



Universidad de Concepción



FACULTAD DE CIENCIAS
AMBIENTALES

USO DE UN CONSORCIO MICROALGAL PARA LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES DESDE PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS



Habilitación presentada para optar al título de

Ingeniera Ambiental

PAULINA FRANCISCA LOBOS BRIONES

Profesor Guía: Dr. Roberto Enrique Urrutia Pérez

Profesores Co-guía: Dra. Ana Carolina Baeza Freer

Dra. Viviana Patricia Almanza Marroquín

Concepción, Chile

2019



“Uso de un consorcio microalgal para la remoción de nutrientes desde planta de tratamiento de aguas servidas”.

PROFESOR GUÍA: Dr. ROBERTO URRUTIA PÉREZ

PROFESOR CO-GUÍA: Dra. CAROLINA BAEZA FREER

PROFESOR CO-GUÍA: Dra. VIVIANA ALMANZA MARROQUÍN

PROFESOR COMISIÓN: Prof. FERNANDO TORREJÓN GODOY

CONCEPTO: APROBADO CON DISTINCIÓN MÁXIMA

Conceptos que se indica en el Título

- ✓ Aprobado por Unanimidad : (En Escala de 4,0 a 4,9)
- ✓ Aprobado con Distinción (En Escala de 5,0 a 5,6)
- ✓ Aprobado con Distinción Máxima (En Escala de 5,7 a 7,0)

Concepción, octubre 2019



100 AÑOS
DE
DESARROLLO
LIBRE DEL
ESPIRITU

ÍNDICE

NDICE DE FIGURAS	v
NDICE DE TABLAS.....	vii
AGRADECIMIENTOS	viii
RESUMEN	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Fuentes de contaminación de las aguas superficiales	3
1.2. Efectos de los nutrientes en los ecosistemas lacustres	6
1.3. Tecnologías de tratamiento aplicadas en una planta de tratamiento de aguas servidas	8
1.4. Nuevas tecnologías aplicables para el tratamiento de las aguas residuales	11
1.4.1. Consorcio de Microalgas - Bacterias	12
1.4.2. Consorcio de microalgas	13
1.4.2.1. Parámetros a considerar en el cultivo de microalgas	14
1.4.2.2. Sistemas de cultivo microalgal	16
1.4.2.3. Remoción de nutrientes (N & P).....	17
1.4.2.4. Beneficios de la tecnología.....	18
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	19
3. HIPÓTESIS.....	21
4. OBJETIVOS.....	21
4.1. General	21
4.2. Específico.....	21
5. METODOLOGÍA.....	22
5.1. Materiales y Experimentos	22

5.1.1. Determinar el consorcio microalgal nativo para la remoción de nitrógeno y fósforo de aguas servidas	22
5.1.1.1. Obtención de las matrices de agua	22
5.1.1.2. Caracterización fisicoquímica y biológica de las matrices de agua	24
5.1.1.3. Experimento N°1: Obtención consorcio microalgal autóctono.....	25
5.1.1.4. Frecuencia de toma de muestras del experimento n°1	26
5.1.1.5. Caracterización fisicoquímica y biológica de los cultivos.....	26
5.1.1.6. Selección del consorcio microalgal que se desarrolló mejor en condiciones de laboratorio	27
5.1.2. Determinar el porcentaje de remoción de nutrientes del consorcio microalgal	27
5.1.2.1. Inóculo de consorcio microalgal	27
5.1.2.2. Experimento N°2: Cultivo de un consorcio microalgal en medio Bristol para la remoción de nitrato y fosfato.....	28
5.1.2.3. Frecuencia de toma de muestras del experimento n°2	29
5.1.2.4. Caracterización fisicoquímica y biológica de los experimentos	29
5.1.2.5. Porcentaje de remoción de nitrato y fosfato	29
5.1.3. Comparar con información bibliográfica los porcentajes de remoción de nitrógeno y fósforo respecto de otros sistemas biológicos de tratamiento	30
5.1.4. Métodos analíticos.....	30
5.1.4.1. Recuento e identificación de microalgas	30
5.1.4.2. Análisis de pigmentos (Clorofila- a).....	33
5.1.4.3. Análisis de parámetros fisicoquímicos y biológicos.....	36
5.1.5. Análisis estadístico	37

6. OBJETIVOS PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE	38
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
7.1. Determinar el consorcio microalgal nativo para la remoción de nitrógeno y fósforo de aguas servidas	39
7.1.1. Caracterización fisicoquímica y biológica del Efluente de la PTAS y Lago Lanalhue	39
7.1.1.1. Parámetros medidos <i>In situ</i>	39
7.1.1.2. Parámetros analizados en laboratorio	42
7.1.2. Experimento N°1: Obtención consorcio microalgal autóctono	48
7.1.2.1. Pigmento fotosintético y abundancia	48
7.1.2.2. Análisis de correlación.....	51
7.1.2.3. Concentración de nitrato y fosfato respecto a la concentración de clorofila- a	53
7.1.2.4. Composición específica de la comunidad microalgal	56
7.1.2.5. Fotografías	62
7.1.2.6. Selección del consorcio microalgal que se desarrolló mejor en condiciones de laboratorio	64
7.2. Determinar el porcentaje de remoción de nutrientes del consorcio microalgal.....	67
7.2.1. Inóculo de microalgas.....	67
7.2.2. Experimento N° 2: Cultivo de un consorcio microalgal en medio bristol para la remoción de nitrato y fosfato.....	67
7.2.2.1. Abundancia (N°cél L ⁻¹)	68
7.2.2.2. Composición específica y abundancia de la comunidad microalgal	70
7.2.2.3. Fotografías	73

7.2.2.4. Concentración de nitrato y fosfato (mg L^{-1}) respecto a la abundancia (cél L^{-1}).....	75
7.3. Comparar con información bibliográfica los porcentajes de remoción de nitrógeno y fósforo respecto de otros sistemas biológicos de tratamiento	80
8. CONCLUSIONES	86
9. RECOMENDACIONES.....	87
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
11. ANEXOS.....	102



NDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tecnologías de tramientos convencional predominantes en Chile.....	10
Figura 2. Principio de simbiosis entre algas y bacterias para el tratamiento de agua residual.....	12
Figura 3. Obtención de las dos matrices de agua para la realización del experimento N°1.....	23
Figura 4. Captaciones de aguas ubicadas en la comuna de Contulmo, Provincia de Arauco, Octava Región del Biobío, Chile. a. Captación localizada en el centro del efluente de la PTAS. b. Captación ubicada a orillas del lago Lanalhue.	23
Figura 5. a. Microscopio fluorescencia Zeiss Axioplan West Germany. b. Microscopio Invertido Zeiss Axiovert 35 West Germany.	31
Figura 6. Cámaras de sedimentación de 5, 10 y 25 mL.	32
Figura 7. Materiales usados en el proceso de filtración.....	35
Figura 8. a. Centrifuga 5804 R, Eppendorf. b. Fluorómetro 10- AU Turner Designs.	35
Figura 9. Abundancia relativa (%) de clases de microalgas. a. Efluente Planta de Tratamiento de Aguas Servidas Contulmo. b. Agua lago Lanalhue.	45
Figura 10. Abundancia Relativa (%) de géneros de microalgas. a. Efluente Planta de Tratamiento de Aguas Servidas Contulmo. b. Agua lago Lanalhue.	46
Figura 11. Concentración media y desviación estándar de los diferentes tratamientos con proporciones distintas de agua servida y agua de lago durante un período de 14 días. a. Clorofila- a (mg m^{-3}). b. Abundancia ($\text{N}^{\circ}\text{cél L}^{-1}$).	50
Figura 12. Correlación de Spearman ($n= 36$) entre la concentración de la abundancia y la clorofila- a del experimento n°1.	52
Figura 13. Concentración media y desviación estándar. a. Abundancia ($\text{N}^{\circ}\text{cél L}^{-1}$). b. Nitrato (mg L^{-1}). c. Fosfato (mg L^{-1}).	55
Figura 14. Abundancia promedio de la comunidad microalgal más abundante del experimento n°1 durante un período de 14 días a distintas concentraciones de efluente de agua servida y agua de lago.....	59

Figura 15. Abundancia relativa promedio de la comunidad microalgal más abundante del experimento n°1 durante un período de 14 días a distintas concentraciones de efluente de agua servida y agua de lago.....	60
Figura 16. Género <i>Ankistrodesmus</i> . a. Microscopio de fluorescencia. b. Microscopio invertido.....	62
Figura 17. Género <i>Sphaerocystis</i> . a. Microscopio de fluorescencia. b. Microscopio invertido.....	63
Figura 18. Género <i>Aulacoseira</i> . a. Microscopio de fluorescencia. b. Microscopio invertido.....	63
Figura 19. Género <i>Tabellaria</i> . a. Microscopio de fluorescencia. b. Microscopio invertido.....	63
Figura 20. Concentración media y desviación estándar de la abundancia de los diferentes niveles con concentraciones distintas de NO_3^- y PO_4^{3-} durante un período de 15 días.....	69
Figura 21. Abundancia relativa de la composición de la comunidad microalgal ($\text{N}^\circ\text{cél L}^{-1}$) más abundante del experimento n°2 durante un período de 15 días a distintas concentraciones de NO_3^- y PO_4^{3-}	72
Figura 22. Consorcio de microalgas tomada con microscopio de fluorescencia. .	73
Figura 23. Género <i>Chroococcus</i>	73
Figura 24. Género <i>Ankistrodesmus</i> tomada con microscopio de fluorescencia. ..	74
Figura 25. a. Género <i>Monoraphidium</i> . b. Género <i>Scenedesmus</i>	74
Figura 26. Concentración media y desviación estándar. a. Abundancia ($\text{N}^\circ\text{cél L}^{-1}$). b. Nitrato (mg L^{-1}). c. Fosfato (mg L^{-1}).	76

NDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición típica de aguas servidas domésticas no tratadas a diferentes concentraciones.	4
Tabla 2. Listado de parámetros fisicoquímicos y biológicos considerados en la obtención de matriz de agua y experimentos. Indicando el tipo de envase, volumen requerido, método de análisis y los respectivos límites de detección.	36
Tabla 3. Parámetros físicos, químicos y biológicos de las dos matrices de aguas medidos <i>in situ</i> o laboratorios.	47
Tabla 4. Densidad celular inicial inoculada en el experimento N°2.	67
Tabla 5. Número de células por litro total y de <i>Ankistrodesmus</i> respecto a las concentraciones de nitrato y fosfato con su porcentaje de remoción analizados en el control N y los niveles durante el transcurso de la experimento n°2.	77
Tabla 6. Resumen de los resultados obtenidos en este estudio y comparados con otros trabajos previamente reportados.	82
Tabla 7. Porcentajes de remoción en este estudio comparados con tecnologías no convencionales para el tratamiento de aguas servidas.	84
Tabla 8. Porcentajes de remoción en este estudio comparados con tecnologías convencionales para el tratamiento de aguas servidas.	85

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar al Dr. Roberto Urrutia por brindarme el apoyo y confianza durante el proceso de realización de la habilitación profesional, de igual manera a la Dra. Viviana Almanza por apoyarme del primer día para llevar a cabo la tesis de pregrado, además, de la Dra. Carolina Baeza por aclarar las dudas que surgieron en el camino.

Gracias a la Sra. Angie, por brindarme el apoyo y dedicación en los distintos análisis químicos necesarios para la investigación. También, agradecer a Pablo por su dedicación y tiempo de explicar como llevar a cabo los análisis estadísticos de los resultados obtenidos.

Gracias a mi familia por apoyarme en cada decisión y proyecto, fueron mis mayores promotores durante los años de carrera. El camino no fue fácil, pero gracias a sus aportes, amor y apoyo, lo complicado de lograr se volvió más ameno. Les agradezco, y hago presente mi gran afecto hacia ustedes.

Finalmente agradecer a todas las personas que fueron participes de este proceso, ya sea de manera directa o indirecta, con su pequeño aporte pude finalizar el paso por la Universidad de Concepción.

Esta investigación fue financiada parcialmente por proyecto Conicyt/Fondap/15130015.

RESUMEN

La creciente contaminación de los ecosistemas lacustres se ha visto influenciada por continuas descargas de sustancias orgánicas e inorgánicas provenientes de diversas actividades antropogénicas como, por ejemplo, los vertidos desde plantas de tratamiento de aguas servidas urbanas. Estas descargas contienen altas concentraciones de nitrógeno y fósforo que se acumulan en los cuerpos de agua dulce, favoreciendo el proceso de eutrofización. Existen tecnologías de tratamiento de tipo físico-químico y biológico que reducen la concentración de contaminantes del agua servida antes que sea descargado al ecosistema, sin embargo, estas no se encuentran diseñadas para remover eficientemente los nutrientes. El cultivo de microalgas ofrece una tecnología interesante para el tratamiento biológico debido a la capacidad de los microorganismos fotosintéticos para consumir el nitrato y fosfato para su desarrollo.

El presente estudio evaluó la eficiencia de un consorcio microalgal autóctono para la remoción de nitrógeno y fósforo. En primer lugar, se procedió a seleccionar un consorcio microalgal con muestras de agua del lago Lanalhue y agua servida. Para ello se realizaron por cuadruplicado cultivos en condiciones de controladas de laboratorio con diferentes mezclas de agua del lago y del efluente de la PTAS (30/70, 50/50, 70/30) más un control sólo con agua de lago. Posteriormente, se procedió a evaluar la capacidad de remoción de nutrientes del consorcio seleccionado, sometiéndolo a distintas concentraciones de nitrógeno y fósforo inorgánico (NO_3^- y PO_4^{3-} : 114 y 157 mg/L; 153 y 168 mg/L y 220 y 187 mg/L, respectivamente). Los resultados del experimento N°1 indicaron que el agua servida generó cambios en la densidad celular y en la composición de la comunidad microalgal, ya que solo algunos géneros fueron capaces de adaptarse a las condiciones asignadas y desarrollarse hacia una mayor abundancia en el medio. El consorcio microalgal seleccionado está compuesto por *Ankistrodesmus*, *Monoroaphidium*, *Scenedesmus* y *Chroococcus* el que presentó una capacidad de tolerar las concentraciones de nutrientes y remover entre un 35 - 61% de fosfato y

4 - 11% de nitrato. Por lo anterior, se concluye que el consorcio de microalgas registrado en este estudio es capaz de remover altas concentraciones de fosfato y, por lo tanto, se podrían desarrollar experimentos adicionales con concentraciones cercanas a las registradas en los sistemas de efluentes de PTAS.

Palabras clave: Eutrofización, agua servida, consorcio microalgal, remoción, fosfato, nitrato.



1. INTRODUCCIÓN

El agua es el recurso natural más importante para el funcionamiento de los ecosistemas y de las actividades humanas. En el planeta alrededor del 97.5% del agua se encuentra en océanos (agua salada) y el 2.5% es agua dulce. Sin embargo, del total de agua dulce sólo el 0.26% se encuentra en ríos, arroyos, lagos, lagunas, etc (OMM & UNESCO, 1997; Ramírez *et al.*, 2008).

En los últimos años, el deterioro de la calidad del agua y disponibilidad del recurso hídrico se ha visto influenciado por las descargas de aguas contaminadas provenientes de actividades agrícolas, urbanas, industriales, de la presencia o ausencia de sistemas de recolección, además, de tratamiento de aguas residuales y servidas (OMM & UNESCO, 1997; OCDE & CEPAL, 2016).

Las fuentes puntuales como, por ejemplo, las plantas de tratamiento de aguas servidas deben contar con sistemas de tratamiento capaces de remover de manera eficiente las concentraciones de materia orgánica, sólidos suspendidos, microorganismos, nutrientes, entre otros contaminantes. Sin embargo, el limitado acceso a tratamiento terciario, encargado de la remoción del nitrógeno y fósforo, por parte de las PTAS ocasiona problemas de contaminación en las aguas superficiales (Barañaño & Tapia, 2004; OCDE & CEPAL, 2016).

Las descargas de aguas sin tratar o con tratamiento inadecuado son los principales problemas de eutrofización de los sistemas acuáticos. La palabra eutrófico significa rico en nutrientes y la eutrofización proviene del griego “bien nutrido”. Por lo tanto, el enriquecimiento excesivo de nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo, trae consigo efectos negativos como agotamiento del oxígeno disuelto, disminución de la transparencia, formación de floraciones o “blooms” algales producidas principalmente por Cyanophyceae, Dinophyceae, Chlorophyceae, Cryptophyceae, Chrysophyceae, Euglenophyceae y Bacillariophyceae en el cuerpo de agua (Smith & Schindler, 2009; Vieira Barros *et al.*, 2013; Almanza *et al.*, 2016a).

Las microalgas están implicadas tanto en la eutrofización como en la biorremediación de las aguas residuales ya que asimilan el contenido de nitrato y fosfato (Renuka *et al.*, 2013). En el año 1957, el profesor Oswald y sus colaboradores demostraron que las microalgas tienen la capacidad de remover nitrógeno y fósforo de las aguas, por lo tanto, sugirieron la utilización de cultivos masivos de microalgas para el tratamiento de aguas residuales. Además, Renuka *et al.* (2015) menciona que las microalgas son capaces de incorporar para su crecimiento el nitrógeno y fósforo inorgánico en exceso de las aguas residuales beneficiando así la remoción de nutrientes; así mismo se caracterizan por tolerar condiciones extremas; no depender del suministro de energía y producir una biomasa con alto valor comercial para aplicaciones en la industria de alimentos, biocombustible y farmacéutica.

Actualmente, existe una especial preocupación por conservar la calidad y el estado de las agua superficiales, las que presentan un alto valor recreativo y escénico (OCDE & CEPAL, 2016). Es por esto, que existe la necesidad de identificar tecnologías, acordes a la realidad local, para abatir el ingreso de nutrientes al recurso hídrico, especialmente a los ecosistemas lacustres.

1.1. Fuentes de contaminación de las aguas superficiales

El crecimiento de la población humana y el desarrollo de instalaciones, procesos o actividades ha ocasionado un alto nivel de contaminación de las aguas superficiales producto de las emisiones de contaminantes provenientes de fuentes puntuales y difusas a los cuerpos receptores (Claros, 2012).

Las fuentes difusas son aquellas donde la emisión de la contaminación proviene desde zonas tanto amplias como a la vez extensas, de las cuales resulta más compleja su identificación, control y regulación. Los ejemplos más comunes de descargas difusas son las derivadas de las actividades agrícolas, ganaderas, forestales, escorrentía urbana, o en menor grado, suelos contaminados y su control se basa sobre prácticas de manejo de uso de suelo (Carpenter *et al.*, 1998).

