ pH
Ensayos de remoción de metales pesados con <i>Chlorella sp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Concentración del agua sintética a usar, preparada a partir de una solución estándar del metal pesado. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Porcentaje de remoción de metales pesados por parte de las especies seleccionadas.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.3. Operacionalización de Variables

Tabla 2-2: Operacionalización de Variables

Variable	Tipo de variable	Definición	Categorización	Indicadores	Instrumentos de medición	Valor
Temperatura	Independiente	Magnitud física que indica la energía interna de un cuerpo	Desarrollo y crecimiento de la cepa de microalga <i>Chlorella sp.</i>	Calor	Termómetro	Crecimiento inicial (inoculo): 20°C Crecimiento posterior (botellón de cultivo) Ambiente (15°C – 25°C)
pH	Dependiente	Medida de acidez, neutralidad o alcalinidad en base a la cantidad de iones hidrogeno	Recolección y procesamiento de individuos de <i>Scirpus californicus</i>	Acidez Neutralidad Alcalinidad	pH-metro	5.5 – 6.9
	Independiente		Desarrollo y crecimiento de la cepa de microalga <i>Chlorella sp.</i>			7.7- 8.0
	Dependiente		Ensayos de remoción de metales pesados con <i>Scirpus californicus</i>			5.5 – 6.9

Concentración del agua sintética	Independiente	Cantidad de contaminante (metal pesado) presente	Ensayos de remoción de metales pesados con <i>Scirpus californicus</i>	Unidades de partes por millón, ppm (mg/L)	Métodos analíticos	2ppm 5ppm 10ppm
	Independiente		Ensayos de remoción de metales pesados con <i>Chlorella sp.</i>			2ppm 5ppm 10ppm
Sustrato	Independiente, cualitativa, adimensional	Superficie en la que una planta se desarrolla	Recolección y procesamiento de la especie vegetal	Referencia de Calidad	-	Excelente, Regular
Medio de cultivo/ Nutritivos	Independiente, cualitativa, adimensional	Gel o solución con nutrientes necesarios para desarrollo del microorganismo	Desarrollo y Crecimiento de la microalga <i>Chlorella sp.</i>	Referencia de Calidad	-	Excelente, Regular
Porcentaje de remoción	Dependiente	Referencia al porcentaje de metales pesados extraídos por parte de las especies orgánicas usadas	Ensayos de remoción de metales pesados con <i>Scirpus californicus</i>	Unidades de partes por millón, ppm (mg/L) o porcentaje (%)	Espectrofotómetro de absorción atómica	Determinado por las especies orgánicas y su estado.
	Dependiente		Ensayos de remoción de metales pesados con <i>Chlorella sp.</i>			

Estado de la especie vegetal	Dependiente, cualitativa, adimensional	Referencia al estado en el que se encuentra la especie vegetal	Recolección y procesamiento de la especie vegetal	Propiedades organolépticas	-	Excelente, Regular, Malo
Estado de la microalga	Dependiente, cualitativa, adimensional	Referencia al estado en el que se encuentra la microalga	Desarrollo y Crecimiento de la microalga	Propiedades organolépticas	-	Excelente, Regular, Malo

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.4. Tipo y Diseño de investigación

La presente investigación es de tipo exploratoria, experimental ya que se realizó la selección, recolección y obtención de las especies a usar de su medio natural, las cuales fueron adaptadas al nuevo medio de desarrollo, el cual debe ser el más óptimo para el crecimiento de cada especie; y además controlando las propiedades organolépticas de las especies, con lo cual se realizó los ensayos respectivos con la especie vegetal y microalga seleccionada en su mejor estado posible, además considerando las variables que puedan afectar a la eficiencia de remoción como pH y concentración del contaminante. Una vez realizados los ensayos se procedió a determinar la capacidad de remoción por parte de las especies vegetales y microalgas seleccionadas mediante espectrofotometría de absorción atómica.

2.5. Unidad de Análisis

En cuanto a la unidad de análisis para la presente investigación se ha determinado como tal la especie vegetal *Scirpus californicus* y la microalga *Chlorella sp.*, las cuales fueron los agentes de remoción de metales pesados, verificando su capacidad de remoción natural a partir de agua sintética contaminada.

2.6. Población de Estudio

En cuanto a la población de estudio de esta investigación, se ha tomado como referencia las especies mencionadas en la unidad de análisis, donde la especie *Scirpus californicus*, crece en la región sierra del Ecuador y la especie *Chlorella sp.*, se desarrolla en caudales de agua dulce y en las aguas marítimas.

2.7. Tamaño de muestra

Para la determinación del tamaño de muestra se han considerado 28 unidades de la especie vegetal *Scirpus californicus*, las cuales se dividieron en 7 unidades por grupo para cada ensayo (3 en total) y una de control, a nivel de laboratorio. En cuanto a la especie *Chlorella sp.*, se utilizó inóculo de la misma, obtenido de los laboratorios de investigación CENAIM-ESPOL.

2.8. Selección de muestra

Para la especie vegetal *Scirpus Californicus*

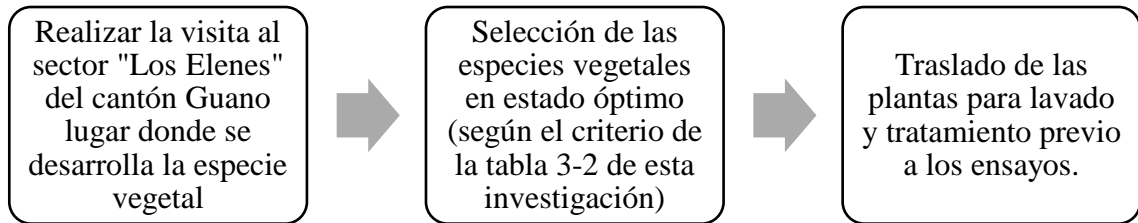


Gráfico 1-2: Selección de muestra, especie vegetal *Scirpus Californicus*.

Realizado por: Serrano, M.2021.

Para la microalga *Chlorella sp*

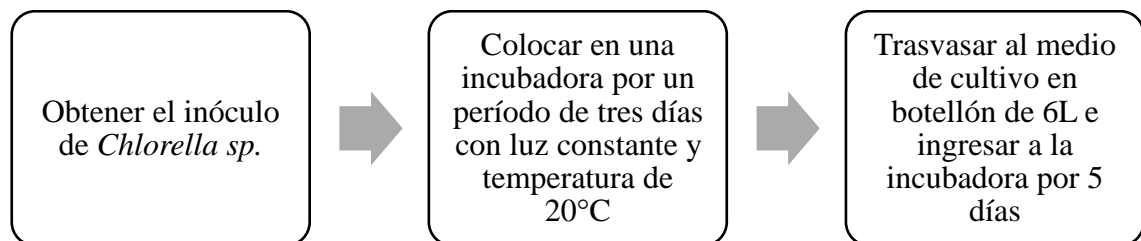


Gráfico 2-2: Selección de muestra, microalga *Chlorella sp*.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.9. Localización del trabajo de titulación

El presente trabajo de titulación, la fase de ensayos con la especie vegetal *Scirpus Californicus* se llevó a cabo en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en la ciudad de Riobamba; cuyas coordenadas son 78°40'20" que se encuentra ubicada en la Panamericana Sur Km 1 ½ vía a una altura de 2815 msnm.

En cuanto al proceso de tratamiento, lectura de muestras y realización de ensayos con la microalga *Chlorella sp.*, se llevó a cabo en el laboratorio de Control de Calidad de la planta potabilizadora de agua, de la empresa mancomunada de agua potable AGUAPEN.EP, en la parroquia Atahualpa Provincia de Santa Elena cuyas coordenadas son 2°16'49.7"S - 80°43'58.1"O.

2.10. Técnicas de Recolección de datos

2.10.1. Recolección y tratamiento de la especie vegetal *Scirpus californicus*

Tabla 3-2: Recolección y tratamiento de la especie vegetal *Scirpus californicus*

Materiales y Equipos	Reactivos	Procedimiento
<ul style="list-style-type: none"> • Barra de jardinería • Pico • Pala de jardinería • Vasos desechables 1L • Sorbetes • Tijeras de jardinería • Clavo de 3mm diámetro • Fundas de basura • Vaso de precipitación de 500ml 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua • Plantas (totora) • Sustrato para plantas 	<ul style="list-style-type: none"> • Seleccionar la especie vegetal a extraer, debe ser una especie vegetal joven, en crecimiento, con un tallo entre 0,90-1m de altura. • Usar la barra para realizar una circunferencia profunda alrededor de la planta para extraer toda la raíz. • Extraer la planta y colocar en la funda de basura para su traslado. • Agujerear con el clavo los sorbetes, los cuales servirán como aireador de cada una de las plantas • Quitar con la tijera de jardinería toda materia orgánica de la especie vegetal • Limpiar la raíz y tallo de la planta con agua • Colocar el sorbete en un vaso de 1L junto 500ml de agua purificada. • Añadir el sustrato para plantas hasta que se forme una pasta húmeda de suelo • Sembrar la planta en el nuevo medio de desarrollo cubriendo toda la raíz con el sustrato húmedo y aplastando el mismo hasta que la planta quede firme. • Etiquetar cada una de las plantas para los diferentes tratamientos • Colocar las especies vegetales en un lugar con sombra con correcto flujo de aire. • Mantener la humedad del suelo durante los 15 días de adaptación, agregando agua a la plántula conforme sea necesario.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.2. Medición de pH de las especies vegetales

Tabla 4-2: Medición de pH de las especies vegetales

Materiales y Equipos	Reactivos	Procedimiento
<ul style="list-style-type: none"> • Estufa • Espátula • Bandejas de papel aluminio • pH-metro • Vasos de precipitación de 250ml • Piceta • Varilla de Agitación • Toallas de papel • Cronómetro • Mortero con pistilo 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada • Muestra de medio de cultivo 	<ul style="list-style-type: none"> • Tomar una muestra aproximada de 25g de cada uno de los medios donde se desarrollaron las plantas y colocar en las bandejas de papel aluminio previamente etiquetadas. • Colocar las muestras en la estufa precalentada a la temperatura de 40°C • Posterior a 48h extraer las muestras y realizar el pesaje de cada una. • Regresar a la estufa y posteriormente a 2 horas volver a pesar las muestras • Repetir el paso anterior hasta obtener un peso constante • Triturar la muestra en el mortero y pesar 5g de la misma en un vaso de precipitación • Adicionar agua destilada en proporción 1:2,5 (suelo-agua) o hasta que se forme una pasta bien húmeda y agitar. • Dejar reposar durante 15min. • Retirar el capuchón del electrodo del pH-metro • Lavar con agua destilada y secar con la toalla de papel • Proceder a realizar la lectura del pH colocando el electrodo en el sobrenadante. • Esperar hasta que en el pH-metro aparezca la palabra “Ready”

Fuente: Fernández Linares et al., 2006, p.20.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.3. Ensayos de Remoción de metales pesados (Pb), con el uso de agua sintética

Tabla 5-2: Ensayos de Remoción de metales pesados (Pb), con el uso de agua sintética

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Balanza analítica • Espátula • Vaso de precipitación de 100ml • Pipeta volumétrica de 25, 50ml • Pera de succión • 4 balones de aforo de 1L • Probeta de 250ml • Etiquetas • Varilla de agitación 	<ul style="list-style-type: none"> • Nitrato de plomo (Pb(NO₃)₂) • Agua destilada • Sal (NaCl) • Ácido Nítrico (HNO₃) 70% 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar una solución de HNO₃ al 0.5N en 1L • Lavar todo el material a ocupar en el proceso con la solución de HNO₃ dejando actuar a la solución por 5min. • Secar el material • Pesar el reactivo (Pb(NO₃)₂) usando el vaso de precipitación de 100ml, para realizar una solución madre de 100ppm de Pb en 1 L • Realizar una solución de NaCl a concentración de 10g/l en 1L • Realizar el agua sintética de Pb para los diferentes ensayos a concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm en 1L a partir de la solución madre de 100ppm, aforando cada una con la solución de NaCl • Dosificar 140 ml de agua sintética a cada planta de cada uno de los tratamientos (T1=2ppm; T2=5ppm; T3=10ppm) • Dejar en contacto durante 10 días la solución con la especie vegetal, considerando que las plantas se encuentren en un espacio aireado y con suficiente luz natural. 	<p>Normalidad para solución de HNO₃</p> $N = \frac{\# \text{ Equivalente}}{\text{Vol. solución}}$ <p>Agua sintética</p> $C1V1 = C2V2$ <p>Donde:</p> <p>C1= Concentración del estándar de metal pesado</p> <p>V1=Volumen del estándar del metal pesado a tomar</p> <p>C2= Concentración del agua sintética a aplicar</p> <p>V2= Volumen de aforo del agua sintética a aplicar</p>

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.4. Medición de pH de las especies vegetales durante el período de remoción

Tabla 6-2: Medición de pH de las especies vegetales durante el período de remoción

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento
<ul style="list-style-type: none"> • Tiras de pH • pH-metro • Varilla de agitación • Toallas de papel 	<ul style="list-style-type: none"> • Especies vegetales en proceso de remoción de Pb • Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> • Con la ayuda de la varilla de agitación realizar un agujero en el suelo donde se encuentra cultivada la planta, de la profundidad necesaria para que la tira de pH se sumerja completamente. • Depositar la tira de pH en el agujero cubriéndola correctamente y dejándola en contacto por 1min • Extraer la tira de pH y comparar la coloración que se obtuvo para determinar el pH. • Anotar el valor obtenido • Lavar la varilla de agitación con agua destilada y secarla • Proceder a medir el pH de la siguiente planta, repitiendo el procedimiento mencionado. • Para la medición con pH-metro, retirar el capuchón del electrodo del pH-metro • Lavar con agua destilada y secar con la toalla de papel • Proceder a realizar la lectura del pH colocando el electrodo en el mismo sector de la tira de pH. • Esperar hasta que en el pH-metro aparezca la palabra “Ready”

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.5. Procesamiento de las raíces de la especie vegetal *Scirpus californicus*

Tabla 7-2: Procesamiento de las raíces de la especie vegetal *Scirpus californicus*

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento
<ul style="list-style-type: none">• Pala de jardinería• Estufa• Bandejas de aluminio• Fundas Ziploc• Tijeras de jardinería• Cubeta de 5L	<ul style="list-style-type: none">• Agua destilada	<ul style="list-style-type: none">• Desenterrar cada una de las plantas del medio de desarrollo evitando que las raíces se rompan.• Proceder a lavar con agua destilada hasta que queden limpias las raíces.• Cortar el tallo de las plantas y extraer la raíz para colocarlas en las bandejas de aluminio.• Colocar las muestras en la estufa a una temperatura de 77°C para su respectivo secado durante 3 días.• Colocar las raíces secas en las fundas Ziploc, previamente etiquetadas.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.6. Tratamiento de raíces de *Scirpus californicus* para análisis en Espectrofotometría de Absorción Atómica

Tabla 8-2: Tratamiento de raíces de *Scirpus californicus* para análisis en Espectrofotometría de Absorción Atómica

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Hot plates (planchas de calentamiento) • Espátula • Tijeras • Balanza analítica • Estufa • Vasos de precipitación de 250ml o 100ml • Vidrio reloj • Pipetas mecánicas de volumen variable • Etiquetas 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada • Ácido Nítrico (HNO₃) 70% • Peróxido de Hidrogeno al 30% (H₂O₂) 	<ul style="list-style-type: none"> • Reducir el tamaño de las raíces para una correcta y eficiente digestión ácida. • Colocar entre 0,3 – 0,4g de muestra en los vasos de precipitación. • Agregar 10 ml de HNO₃ 1:1, mezclar y cubrir con un vidrio reloj. • Calentar la muestra a 95°C ± 5°C y refluja durante 10 a 15 minutos sin hervir. • Refrescar la muestra, agregando 5ml HNO₃ concentrado, colocar la tapa y refluja durante 30 minutos. • Si se generan humos castaños, por la oxidación de la muestra por HNO₃ repetir este paso (añadir 5ml de HNO₃ concentrado) hasta que desaparezca el humo castaño. • Evaporar la solución sin hervir hasta aproximadamente 5ml o calentar sin hervir a 95°C ± 5°C durante dos horas. 	<p>Determinación de concentración de metal pesado</p> <p>Concentración ppm</p> $= \frac{\text{Val. de lectura (ppm)} \times \text{Vol. aforo muestra (ml)}}{\text{Peso de muestra procesada (g)}}$