Las fuentes puntuales son aquellas donde la ubicación del punto de descarga es de carácter continuo, de poca variabilidad en el tiempo, simple de identificar, regular y monitorear. Las fuentes más significativas corresponden a los vertidos de aguas residuales urbanas, industriales y los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas; en el caso de los dos primeros pueden ser controlados mediante un sistema de tratamiento de agua servida o industrial, según corresponda (Carpenter *et al.*, 1998).

El agua residual derivada del uso de viviendas, comercios, instituciones e industrias puede caracterizarse por medio de sus constituyentes más comunes. En términos generales, la mayor parte de los componentes del agua residual son compuestos químicos inorgánicos (ácidos, sales y metales tóxicos como el mercurio y plomo), compuestos orgánicos (petróleo, plaguicidas, fármacos, detergentes, jabones, urea), microorganismos patógenos (virus, algas, bacterias y hongos), nutrientes, como el nitrógenos y fósforo, entre otros, que generalmente es transportado a un sistema de alcantarillado separado y/o mixto para su envío a una planta de tratamiento (Metcalf & Eddy, 1995; Sonune & Ghate, 2004; Von Sperling, 2007a & SISS, 2017).

La Tabla 1 muestra la composición típica de aguas servidas domésticas con sus respectivos niveles de concentraciones.

Tabla 1. Composición típica de aguas servidas domésticas no tratadas a diferentes concentraciones.

Constituyentes	Unidad	Concentraciones		
		Débil ^a	Media ^b	Fuerte ^c
Sólidos Totales (ST)	mg L ⁻¹	350	720	1200
Sólidos Disueltos Totales	mg L ⁻¹	250	500	850
Sólidos en Suspensión	mg L ⁻¹	100	220	350
Sólidos Sedimentables	mg L ⁻¹	5	10	20
Demanda Bioquímica de Oxígeno, DBO ₅ (20°C)	mg L ⁻¹	110	220	400
Carbono Orgánico Total (COT)	mg L ⁻¹	80	160	290
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg L ⁻¹	250	500	1000
Nitrógeno Total	mg L ⁻¹	20	40	85
Nitrógeno Orgánico	mg L ⁻¹	8	15	35
Amonio	mg L ⁻¹	12	25	50
Nitrito	mg L ⁻¹	0	0	0
Nitrato	mg L ⁻¹	0	0	0
Fósforo Total	mg L ⁻¹	4	8	15
Fósforo Orgánico	mg L ⁻¹	1	3	5
Fósforo Inorgánico	mg L ⁻¹	3	5	10
Cloruros	mg L ⁻¹	30	50	90
Sulfatos	mg L ⁻¹	20	30	50
Grasa	mg L ⁻¹	50	90	150
Compuestos orgánicos Volátiles (COV _s)	µg L ⁻¹	<100	100-400	>400
Coliformes Totales	NMP/100 mL	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁷ -10 ⁸	10 ⁷ -10 ⁹

NMP: Número más probable.

Fuente: (Metcalf & Eddy, 1995).

Los nutrientes, como es el caso del nitrógeno y fósforo, proveniente de las aguas residuales de origen puntual, se pueden encontrar de las siguientes formas:

a) Nitrógeno Total

Elemento químico que forma parte de los ácidos nucleicos (ADN y ARN) y de las proteínas, moléculas esenciales para el crecimiento de fitoplancton, fitobentos y macrófitos. El nitrógeno se encuentra en la naturaleza en cuatro formas nitrogenadas como nitrógeno orgánico, amonio, nitrito y nitrato. El nitrógeno total corresponde a la suma de las concentraciones del *N- Kjeldahl* (compuestos orgánicos y forma amoniacal), nitrito y nitrato. En aguas residuales el 60% del nitrógeno se encuentra en forma orgánica principalmente en aminoácidos, proteínas y urea, mientras que el restante está presente en forma inorgánica como amonio. (Espigares García *et al.*, 1985; Moreno Grau & Luque Moreno, 1991; Metcalf & Eddy, 1995; Claros Bedoya, 2012).

b) Fósforo Total:

Este nutriente forma parte de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), fosfolípido y de una molécula implicada en la generación de energía (ATP), esenciales para el crecimiento de los productores primarios. El fósforo se encuentra en el medioambiente como ortofosfato (fosfato), polifosfato y fósforo orgánico, siendo las formas más comunes de las aguas residuales domésticas el polifosfato y el fósforo orgánico. En aguas servidas puede estar presente en los desechos humanos, detergentes sintéticos y los productos de limpieza usados en las residencias. Este elemento normalmente puede llegar a ser limitante en el ecosistema acuático, o bien, ocasionar problemas de contaminación como es la eutrofización (Moreno Grau & Luque Moreno, 1991; Metcalf & Eddy, 1995 & Oyarzo Vargas, 2007).

La situación en Chile sobre la contaminación de los cuerpos de aguas superficiales se debe principalmente a continuas descargas de aguas domésticas, industriales (RIL) y las que derivan de actividades agrícolas o forestales (Orrego, 2002). En Chile el limitado acceso a tratamiento terciario por parte de las plantas de tratamiento de aguas servidas ha ocasionado descargas de efluentes con alto contenido de

nitrógeno y fósforo que se almacena en los estuarios, humedales y lagos costeros (Barañaño & Tapia, 2004; OCDE & CEPAL, 2016).

1.2. Efectos de los nutrientes en los ecosistemas lacustres

Los lagos o ecosistemas lacustres son cuerpos naturales lénticos de agua dulce que presentan agua sin corriente o estancada. Por lo general, son de gran superficie, profundos y presentan un espejo de agua libre, donde crece el fitoplancton, además, de consumidores y descomponedores (Ramírez & San Martín, 2008).

Estos ecosistemas se ven afectados por descargas continuas de aguas residuales (Gonçalves *et al.*, 2017). El nitrógeno en forma de nitrato, nitrito o amonio y fósforo en forma de fosfato, proveniente de las aguas residuales, tienden a ser reciclados y acumulados con el tiempo en los lagos hasta el punto de producir cambios en la calidad de las aguas (alterando sus características físicas, químicas y biológicas), acelerar el crecimiento de los microbios que agotan el oxígeno, destruir los ecosistemas acuáticos, de modo que contribuyen al proceso de eutrofización (Oyarzo Vargas, 2007; Souza *et al.*, 2013; Kwadzah & Iorhemen, 2015).

Actualmente, la eutrofización antropogénica es el principal problema que presentan hoy la mayoría de las aguas superficiales (Smith & Schindler, 2009). Definiéndose como un proceso de enriquecimiento excesivo de nutrientes, principalmente de nitrógeno y fósforo, que manifiesta una intensa proliferación que conlleva a una posterior acumulación de microalgas y plantas acuáticas en el cuerpo de agua (Urrutia, 2014).

Según un estudio realizado por Smith *et al.* (2009) & Woelfl *et al.* (2011), la eutrofización causa efectos negativos sobre el cuerpo de agua, por ejemplo:

- Aumento de la abundancia, biomasa y productividad primaria de microalgas /macrófitas.

- Aumento exponencial de algas verdeazuladas (Cianobacterias) en verano cuyo efecto produce toxinas que afectan a los vertebrados.
- Aumento de la abundancia, biomasa y productividad de especies consumidoras como bacterias, crustáceos, larvas de peces, entre otros...
- Disminución en la transparencia (visibilidad) del agua debido al florecimiento masivo (blooms) de algas.
- Disminución del oxígeno en la columna de agua, principalmente en el hipolimnion (estratos profundos) del lago durante la estratificación térmica en verano.
- Mayor incidencia de muerte de peces y fauna acuática.
- Disminución en la diversidad de especies.
- Disminución del valor estético y paisajístico del cuerpo de agua.
- Problemas de sabor y olor en el agua; entre otros.

Otras problemáticas que se relacionan con la eutrofización es el riesgo de causar graves enfermedades crónicas y agudas en la salud humana inclusive en algunos casos la mortalidad, debido a que la población se encuentra en constante interacción con el agua, ya sea por fines productivos o recreativos (Smith & Schindler, 2009; Cirés & Ballot, 2016). Los ejemplos que comúnmente causan las aguas eutrofizadas es el desarrollo de enfermedades infecciosas como la malaria, encefalitis y cólera; además, de producir trastornos fisiológicos como náuseas, vómitos, diarrea, neumonía, dolores musculares, entre otros síntomas de intoxicación (Claros, 2012).

La contaminación de las aguas superficiales se ha convertido en una amenaza para la sostenibilidad del recurso hídrico, la seguridad ecológica y humana. Para ello, es necesario reducir y controlar el flujo de entrada de nutrientes a los cuerpos de aguas naturales mediante la implementación de tecnologías efectivas de remediación usadas en el tratamiento de las aguas residuales, con el propósito de remover el nitrógeno y fósforo (Renuka *et al.*, 2015).

1.3. Tecnologías de tratamiento aplicadas en una planta de tratamiento de aguas servidas

Las plantas de tratamiento de aguas residuales tienen como objetivo remover la cantidad de materia orgánica como inorgánica a un nivel de no permitir el crecimiento microbiano y eliminar los compuestos tóxicos presentes en el agua residual para así aumentar la calidad del efluente al momento de ser descargado al cuerpo de agua receptor (Carey & Migliaccio, 2009; Osorio, 2013).

Los sistemas de tratamiento implementados en una PTAS poseen las siguientes consideraciones: Sean económicas en su construcción, operación y mantenimiento; resistir cambios en la calidad de flujo; no generar cantidades considerables de lodos que dificulten su disposición final; minimizar las posibles molestias a la comunidad (como ruidos, malos olores, atracción de vectores); no depender frecuentemente del suministro de energía eléctrica, entre otras (Márquez Vázquez, 2010). En relación a la elección del sistema de tratamiento, estas dependen de las características del agua residual (como DBO_5 , pH, productos tóxicos), de los requisitos de vertido, del caudal de tratamiento, de las condiciones climáticas, de la disponibilidad de terreno, entre otras (Iagua, 2017).

A continuación, se presentan diferentes tecnologías de tratamiento de tipo físico, fisicoquímico y biológico aplicadas en el tratamiento de las aguas residuales.

a. Sistemas de tipo Físico

Según el Programa de Medio Ambiente Fundación Chile (2010) existen varias tecnologías que permiten remover el nitrógeno y/o fósforo y otros contaminantes del agua residual, en los que se destaca la ósmosis inversa, la nanofiltración y el arrastre por aire.

b. Sistemas de tipo Fisicoquímicos

El Programa de Medio Ambiente Fundación Chile (2010) señala que las tecnologías de tipo fisicoquímicos que remueven el nitrógeno y/o fósforo y otros contaminantes de las aguas residuales corresponden al intercambio iónico, la coagulación y/o floculación, la electrodiálisis, la electro-oxidación y la oxidación con aire húmedo, entre otras.

c. Sistemas de tipo Biológico

Existen dos tipos de sistemas biológicos que se implementan en el tratamiento de las aguas residuales, clasificados como tecnologías de tratamiento convencionales y no convencionales (Programa de Medio Ambiente Fundación Chile, 2010; CIDERH, 2015 & SIIS, 2019a).

Sistemas convencionales (centralizados)

Los sistemas de tratamiento centralizados involucran mecanización para llevar a cabo su tratamiento, altos costos de construcción y consumos de energía, aportes de oxígeno y la necesidad de personal especializado para realizar su operación, además, del mantenimiento. Otra característica que poseen es el bajo valor estético.

El tratamiento se lleva a cabo por medio de bacterias, químicos, electricidad, acero y concreto. Estos tipos de sistemas se dividen en convencionales aeróbicos y anaeróbicos.

- 1. Sistemas convencionales anaeróbicos:** La biomasa se encuentra suspendida o fija como, por ejemplo, los reactores anaerobios (UASB).
- 2. Sistemas convencionales aeróbicos:** Se dividen según el tipo de cultivo a tratar, los cuales son:
 - Las lagunas aireadas.

- Cultivos suspendidos: La biomasa de estos sistemas se encuentra suspendida como es el caso de la tecnología de lodos activados en todas sus modalidades y reactores discontinuos secuenciales (SBR).
- Cultivos fijos: En estos sistemas la biomasa se encuentra adherida a un medio de soporte como es el caso de los filtros biológicos, biodiscos, biofiltros y reactor aerobio de lecho fijo sumergible (RALFS).

Según datos de la Superintendencia de Servicios Sanitarios, en el país existen más de 260 plantas de tratamientos de aguas servidas de las cuales el 59% opera con la tecnología de tratamiento de lodos activados (ver Figura 1). Este sistema de tratamiento puede alcanzar eficiencias de remoción de nutrientes entre un 15 – 30% (ver Tabla 8).



Figura 1. Tecnologías de tratamientos convencional predominantes en Chile.

Fuente: Superintendencia de Servicios Sanitarios (2019a).

Sistemas no convencionales (Descentralizados)

Los sistemas de tratamientos descentralizados se preocupan de tratar las aguas de los hogares y empresas que no están conectadas a un sistema de alcantarillado (U.S.E.P.A, 2004). Estas tecnologías de tratamiento poseen la capacidad de remover sustancias contaminantes de las aguas residuales a través de mecanismos y procesos naturales que involucran bacterias, suelo, sol y plantas que en efecto no

requieren de energía externa ni agregados químicos, pero si involucran extensos terrenos, así mismo se caracterizan por su simplicidad de construcción y operación. Las tecnologías implicadas corresponden a humedales construidos, lagunas de estabilización, filtros verdes, lombifiltros, escorrentía superficial, entre otros (Burgos Salgado, 2015).

Actualmente las tecnologías implementadas por las plantas de tratamiento de aguas servidas son de tipo convencional, especialmente la de lodos activados, correspondiendo al 80%. Los efluentes de las PTAS se caracterizan por presentar concentraciones de nitrógeno y fósforo cercanos a 15-35 mg L⁻¹ y 4-10 mg L⁻¹, respectivamente (Carey & Migliaccio, 2009). Estas continuas descargas que se realizan a los cuerpos de agua ocasionan serios problemas de contaminación, como también daños a la salud humana, ya que no cuentan con un buen sistema de tratamiento capaz de remover de manera eficiente el nitrógeno y fósforo proveniente de las aguas residuales (Baraño & Tapia, 2004).

Para el desarrollo de la presente investigación, se explicarán nuevas tecnologías de tipo no convencional que permiten reducir de manera eficaz y eficiente las concentraciones de nutrientes del agua residual.

1.4. Nuevas tecnologías aplicables para el tratamiento de las aguas residuales

En la actualidad, surge la necesidad de implementar tecnologías eficaces y rentables basadas en el empleo de sistemas biológicos capaces de reducir de manera eficiente los nutrientes (nitrógeno y fósforo) de las aguas residuales antes de evacuar a los cuerpos de agua naturales. Las investigaciones se centran en el uso de consorcios de microalgas o microalgas–bacterias para el tratamiento de las aguas residuales con el fin de mejorar la calidad del efluente descargado (Gongalves *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017).

A continuación, se presentan los dos tipos de consorcios enfocados en la remoción de nutrientes de las aguas residuales.

1.4.1. Consorcio de Microalgas - Bacterias

La tecnología de biorremediación aplicando un consorcio de microalgas – bacterias para el tratamiento de las aguas residuales fue propuesta en el año 1957 por el profesor Oswald y sus colaboradores.

Las microalgas son microorganismos fotoautótrofos, es decir, tienen la capacidad de obtener energía proveniente de la luz del sol, además, de asimilar el nitrógeno y el fósforo inorgánico a concentraciones muy bajas (menor a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de N y $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ de P). Mientras que las bacterias son las encargadas de oxidar el nitrógeno y fósforo presente en el agua residual mediante una serie de procesos biológicos (Liu *et al.*, 2017).

La aplicación de un consorcio de microalgas y bacterias para la remoción de nutrientes consiste en una interacción cooperativa (simbiosis) funcionalmente estable. Dado que las microalgas en el proceso de fotosíntesis liberan oxígeno al medio, el cual es capturado por las bacterias para biodegradar los contaminantes, a su vez liberan al medio CO_2 necesario para que las microalgas estimulen su crecimiento en el proceso de fotosíntesis, ver Figura 2 (Arango, 2015; Hernández *et al.*, 2016).

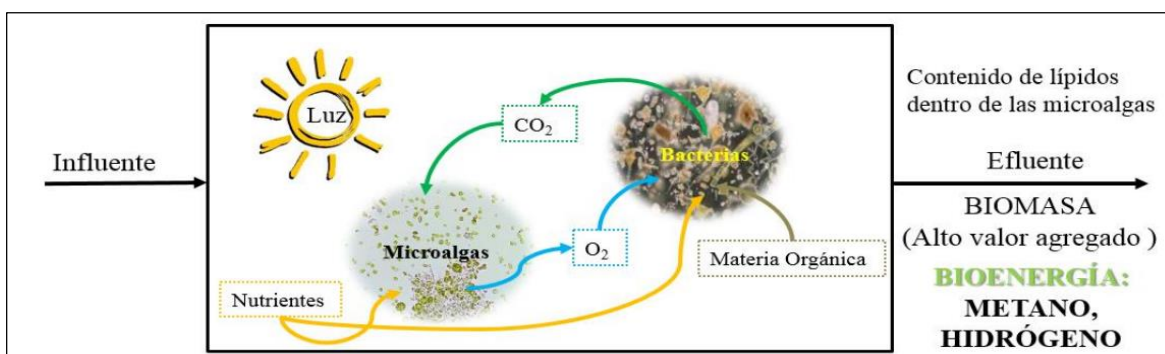


Figura 2. Principio de simbiosis entre algas y bacterias para el tratamiento de agua residual.

Fuente: (Arango, 2015).

El tratamiento de aguas residuales domésticas utilizando estanque de estabilización de alta velocidad (HRAP) ha permitido obtener eficiencias de remoción de amonio y fosfato alrededor del 90 y 70 %, respectivamente. Sin embargo, se deben tener en cuenta los parámetros funcionales del consorcio ya que cambios en el pH, temperatura, oxígeno disuelto o compuestos inhibidores resultantes de la actividad de las microalgas en el reactor tiene efectos negativos sobre la actividad bacteriana y, por ende, en los resultados de remoción de nutrientes en el agua residual. Por otro lado, las bacterias pueden liberar metabolitos que presentan un efecto alguicida sobre las microalgas, estas interacciones competitivas pueden influir en el estado fisicoquímico de las aguas y en su calidad (Gonçalves *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017).

1.4.2. Consorcio de microalgas

La tecnología de tratamiento aplicando solo consorcio de microalgas también ha sido efectiva en la remoción de nutrientes de las aguas residuales (Gonçalves *et al.*, 2017).

Un consorcio de microalgas corresponde a una asociación de dos o más microorganismos capaces de llevar a cabo la fotosíntesis, tales como microalgas eucariotas y cianobacterias procariontas, que para su crecimiento y desarrollo requieren de luz y compuestos inorgánicos que contienen fósforo y nitrógeno (Ruiz Martínez, 2011; Doria *et al.*, 2012).