<ul style="list-style-type: none"> • Embudos de vidrio • Papel filtro • Balones de aforo de 100ml o 250ml 	<ul style="list-style-type: none"> • Dejar enfriar a temperatura ambiente. • Agregar 2ml de agua destilada y 3ml de H₂O₂ al 30%. • Cubrir el vaso con el vidrio reloj y colocar el vaso cubierto a la fuente de calor (hot-plate) para empezar la reacción con el peróxido. (Se debe tener cuidado de que no existan pérdidas debido a la excesiva efervescencia.) • Mantener el calor hasta que cese la efervescencia. • Continuar agregando H₂O₂ al 30% en alícuotas de 1ml. • Calentar hasta que la efervescencia sea mínima o hasta que la apariencia de la muestra general este inalterada. (No se debe agregar más de un total de 10ml de H₂O₂ al 30%) • Continuar calentando la solución durante dos horas, hasta que la digestión ácido peróxido se haya reducido a aproximadamente 5ml. • Filtrar toda la solución • Colectar el filtrado en balones de aforo de 100ml o 250ml • La solución de la muestra contiene aproximadamente 5% HNO₃ (v/v). • Proceder al proceso de lectura de las muestras. 	
--	---	--

Fuente: Laboratorio de Investigación ESPOCH, 2021.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.7. Obtención del inóculo de microalga *Chlorella sp* y cultivo

Tabla 9-2: Obtención del inóculo de microalga *Chlorella sp* y cultivo

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento
<ul style="list-style-type: none"> • Recipiente o botella de 6L • Incubadora LAB-LINE 	<ul style="list-style-type: none"> • Inóculo de <i>Chlorella sp</i>. • Medio de Cultivo inicial para la microalga <i>Chlorella sp</i>. • Basfoliar Algae SL 	<ul style="list-style-type: none"> • Introducir el inóculo de microalga en la incubadora LAB-LINE manteniendo con un período de luz de 24h durante 3 días a una temperatura de 20°C • Posterior a 3 días observar si se presenta un color verde más intenso (siendo este un indicativo de que se han desarrollado más microalgas), trasvasar al recipiente o botella de 6L el cual contiene medio de cultivo salino para su desarrollo. NOTA: Si presenta un tono verde muy leve dejar un día más en la incubadora sin trasvasar el inóculo. • Colocar el botellón dentro de la incubadora LAB-LINE manteniendo con un período de luz de 24h durante 5 días a una temperatura de 20°C, donde se producirá un mayor crecimiento del cultivo microalgal. • Posterior a los 5 días colocar el botellón en un lugar con suficiente presencia de luz natural y a temperatura no mayor a 20°C durante 2 semanas, con períodos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, donde se producirá el primer crecimiento de la microalga en condiciones ambientales.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.8. Control de Crecimiento mediante conteo en cámara de Neubauer

Tabla 10-2: Control de Crecimiento mediante conteo en cámara de Neubauer

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Microscopio • Cámara de Neubauer • Cubreobjetos • Pipeta mecánica de volumen ajustable 20-100uL • Puntas para pipeta 20-100uL desechables • Toallas de papel 	<ul style="list-style-type: none"> • Botellón de cultivo de <i>Chlorella sp.</i> • Alcohol 96% 	<ul style="list-style-type: none"> • Desinfectar la cámara de Neubauer y el cubreobjetos previo a utilizar • Colocar el cubreobjetos sobre la cámara de Neubauer, y colocar en posición horizontal sobre la mesa, en un lugar cómodo para pipetear • Introducir una punta desechable en el extremo de la micropipeta • Ajustar la micropipeta para succionar 20uL de cultivo de microalga • Introducir la punta de la micropipeta en el cultivo previamente agitado • Pulsar el pistón o embolo superior de la pipeta suavemente hasta que se perciba que llega al final de su recorrido • Soltar suavemente el pistón para tomar la muestra de cultivo • Colocar la punta de la pipeta en el borde del cubreobjetos, en el extremo de la cámara de Neubauer y pulsar el pistón hasta el segundo tope para expulsar la muestra, de manera que penetre entre la cámara y el cubreobjetos desde el lateral, por capilaridad • En caso de que aparezcan burbujas o el cubreobjetos se haya movido repetir la operación • Colocar la cámara de Neubauer en la bandeja del microscopio y fijar la cámara con la pinza de sujeción. 	<p>Recuento con cuadros grandes</p> $C = \frac{N^{\circ} \text{ cel} \times 10000}{N^{\circ} \text{ cuadros}}$ <p>Donde:</p> <p>C = Concentración de células por mililitro</p> <p>N° cel.= Número de células contabilizado en el cuadro grande</p> <p>N° cuadros = Número de cuadros grandes contabilizado</p>

		<ul style="list-style-type: none">• Esperar 5 minutos de reposo de la muestra• Encender el microscopio y enfocar con el lente de 10x el cuadro donde vaya a realizarse el recuento• Se debe considerar que, si las células tocan el límite superior o el límite izquierdo del cuadro, deben contabilizarse, pero no se contabilizan si tocan el límite inferior o el límite derecho• En caso de que la concentración celular sea muy alta, y sea fácil perderse en el recuento, se suele utilizar un orden de conteo en forma de zigzag• Finalizado el conteo se aplica la fórmula para determinar la concentración de células/mililitro	
--	--	--	--

Fuente: Yunga, 2018, p.19.

Realizado por: Serrano, M. 2021

2.10.9. Alimentación de cultivo de microalga *Chlorella sp*

Tabla 11-2: Alimentación de cultivo de microalgas *Chlorella sp*

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Recipientes o botellas de 6L • Bomba de reflujo para pecera • Pipeta de 10ml • Pera de succión • Papel film 	<ul style="list-style-type: none"> • Botellón de Cultivo de <i>Chlorella sp.</i> • Nutriente Basfoliar Algae • Cloro comercial (Hipoclorito de Sodio NaClO al 2,5%-8%) 	<ul style="list-style-type: none"> • Lavar la pipeta y un botellón de 6L con una solución de cloro comercial al 2% dejando actuar por 5 minutos • Desinfectar la bomba de reflujo para pecera con alcohol y solución de cloro comercial al 2% • Realizar un corte en el botellón de manera que se pueda ingresar la bomba de reflujo en el fondo del botellón • Configurar la bomba de reflujo de tal manera que permita el caudal máximo permitido por el equipo(150L/h) • Fijar la bomba de reflujo en el botellón y depositar el cultivo de <i>Chlorella sp.</i> • Encender la bomba de reflujo y dejar reflujo el cultivo por 10 minutos • Tomar una alícuota de 3ml de nutriente Basfoliar Algae por litro de cultivo y depositar en el cultivo • Tapar el botellón con el papel film • Dejar reflujo el cultivo por un período de 48 horas • Posterior a las 48 horas trasvasar el cultivo al botellón con tapa para evitar su contaminación • Repetir este procedimiento cada semana para la alimentación del cultivo 	<p>Dilución de NaClO</p> $C1V1 = C2V2$ <p>Donde:</p> <p>C1= Concentración del cloro comercial</p> <p>V1=Volumen del cloro comercial a tomar</p> <p>C2= Concentración de la dilución de NaClO</p> <p>V2= Volumen de aforo de la dilución de NaClO</p>

Fuente: Perenguez y Valdez, 2017, p.19.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.10. Medición y reducción de Salinidad de cultivo de microalga *Chlorella sp*

Tabla 12-2: Medición y reducción de salinidad de cultivo de *Chlorella sp*

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Recipientes o botellas de 6L • Bomba de reflujo para pecera • Probeta de 250ml y 500ml • Multiparámetro HACH HQ40d • pH-metro • Multiparámetro OAKTON PC2700 • Papel film • Temporizador 	<ul style="list-style-type: none"> • Botellón de Cultivo de <i>Chlorella sp.</i> • Agua destilada autoclavada • Cloro comercial (Hipoclorito de Sodio NaClO) 	<ul style="list-style-type: none"> • Tomar una alícuota de cultivo suficiente para realizar la medición de salinidad del cultivo de microalga <i>Chlorella sp.</i> • Lavar con agua destilada el electrodo de medición del multiparámetro • Sumergir el electrodo y pulsar el botón “medición” y esperar hasta que el valor se mantenga fijo y el equipo indique que la medición se ha completado • Medir el volumen de cultivo que se ha obtenido hasta el momento • Realizar los cálculos respectivos para reducir la salinidad del cultivo en 3% cada 10 días <p>Nota: No disminuir la salinidad más de 5% por cada 10 días, puesto que provoca un cambio demasiado violento favoreciendo a la muerte de la microalga.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lavar la pipeta y un botellón de 6L con una solución de cloro comercial al 2% dejando actuar por 5 minutos 	<p>Reducción de salinidad</p> $PcVc = (Pc - Pr)(V + Vc)$ <p>Donde:</p> <p>Pc= Porcentaje de salinidad del cultivo</p> <p>Vc= Volumen del cultivo</p> <p>Pr= Porcentaje de salinidad a disminuir</p> <p>V= Volumen de agua destilada autoclavada a depositar en el cultivo</p>

		<ul style="list-style-type: none">• Desinfectar la bomba de reflujo para pecera con alcohol y solución de cloro comercial al 2%• Realizar un corte en el botellón adicional, de manera que se pueda ingresar la bomba de reflujo en el fondo del botellón• Configurar la bomba de reflujo de tal manera que permita el caudal máximo permitido por el equipo• Fijar la bomba de reflujo en el botellón y depositar el cultivo de <i>Chlorella sp.</i>• Adicionar el volumen de agua obtenido en los cálculos para reducir el porcentaje de salinidad• Tapar el botellón con el papel film y dejar reflujar durante 24 horas• Trasvasar el cultivo al botellón con tapa para evitar su contaminación	
--	--	---	--

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.11. Medición y ajuste de pH del cultivo de microalga *Chlorella sp*

Tabla 13-2: Medición y ajuste de pH del cultivo de microalga *Chlorella sp*

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento
<ul style="list-style-type: none"> • Recipientes o botellas de 6L • Bomba de aire para pecera • Multiparámetro o pH-metro • Manguera para pecera • Válvulas de control de flujo de aire para pecera • Temporizador 	<ul style="list-style-type: none"> • Botellón de Inoculo de <i>Chlorella sp.</i> • Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> • Tomar una alícuota de cultivo suficiente para realizar la medición de pH del cultivo de microalga <i>Chlorella sp.</i> • Sacar el electrodo del capuchón y lavar con agua destilada el electrodo de medición • Sumergir el electrodo y pulsar el botón “medición” y esperar hasta que el valor se mantenga fijo y el equipo demuestre que la medición se ha completado • Lavar con agua destilada el electrodo y guardar en el capuchón • Si la medición de pH se establece por debajo del parámetro establecido seguir el siguiente procedimiento • Realizar un agujero en la tapa del botellón de 6L por donde pueda pasar la manguera de tipo pecera • Realizar la conexión de la bomba a las válvulas de control de flujo y seleccionar una válvula para la dosificación de aire • Conectar a la válvula seleccionada una extensión de manguera que se prolongue hasta ingresar al fondo del botellón • Insertar la manguera por la tapa agujereada y tapar el botellón • Regular el flujo de aire a 50% cerrando la válvula de control a la mitad • Encender la bomba y dejar el flujo por 24 horas • Repetir la medición de pH y verificar si se encuentra en el rango establecido, caso contrario dejar 24 horas más de aireación al cultivo

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.12. Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio sin *Chlorella sp*

Tabla 14-2: Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio sin *Chlorella sp*

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Agitador magnético • Balanza analítica • Espátula • Vidrio Reloj • Vasos de precipitación de 250ml y 500ml • Probeta de 100ml • Balón de aforo de 100ml y 250ml • pH-metro • Piceta • Toallas de papel • Jeringas de 1ml • Tamiz o Colador 	<ul style="list-style-type: none"> • Alginato de sodio (C₆H₇O₆Na) • Solución de Cloruro de Calcio (CaCl₂) al 80% • Agua destilada autoclavada • NaOH • HCl 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar soluciones de NaOH y HCl a 0.1M en 100ml de aforo • Pesar 2g de alginato de sodio y disolver en 100ml de agua destilada autoclavada. • Mantener la agitación hasta que desaparezcan totalmente los grumos que se pueden generar • Realizar una solución de CaCl₂ al 1% en un volumen de 250ml • Medir el pH de la solución de alginato y ajustar el pH en el rango de 7.8 - 8.0 con las soluciones de NaOH y HCl como corresponda • Colocar la solución de CaCl₂ al 1% en un vaso de precipitación y un agitador • Llenar las jeringas de 1ml con la solución de alginato de sodio y verter lentamente gota a gota en la solución de CaCl₂ con agitación baja y constante • A las perlas obtenidas, utilizar un colador para lavarlas con agua destilada y colocarlas en un vaso de precipitación de 500ml con agua destilada autoclavada para su conservación para los ensayos de remoción. 	<p>Molaridad</p> $M = \frac{\#moles\ soluto}{Vol.\ de\ solucion}$ <p>Dilución de CaCl₂</p> $C1V1 = C2V2$ <p>Donde:</p> <p>C1= Concentración de la solución de CaCl₂</p> <p>V1=Volumen de solución de CaCl₂ a tomar</p> <p>C2= Concentración de la dilución de CaCl₂</p> <p>V2= Volumen de aforo de la dilución de CaCl₂</p>

Fuente: Perenguez y Valdéz, 2017, p.22.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.13. Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio con *Chlorella sp*

Tabla 15-2: Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio con *Chlorella sp*

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Agitador magnético • Balanza analítica • Espátula • Vidrio Reloj • Vasos de precipitación de 250ml y 500ml • Probeta de 100ml • Balón de aforo de 100ml y 250ml • pH-metro • Piceta • Toallas de papel • Jeringas de 1ml • Tamiz o Colador • Cámara de Neubauer 	<ul style="list-style-type: none"> • Alginato de sodio (C₆H₇O₆Na) • Solución de Cloruro de Calcio (CaCl₂) al 80% • Agua destilada autoclavada • NaOH • HCl • Cultivo de microalga <i>Chlorella sp.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar soluciones de NaOH y HCl a 0.1M en 100ml de aforo • Realizar el conteo en de microalgas con el uso de la cámara de Neubauer para determinar la concentración final del cultivo a utilizar. • Pesar 2g de alginato de sodio y disolver en 100ml de cultivo de microalga <i>Chlorella sp.</i> • Mantener la agitación hasta que desaparezcan totalmente los grumos que se pueden generar • Realizar una solución de CaCl₂ al 1% en un volumen de 250ml • Medir el pH de la solución de alginato y ajustar el pH en el rango de 7.8 -8.0 con las soluciones de NaOH y HCl como corresponda • Colocar la solución de CaCl₂ al 1% en un vaso de precipitación y un agitador • Llenar las jeringas de 1ml con la solución de alginato de sodio y verter lentamente gota a gota en la solución de CaCl₂ con agitación baja y constante • A las perlas obtenidas, utilizar un colador para lavarlas con agua destilada y colocarlas en un vaso de precipitación de 500ml con agua destilada autoclavada para su conservación para los ensayos de remoción. 	<p>Molaridad</p> $M = \frac{\#moles\ soluto}{Vol.\ de\ solucion}$ <p>Dilución de CaCl₂</p> $C1V1 = C2V2$ <p>Donde:</p> <p>C1= Concentración de la solución de CaCl₂</p> <p>V1=Volumen de solución de CaCl₂ a tomar</p> <p>C2= Concentración de la dilución de CaCl₂</p> <p>V2= Volumen de aforo de la dilución de CaCl₂</p>

Fuente: Perenguez y Valdéz, 2017, p.23.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.14. Ensayos de remoción de metales pesados (Cd), con el uso de agua sintética, sin *Chlorella sp*

Tabla 16-2: Ensayos de remoción de metales pesados (Cd), con el uso de agua sintética, sin *Chlorella sp*