A continuación, se mencionan los parámetros y los sistemas de cultivo de microalgas necesarios para la implementación del consorcio, además, del porcentaje de remoción de nutriente y los beneficios que estos entregan.

1.4.2.1. Parámetros a considerar en el cultivo de microalgas

Según estudios realizados por Park et al. (2011), Hernández et al. (2014), Arango (2015) & FAO (1996) mencionan que los cultivos de microalgas al tratarse de organismos vivos implican una serie de parámetros que deben ser considerados, evaluados, determinados y medidos en el transcurso del desarrollo del sistema cultivo. A continuación, se presentan algunos de los parámetros que consideran importantes estos autores en un sistema de cultivo para el crecimiento microalgal:

1. Especies de microalgas: La selección de especies para depurar las aguas residuales deben poseer una alta tasa de crecimiento cuando se alimenta con nutrientes proveniente de las aguas residuales, altos niveles de componentes celulares (ej. Lípidos para generar biodiesel), capacidad para formar agregados para una cosecha de biomasa por simple gravedad, entre otros.
2. Luz: Este parámetro es la fuente de energía para los cultivos de microalgas y, es por esto, que se debe tener en cuenta la intensidad, la calidad espectral y el fotoperiodo. En el caso de la intensidad lumínica, esta varía con la profundidad y densidad del cultivo, en donde a mayor profundidad y concentración de células se debe aumentar la intensidad de la luz para que pueda traspasar a través del cultivo. Sin embargo, el principal problema de un aumento excesivo de intensidad de la luz es causar fotoinhibición, es decir, inhibición de la actividad fotosintética causada por un aumento excesivo de luz hasta el punto de provocar pérdida de la productividad del cultivo e incluso llegar a la muerte celular de la microalga.
3. Temperatura: La productividad de las microalgas aumenta proporcionalmente con la temperatura del estanque. La temperatura óptima medida en condiciones de máxima tasa de crecimiento (suficientes nutrientes

y condiciones de luz) se encuentra entre los 16 y 27 °C, aunque esto depende de cada especie, de la composición del medio de cultivo y de la cepa.

4. pH: El pH más apropiado para un crecimiento óptimo de especies de microalgas se encuentra entre el rango de 8.2 y 8.7. Si el pH está sobre o debajo de estos valores, las especies presentan un descenso en la productividad y, por lo tanto, se afecta el crecimiento microalgal y la capacidad de remover los nutrientes en el sistema de tratamiento de agua residual. En el caso de cultivos de alta productividad, cuando existe un aumento en el pH, se puede controlar adicionando CO₂ hasta alcanzar el pH óptimo.
5. Dióxido de Carbono (CO₂): Para un consorcio microalgal es necesario asegurar la fuente de carbono de estas especies, ya sea por equilibrio natural con el CO₂ presente en la atmósfera o la adición de CO₂ directamente al reactor. En el caso de las aguas residuales domésticas contienen carbono insuficiente para apoyar la producción de microalgas y, es por esto, que se hace necesario adicionar CO₂ al sistema de cultivo.
6. Nutrientes: Para el cultivo microalgal el suministro de nitrógeno y fósforo, después de la fuente de carbono, es necesario para lograr la fotosíntesis y el desarrollo de las especies. El nitrógeno se incorpora a las microalgas como nitrato (NO₃⁻) o amonio (NH₄⁺), en cambio el fósforo ingresa en forma de PO₄⁻³.
7. Oxígeno Disuelto: La fotosíntesis intensa durante el día en el sistema de cultivo puede aumentar los niveles de oxígeno disuelto a una saturación mayor al 200%. Según Park et al. (2011) menciona que el alto nivel de oxígeno disuelto por encima de la saturación de aire normal afecta los niveles de productividad de las algas. Por ejemplo, Hernández et al (2014) indica que

a una “saturación del 200% existe una reducción del 17% en la productividad, mientras que a 300% se reduce en un 25%”.

8. Agitación: En sistemas de cultivos la agitación permite obtener un mezclado uniforme en el reactor. Esta mezcla es fundamental porque impide la sedimentación de las microalgas, mejora la eficiencia en la remoción de nutrientes, asegura el ingreso de luz a todas las células del cultivo y aumenta el intercambio de gases entre el medio de cultivo y el aire. Además, es importante considerar que el rango óptimo de funcionamiento debe ser menor a 300 rpm, esto para no generar estrés mecánico en el sistema de cultivo.

1.4.2.2. Sistemas de cultivo microalgal

Hernández et al. (2014) señala que un sistema de cultivo está diseñado en relación con los siguientes criterios:

- La biología de las especies a cultivar;
- La forma del cultivo;
- Los requerimientos nutricionales, lumínicos y resistencia al estrés;
- La relación de la superficie iluminada/volumen del reactor, el cual determina la velocidad de crecimiento;
- La orientación e inclinación;
- Los sistemas de limpieza y regulación de la temperatura;
- Los costos de construcción y operación del sistema, entre otros.

Según Ruiz Martínez (2011), Hernández et al. (2014) & Gonçalves et al. (2017) los sistemas de cultivo de microalgas se clasifican en:

1. Sistemas cerrados: Consiste en realizar el cultivo de microalgas en espacios cerrados con geometrías de diversos tipos (fotobiorreactores tubulares, cilíndricos o de placa plana). Las principales ventajas de los fotobiorreactores cerrados para el crecimiento de microalgas son:

- Las condiciones de cultivo y parámetros de crecimiento tales como conductividad, luz, pH, concentración de nutrientes, oxígeno disuelto, temperatura, mezcla de dióxido de carbono (CO₂) y la presencia de compuestos tóxicos pueden ser estrictamente controlados.
- La contaminación por patógeno como bacterias, hongos y virus pueden ser evitadas.
- La disminución de los costes de recolección de la biomasa generada.

En la actualidad, estos fotobiorreactores son empleados para el tratamiento de aguas residuales, evitando así problemas relacionados con la penetración de la luz, el mezclado y la presencia de depredadores.

2. Sistemas abiertos: El cultivo de microalgas se realiza en estanques abiertos (lagos, lagunas y estanques) o contenedores. Las ventajas de este tipo de sistema es el bajo costo en términos de construcción y operación. Sin embargo, presenta desventajas como la facilidad de contaminación biológica (por bacterias u otros microorganismos), la necesidad de grandes extensiones de terreno, la limitación de la luz en el sistema, una menor productividad de biomasa y eficiencia de remoción de nutrientes.

1.4.2.3. Remoción de nutrientes (N & P)

Actualmente el cultivo de microalgas a pequeña escala usando aguas residuales provenientes de diferentes fuentes ya sean agrícolas, industriales y municipales promueve un tratamiento efectivo de estas aguas, en donde se ha reportado eficiencias en la remoción de nitrógeno entre un 60-99% y 54-95% de fósforo (Gonçalves *et al.*, 2017). Según Travieso et al. (2008) menciona que la microalga de la especie *Chlorella Vulgaris* ha contribuido en la capacidad de remover el nitrógeno y fósforo de las aguas residuales, obteniendo resultados de Nitrógeno orgánico (90.2%), amonio (84.1%), fósforo total (85.5%) y fosfato (87.3%). Por lo tanto, esta microalga puede ser utilizada para la bioremediación de las aguas

residuales en vista que tiene una facilidad de adaptar y poseer un acelerado crecimiento en el medio (Brennan *et al.*, 2010). En cambio, Wang et al. (2010) (Fide Hernández *et al.*, 2014) menciona que experimentar con *Chlorella sp.*, se obtienen remociones de 100% para amonio, 75.7-82.5% para nitrito y 62.5-74.7% para fósforo. Por otro lado, Hammouda et al. (1995) (Fide Hernández *et al.*, 2014) al trabajar con *Chlorella sp.*, y *Scenedesmus sp.*, en cultivos de laboratorio se logran resultados de remoción hasta un 100% de nitrato, amonio y fósforo pasados los 36, 42 y 48 días.

1.4.2.4. Beneficios de la tecnología

La aplicación de esta tecnología tiene diferentes beneficios adicionales como el no requerimiento de oxígeno externo lo que permite una disminución en los costos, mejorar la calidad del agua del efluente descargado a los cuerpos de agua (biorremediación), producir biomasa que puede ser utilizada para la generación de energía renovable (biodiésel o biogás) y otros de importancia comercial como también científica como, por ejemplo, productos alimenticios, de farmacia y/o cosmética, biofertilizante, pruebas de calidad del agua, entre otras (Kumar *et al.*, 2011; Doria *et al.*, 2012; Hernández *et al.*, 2014; Gongalves *et al.*, 2017).

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Desde el año 2003 el principal problema medioambiental de la cuenca del lago Lanalhue es la eutrofización del lago, lo que ha puesto en riesgo el ecosistema lacustre como el desarrollo socioeconómico de la zona, atribuido a las actividades turísticas (Parra *et al.*, 2003; Maldonado Fica, 2007; Jiménez, 2018).

El lago Lanalhue (mapudungun: “lugares de alma en pena”) se localiza en un estrecho valle, de origen glaciario, de la vertiente occidental de la cordillera de Nahuelbuta, entre las comunas de Cañete y Contulmo de la Provincia de Arauco, Región del Biobío, recibiendo un exceso de nutrientes producto de un ingreso descontrolado de nitrógeno y fósforo derivado por aportes de fuentes difusas como puntuales. En el caso de la Planta de tratamiento de aguas servidas de Contulmo que se encuentra a cargo de *ESSBIO* desde el año 2002, localizada en la zona urbana de Contulmo, Provincia de Arauco, Región del Biobío, descarga su efluente al estero tributario “El Peral”, aproximadamente a 1 kilómetro del lago Lanalhue (ESSBIO, 2004). En la actualidad la PTAS cuenta con un sistema de tratamiento basado en lodos activados en la modalidad de aireación extendida (Errázuriz Domínguez, 2009; SIIS, 2019b). El sistema biológico se encuentra especialmente diseñado para la remoción de materia orgánica (DBO_5) con un porcentaje de eliminación entre 93-98%, pero con respecto a las concentraciones de nutrientes solo remueve entre el 15-25% de nitrógeno y un 10-20% de fósforo (Von Sperling, 2007c). Sin embargo, en el año 2010 incorpora el sistema de tratamiento terciario, el cual permite la remoción de nutrientes de las aguas servidas, principalmente, nitrógeno y fósforo, con el propósito de minimizar la contaminación que ingresa al lago (Plan Regulador Comunal de Contulmo, 2017). Pero, según Aguayo señala en PRELA- Reportaje, escrito por Jiménez Larraín (2018), que *“la Planta de la comuna de Contulmo no funciona bien. Siempre tiene eventos de descargas de aguas sin estar tratadas adecuadamente y todo eso termina en el lago, contribuyendo a una mayor cantidad de materia orgánica (DBO_5), nitrógeno y fósforo, por lo tanto, a un aumento y proliferación del lucheillo”*.

Por lo tanto, la PTAS es una de las fuentes de contaminación que ha acelerado el crecimiento desmedido de la planta acuática *Egeria densa*, más conocida por los pobladores como Luchecillo, influenciando en la aceleración del proceso de eutrofización en el cuerpo de agua generando problema de transparencia en la superficie del agua, es decir se impide la entrada de luz a las capas más profundas y en consecuencia el ecosistema deja de funcionar con normalidad afectando en el proceso de fotosíntesis de la vegetación. La descomposición resultante del luchecillo genera materia orgánica que va al fondo, formando así un sedimento que aporta aún más nutrientes al lago como a las plantas. La materia orgánica es degradada por bacterias, que en su proceso consume oxígeno, lo que origina malos olores, muerte de especies acuáticas que necesitan de un ambiente oxigenado, generación de microorganismos patógenos, pérdida de paisaje, entre otros (Maldonado Fica, 2007; Jiménez Larraín, 2018; Ecología Verde, 2019).

Actualmente, surge la necesidad de identificar tecnologías basadas en sistemas biológicos, acordes a la realidad local, que remuevan el nitrógeno y fósforo de las aguas servidas para así poder abatir el ingreso de nutrientes a los ecosistemas lacustres. En base a esto se decide evaluar el uso de un consorcio de microalgas con el fin de proponer la instalación de un sistema de tratamiento a la salida del efluente de la PTAS de Essbio.

3. HIPÓTESIS

Los consorcios de microalgas nativas son eficientes para la remoción de nutrientes (nitrógeno y fósforo) provenientes de PTAS.

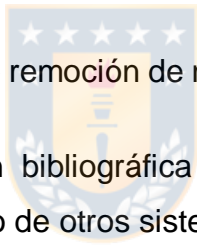
4. OBJETIVOS

4.1. General

Evaluar la eficiencia de un consorcio microalgal en la remoción de nitrógeno y fósforo en descargas con altas concentraciones de nutrientes.

4.2. Específico

1. Determinar el consorcio microalgal nativo para la remoción de nitrógeno y fósforo de aguas servidas.
2. Determinar el porcentaje de remoción de nutrientes del consorcio microalgal.
3. Comparar con información bibliográfica los porcentajes de remoción de nitrógeno y fósforo respecto de otros sistemas biológicos de tratamiento.



5. METODOLOGÍA

5.1. Materiales y Experimentos

5.1.1. Determinar el consorcio microalgal nativo para la remoción de nitrógeno y fósforo de aguas servidas

Con la finalidad de obtener un consorcio microalgal autóctono del lago Lanalhue se llevaron a cabo las siguientes actividades para cumplir con el objetivo:

5.1.1.1. Obtención de las matrices de agua

La obtención de las matrices de agua para la realización del experimento n°1 se efectuó el 24 de mayo de 2018 en la comuna de Contulmo, Provincia de Arauco, Octava Región del Biobío, Chile y contempló dos puntos de captación de agua. La primera localizada directamente en el centro del Efluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Servidas, cuyas coordenadas geográficas en UTM corresponden a 18H 0655272 / 5791769 y la segunda captación ubicada a la orilla del lago Lanalhue con coordenadas geográficas de 18H 0653896 / 5794918 (ver Figura 3 y 4). Estos dos puntos fueron georeferenciados con un GPS marca Garmin.

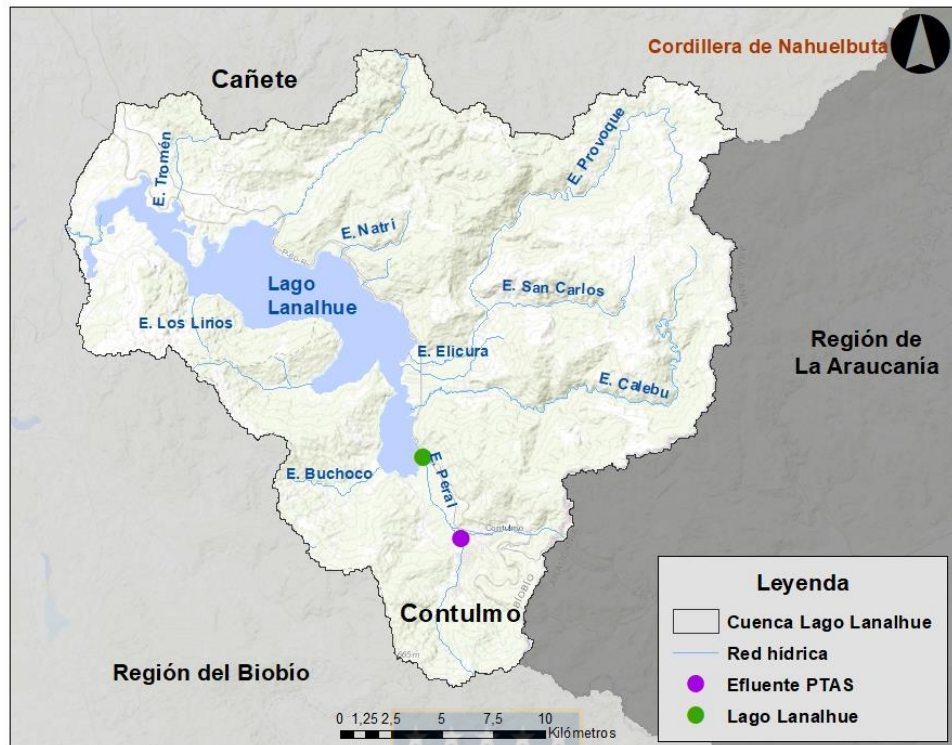


Figura 3. Obtención de las dos matrices de agua para la realización del experimento N°1.

Fuente: Elaboración Propia.



Figura 4. Captaciones de aguas ubicadas en la comuna de Contulmo, Provincia de Arauco, Octava Región del Biobío, Chile. a. Captación localizada en el centro del efluente de la PTAS. b. Captación ubicada a orillas del lago Lanalhue.

Fuente: Elaboración Propia.

Para el almacenamiento del agua del efluente de la planta de tratamiento se consideró un bidón plástico de 5L y para el agua de lago dos bidones plásticos de 5L. Estos fueron transportados a 4 °C y luego refrigerados a una temperatura menor a 4 °C en una cámara fría del Centro Eula hasta el inicio del experimento.

5.1.1.2. Caracterización fisicoquímica y biológica de las matrices de agua

A las matrices de aguas obtenidas se les determinó parámetros fisicoquímicos y biológicos, donde algunos fueron medidos de manera “*in situ*” y otros analizados en los laboratorios pertenecientes al Centro Eula – Chile.

a) Parámetros medidos *in situ*

En los dos puntos se realizaron mediciones “*in Situ*” de parámetros de calidad de agua como Temperatura (°C), Oxígeno disuelto (mg L⁻¹), pH y Conductividad (μS cm⁻¹) mediante el uso de equipos HANNA Instrument (Oxigenómetro, pH-metro y conductímetro).

b) Parámetros analizados en Laboratorio

Para caracterizar el agua proveniente del Lago Lanalhue y de la planta de tratamiento de aguas servidas Contulmo, se analizó en el laboratorio de Química Ambiental, acreditado por el Instituto Nacional de Normalización (INN) para la Norma Chilena ISO 17.025 Of 2005, los siguientes parámetros:

- Matriz Efluente PTAS: Nitrógeno Total (mg L⁻¹), Fósforo Total (mg L⁻¹), Nitrato (mg L⁻¹), Fosfato (mg L⁻¹) y Amonio (mg L⁻¹).
- Matriz Agua Lago Lanalhue: Nitrato (mg L⁻¹), Fosfato (mg L⁻¹) y Amonio (mg L⁻¹).