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Balanza analítica • Espátula • Matraz Erlenmeyer de 250ml • Vaso de precipitación de 100ml • Pipeta Mecánicas de volumen variable • Probeta de 250ml • Etiquetas • Varilla de agitación 	<ul style="list-style-type: none"> • Estándar de Cadmio (Cd) • Agua destilada • Sal (NaCl) • Ácido Nítrico (HNO₃) 70% • Perlas de alginato de sodio sin <i>Chlorella sp.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar una solución de HNO₃ al 0.5N en 1L • Lavar todo el material a ocupar en el proceso con la solución de HNO₃ dejando actuar a la solución por 5min • Secar el material • Realizar una solución de NaCl a concentración de 10g/l en 1L • Realizar el agua sintética de Cd a concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm en 250ml a partir del estándar de metal pesado, aforando cada una con la solución de NaCl • Para cada ensayo pesar 40g de perlas de alginato de sodio sin <i>Chlorella sp.</i> en el matraz Erlenmeyer de 250ml • Conectar la bomba de aire para pecera y conectar las válvulas de control de caudal • Colocar en una válvula una manguera de suficiente largo que pueda ingresar hasta el fondo del matraz Erlenmeyer de 250ml • Medir en la probeta 160ml de muestra de agua sintética • Colocar la muestra en el matraz Erlenmeyer e iniciar inmediatamente el Cronómetro y dar flujo de aire de 3 L/min. 	<p>Normalidad para solución de HNO₃</p> $N = \frac{\# \text{ Equivalente}}{\text{Vol. solución}}$ <p>Agua sintética</p> $C1V1 = C2V2$ <p>Donde:</p> <p>C1= Concentración del estándar de metal pesado</p> <p>V1=Volumen del estándar del metal pesado a tomar</p> <p>C2= Concentración del agua sintética a aplicar</p> <p>V2= Volumen de aforo del agua sintética a aplicar</p>

<ul style="list-style-type: none"> • Balones de aforo de 100ml, 250ml y 1L • Bomba aire para pecera • Cronometro 		<ul style="list-style-type: none"> • Extraer la cantidad necesaria de muestra y colocarla en un balón de aforo. • Extraer un volumen de muestra cada 10 minutos hasta obtener 7 muestras por ensayo, interrumpiendo el flujo de aire para evitar problemas de succión con la pipeta. 	
---	--	--	--

Fuente: Perenguez y Valdéz 2017, p.24.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.15. Ensayos de remoción de metales pesados (Cd), con el uso de agua sintética, con *Chlorella sp*

Tabla 17-2: Ensayos de remoción de metales pesados (Cd), con el uso de agua sintética, con *Chlorella sp*

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Balanza analítica • Espátula • Matraz Erlenmeyer de 250ml • Vaso de precipitación de 100ml • Pipeta Mecánicas de volumen variable • Probeta de 250ml • Etiquetas • Varilla de agitación 	<ul style="list-style-type: none"> • Estándar de Cadmio (Cd) • Agua destilada • Sal (NaCl) • Ácido Nítrico (HNO₃) 70% • Perlas de alginato de sodio con <i>Chlorella sp.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar una solución de HNO₃ al 0.5N en 1L • Lavar todo el material a ocupar en el proceso con la solución de HNO₃ dejando actuar a la solución por 5min • Secar el material • Realizar una solución de NaCl a concentración de 10g/l en 1L • Realizar el agua sintética de Cd a concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm en 250ml a partir del estándar de metal pesado, aforando cada una con la solución de NaCl • Para cada ensayo pesar 40g de perlas de alginato de sodio con <i>Chlorella sp.</i> en el matraz Erlenmeyer de 250ml • Conectar la bomba de aire para pecera y conectar las válvulas de control de flujo • Colocar en una válvula una manguera de suficiente largo que pueda ingresar hasta el fondo del matraz Erlenmeyer de 250ml • Medir en la probeta 160ml de muestra de agua sintética • Colocar la muestra en el matraz Erlenmeyer e iniciar inmediatamente el Cronómetro y dar flujo de aire de 3 L/min 	<p>Normalidad para solución de HNO₃</p> $N = \frac{\# \text{ Equivalente}}{\text{Vol. solución}}$ <p>Agua sintética</p> $C1V1 = C2V2$ <p>Donde:</p> <p>C1= Concentración del estándar de metal pesado</p> <p>V1=Volumen del estándar del metal pesado a tomar</p> <p>C2= Concentración del agua sintética a aplicar</p> <p>V2= Volumen de aforo del agua sintética a aplicar</p>

<ul style="list-style-type: none"> • Balones de aforo de 100ml, 250ml y 1L • Bomba aire para pecera • Cronómetro 		<ul style="list-style-type: none"> • Extraer la cantidad necesaria de muestra y colocarla en un balón de aforo. • Extraer un volumen de muestra cada 10 minutos hasta obtener 7 muestras por ensayo, interrumpiendo el flujo de aire para evitar problemas de succión con la pipeta. 	
---	--	--	--

Fuente: Perenguez y Valdéz, 2017, p.24.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.16. Tratamiento de las muestras para espectrofotometría de absorción atómica

Tabla 18-2: Tratamiento de las muestras para espectrofotometría de absorción atómica

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Balones de aforo de 1L • Pipetas mecánicas de volumen variable • Balones de aforo de 100ml 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada • Ácido Nítrico (HNO₃) 70%. • Muestras de los ensayos de remoción • Fosfato de amonio (NH₄H₂PO₄) (modificador) 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar una solución de HNO₃ al 0.5N en 1L • Lavar todo el material a ocupar en el proceso con la solución de HNO₃ dejando actuar a la solución por 5min • Secar el material • Realizar una solución de NH₄H₂PO₄ de 105ppm en 1L • Acidificar a 0,1% las muestras de los diferentes ensayos con (HNO₃) 70%. • Aforar las muestras de los diferentes ensayos con la solución de NH₄H₂PO₄ para llegar a la concentración de 100ppm de NH₄H₂PO₄ en cada una de las muestras. 	<p>Normalidad para solución de HNO₃</p> $N = \frac{\# \text{ Equivalente}}{\text{Vol. solución}}$ <p>Concentración en ppm para solución de NH₄H₂PO₄</p> $\text{ppm} = \frac{\text{mg de soluto}}{1L \text{ de solución}}$ <p>Acidificación de muestras</p> $C(\text{HNO}_3)V1 = C2V2$ <p>Donde</p> <p>C(HNO₃) = Concentración del HNO₃</p> <p>V1 = Volumen de HNO₃ a tomar</p> <p>C2 = Concentración de la dilución</p> <p>V2 = Volumen de aforo de la dilución</p>

Fuente: PG-Instruments, [sin fecha], p.77.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.17. Proceso de encendido y calibración del equipo de absorción atómica AA500 Atomic Absorption Spectrometer-PG Instruments

Tabla 19-2: Proceso de encendido y calibración del equipo de absorción atómica AA500 Atomic Absorption Spectrometer-PG Instruments

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Equipo de Absorción atómica AA500 de PG Instruments • Escalera de aluminio de dos peldaños • Envases de plástico del equipo de absorción atómica • Balón de aforo de 1L • Pipetas mecánicas • Vaso de precipitación de 100ml 	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido Nítrico (HNO₃) 70% 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar una solución de HNO₃ 0.5N en 1L • Colocar la solución de HNO₃ 0.5N en el envase de “lavado” del equipo • Encender el equipo como lo especifica el fabricante • Iniciar el programa del equipo “AAWin Pro” y proceder con la configuración inicial de parámetros. • Activar el Autosampler y proceder a su calibración para toma de muestra, depósito de muestra en el horno grafito y posición de lavado del mismo. (cerciorarse de que la punta dosificadora no toque el horno grafito y ningún otro material externo) 	<p>Normalidad para solución de HNO₃</p> $N = \frac{\# \text{Equivalente}}{\text{Vol. solución}}$

Fuente: Laboratorio de Control de Calidad AGUAPEN E.P, 2021.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.18. Proceso para elaboración de curva de calibración y lectura de muestras de Pb en el equipo AA500-PG Instruments

Tabla 20-2: Proceso para elaboración de curva de calibración y lectura de muestras de Pb en el equipo AA500-PG Instruments

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Equipo de Absorción atómica AA500-PG Instruments • Balones de aforo de 100ml o 250ml • Balones de aforo de 1L • Pipetas Mecánicas de volumen variable • Recipientes de polietileno para Autosampler del equipo AA500 	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido Nítrico (HNO₃) 70% • Estándar de plomo (Pb) • Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar dos soluciones de HNO₃ 0.5N en 1L • Lavar todo el material a usar con la solución de HNO₃ 0.5N • Realizar una solución madre de 1ppm Pb en 100ml a partir del estándar de plomo, aforando la misma con la solución de HNO₃ 0.5N • Realizar las respectivas diluciones (entre 100ppb-10ppb), aforando a 100ml o 250ml con la solución de HNO₃ 0.5N • Colocar el blanco (solución de HNO₃ 0.5N) en la posición S61 del equipo, lavando el recipiente con la solución de HNO₃ 0.5N tres veces • Proceder a colocar las diluciones realizadas en los recipientes de polietileno y en las locaciones “ST” las cuales tienen disponibilidad de hasta 10 diluciones para realizar la curva de calibración • Colocar las muestras a leer en los recipientes de polietileno y en las locaciones del Autosampler a partir de la locación “S1” 	<p>Normalidad para solución de HNO₃</p> $N = \frac{\# \text{Equivalentente}}{\text{Vol. solución}}$ <p>Dilución Madre</p> $C1V1 = C2V2$ <p>Donde:</p> <p>C1= Concentración del estándar de metal pesado</p> <p>V1=Volumen del estándar del metal pesado a tomar</p> <p>C2= Concentración de la dilución madre para la curva de calibración</p> <p>V2= Volumen de aforo de la dilución madre</p> <p>Diluciones para curva de calibración</p> $C2V2 = C3V3$ <p>C2= Concentración de la dilución madre para la curva de calibración</p>

		<ul style="list-style-type: none"> • Programar en el equipo la concentración de las diluciones para la curva de calibración y el número de muestras a analizar en el equipo • Proceder a lectura de cada uno de las diluciones y muestras 	<p>V2= Volumen de solución madre a tomar</p> <p>C3= Concentración de la dilución para curva de calibración</p> <p>V3= Volumen de aforo de la dilución para curva de calibración</p>
--	--	---	---

Fuente: Laboratorio de Control de Calidad AGUAPEN E.P, 2021.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

2.10.19. Proceso para elaboración de curva de calibración y lectura de muestras de Cd en el equipo AA500-PG Instruments

Tabla 21-2: Proceso para elaboración de curva de calibración y lectura de muestras de Cd en el equipo AA500-PG Instruments

Materiales y Equipos	Reactivo	Procedimiento	Fórmula para cálculos
<ul style="list-style-type: none"> • Equipo de Absorción atómica AA500-PG Instruments • Balones de aforo de 100ml o 250ml • Balones de aforo de 1L • Pipetas Mecánicas de volumen variable • Recipientes de muestra para el Autosampler del equipo AA500 	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido Nítrico (HNO₃) 70% • Estándar de plomo (Cd) • Agua destilada • Fosfato de amonio (NH₄H₂PO₄) (modificador de matriz) 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar dos soluciones de HNO₃ 0.5N en 1L • Lavar todo el material a usar con la solución de HNO₃ 0.5N • Realizar una solución de NH₄H₂PO₄ de 105ppm en 1L • Realizar una solución madre de 1ppm Cd en 100ml, aforando la misma con la solución de HNO₃ 0.5N • Realizar las respectivas diluciones de cadmio (entre 100ppb-10ppb), acidulando con HNO₃ al 0.1% y con concentración del modificador de matriz NH₄H₂PO₄ a 100ppm en cada una de las soluciones para la curva de calibración • Proceder a colocar las diluciones realizadas en los recipientes de polietileno y en las locaciones “ST” las cuales tienen disponibilidad de hasta 10 diluciones para realizar la curva de calibración • Colocar las muestras a leer en los recipientes de polietileno y en las locaciones del Autosampler a partir de la locación “S1” 	<p>Normalidad para solución de HNO₃</p> $N = \frac{\# \text{ Equivalente}}{\text{Vol. solución}}$ <p>Dilución Madre</p> $C1V1 = C2V2$ <p>Donde:</p> <p>C1= Concentración del estándar de metal pesado</p> <p>V1=Volumen del estándar del metal pesado a tomar</p> <p>C2= Concentración de la dilución madre para la curva de calibración</p> <p>V2= Volumen de aforo de la dilución madre</p> <p>Diluciones para curva de calibración</p> $C2V2 = C3V3$ <p>C2= Concentración de la dilución madre para la curva de calibración</p>

		<ul style="list-style-type: none"> • Programar en el equipo la concentración de las diluciones para la curva de calibración y el número de muestras a analizar en el equipo • Proceder a lectura de cada uno de las diluciones y muestras 	<p>V2= Volumen de solución madre a tomar</p> <p>C3= Concentración de la dilución para curva de calibración</p> <p>V3= Volumen de aforo de la dilución para curva de calibración</p>
--	--	---	---

Fuente: Laboratorio de Control de Calidad AGUAPEN E.P, 2021.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de resultados

3.1.1. Fase de recolección y adaptación a nuevo medio de crecimiento de las especies vegetales *Scirpus californicus*

La fase de recolección se realizó en la provincia de Chimborazo, cantón Guano, sector Los Elenes (a 1km aproximadamente del balneario “Los Elenes”), donde la especie *Scirpus Californicus* se desarrolla naturalmente. Para la recolección de individuos plantulares se realizó un recorrido de reconocimiento y observación de las plantas. Posteriormente se procedió a recolectar las especies vegetales que cumplieran el criterio establecido mencionado en la Tabla 3-2: Recolección y tratamiento de la especie vegetal *Scirpus californicus*.

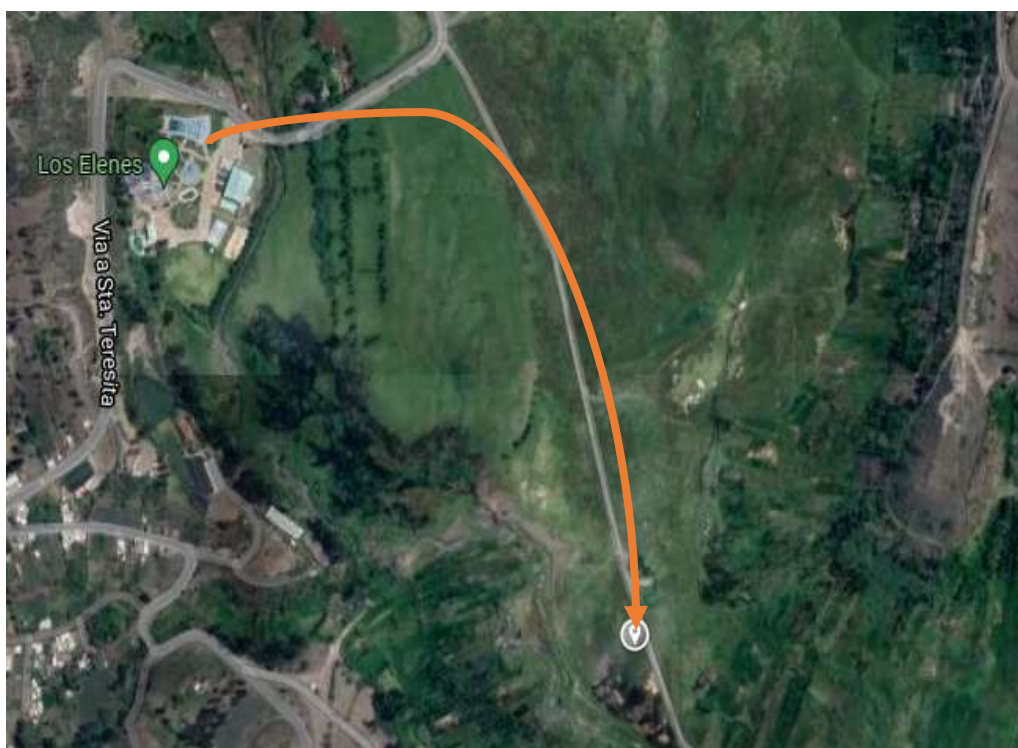


Figura 1-3: Localización del punto de recolección de la especie vegetal *Scirpus californicus*.

Fuente: Google Maps.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

Las especies vegetales fueron recolectadas con el uso de barra agrícola y pico; teniendo precaución con las raíces al momento de realizar la extracción y el empaquetado para el traslado.



Figura 2-3: Recolección de las especies vegetales de su medio natural de desarrollo.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

Las especies vegetales fueron trasladadas al laboratorio de Química Analítica de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en donde se procedió a extraer totalmente el sustrato con la tijera de jardinería y lavando con agua destilada hasta obtener las raíces limpias para ser colocadas en el nuevo medio de crecimiento. El sustrato utilizado en esta investigación fue turba tipo negra de la marca HAWITA.



Figura 3-3: Substrato HAWITA.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

Tabla 1-3: Características del sustrato HAWITA.