En el laboratorio Fitoplancton y Fitobentos se realizó el recuento e identificación de la comunidad microalgal y análisis de la clorofila- a de las dos matrices de agua. Esto con la finalidad de verificar cuales fueron las especies de microalgas que se

desarrollaron mejor en condiciones de laboratorio y la obtención de biomasa fitoplanctónica.

La Tabla 2 indica los parámetros analizados junto con el tipo de envase usado para su almacenamiento y el método de analítico con sus respectivos límites de detección.

5.1.1.3. Experimento N°1: Obtención consorcio microalgal autóctono

El experimento se llevó a cabo en el Edificio dos, piso 2° del Centro EULA – Chile de la Universidad de Concepción, Región del Biobío. Las unidades experimentales consistieron en 16 matraces Erlenmeyer que se ubicaron en una cámara de cultivo con iluminación de 2 tubos fluorescentes LED con regulación automáticamente usando fotoperiodo de 12 h luz: 12 h oscuridad cada 24h a una intensidad lumínica de 1.000 lux, medida desde la parte superior hasta la base de los matraces. La temperatura dentro de la cámara se ajustó a $23 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y diariamente las mezclas fueron agitadas.

Para la obtención de un consorcio microalgal autóctono, se desarrolló la siguiente metodología basada en Krustok et al. (2015).

Durante un período de 14 días el experimento consistió de tres tipos de tratamientos con diferentes concentraciones de agua de efluente de la PTAS y agua de Lago Lanalhue a razón de 30/70, 50/50, 70/30, más un control T con solo agua del Lago. A su vez para los tratamientos y el control se realizaron 4 réplicas (Anexo 1).

Las proporciones (y /o volúmenes) de los tratamientos y control, considerando un volumen de 500 ml, se presentan a continuación:

Control T: 500 ml de Agua del Lago Lanalhue.

Tratamiento 1: 70% agua de Lago + 30% agua servida (equivalente a 350 ml A.L + 150 ml A.S).

Tratamiento 2: 50% agua servida + 50% agua de Lago (equivalente a 250 ml A.S + 250 ml A.L).

Tratamiento 3: 30% agua de Lago + 70% agua servida (equivalente a 150 ml A.L + 350 ml A.S).

5.1.1.4. Frecuencia de toma de muestras del experimento n°1

Para evaluar los parámetros de crecimiento microalgal en los días 29/05/2018 (D₀), 05/06/2018 (D₇) y 12/06/2018 (D₁₄) se efectuó la toma de muestras a cada una de las réplicas de los diferentes tratamientos y del control, a excepción del día 0.

5.1.1.5. Caracterización fisicoquímica y biológica de los cultivos

De los 16 matraces ubicados en la cámara de cultivo se midió la temperatura, luminosidad y fotoperiodo, así mismo se determinaron parámetros químicos y biológicos, donde algunos fueron medidos de manera “*in situ*” y otros analizados en los laboratorios pertenecientes al Centro Eula – Chile.

a) Parámetros medidos *in situ*

En la cámara de cultivo se controlaba la intensidad lumínica con un luxómetro de marca Extech HD400, la temperatura directamente de la cámara de cultivo y el fotoperíodo con un timer análogo.

b) Parámetros analizados en Laboratorio

En el laboratorio de Química Ambiental, en la sala de cromatografía iónica, se analizó el Nitrato (mg L⁻¹) y el Fosfato (mg L⁻¹). Por otro lado, en el laboratorio de Fitoplancton y Fitobentos, se realizó el recuento e identificación microalgal y se determinó la Clorofila-a.

5.1.1.6. Selección del consorcio microalgal que se desarrolló mejor en condiciones de laboratorio

Una vez cuantificado el número de células por litro de cada réplica de los diferentes tratamientos se procedió a realizar un promedio por tratamiento para determinar cuál (es) es el consorcio microalgal más abundante y óptimo para el segundo experimento. Posteriormente, se juntaron las cuatro réplicas de cada tratamiento seleccionado (volumen: 250 mL c/u) y se decidió mantener los dos cultivos durante un período de 7 días para incrementar el número de células. Una vez realizado el recuento celular se mezclaron los cultivos del tratamiento 2 y 3, dando un volumen total de 500 mL.

5.1.2. Determinar el porcentaje de remoción de nutrientes del consorcio microalgal

Para determinar el porcentaje de remoción de nutrientes del consorcio microalgal seleccionado en el experimento n°1 es necesario realizar las siguientes actividades para dar cumplimiento con el objetivo:

5.1.2.1. Inóculo de consorcio microalgal

El número de células por litro inoculado en cada cultivo (12) del experimento n°2 se calculó de la siguiente forma:

$$\text{Abundancia Inóculo (N}^\circ \text{ cél/L)} = \frac{(A \times V_t)_x + (A \times V_t)_y}{R} \times \frac{1}{V_i} \times 1000$$

Dónde:

A: Abundancia (cél mL⁻¹); **V_t:** Volumen tratamiento seleccionado; **R:** Número total de réplicas; **V_i:** Volumen del inóculo.

5.1.2.2. Experimento N°2: Cultivo de un consorcio microalgal en medio Bristol para la remoción de nitrato y fosfato

El experimento se llevó a cabo en el Edificio dos, piso 2° del Centro EULA – Chile de la Universidad de Concepción, Región del Biobío. Las unidades experimentales consistieron en 12 matraces Erlenmeyer que se colocaron en una cámara de cultivo de iguales condiciones controladas de laboratorio que el experimento n°1.

El cultivo de un consorcio microalgal en medio Bristol se desarrolló en base a la metodología de Chacón de Alba (2011) & Figueroa et al. (1998).

Las comunidades microalgales necesitan del apoyo de nutrientes para su crecimiento, puesto que el medio Bristol es enriquecido de macro y micronutrientes, es recomendado como medio de cultivo para microalgas dulceacuícolas. La preparación del medio se basó en un instructivo facilitado por el laboratorio de bioensayos del Centro Eula- Chile, que a partir de soluciones madres se tomaron las alícuotas correspondientes y se adicionó agua destilada hasta completar el volumen requerido (Anexo 2). El volumen total del medio Bristol (6L) se dividió en 12 matraces Erlenmeyer (500 ml de medio) que posteriormente fueron llevados a autoclave a 121 °C por 15 minutos para ser esterilizados.

El experimento n°2, con una duración de 15 días, se efectuó por cuadruplicado en matraces de 1L con 500 ml de medio esterilizado más 40 ml de inóculo del consorcio seleccionado. Cabe mencionar que los dos niveles tuvieron distintas concentraciones de NO_3^- y PO_4^{3-} y un control N sin modificación de nutrientes del medio (Anexo 1). Se debe agregar que existió un período de aclimatación de 4 días.

Esta investigación trabajó con un exceso en las concentraciones de NO_3^- y PO_4^{3-} , considerando un volumen de 500 ml, presentadas a continuación:

Control N: Medio Bristol No Modificado ($114 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_3^-$ - $157 \text{ mg L}^{-1} \text{PO}_4^{3-}$).

Nivel 1: $153 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_3^-$ - $168 \text{ mg L}^{-1} \text{PO}_4^{3-}$.

Nivel 2: $220 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_3^-$ - $187 \text{ mg L}^{-1} \text{PO}_4^{3-}$.

5.1.2.3. Frecuencia de toma de muestras del experimento n°2

Para evaluar el comportamiento del consorcio microalgal a las distintas concentraciones de Nitrato y Fosfato en los días 25/06/2018 (D₀), 03/07/2018 (D₈) y 12/06/2018 (D₁₅) se llevó a cabo la toma de muestras a cada una de las réplicas.

5.1.2.4. Caracterización fisicoquímica y biológica de los experimentos

Los parámetros fisicoquímicos y biológicos fueron medidos de manera “*in situ*” y otros analizados en los respectivos laboratorios pertenecientes al Centro EULA – Chile.

a) Parámetros medidos *in situ*

En el laboratorio de Bioensayo, se midió “*in situ*” el Oxígeno Disuelto (mgO₂ L⁻¹) con el oxigenómetro de marca Inolab Oxi7310, el pH y la conductividad (μS cm⁻¹) usando equipos de marca HANNA (pH- metro y conductímetro). Mientras que en la cámara de cultivo se controlaba la intensidad lumínica con un luxómetro de marca Extech HD400, la temperatura directamente de la cámara de cultivo y el fotoperiodo con un timer análogo.

b) Parámetros analizados en Laboratorio

En el laboratorio de Química Ambiental, en la sala de cromatografía iónica, se analizó el Nitrato (mg L⁻¹) y el Fosfato (mg L⁻¹). Por otro lado, en el laboratorio de Fitoplancton y Fitobentos, se realizó el recuento e identificación microalgal.

5.1.2.5. Porcentaje de remoción de nitrato y fosfato

Para evaluar la eficiencia de remoción de las concentraciones de nitrato y fosfato que posee el consorcio de microalgas desarrollado en el segundo experimento, se calculó el porcentaje de remoción aplicando la siguiente ecuación descrita por Guerrero et al. (2018):

$$\% \text{ Remoción} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

Dónde:

C_i: Concentración inicial; **C_f**: Concentración final.

5.1.3. Comparar con información bibliográfica los porcentajes de remoción de nitrógeno y fósforo respecto de otros sistemas biológicos de tratamiento

Una vez determinado los porcentajes de remoción de nutrientes del consorcio de microalgas autóctono se procedió a realizar una revisión bibliográfica de los porcentajes de degradación de nitrógeno y fósforo de sistemas de tratamiento basados en microalgas, convencionales y no convencionales. Posteriormente, se compararon los porcentajes de remoción de nutrientes del sistema de cultivo con los extraídos desde los artículos de revistas científicas y tesis. Lo anterior, permitió validar o rechazar la hipótesis del estudio.