Tipo	HAWITA Baltic Tray Substrate
Estructura	Fina
pH	5.5 – 6.0
Composición	Fertilizante NPK, Oligoelementos, AquaFlow

Fuente: HAWITA.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

Se realizó la siembra individual de un total de 28 especies vegetales, en vasos de 1L de plástico de grado alimenticio, previamente etiquetados, colocando el sorbete con agujeros de 3mm que servirá como aireador del sistema y adicionando 500ml de agua purificada hasta formar una pasta húmeda con el sustrato HAWITA.



Figura 4-3: Proceso de sembrado y etiquetado individual de las especies vegetales para los diferentes ensayos.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

Las especies vegetales seleccionadas fueron sometidas a adaptación del nuevo medio de desarrollo durante 15 días donde se continuó añadiendo agua purificada para mantener la humedad. Durante este período se presentó una sequedad en el tallo principal de la planta, sin embargo, se evidenció también el desarrollo de nuevas raíces y nuevos brotes de tallos de la planta como se observa en la figura 5-3.



Figura 5-3: Desarrollo en el período de adaptación.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

3.1.2. Medición de pH de las especies vegetales

Transcurridos los 15 días de adaptación se procedió a realizar la medición de pH del medio de desarrollo de cada una de las especies plantulares previo a la adición de Pb, utilizando la técnica mencionada por (Fernández Linares et al., 2006, p.20), exceptuando la tamización puesto que el substrato no presenta mayor cantidad de partícula gruesa posteriormente a la trituración en mortero, y al realizar este paso, se alteraría la composición general del substrato usado. Los resultados de medición de pH se detallan en la tabla 2-3.

Tabla 2-3: Control de pH de las especies vegetales posterior a los 15 días de adaptación

Tratamiento / N° planta	1	2	3	4	5	6	7
Tratamiento 1	6,89	6,32	6,26	7,02	6,98	6,89	7,00
Tratamiento 2	6,81	6,85	6,98	6,68	6,91	6,98	6,86
Tratamiento 3	6,63	6,97	6,11	6,85	6,29	6,83	6,88
Tratamiento 4	6,75	6,29	6,62	6,55	6,68	6,45	6,60

Realizado por: Serrano, M. 2021.

Se observó el rango de pH entre los valores de 6.29 – 7.02, evidenciando que la adición de agua durante el período de adaptación aumento el pH del medio de desarrollo de las plántulas aproximándolo aún más a la neutralidad.

3.1.3. Ensayos de remoción de Pb

Se lavó todo el material a usar en este proceso con una solución de HNO₃ al 0.5N dejando actuar por 5 minutos en el material de laboratorio. Para la elaboración del agua sintética se utilizó la sal inorgánica de nitrato de plomo Pb(NO₃)₂, realizando el pesaje de la misma en una balanza analítica, para elaborar una solución madre de 100ppm de concentración de Pb aforando la misma con agua destilada.



Figura 4-3: Reactivo Pb(NO₃)₂.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

A partir de la solución madre se elaboraron las diluciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm de Pb respectivamente aforando con una solución de 10g/L de NaCl.

A continuación, se registran los cálculos para realizar la solución madre y las diluciones:

Para solución madre o patrón:

$$100\text{ppm Pb} = \frac{100\text{mgPb}}{\text{L}}$$
$$0,1\text{g Pb} \frac{1 \text{ mol de Pb}}{207.19 \text{ gPb}} \times \frac{1 \text{ mol Pb(NO}_3)_2}{1 \text{ mol Pb}} \times \frac{331.21\text{g Pb(NO}_3)_2}{1 \text{ mol Pb(NO}_3)_2} = 0.15985 \text{ g Pb(NO}_3)_2$$

Dilución a 2ppm:

$$C1V1 = C2V2$$

$$V1 = \frac{C2V2}{C1}$$

$$V1 = \frac{(2ppm)(1L)}{(100ppm)}$$

$$V1 = 0.02L = 20mL$$

Dilución a 5ppm:

$$V1 = \frac{C2V2}{C1}$$

$$V1 = \frac{(5ppm)(1L)}{(100ppm)}$$

$$V1 = 0.05L = 50mL$$

Dilución a 10ppm:

$$V1 = \frac{C2V2}{C1}$$

$$V1 = \frac{(10ppm)(1L)}{(100ppm)}$$

$$V1 = 0.1L = 100mL$$

Se colocaron las soluciones prescritas para cada tratamiento (T1=2ppm, T2=5ppm, T3=10ppm Control=Sin adición de Pb) en un volumen de 140ml por especie vegetal, dejándolas expuestas por un período de 10 días, a temperatura ambiente y períodos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.



Figura 5-3: Dosificación de agua sintética a las especies vegetales.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

3.1.4. Control de pH y estado de especies vegetales durante el período de remoción de Pb

Se realizó un control de pH en el transcurso de los 10 días de remoción y en el último día del proceso, realizando las mediciones cada 3 días con uso de tiras de pH de la marca MERCK, y con el uso de pH-metro midiendo directamente el medio de desarrollo sin tratamiento alguno para evitar interferencias en el proceso de remoción o pérdida del contaminante, obteniendo los siguientes resultados que se detallan en los gráficos 1-3, 2-3 y 3-3.

En cuanto al primer tratamiento (2ppm de Pb) se observa que el pH previo a la adición del agua sintética fue de 6,77; el cual posteriormente tuvo un descenso de 0,58 puntos en la escala de pH hasta el valor más bajo que fue en el sexto día de remoción con un valor de 6,19 de pH. En la medición correspondiente al día 9 se observó un ascenso en el pH al igual que en el día 10 con una tendencia de regreso a la neutralidad.

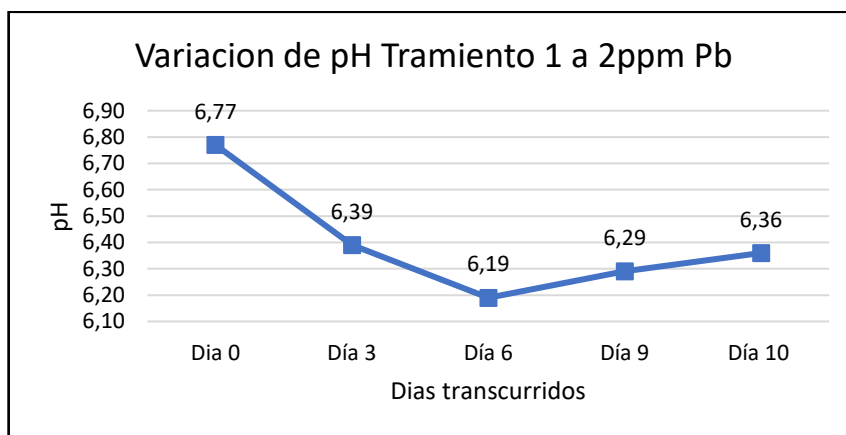


Gráfico 1-3: Variación de pH vs días transcurridos de remoción de metal pesado Pb Tratamiento 1.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

En el segundo tratamiento (5ppm de Pb) se observa un pH previo de 6,67; que posteriormente tuvo un descenso de 0,43 puntos en la escala de pH hasta llegar al valor más bajo presente en este tratamiento el cual fue de 6,24 de pH, que se dio en el sexto día, teniendo similitud con el tratamiento 1 en cuanto al día en el que se presentó el menor valor de pH. Posteriormente al igual que en el tratamiento 1 se observa que a partir del día 9 existe un ascenso en la escala de pH, hasta alcanzar un valor de 6,38 en el día 10.

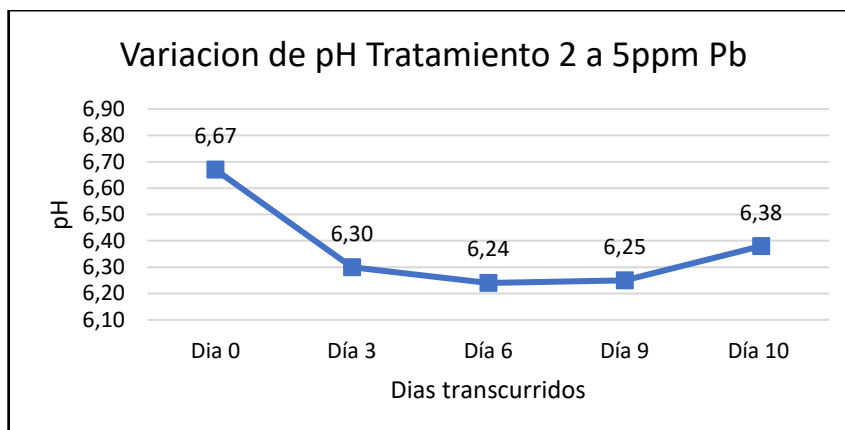


Gráfico 2-3: Variación de pH vs días transcurridos de remoción de metal pesado Pb Tratamiento 2.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

Para el tratamiento 3 se observó de manera similar a los tratamientos previos una caída de pH desde 6,65 hasta el valor mínimo de 6,31 con una diferencia de 0,34 puntos entre estos valores; presentándose de igual manera el menor valor en el día sexto del ensayo de remoción. A partir del día 9 se dio un ascenso de pH al igual que en los tratamientos anteriores, donde en este caso se alcanzó el valor 6,40 de pH en el día 10.

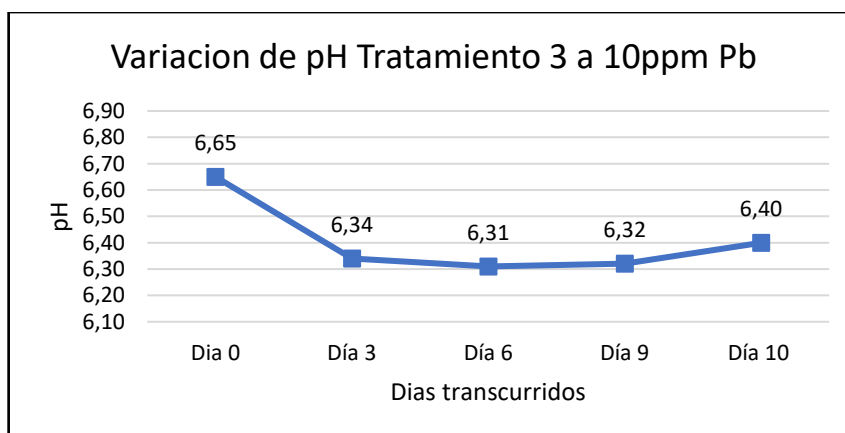


Gráfico 3-3: Variación de pH vs días transcurridos de remoción de metal pesado Pb Tratamiento 3.

Realizado por: Serrano, M. 2021.

En todos los tratamientos se observó un descenso de pH en los 6 primeros días de tratamiento, esto debido a que la especie vegetal está excretando ácidos orgánicos como mecanismo de defensa ante la presencia de Pb (Esquivel Ramos, 2020, p.79). Posteriormente a partir del día 9 se da un incremento en la escala de pH continuando en el décimo día. Este fenómeno también lo reporto (Oquendo Andino, 2016, p.58) y (Cuadrado et al., 2019, p.80) donde en los diferentes ensayos se evidenció un aumento de pH y con tendencia hacia la neutralidad conforme el pasar de los días, en cada uno de los diferentes tratamientos realizados por los autores.

3.1.5. Procesamiento de raíces de *Scirpus Californicus* para lectura de muestras mediante absorción atómica (horno grafito)

Posterior a los 10 días de contacto con el contaminante, se procedió a retirar las especies vegetales del medio y a extraer las raíces para su secado y empaquetamiento respectivo para el traslado de las muestras al laboratorio de la empresa municipal mancomunada de agua potable AGUAPEN E.P., donde se procesó las muestras mediante digestión ácida siguiendo la técnica de la Tabla 8-2: Tratamiento de raíces de *Scirpus californicus* para análisis en Espectrofotometría de Absorción Atómica; para su lectura en el equipo de espectrofotometría de absorción atómica mediante la técnica de horno grafito.



Figura 6-3: Procesamiento de las raíces para lectura en espectrofotometría de absorción atómica. Realizado por: Serrano, M. 2021.

3.1.6. Cuantificación de Pb absorbido por la especie vegetal *Scirpus Californicus*

A través de los análisis de las muestras mediante espectrofotometría de absorción atómica con la técnica de horno grafito se obtuvo que para los controles existió la presencia de plomo en las especies vegetales con un promedio de 1,18ppm en el Control 1 y 1,56ppm para el Control 2; demostrando que las especies vegetales ya poseían el metal plomo en su estructura debido a la actividad antropogénica que hay en el sector donde se desarrollan las plantas.

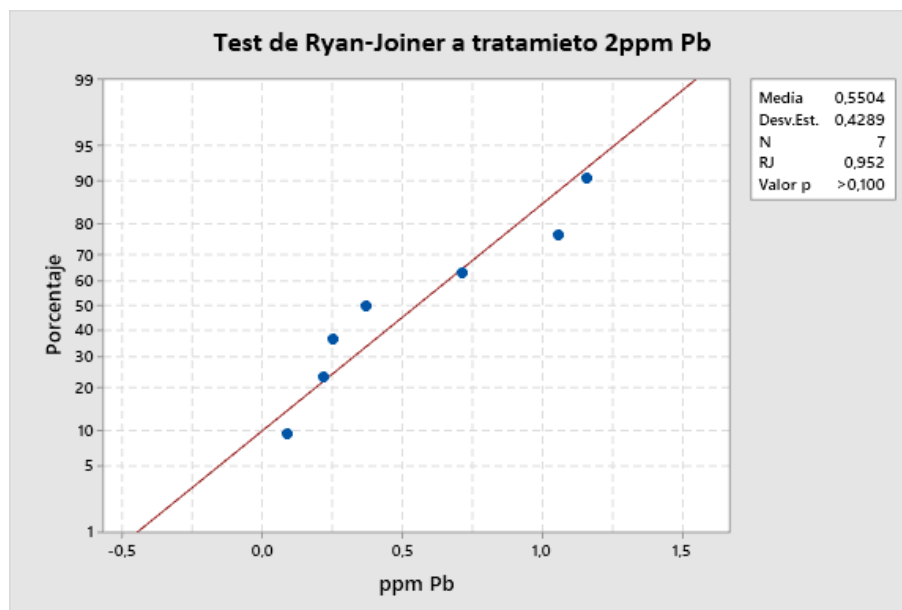


Gráfico 4-3: Test de Ryan-Joiner a datos de tratamiento 2ppm Pb en software Minitab.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

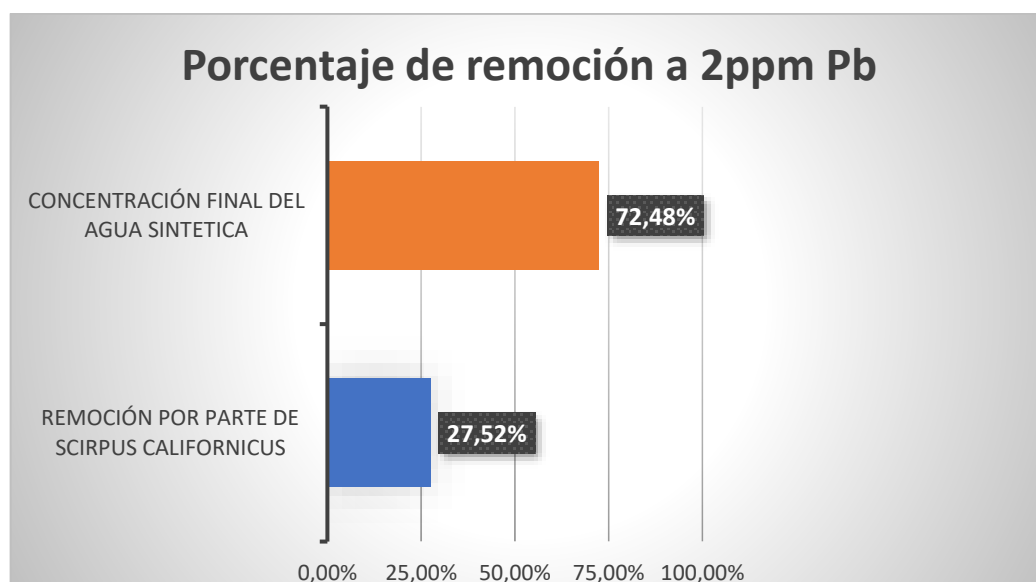


Gráfico 5-3: Porcentaje de remoción de Pb a 2ppm.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

En cuanto a los ensayos con agua sintética de 2ppm se observó que los resultados obtenidos en las lecturas de cada una de las plantas, mediante el test de Ryan-Joiner cumplen con una distribución normal de datos ya que el estadístico se aproxima a 1, siendo el valor para este caso 0,952. Además, la capacidad de remoción por parte de la totora en este ensayo fue del 27,52% llegando a un promedio de concentración de 0,550ppm de Pb en sus raíces.

Para los ensayos con agua sintética a 5ppm, para el test de normalidad Ryan-Joiner se obtuvo un valor de 0,932 en la prueba estadística, con lo cual cumple una distribución normal de los datos obtenidos en este tratamiento. En cuanto a la capacidad de remoción por parte de la totora fue del 65,19% llegando a una concentración promedio de 3,259ppm de Pb en sus raíces.

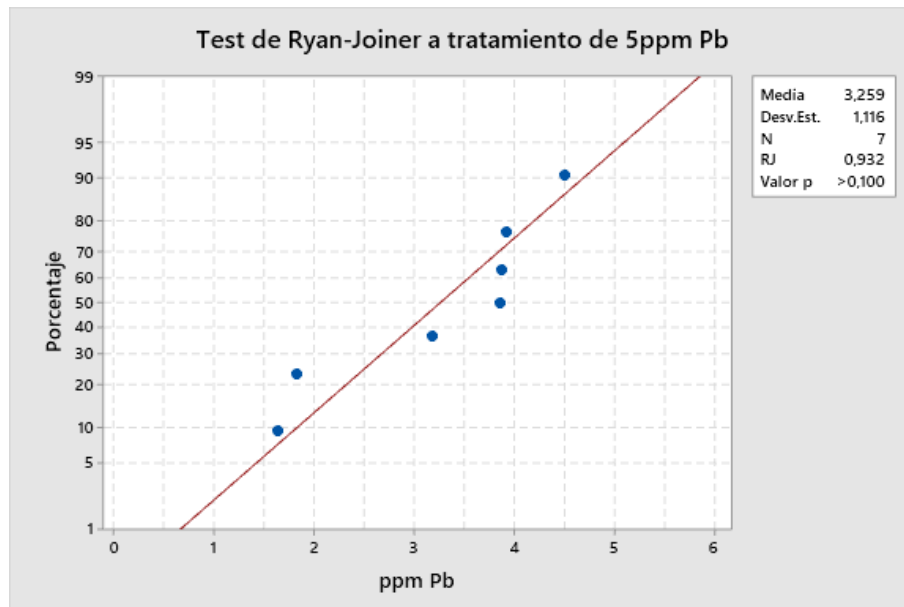


Gráfico 6-3: Test de Ryan-Joiner a datos de tratamiento 5ppm Pb en software Minitab.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

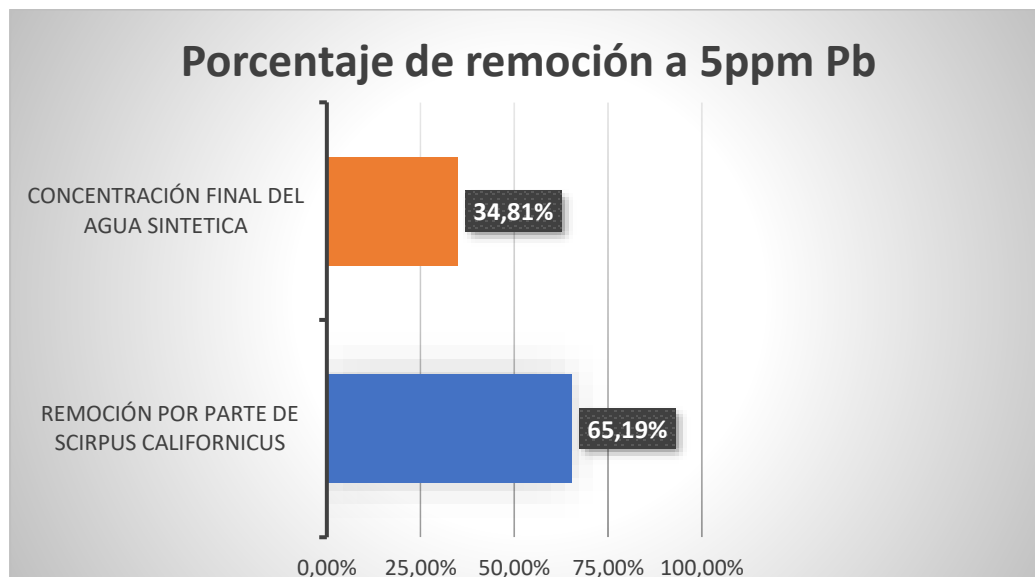


Gráfico 7-3: Porcentaje de remoción de Pb a 5ppm.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

En el tratamiento 3 de concentración de agua sintética a 10ppm de Pb se obtuvo un valor de 0,974 en el test de Ryan-Joiner, demostrando normalidad en los datos obtenidos en las lecturas de cada una de las plantas de este tratamiento. En cuanto al porcentaje de remoción por parte de la especie vegetal *Scirpus californicus* se obtuvo un valor 74,20% llegando a una concentración promedio de 7,4ppm de Pb en sus raíces.

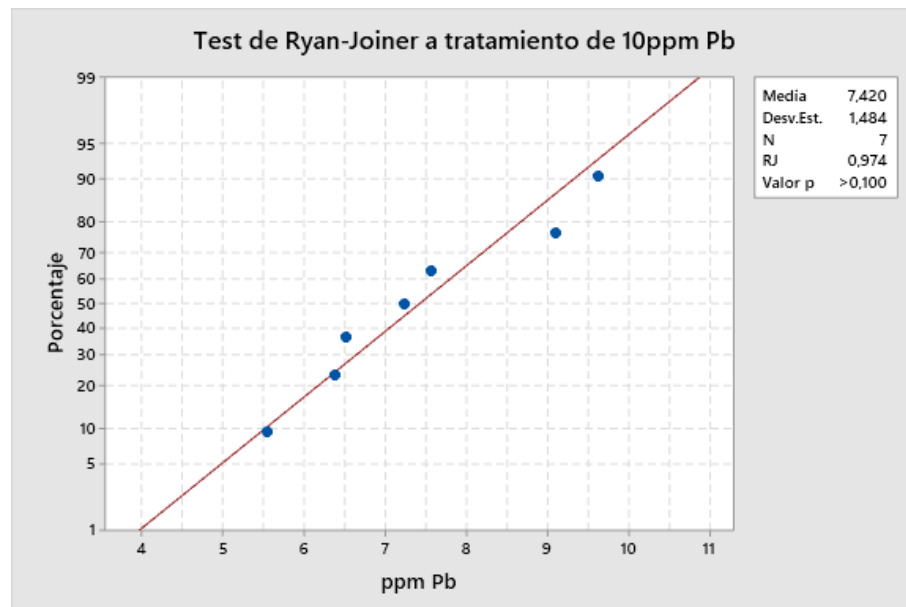


Gráfico 8-3: Test de Ryan-Joiner a datos de tratamiento 10ppm Pb en software Minitab.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

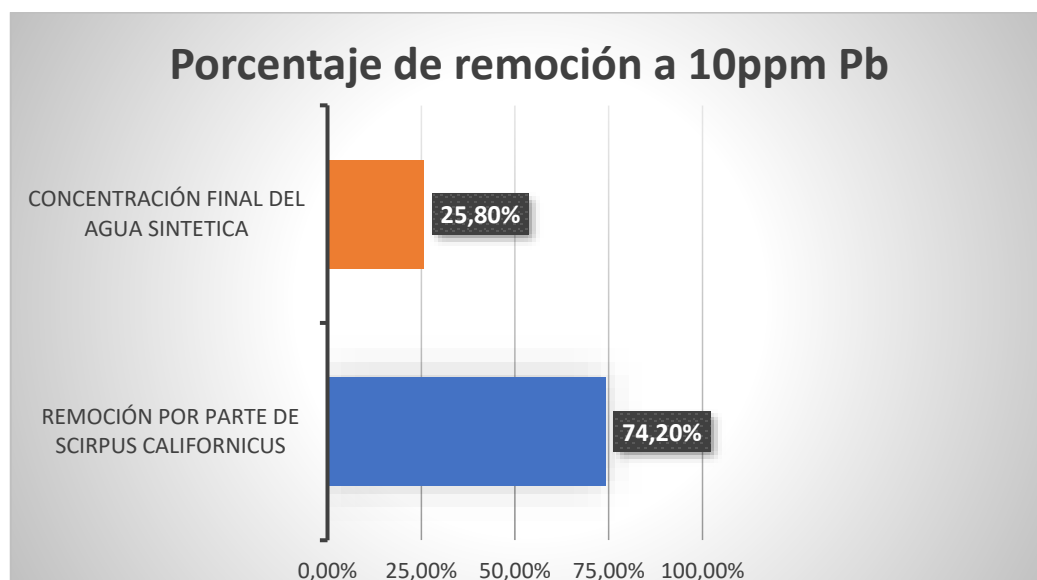


Gráfico 9-3: Porcentaje de remoción de Pb a 10ppm.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

3.1.7. Período de bio-aumentación de células de microalga *Chlorella sp.*

El proceso de bio-aumentación de microalga *Chlorella sp.* inició con la obtención de su inóculo del laboratorio de investigación CENAIM-ESPOL, permitiendo que se desarrolle el inóculo por 3 días dentro de la incubadora LAB-LINE, y en el medio salino de cultivo dotado por el laboratorio por un período de 2 semanas. Para el crecimiento de cultivo en la siguiente fase, fue utilizado como nutriente el fertilizante Basfoliar Algae SL el cual contiene: Nitrógeno Total N=6,0%p/v, Fosforo P_2O_5 =3,0%p/v, Potasio K_2O =5%p/v.



Figura 7-3: Inóculo de *Chlorella sp.* y botellón de cultivo.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

El control de crecimiento del cultivo se realizó mediante el conteo en cámara de Neubauer siguiendo la técnica mencionada en el apartado Tabla 10-2: Control de Crecimiento mediante conteo en cámara de Neubauer, obteniendo la concentración del cultivo en células de microalga por mililitro.

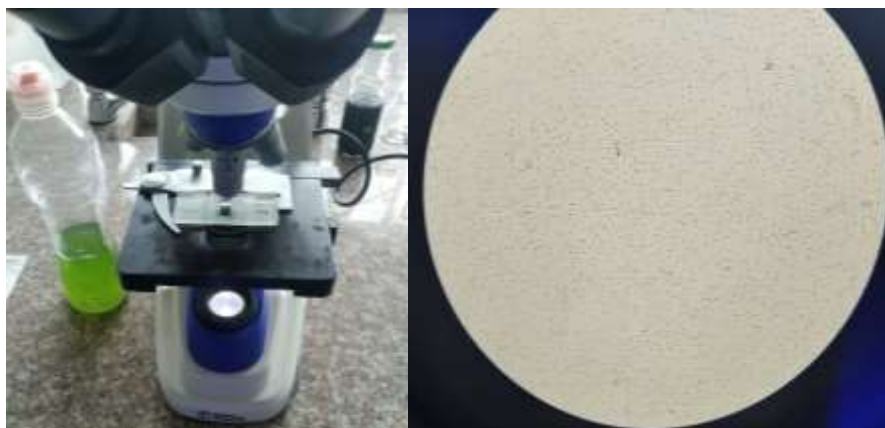


Figura 8-3: Conteo por cámara de Neubauer de cultivo *Chlorella sp.*
Realizado por: Serrano, M. 2021.

3.1.8. Reducción de salinidad y ajuste de pH del cultivo de *Chlorella sp.*

Para la reducción de salinidad de cultivo, se determinó el mejor procedimiento mediante pequeños ensayos donde se redujo el porcentaje de salinidad a diferentes concentraciones con el uso de alícuotas de cultivo de microalga y agua destilada autoclavada. En base a esto ensayos se concluyó que este proceso debe ser controlado y disminuyendo el porcentaje de salinidad paulatinamente, no de manera abrupta, puesto que no permitiría a las células de microalga adaptarse al cambio en su medio de desarrollo causando una mortandad muy elevada y como consecuencia la pérdida del cultivo de *Chlorella sp.* A través de estos ensayos se determinó que el porcentaje de reducción de salinidad en un 3% fue el adecuado para reducir al mínimo la mortandad de microalga durante este proceso. Para la reducción de salinidad se usó agua destilada autoclavada la cual se dosificó cada 10 días en volumen controlado determinado en la Tabla 12-2: Medición y reducción de salinidad de cultivo de *Chlorella sp.*, para reducir en un 3% cada vez que se dosifique la misma. El procedimiento se llevó a cabo hasta llegar a un porcentaje de salinidad menor al 10% en el cultivo de microalga.

Durante este período de adaptación se presencié la muerte de células de microalga en pequeñas cantidades que afectaron la concentración de células por mililitro del cultivo, evidenciando un precipitado de color café claro en el fondo de botellón el cual fue eliminado mediante decantación de todo el cultivo. El control de porcentaje de salinidad a nivel de laboratorio se realizó usando el multiparámetro HACH HQ40d y el equipo OAKTON PC2700.

En cuanto al control de pH se lo realizó cada semana, realizando las mediciones del mismo con el equipo multiparámetro OAKTON PC2700, donde si el cultivo presentaba un valor inferior a 8 se realizaba la inyección de CO₂ atmosférico con el uso de la bomba para pecera a un caudal de 3 L/min hasta que se obtenga el valor de pH mencionado, el cual es el óptimo para el desarrollo de la microalga *Chlorella sp.*

3.1.9. Elaboración de perlas de alginato sin *Chlorella sp.*

Se elaboraron un total de 700g de perlas de alginato de sodio sin la presencia de *Chlorella sp.* siguiendo la técnica de la Tabla 14-2: Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio sin *Chlorella sp.*; para la realización de ensayos de remoción de Cd en concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm respectivamente.

3.1.10. Elaboración de perlas de alginato con *Chlorella sp.*

Se elaboraron un total de 800g de perlas de alginato de sodio con la presencia de *Chlorella sp.* en una concentración de $6,24 \times 10^6$ cel./ml, siguiendo la técnica de la Tabla 15-2: Elaboración de Perlas de Alginato de Sodio con *Chlorella sp.*; para la realización de ensayos de remoción de Cd en concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm respectivamente.

3.1.11. Ensayos de Remoción de Cd con perlas de alginato sin *Chlorella sp.*

Se realizaron los ensayos de remoción con un tiempo de contacto de 70min y un flujo de aire de 3L/min con perlas de alginato sin *Chlorella sp.* tomando una alícuota del sistema cada 10 minutos a concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm. Los ensayos se realizaron por duplicado pesando para cada ensayo 40g de perlas y dosificando 160ml del agua sintética elaborada a partir del estándar de Cd a concentración de 1000ppm de la Marca AccuStandard.

En cuanto a los ensayos con 2ppm se obtuvo un porcentaje final de remoción del 68,90% como se muestra en la tabla 3-3:

Tabla 3-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 2ppm sin *Chlorella sp.*

Tiempo (t)	Ensayo 1(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Ensayo 2(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Promedio de porcentaje removido de Cd (%)
0	2,00	100,00	0,00	2,00	100,00	0,00	0,00
1	1,18	59,18	40,82	1,10	55,06	44,94	42,88
2	1,06	53,11	46,89	1,01	50,65	49,35	48,12
3	1,00	49,89	50,11	0,92	45,99	54,02	52,06
4	0,82	41,14	58,86	0,80	39,77	60,24	59,55
5	0,76	37,75	62,25	0,74	36,97	63,03	62,64
6	0,69	34,36	65,64	0,70	34,91	65,09	65,37
7	0,61	30,40	69,61	0,64	31,81	68,19	68,90

Realizado por: Serrano, M. 2021.

En cuanto a los ensayos con 5ppm se obtuvo un porcentaje final de remoción del 66,78% como se muestra en la tabla 4-3:

Tabla 4-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 5ppm sin *Chlorella sp.*

Tiempo (t)	Ensayo 1(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Ensayo 2(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Promedio de porcentaje removido de Cd (%)
0	5,00	100,00	0,00	5,00	100,00	0,00	0,00
1	3,38	67,51	32,49	3,40	67,92	32,08	32,29
2	2,99	59,89	40,11	2,86	57,14	42,86	41,49
3	2,67	53,41	46,59	2,63	52,63	47,37	46,98
4	2,43	48,65	51,35	2,36	47,14	52,86	52,11
5	2,17	43,31	56,69	2,18	43,61	56,39	56,54
6	1,89	37,79	62,21	1,94	38,71	61,29	61,75
7	1,65	33,03	66,97	1,67	33,41	66,59	66,78

Realizado por: Serrano, M. 2021.

En cuanto a los ensayos con 10ppm se obtuvo un porcentaje final de remoción del 62,57% como se muestra en la tabla 5-3:

Tabla 5-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 10ppm sin *Chlorella sp.*

Tiempo (t)	Ensayo 1(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Ensayo 2(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Promedio de porcentaje removido de Cd (%)
0	10,00	100,00	0,00	10,00	100,00	0,00	0,00
1	7,23	72,30	27,70	7,09	70,95	29,05	28,38
2	6,42	64,19	35,81	6,69	66,89	33,11	34,46
3	5,28	52,84	47,16	5,55	55,54	44,46	45,81
4	4,80	47,97	52,03	5,31	53,11	46,89	49,46
5	4,55	45,54	54,46	4,96	49,60	50,41	52,43
6	4,18	41,76	58,24	4,42	44,19	55,81	57,03
7	3,77	37,70	62,30	3,72	37,16	62,84	62,57

Realizado por: Serrano, M. 2021.

3.1.12. Ensayos de Remoción de Cd con perlas de alginato con *Chlorella sp.*

Se realizaron los ensayos de remoción con un tiempo de contacto de 70min y un flujo de aire de 3L/min con perlas de alginato con *Chlorella sp.* tomando una alícuota del sistema cada 10 minutos a concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm. Los ensayos se realizaron por duplicado pesando para cada ensayo 40g de perlas y dosificando 160ml del agua sintética elaborada a partir del estándar de Cd a concentración de 1000ppm de la Marca AccuStandard.

En cuanto a los ensayos con 2ppm se obtuvo un porcentaje final de remoción del 75,35% como se muestra en la tabla 6-3:

Tabla 6-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 2ppm con *Chlorella sp.*

Tiempo (t)	Ensayo 1(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Ensayo 2(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Promedio de porcentaje removido de Cd (%)
0	2,00	100,00	0,00	2,00	100,00	0,00	0,00
1	1,10	55,04	44,96	1,13	56,39	43,61	44,29
2	0,84	41,80	58,20	0,85	42,63	57,37	57,78
3	0,70	34,82	65,18	0,71	35,27	64,74	64,96
4	0,56	28,20	71,80	0,56	28,02	71,98	71,89
5	0,56	27,83	72,17	0,56	27,79	72,21	72,19
6	0,53	26,73	73,27	0,53	26,30	73,70	73,49
7	0,49	24,52	75,48	0,50	24,77	75,23	75,35

Realizado por: Serrano, M. 2021.

En cuanto a los ensayos con 5ppm se obtuvo un porcentaje final de remoción del 77,93% como se muestra en la tabla 7-3:

Tabla 7-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 5ppm con *Chlorella sp.*

Tiempo (t)	Ensayo 1(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Ensayo 2(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Promedio de porcentaje removido de Cd (%)
0	5,00	100	0,00	5,00	100,00	0,00	0,00
1	3,00	59,916	40,08	3,09	61,88	38,12	39,10
2	1,98	39,542	60,46	2,06	41,22	58,78	59,62
3	1,72	34,402	65,60	1,83	36,55	63,45	64,52
4	1,49	29,822	70,18	1,54	30,76	69,24	69,71
5	1,45	28,981	71,02	1,32	26,46	73,54	72,28
6	1,28	25,561	74,44	1,17	23,45	76,55	75,49
7	1,10	22,048	77,95	1,10	22,09	77,91	77,93

Realizado por: Serrano, M. 2021.

En cuanto a los ensayos con 10ppm se obtuvo un porcentaje final de remoción del 75,93% como se muestra en la tabla 8-3:

Tabla 8-3: Resultados de ensayos de remoción de Cd a 10ppm con *Chlorella sp.*

Tiempo (t)	Ensayo 1(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Ensayo 2(ppm)	Porcentaje de remanente de Cd (%)	Porcentaje removido de Cd (%)	Promedio de porcentaje removido de Cd (%)
0	10,00	100,00	0,00	10,00	100,00	0,00	0,00
1	6,22	62,19	37,81	6,09	60,91	39,09	38,45
2	5,37	53,66	46,34	5,33	53,27	46,74	46,54
3	4,81	48,07	51,93	4,68	46,79	53,21	52,57
4	3,97	39,74	60,27	3,66	36,60	63,40	61,83
5	3,13	31,30	68,70	3,12	31,21	68,79	68,75
6	2,36	23,56	76,44	2,79	27,87	72,13	74,28
7	2,24	22,38	77,62	2,58	25,77	74,23	75,93

Realizado por: Serrano, M. 2021.

3.1.13. Comparación de Ensayos a 2ppm

Para los ensayos de remoción de Cd a una concentración de 2ppm se observó que en los primeros 10 minutos existió una mayor remoción del metal pesado tanto en los ensayos con presencia de *Chlorella sp.* y sin presencia de la misma, además la capacidad de remoción de perlas con presencia de microalga llegó a remover una mayor cantidad de Cd durante el período de remoción, como se indica en el gráfico 10-3.

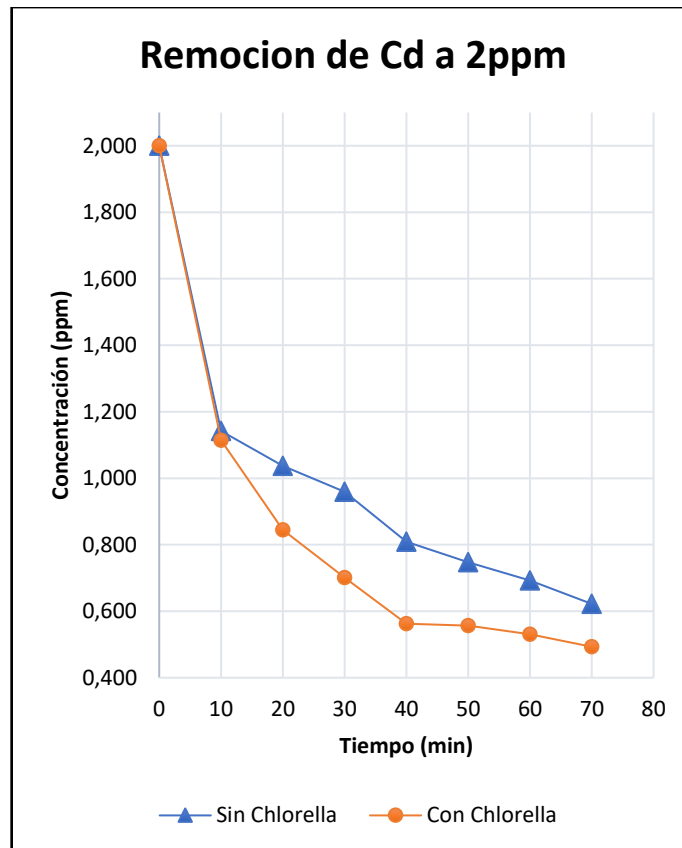


Gráfico 10-3: Comparación de remoción de Cd a 2ppm.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

Mediante un análisis de varianza con un nivel de significancia del 0,05 se evidenció que la comparación de medias entre los ensayos sin presencia de *Chlorella sp.*, con aquellos que tienen presencia de *Chlorella sp.* presentan una diferencia de medias al obtener un valor de $p=0,032$ como se muestra en el ANEXO I, con lo cual se afirma lo evidenciado en el gráfico comparativo, que el uso de la microalga permitió mejorar el porcentaje de remoción a esta concentración.

3.1.14. Comparación de ensayos a 5ppm

En cuanto a los ensayos de remoción a 5ppm se observa que en los ensayos con presencia de microalga *Chlorella sp.* desde el tiempo 1 (10 minutos) presenta un mayor porcentaje de remoción del metal Cd, además de llegar a una menor concentración a los 70 minutos del ensayo a comparación de los ensayos realizados sin presencia de *Chlorella sp.*

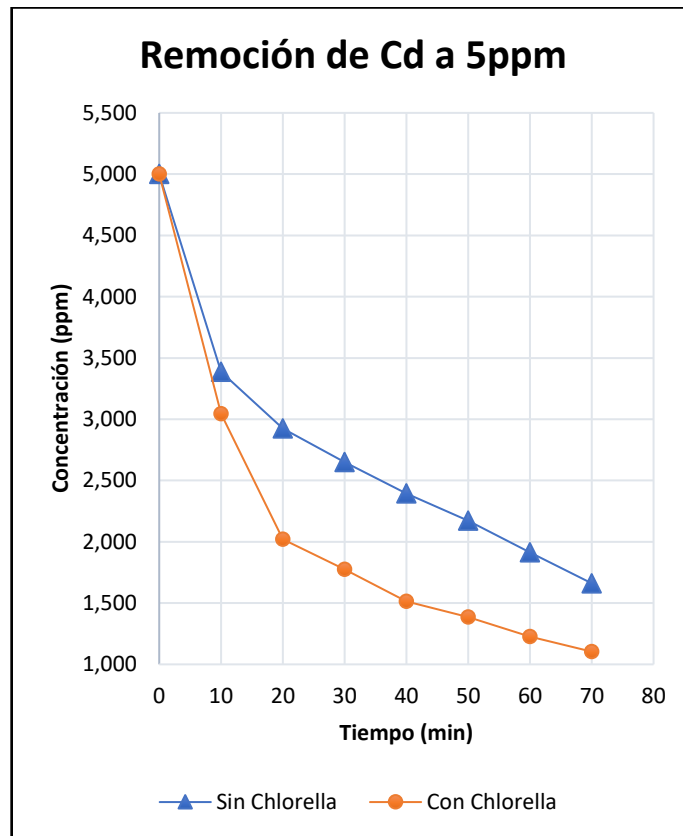


Gráfico 11-3: Comparación de remoción de Cd a 5ppm.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

Mediante un análisis de varianza con un nivel significancia de 0,05 se obtuvo una diferencia significativa entre las medias de los ensayos con presencia de *Chlorella sp.* en comparación de los que no tienen presencia de *Chlorella sp.* al obtener un valor de $p=0,004$ como se muestra en el ANEXO I, con lo cual se afirma estadísticamente que la presencia de la microalga favoreció al incremento de porcentaje de remoción de Cd presente a la concentración de 5ppm.

3.1.15. Comparación de ensayos a 10ppm

Para los ensayos de remoción a 10ppm se observó al igual que en los ensayos anteriores, que, en los primeros 10 minutos de ensayo existió un mayor porcentaje de remoción del metal pesado como se muestra en el gráfico 10-3, donde además los ensayos con presencia de *Chlorella sp.* presentan un mayor porcentaje de remoción de Cd.

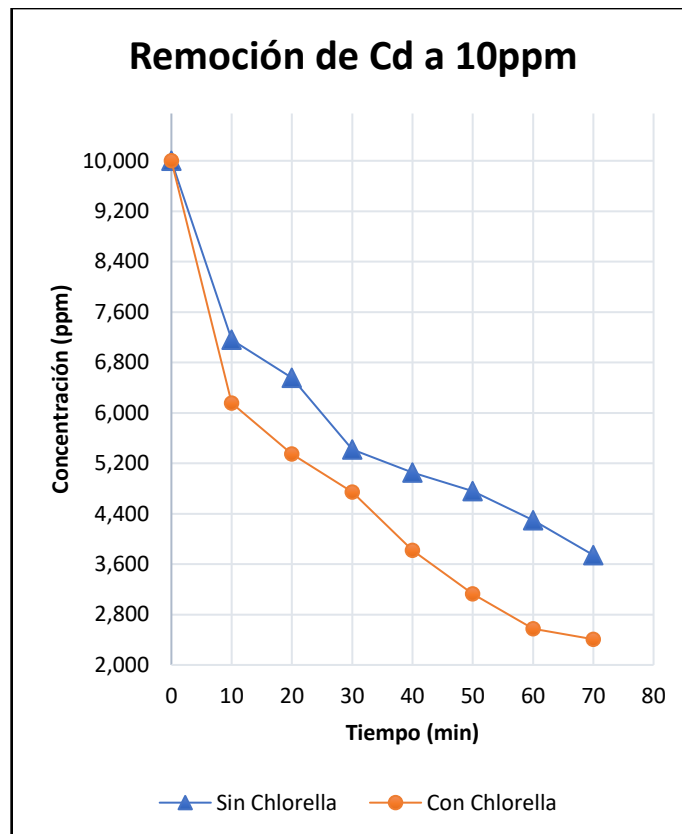


Gráfico 12-3: Comparación de remoción de Cd a 10ppm.
Realizado por: Serrano, M. 2021.

Mediante un análisis de varianza con una significancia del 0,05 entre los ensayos con presencia de *Chlorella sp.* con los que no tienen presencia de microalga se obtuvo un valor de $p=0,015$ como se muestra en el ANEXO I, con lo cual se determina que existe una diferencia entre las medias de los ensayos analizados, con lo cual se evidencia estadísticamente que la presencia de microalga permitió remover mayor cantidad de metal pesado en el período de 70 minutos de ensayo.

3.1.16. Planteamiento de diseño de humedal artificial

Para el esquema del humedal artificial se ha tomado en cuenta todos los tipos de humedal mencionados en el marco conceptual, observando cada una de las cualidades y características propias de cada uno de estos. Además, se observó los resultados obtenidos en las diferentes concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm, donde los resultados en 10ppm tanto para remoción de Pb por parte de la especie *Scirpus Californicus*, y de Cd por parte de la microalga *Chlorella sp.* inmovilizada en perlas de alginato de sodio, obtuvieron porcentajes de remoción significativos y similares siendo 74,20% para Pb y 75,93% para remoción de Cd.

Con relación al tipo de humedal artificial, al usar la especie vegetal *Scirpus Californicus*, el tipo de humedal artificial que se caracteriza por el uso de especies vegetales que crecen en suelos anegados, es el que se encuentra basado en macrófitas enraizadas emergentes. En cuanto al tipo de flujo de agua dentro del humedal, el adecuado a usar con esta especie vegetal es el de tipo subsuperficial, ya que este es el que permite que el agua a tratar recorra y entre en contacto con las raíces de la planta, que, en este caso, son los agentes de la especie vegetal que permiten la remoción del metal pesado Pb. Con respecto al tipo de ingreso de agua al humedal artificial, el flujo de tipo vertical, es aquel que permite realizar la carga de manera intermitente, como se ha realizado la experimentación a nivel de laboratorio, para el caso de *Scirpus Californicus* y *Chlorella sp.*, y además esta técnica permite el reposo del humedal posterior a su uso como lo menciona (Delgadillo et al., 2010, p.11).

En cuanto a la intervención de la microalga *Chlorella sp.* en el tipo de humedal artificial planteado en base a la totora, se puede realizar en dos maneras, siendo la primera la participación de la microalga dentro del sistema de drenaje del humedal artificial, en el cual se colecta toda el agua tratada por parte de las especies vegetales. La segunda forma de intervención es mediante biorreactores, los cuales vendrían a estar acoplados en la parte final del sistema de drenaje del humedal artificial, como lo ha desarrollado (Quintero García et al., 2021, p.86) con la utilización de botellas recicladas de polietileno tereftalato (PET), en las cuales se realizaba el ingreso del agua a tratar, posterior al paso por el humedal artificial elaborado en su investigación.

En base a los resultados obtenidos se puede decir que la capacidad de remoción se mantendrá efectiva mientras la concentración de metales pesados dentro del agua a tratar, sea de 10ppm-5ppm en el caso de Pb, ya que se obtuvo una remoción significativa en este rango siendo mucho mejor en el 10ppm; mientras que para la remoción de Cd el rango de 10ppm-2ppm sería el adecuado puesto que en cada uno de los ensayos de 2ppm, 5ppm y 10ppm realizados, se observó que la microalga inmovilizada presento una remoción mayor al 70%.

3.2. Discusión

En cuanto a la capacidad de remoción de Pb por parte de la especie vegetal *Scirpus californicus* se obtuvo el mayor porcentaje de remoción (74,20%) en el tratamiento 3 con agua sintética a 10ppm mientras que el menor porcentaje fue de 27,52% en el tratamiento 1 con agua sintética a 2ppm, con lo cual se puede decir que a mayor concentración del metal pesado la especie vegetal aumenta su porcentaje de remoción, concordando con los resultados obtenidos en la investigación de (Fernández y Santos, 2014, p.19) donde existió una mayor remoción de metal pesado Cd en los ensayos expuestos a una concentración más elevada del metal. Además (Esquivel Ramos, 2020, p.14) expresa que este comportamiento se debe principalmente para mantener la homeostasis en su medio, a través de la coordinación de la captación, neutralización, transporte y almacenamiento del metal pesado, donde para lograr este objetivo se observa mayor generación de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y el tripéptido glutatión (GSH) en la planta, ya que son los agentes encargados de evitar el estrés oxidativo de la especie vegetal.

Los porcentajes de capacidad de remoción se pudieron ver afectados puesto que las especies vegetales ya tenían presencia de Pb en su estructura, sin embargo, se puede afirmar que la especie vegetal posee una capacidad de remoción considerable del metal Pb de las aguas contaminadas con el mismo. En los estudios realizados por (Cuadrado et al., 2019, p.80) se ratifica la capacidad de remoción de Pb de la especie vegetal *Scirpus Californicus* en donde se realizaron ensayos de remoción de varios metales pesados con individuos vegetales en estado adulto y en medio de cultivo hidropónico obteniendo en sus ensayos un porcentaje de remoción del 53,50%.

Además en la presente investigación se observó que la especie vegetal mantuvo un desarrollo adecuado de nuevos tallos y de nuevas raíces demostrando con esto una tolerancia y adaptación al medio contaminado con plomo, de acuerdo con (Diaz y Peralta, 2017, p.47) en su trabajo de investigación, donde se constató que la especie vegetal no presenta cambios morfológicos drásticos, además se demuestra un nivel de tolerancia al plomo en concentraciones de hasta 80ppm, evidenciando una viabilidad del uso de la especie vegetal *Scirpus californicus* en aguas contaminadas con este metal pesado.

Con respecto al tiempo de contacto entre la especie vegetal y el contaminante se observó que el período seleccionado de 10 días fue idóneo para la remoción a las concentraciones usadas en esta investigación. (Cuadrado et al., 2019, p.80) ratifica este punto mediante la realización de ensayos de medio hidropónico el cual permitió observar la capacidad de remoción en el transcurso de los días, en el cual se observó que a mayor tiempo de contacto existe una mayor remoción del metal pesado.

Para los ensayos de remoción de Cd con la microalga *Chlorella sp.* inmovilizada en perlas de alginato a una concentración de $6,24 \times 10^6$ cel./ml, se obtuvieron porcentajes de remoción mayores al 70%, siendo para el ensayo a 2ppm un promedio de 75,35% de remoción, para el ensayo de 5ppm un promedio de 77,93%; y para el ensayo de 10ppm, un promedio de 75,93%. Estos valores son mayores que los ensayos testigo (perlas de alginato sin *Chlorella sp.*) en los cuales se obtuvieron porcentajes de remoción no mayores al 70%, siendo para el ensayo de 2ppm un promedio de 68,90%; para el ensayo de 5ppm un promedio de 66,78%; y para el ensayo de 10ppm un promedio de 62,57%.

Con los valores obtenidos se ha demostrado que la microalga *Chlorella sp.* es capaz de remover el metal pesado cadmio a concentraciones bajas, como lo rectifica (Perenguez y Valdez, 2017, p.33) en su investigación, observando que en los ensayos a 20ppm se obtuvo mejor remoción con la microalga *Chlorella sp.* a comparación de los ensayos de 100ppm y 200ppm; donde se presentó un porcentaje de remoción bajo en los ensayos con presencia de *Chlorella sp.*, esto debido a que el índice de toxicidad del metal Cd para la microalga se encuentra a 102.5 ppm, donde el nivel de mortandad de la microalga es muy elevado (Maldonado, 2019. p.43), demostrando que las concentraciones usadas en esta investigación se encuentran por debajo del índice de toxicidad y por lo cual el proceso de biosorción del metal Cd con microalga ha sido efectivo.

En cuanto al uso del alginato de sodio como agente inmovilizador y esferificador, presenta una gran viabilidad, puesto que también presenta una acción de adsorción de metales pesados, demostrado en la investigación de (Carrasco, 2018, p.36) en la cual afirma que el alginato también participa en la acción de remoción del metal pesado cadmio, donde su uso favorece a la microalga *Chlorella sp.*, ya que la células se vuelven metabólicamente más activas, lo cual ayuda a la remoción del metal pesado.

CONCLUSIONES

- La recolección de individuos plantulares jóvenes de la especie vegetal *Scirpus Californicus*, fueron sometidos a un proceso de lavado y sembrado en un nuevo medio de desarrollo de tipo comercial (substrato HAWITA), en el cual se observó un crecimiento adecuado de las especies vegetales, con aparición de nuevos tallos y raíces los cuales demostraron la adaptación correcta para ser usados en los diferentes tratamientos de remoción de metal pesado Pb. En cuanto a la microalga *Chlorella sp.*, se obtuvo su inóculo del centro de investigación CENAIM-ESPOL, el cual fue sembrado posteriormente en bioreactores de 6L con períodos de 12h de luz y 12h de obscuridad, controlando el pH, al realizar la reducción de salinidad, obteniendo una concentración final de $6,24 \times 10^6$ cel./ml, y una salinidad del cultivo del 8%; siendo estos valores adecuados, para su utilización dentro de esta investigación.
- Para la elaboración de agua sintética se establecieron concentraciones de 2ppm, 5ppm y 10ppm de los metales pesados Pb y Cd con salinidad de 10g/L, las cuales fueron aplicadas a cada uno de los tratamientos con *Scirpus Californicus* (agua sintética de Pb) en grupos de 7 individuos por tratamiento; y ensayos, con doble repetición para la microalga *Chlorella sp.* (agua sintética de Cd) la cual se inmovilizó en perlas de alginato.
- En la experimentación se obtuvieron, para la especie vegetal *Scirpus Californicus* porcentajes de remoción del metal pesado Pb en 2ppm 27,52%; en 5ppm 65,19% y en 10ppm 74,20%. Mientras que para la microalga *Chlorella sp.* inmovilizada en perlas de alginato, se obtuvieron porcentajes de remoción para 2ppm 75,35%, para 5ppm 77,93% y para 10ppm 75,93%; datos que reflejan un porcentaje de remoción significativo de los elementos contaminantes, los cuales demuestran la viabilidad de los individuos para ser usados en procesos de tratamiento de aguas de los metales pesados cadmio y plomo.
- La especie *Scirpus Californicus* tiene la capacidad de remover en mayor proporción el metal pesado a concentraciones de 10ppm, con lo cual, para el planteamiento del humedal artificial, se considera idóneo que la concentración de Pb presente en el agua tratar sea de 10ppm. Mientras que para la remoción de Cd por parte de la microalga *Chlorella sp.* inmovilizada en perlas de alginato, el porcentaje de remoción se mantuvo similar en las tres concentraciones trabajadas, con lo cual, para el tratamiento de aguas con este metal pesado, se pueden trabajar en el rango de 2ppm a 10ppm. En cuanto al diseño mediante análisis bibliográfico se determinó que el humedal artificial basado en macrófitas enraizadas emergentes de flujo subsuperficial vertical, es el más adecuado, ya que su estructura permite la intervención de las dos especies usadas en esta investigación, donde la microalga participa, dentro del sistema de drenaje o anexada a los mismos como bioreactores.

RECOMENDACIONES

- Durante el proceso de tratamiento y adaptación de las especies vegetales *Scirpus Californicus*, observar que el medio de desarrollo permanezca húmedo en todo momento y cubriendo los nuevos brotes de raíces.
- Mantener siempre desinfectado todo el material a usar en el proceso de cultivo de la microalga *Chlorella sp.*, para evitar la contaminación del cultivo con otros microorganismos o sustancias que afecten el crecimiento. Además, mantener la bomba de reflujo limpia los canales de ingreso y salida para una correcta circulación; al igual que las mangueras de dosificación conectadas a la bomba de flujo de aire.
- Mantener el control de la efervescencia en el proceso de digestión acida de las muestras, al momento de adicionar el peróxido de hidrogeno retirando el vaso de precipitación de la plancha de calentamiento por unos segundos.
- Considerar un orden adecuado de las muestras a analizar al momento depositarlas en el autosampler del equipo absorción atómica.

BIBLIOGRAFÍA

ACUÑA RUIZ, V.A., 2012. *Determinación espectrofotométrica de plomo (II) con ditizona en solución micelar aniónica*. S.l.: Universidad Nacional De San Marcos.

ANASTOPOULOS, I. y KYZAS, G.Z., 2015. Progress in batch biosorption of heavy metals onto algae. *Journal of Molecular Liquids* [en línea], vol. 209, pp. 77–86. [Consulta: 7 enero 2021]. ISSN 01677322. DOI 10.1016/j.molliq.2015.05.023. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167732215002214>.

ARSHAD, N. y IMRAN, S., 2020. Indigenous waste plant materials: An easy and cost-effective approach for the removal of heavy metals from water. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry* [en línea], vol. 3, pp. 100040. [Consulta: 7 enero 2021]. ISSN 26660865. DOI 10.1016/j.crgsc.2020.100040. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666086520300436>.

ARTEAGA CORTEZ, V.M., QUEVEDO NOLASCO, A., DEL VALLE PANIAGUA, D.H., CASTRO POPOCA, M., BRAVO VINAJA, Á. y RAMÍREZ ZIEROLD, J.A., 2019. Estado del arte: una revisión actual a los mecanismos que realizan los humedales artificiales para la remoción de nitrógeno y fósforo. *Tecnología y Ciencias del Agua* [en línea], vol. 10, no. 5, pp. 319–342. [Consulta: 11 enero 2021]. ISSN 20072422. DOI 10.24850/j-tyca-2019-05-12. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-24222019000500319&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

AZCONA CRUZ, M., RAMÍREZ AYALA, R. y VICENTE FLORES, G., 2015. Efectos toxicos del plomo. *Revista de Especialidades Médico Quirúrgicas* [en línea], vol. 20, no. 1, pp. 72–77. [Consulta: 9 enero 2021]. Disponible en: <http://www.who.int/ipcs/features/lead..pdf>.

BERNABE VALERIO, Y.Y., 2020. *Capacidad de absorción de plomo en la totora (Scirpus californicus), en crecimiento en las aguas en la zona del Delta Upamayo-Lago Chinchaycocha-2019* [en línea]. S.l.: Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión. [Consulta: 11 enero 2021]. Disponible en: <http://repositorio.undac.edu.pe/handle/undac/1986>.

BRAVO, A.S., 2006. *Agua: un recurso escaso* [en línea]. S.l.: Arcibel Editores. ISBN

9788493537401. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=kOSe7Rj9c1sC>.

- CARABANTES, A.G. y DE FERNICOLA, N.A.G.G.**, 2003. Arsénico en el agua de bebida: un problema de salud pública. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 39.
- CARRASCO, A.**, 2018. *Estudio isotérmico de biosorción de cadmio en solución acuosa empleando perlas de alginato con Chlorella sp. inmovilizada* [en línea]. S.l.: Universidad Politécnica Salesiana. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15821>.
- CAVIEDES RUBIO, D.I., MUÑOZ CALDERÓN, R.A., PERDOMO GUALTERO, A., RODRÍGUEZ ACOSTA, D. y SANDOVAL ROJAS, I.J.**, 2015. Tratamientos para la Remoción de Metales Pesados Comúnmente Presentes en Aguas Residuales Industriales. Una Revisión. *Ingeniería y Región*, vol. 13, no. 1, pp. 73. ISSN 1657-6985. DOI 10.25054/22161325.710.
- CEIBAL, B.**, 2012. *Chlorella vulgaris*. [en línea]. S.l.: [Consulta: 12 enero 2021]. Disponible en: https://contenidos.ceibal.edu.uy/fichas_educativas/_pdf/ciencias-naturales/reino-protista/002-chlorella-vulgaris.pdf.
- CHÁVEZ VALLARINO, C.**, 2011. *Detección de metales pesados en agua* [en línea]. S.l.: Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. Disponible en: <https://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1009/671/1/ChavezVC.pdf>.
- CIRELLI, A.F.**, 2012. El agua: un recurso esencial. *Química viva* [en línea], vol. 11, pp. 147–170. [Consulta: 7 enero 2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/863/86325090002.pdf>.
- CUADRADO, W., CUSTODIO, M., ESPINOZA, C., VICUÑA, C. y URIBE, M.**, 2019. Capacity of Absorption and Removal of Heavy Metals from *Scirpus californicus* and Its Potential Use in the Remediation of Polluted Aquatic Environment. *Open Journal of Marine Science*, vol. 09, no. 02, pp. 74–85. ISSN 2161-7384. DOI 10.4236/ojms.2019.92006.
- DEL POZO PÉREZ, A. y RAMOS, P.**, 2012. Producción y valorización de biomasa de microalgas: un enfoque de biorrefinería. *El hombre y el medio ambiente: XIV Jornadas Ambientales*. Salamanca: Ediciones Universidad de Salamanca, Aquilafuente, pp. 245. ISBN 9788478001620.

- DELGADILLO, O., CAMACHO, A., PÉREZ, L. y ANDRADE, M.,** 2010. *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Cochabamba: Centro Andino para la Gestión y Uso del Agua (Centro AGUA). ISBN 978-99954-766-2-5.
- DIAZ, L.M. y PERALTA, L.,** 2017. *Estudio comparativo de la capacidad de acumulación para cadmio y plomo de Scirpus californicus (Totora) Y Stypa ichu (Ichu) bajo condiciones hidropónicas*. S.l.: UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA.
- ESMERALDA, P., GARCÍA, P., ISABEL, M. y CRUZ, A.,** 2012. Los efectos del cadmio en la salud. *Revista de Especialidades Medico-Quirúrgicas* [en línea], vol. 17, no. 3, pp. 199–205. [Consulta: 9 enero 2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/473/47324564010.pdf>.
- ESQUIVEL RAMOS, E.,** 2020. *Remoción de plomo (Pb) por plantas normales y transgénicas de Scirpus americanus (tule) y estudio de los mecanismos bioquímicos involucrados en la tolerancia* [en línea]. S.l.: Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Disponible en: [https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/bitstream/handle/i/7110/Tesis.M.FCQ.2020.Remoción.Esquivel %20Versión pública%29.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/bitstream/handle/i/7110/Tesis.M.FCQ.2020.Remoción.Esquivel%20Versión%20pública%29.pdf?sequence=2&isAllowed=y).
- FERNÁNDEZ GONZÁLEZ, J., DE MIGUEL, E., DE MIGUEL MUÑOZ, J. y CURT FERNANDEZ, M.,** 2004. *Fitodepuración. Filtros de macrofitas en flotación*. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid.
- FERNÁNDEZ, J., MUÑOZ, J., BEASCOECHEA, E. y CURT FERNANDEZ, M.,** 2005. *Manual de fito depuración. Filtros de macrofitas en flotación*. Madrid: EDITAN.
- FERNÁNDEZ, L. y SANTOS, E.,** 2014. Capacidad acumuladora de cadmio en raíces de Scirpus californicus expuestas a diferentes concentraciones de nitrato de cadmio en condiciones de laboratorio. *Revista REBIOLEST* [en línea], vol. 1, no. 2, pp. 14–22. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/472>.
- FERNÁNDEZ LINARES, L.C., ROJAS AVELIZAPA, N.G., ROLDÁN CARRILLO, T.G., RAMÍREZ ISLAS, M.E., ZEGARRA MARTÍNEZ, H.G., URIBE HERNÁNDEZ, R., REYEZ ÁVILA, R.J., FLORES HERNÁNDEZ, D. y ARCE ORTEGA, J.M.,** 2006. *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación* [en línea]. 2006. S.l.: s.n. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/121876082/Manual-de-Analisis-de-Suelos>.

- GALLEGOS, W., VEGA, M. y NORIEGA, P.**, 2012. Espectroscopia de absorción atómica con llama y su aplicación para la determinación de plomo y control de productos comestibles. *La Granja, Revista de ciencias de la vida*. S.l.:
- GARCÍA, J.**, 2004. *Tratamiento de aguas industriales: Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno*. Barcelona: Ed. Fundación Universitaria Iberoamericana.
- HERNÁNDEZ CARMONA, G., RODRÍGUEZ MONTESINOS, Y., ARVIZU HIGUERA, D., REYES TISNADO, R., MURILLO ÁLVAREZ, J.I. y MUÑOZ, M.**, 2012. Avances tecnológicos en la producción de alginatos en México. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, vol. XIII, no. 2, pp. 155–168. ISSN 1405-7743.
- HURTADO, A., SELGAS, R. y SERRANO, Á.**, 2020. El alginato y sus inmensas aplicaciones industriales. *Nereis. Interdisciplinary Ibero-American Journal of Methods, Modelling and Simulation.*, no. 12, pp. 137–149. ISSN 1888-8550. DOI 10.46583/nereis_2020.12.573.
- INFANTE, C., ANGULO, E., ZÁRATE, A., FLOREZ, J.Z., BARRIOS, F. y ZAPATA, C.**, 2012. PROPAGACIÓN DE LA MICROALGA *Chlorella* sp. EN CULTIVO POR LOTE: CINÉTICA DEL CRECIMIENTO CELULAR. *Avances en Ciencias e Ingeniería* [en línea], vol. 3, no. 2, pp. 159–164. [Consulta: 12 enero 2021]. Disponible en: http://www.exeedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/159.
- JACINTO SOTO, H.**, 2006. *Potencial contaminación por cromo en el proceso de refinación del petróleo* [en línea]. S.l.: UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. [Consulta: 11 enero 2021]. Disponible en: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/monografias/ingenie/jacinto_sh/cap2.pdf.
- LONDOÑO FRANCO, L.F.**, 2014. *Presencia de metales pesados en hatos lecheros de los municipios de San Pedro y Entreríos, Antioquia, Colombia = Heavy metals in dairy herds in the municipalities of San Pedro and Entreríos, Antioquia, Colombia* [en línea]. S.l.: Universidad de León. [Consulta: 8 enero 2021]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10612/3667>.
- LONDOÑO FRANCO, L.F., LONDOÑO MUÑOZ, P.T. y MUÑOZ GARCIA, F.G.**, 2016. Los Riesgos De Los Metales Pesados En La Salud Humana Y Animal. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, vol. 14, no. 2, pp. 145. ISSN 1909-9959. DOI 10.18684/bsaa(14)145-153.

- LORENZO, C.**, 2012. *Tratamiento De Agua Residual Urbana Con Salinidad Variable* [en línea]. S.l.: Universidad de Granada. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10481/23760>.
- MALDONADO, I.**, 2019. *Evaluación de la respuesta fisiológica de la microalga *Chlorella sp.* a la presencia de metal Cadmio en aguas sintéticas* [en línea]. S.l.: Universidad Politecnica Salesiana. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17405/1/UPS-QT13951.pdf>.
- NAULA, Lady y ZUÑIGA, A.**, 2021. *Remoción de metales pesados (cromo, zinc, aluminio, arsénico, níquel y cobre) en aguas industriales utilizando algas coinmovilizadas con alginato de sodio* [en línea]. S.l.: Universidad de Cuenca. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/36637/1/Trabajo de Titulación.pdf>.
- ONTIVEROS, R.E., DIAKITE, L., ÁLVAREZ, M. y CORAS, P.**, 2013. Evaluación de aguas residuales de la ciudad de México utilizadas para riego. *Tecnología y Ciencias del Agua*, vol. IV, pp. 127–140.
- OQUENDO ANDINO, J.R.**, 2016. *EVALUACIÓN DE THYPA LATIFOLIA EN LA ABSORCIÓN DE PLOMO Y PROPUESTA DE FITORREMEDIACIÓN DE AGUAS RESIDUALES CON METALES* [en línea]. S.l.: Universidad Internacional SEK. [Consulta: 7 enero 2021]. Disponible en: <https://repositorio.uisek.edu.ec/handle/123456789/1606>.
- PATIÑO GÓMEZ, J.M.**, 2012. *COSTOS DE INVERSIÓN INICIAL, OPERACIÓN Y MANTENIMIENTO DE TRATAMIENTOS NATURALES DE AGUAS RESIDUALES PARA PEQUEÑAS COMUNIDADES EN COLOMBIA*. [en línea]. S.l.: [Consulta: 12 diciembre 2020]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/7547>.
- PATRA, D.K., ACHARYA, S., PRADHAN, C. y PATRA, H.K.**, 2021. Poaceae plants as potential phytoremediators of heavy metals and eco-restoration in contaminated mining sites. *Environmental Technology & Innovation* [en línea], vol. 21, pp. 101293. [Consulta: 7 enero 2021]. ISSN 23521864. DOI 10.1016/j.eti.2020.101293. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352186420315935>.
- PERENGUEZ, B. y VALDÉZ, C.**, 2017. *Análisis de remoción de cadmio por acción de la microalga *Chlorella sp.* inmovilizada en perlas de alginato* [en línea]. S.l.: Universidad Politecnica Salesiana. [Consulta: 8 enero 2021]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14211/1/UPS-QT11673.pdf>.

PG-INSTRUMENTS, [sin fecha]. *Atomic Absorption Spectrophotometer*. S.l.: s.n.

QUINTERO GARCÍA, K.L., RODRÍGUEZ ZÚÑIGA, D.P., GONZÁLEZ DUQUE, M.E. y ARROYAVE ROJAS, J.A., 2021. Evaluación de la remoción de nitrógeno y materia orgánica a través de humedales artificiales de flujo subsuperficial, acoplados a reactores de lecho fijo con microalgas en la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia. *Ingeniería y Región*, vol. 25, pp. 82–94. ISSN 1657-6985. DOI 10.25054/22161325.2921.

REYES NAVARRETE, M., ALVARADO DE LA PEÑA, A., MAGDALENA ANTUNA, D., GARCÍA VARGAS, A., GONZÁLEZ VALDEZ, L. y DEL CARMEN VÁZQUEZ ALARCÓN, E., 2012. METALES PESADOS: IMPORTANCIA Y ANALISIS. [en línea]. Durango: [Consulta: 7 enero 2021]. Disponible en: http://www.academia.edu/download/48440540/ANALISIS_DE_ARSENICO_Y_METAL_ES_PESADOS_EN_E_L_AGUA_2.pdf.

REYES, Y.C., VERGARA, I., TORRES, O.E., DÍAZ, M. y GONZÁLEZ, E.E., 2016. Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *dialnet.unirioja.es* [en línea], vol. 16, pp. 66–77. [Consulta: 12 diciembre 2020]. ISSN 2422-4324. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6096110>.

RODRÍGUEZ REY, A., CUÉLLAR LUNA, L., MALDONADO CANTILLO, G. y SUARDIAZ ESPINOSA, M.E., 2016. Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre Harmful effects of lead on human health. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, vol. 35, no. 3.

RUIZ-LÓPEZ, V., DEL, M., GONZÁLEZ-SANDOVAL, R., ANTONIO BARRERA-GODÍNEZ, J., MOELLER-CHÁVEZ, G., RAMÍREZ-CAMPEROS, E. y DURÁN-DOMÍNGUEZ-DE-BAZÚA, C., 2010. Remoción de Cd y Zn de una corriente acuosa de una empresa minera usando humedales artificiales. *Ciencia Ed. (IMIQ)* [en línea]. S.l.: [Consulta: 7 enero 2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/482/48215094004.pdf>.

SAAVEDRA CONCHA, R., 2020. *Biorremediación de aguas con metales pesados mediante biomasa microalgal* [en línea]. S.l.: Universidad de Valladolid. [Consulta: 7 enero 2021]. Disponible en: <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/42745>.

SMITH, D.R. y NORDBERG, M., 2015. General Chemistry, Sampling, Analytical Methods, and Speciation. *Handbook on the Toxicology of Metals: Fourth Edition* [en línea]. S.l.: Elsevier Inc., pp. 15–44. [Consulta: 8 enero 2021]. ISBN 9780123973399. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444594532000020>.

YUNGA, J.P., 2018. *Caracterización de la microalga fischerella muscicola, para evaluar la biomasa y su potencial uso en la industria alimenticia* [en línea]. S.l.: Universidad SEK. Disponible en: [https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2865/1/CARACTERIZACIÓN DE LA MICROALGA FISCHERELLA MUSCICOLA%2C PARA EVALUAR LA BIOMASA Y SU POTENCIAL USO EN LA INDUSTRIA ALIMENTICIA.pdf](https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2865/1/CARACTERIZACIÓN%20DE%20LA%20MICROALGA%20FISCHERELLA%20MUSCICOLA%20PARA%20EVALUAR%20LA%20BIOMASA%20Y%20SU%20POTENCIAL%20USO%20EN%20LA%20INDUSTRIA%20ALIMENTICIA.pdf).

ANEXOS

ANEXO A: ANÁLISIS ANOVA DE TRATAMIENTOS DE REMOCIÓN DE CD CON PERLAS DE ALGINATO

Análisis de Varianza de tratamientos a 2ppm

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tipo de perla	1	0,2087	0,20871	5,14	0,032
Error	26	1,0559	0,04061		
Total	27	1,2646			

Análisis de Varianza de tratamientos a 5ppm

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tipo de perlas	1	3,623	3,6233	9,85	0,004
Error	26	9,562	0,3678		
Total	27	13,185			

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
tipo de perla	2	a; b
a: sin <i>Chlorella</i>		
b: con <i>Chlorella</i>		

Análisis de Varianza de tratamientos a 10ppm

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tipo de perlas	1	11,12	11,116	6,73	0,015
Error	26	42,98	1,653		
Total	27	54,09			

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
ELABORADO POR: Serrano Michael

TEMA: EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE
METALES PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y
TOTORA *Scirpus californicus*. PARA SU USO EN HUMEDALES
ARTIFICIALES

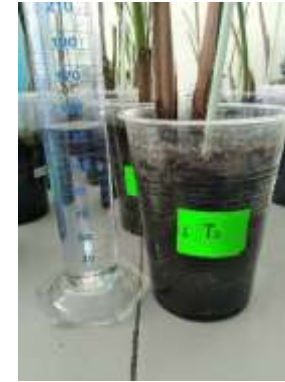
ANEXO B: RECOLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA ESPECIE VEGETAL *SCIRPUS CALIFORNICUS*



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
ELABORADO POR: Serrano Michael

TEMA: EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE
METALES PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y
TOTORA *Scirpus californicus*. PARA SU USO EN HUMEDALES
ARTIFICIALES

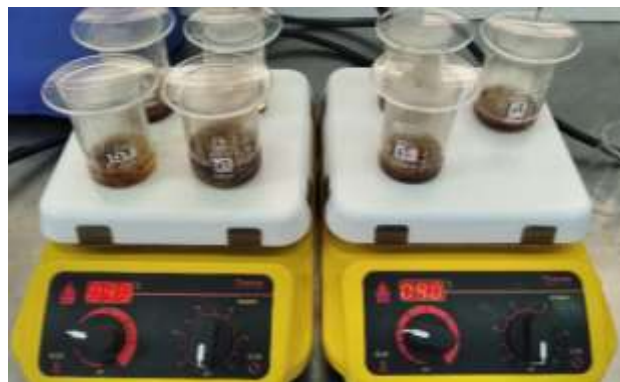
ANEXO C: CONTROL DE PH Y ENSAYOS DE REMOCIÓN DE PB



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
ELABORADO POR: Serrano Michael

TEMA: EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE
METALES PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y
TOTORA *Scirpus californicus*. PARA SU USO EN HUMEDALES
ARTIFICIALES

ANEXO D: PROCESAMIENTO DE RAÍCES DE *SCIRPUS CALIFORNICUS* PARA LECTURA EN EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
ELABORADO POR: Serrano Michael

TEMA: EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE
METALES PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y
TOTORA *Scirpus californicus*. PARA SU USO EN HUMEDALES
ARTIFICIALES

ANEXO E: FILTRADO, AFORO DE MUESTRAS *SCIRPUS CALIFORNICUS*, ELABORACIÓN DE SOLUCIONES PATRÓN Y CALIBRACIÓN DEL EQUIPO Y LECTURA DE MUESTRAS



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
ELABORADO POR: Serrano Michael

TEMA: EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE METALES PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y TOTORA *Scirpus californicus*. PARA SU USO EN HUMEDALES ARTIFICIALES

ANEXO F: PROCESO DE CRECIMIENTO DE *CHLORELLA SP.*



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
ELABORADO POR: Serrano Michael

TEMA: EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE
METALES PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y
TOTORA *Scirpus californicus*. PARA SU USO EN HUMEDALES
ARTIFICIALES

ANEXO G: ELABORACIÓN DE PERLAS DE ALGINATO DE SODIO SIN *CHLORELLA SP.* Y CON *CHLORELLA SP.*



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
ELABORADO POR: Serrano Michael

TEMA: EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE
METALES PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y
TOTORA *Scirpus californicus*. PARA SU USO EN HUMEDALES
ARTIFICIALES

ANEXO H: REALIZACIÓN DE ENSAYOS DE REMOCIÓN DE CADMIO, TOMA DE MUESTRAS Y LECTURA DE LAS MISMAS



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
ELABORADO POR: Serrano Michael

TEMA: EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE
METALES PESADOS POR PARTE DE MICROALGA *Chlorella sp.* Y
TOTORA *Scirpus californicus*. PARA SU USO EN HUMEDALES
ARTIFICIALES

ANEXO I: RESULTADOS DE ANÁLISIS DE CD Y PB POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA



LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE AGUA POTABLE			
Aguapen-EP			
REPORTE DE ENSAYO			
Responsable del análisis: Ing. José Chancay García			
Evaluación de remoción de metales pesados Pb y Cd		Solicita: Michael Alcides Serrano Enriquez	
ENSAYO	RESULTADOS	UNIDAD	MÉTODO
Ensayo 1 Cd	47,343	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Homo Grafito)
	42,486		
	39,914		
	32,914		
	30,200		
	27,486		
Ensayo 2 Cd	24,316	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Homo Grafito)
	55,059		
	50,647		
	45,985		
	39,765		
	36,971		
Ensayo 3 Cd	34,912	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Homo Grafito)
	31,807		
	50,629		
	44,914		
	40,057		
	36,486		
Ensayo 4 Cd	32,486	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Homo Grafito)
	28,343		
	24,771		
	50,941		
	42,853		
	39,471		
Ensayo 5 Cd	35,353	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Homo Grafito)
	32,706		
	29,029		
	25,059		
	72,297		
	64,189		
Ensayo 6 Cd	52,838	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Homo Grafito)
	47,973		
	45,541		
	41,757		
	37,703		
	70,946		
Ensayo 6 Cd	66,892	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Homo Grafito)
	55,541		
	53,108		
	49,595		
	44,189		
	37,162		



Título: Manabesense 2020
JOSE LUIS CHANCAY

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE AGUA POTABLE			
Aguapen-EP			
REPORTE DE ENSAYO			
Responsable del análisis: Ing. José Chancay García			
Evaluación de remoción de metales pesados Pb y Cd		Solicita: Michael Alcides Serrano Enriquez	
ENSAYO	RESULTADOS	UNIDAD	MÉTODO
Ensayo 7 Cd	44,029	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	33,441		
	27,853		
	22,559		
	22,265		
	21,382		
Ensayo 8 Cd	19,618	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	45,112		
	34,105		
	28,212		
	22,414		
	22,230		
Ensayo 9 Cd	21,040	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	19,819		
	59,916		
	39,542		
	34,402		
	29,822		
Ensayo 10 Cd	28,981	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	25,561		
	22,048		
	61,879		
	41,224		
	36,551		
Ensayo 11 Cd	30,757	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	26,458		
	23,450		
	22,093		
	62,186		
	53,657		
Ensayo 12 Cd	48,069	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	39,735		
	31,304		
	23,559		
	22,382		
	60,912		
Ensayo 12 Cd	53,265	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	46,794		
	36,598		
	31,206		
	27,873		
	25,768		



Forma digitalizada por:
**JOSE LUIS
CHANCAY**

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE AGUA POTABLE			
REPORTE DE ENSAYO			
Responsable del análisis: Ing. José Chancay García		Solicita: Michael Alcides Serrano Enriquez	
Evaluación de remoción de metales pesados Pb			
ENSAYO	RESULTADOS	UNIDAD	MÉTODO
Ensayo 1 Pb	7,129	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	5,516		
	5,839		
	5,516		
	5,194		
	6,161		
Ensayo 2 Pb	7,129	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	12,1210		
	8,1820		
	4,5450		
	8,1820		
	15,2500		
Ensayo 3 Pb	17,5500	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)
	13,2500		
	24,8710		
	23,9030		
	25,1940		
	23,5810		
DATOS DE CONTROL Pb			
RESULTADO	UNIDAD	MÉTODO DE ANALISIS	
3,547	ppb	Espectrofotometría de absorción atómica (Horno Grafito)	
2,267			
2,156			
2,512			
3,121			
2,234			
3,549			
3,207			
3,552			
1,483			
1,828			
2,206			
2,225			
2,864			



Escanea el código QR para
JOSE LUIS
CHANCAY



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL APRENDIZAJE
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 17 / 02 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Michael Alcides Serrano Enríquez</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Ciencias</i>
Carrera: <i>Ingeniería Química</i>
Título a optar: <i>Ingeniero Químico</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

**LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE**

Firmado digitalmente por LEONARDO FABIO
MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECBCE, s=QUITO,
serialNumber=0000621485, cn=LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.02.17 15:19:21 -05'00'



0322-DBRA-UTP-2022