5.1.4. Métodos analíticos

A continuación, se explica el análisis del recuento e identificación de fitoplancton y la determinación de la clorofila- a. Para el caso de otros análisis son mencionados de forma general en la Tabla 2.

5.1.4.1. Recuento e identificación de microalgas

Las muestras de fitoplancton de cada réplica fueron preservadas con 0.2 ml (3 gotas) de solución acuosa de lugol 1% y los frascos se etiquetaron indicando la fecha e identificación del matraz para su posterior recuento e identificación de los organismos expresados en cél L^{-1} (Confederación Hidrográfica del Ebro, 2005).

Identificación Taxonómica: La identificación de los organismos se realizó hasta el nivel de género mediante el uso de literatura especializada y de una planilla Excel que contiene un inventario de los taxones presentes en el Lago Lanalhue, otorgada por el laboratorio. Para fotografiar las microalgas presentes en la muestra, se usó el

microscopio de fluorescencia de marca Zeiss modelo Axioskop West Germany en el objetivo 40x (ver Figura 5.a), el cual tiene conectado una cámara (Axiocam 105 color de marca Zeiss) que procesa la imagen en el programa ImageFocus Alpha.

Análisis Cuantitativo: Para la cuantificación del número de células de microalgas se utilizó el método de Utermöhl (1958) usando cámaras de sedimentación de volumen conocido y un microscopio invertido de marca Zeiss modelo Axiovert 35 West Germany, ver Figura 5.b.



Figura 5. a. Microscopio fluorescencia Zeiss Axioskop West Germany. b. Microscopio invertido Zeiss Axiovert 35 West Germany.

Antes de verter el contenido de los frascos en las cámaras de sedimentación, estos fueron agitados para lograr una adecuada homogenización de las muestras. La selección de las cámaras de sedimentación (5, 10 o 25 mL) dependió de la abundancia del fitoplancton, es decir, a mayor concentración de células se ocuparon cámaras de menor volumen para sedimentar las muestras, ver Figura 6 (Alveal *et al.*, 1995). El tiempo de sedimentación se ve afectado por la altura/volumen de la cámara a utilizar, se recomienda que por cada 5 centímetros de la columna de sedimentación el tiempo sea de 3 - 4 horas aproximadamente para que las células queden sedimentadas en el fondo de la cámara (Vivanco T & Seguel L, 2009).



Figura 6. Cámaras de sedimentación de 5, 10 y 25 mL.

Una vez sedimentada la muestra se realizó el recuento celular por transectos o campos con aumento de 40x, siguiendo la metodología establecida en el protocolo de análisis de muestras de fitoplancton para sistemas acuáticos continentales del Laboratorio de Fitoplancton y Fitobentos del Centro EULA- Chile (UNE-EN-15204, 2007).

El método por transectos se utilizó para el experimento n°1 debido a que la densidad celular de las muestras poseía una baja concentración. Este método consistió en recorrer la cámara de arriba hacia abajo (verticalmente) contabilizando todas las células presentes a lo largo del transecto. Por otro lado, para el experimento n°2 se empleó el método de conteo de campos ya que las muestras eran más densas. La selección de los campos se escogió al azar y su cantidad dependió de la frecuencia de individuos presentes en la muestra, contabilizando todas las células encontradas en cada campo. Los resultados se expresaron a través del número de células por litro (cél L⁻¹).

Para estimar el número de células por litro de la muestra se utilizaron las siguientes fórmulas entregadas por el protocolo de análisis de muestras de fitoplancton del laboratorio, según el método empleado:

Recuento por transectos:

$$N^{\circ}\text{Cél/L} = \frac{C \times A_t}{L \times A \times N \times V} \times 1000$$

Dónde:

C: Número de organismos contados; **A_t:** Área total de la cámara (mm²);
L: Longitud del transecto (mm); **A:** Ancho del transecto (mm); **N:** Número de transectos contados; **V:** Volumen de la cámara.

Recuento por campos:

$$N^{\circ}\text{Cél/L} = \frac{C \times A_t}{A_c \times N \times V} \times 1000$$

Dónde:

C: Número de organismos contados; **A_t:** Área total de la cámara (mm²);
A_c: Área del campo (mm²); **N:** Número de campos contados; **V:** Volumen de la cámara.

5.1.4.2. Análisis de pigmentos (Clorofila- a)

La clorofila- a es el principal pigmento fotosintético presente en las algas que permite una fácil y rápida cuantificación. La concentración de clorofila- a se utiliza para estimar en forma indirecta la biomasa de la comunidad fitoplanctónica en diferentes ecosistemas como también indicar del grado de contaminación de los ecosistemas acuáticos debido a que un incremento en la concentración de fitoplancton aumenta la turbidez y disminuye la transparencia de la columna de agua (Rivera *et al.*, 2005).

La metodología se basó en el protocolo de análisis de clorofila - a propuesto por el Laboratorio de Bioensayos del Centro EULA - Chile en donde se explica el proceso de filtración, extracción y lectura (Arar & Collins, 1997):

El proceso para la cuantificación de la clorofila- a se realizó en condiciones de baja luz, filtrando 20 ml de muestra en un filtro de vidrio GC-50 de 47mm. Cada filtro se colocó en su respectiva capsula petri, envuelta con papel aluminio, para proteger el fitoplancton de la luz y se almacenaron en oscuridad a una temperatura de -20°C. Las cápsulas petri se etiquetaron con la fecha, volumen e identificación de la muestra. Los materiales usados en el proceso de filtración se observan en la Figura 7.

Para la extracción del pigmento de clorofila- a, el filtro se fragmentó en pedazos más pequeños y se incorporó en un tubo centrífuga de 50 mL envuelto de papel aluminio con 10 mL de acetona al 90%. Los filtros fueron molidos con una vara de vidrio hasta convertirlos en una suspensión, para facilitar su extracción y almacenados en oscuridad a 4°C. Después de 2 horas como mínimo, sin exceder las 24 horas, los tubos con las soluciones son centrifugados en la centrífuga 5804-R de marca Eppendorf durante 15 min a 1200 rpm, ver Figura 8.a. Transcurrida la centrifugación los tubos se dejaron reposar durante 30 minutos antes de su lectura.

La lectura de la clorofila- a se realizó en un fluorómetro 10-AU Turner Designs (ver Figura 8.b) en condiciones de oscuridad. El método consistió en una lectura inicial (blanco) con 5 mL de acetona al 90%. Posteriormente, se adicionaron 5 mL de muestra en una cubeta y se leyó la absorbancia. En la misma cubeta se adicionó una gota de HCL 0,1N y se procedió a leer. Para cada paso se realizaron 3 lecturas con 1 minuto de diferencia.

La clorofila- a se determinó usando la siguiente fórmula, entregada en el protocolo:

$$\text{Chl } a = \frac{\text{DF}'x (\text{Rb} - \text{Ra})}{\frac{\text{Ve}}{\left(\frac{\text{Vs}}{1000}\right)}}$$

Dónde:

DF': 0,00160817; **Rb**: Fluorescencia del extracto antes de la acidificación;
Ra: Fluorescencia del extracto después de la acidificación; **Ve**: Volumen filtrado (mL); **Vs**: Volumen de acetona (mL).



Figura 7. Materiales usados en el proceso de filtración.

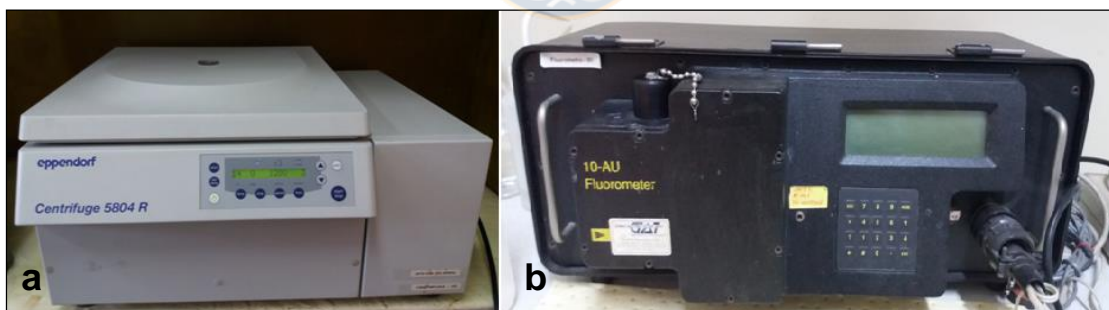


Figura 8. a. Centrífuga 5804 R, Eppendorf. b. Fluorómetro 10- AU Turner Designs.

5.1.4.3. Análisis de parámetros fisicoquímicos y biológicos

Tabla 2. Listado de parámetros fisicoquímicos y biológicos considerados en la obtención de matriz de agua y experimentos. Indicando el tipo de envase, volumen requerido, método de análisis y los respectivos límites de detección.

Parámetros	Almacenamiento / Preservación	Volumen (mL)	Método de Análisis	Límite de Detección (mg L ⁻¹)
Nitrógeno Total	Envase plástico a 5°C	-	4500- N- C Standard Methods For The Examination of Water and Wastewater 22th Edit. Espectrofotometría Absorción Molecular (EAM).	0,02
Fósforo Total	Envase plástico a 5°C	-	4500- N-P Standard Methods For The Examination of Water and Wastewater, Edit. Vigente Espectrofotometría Absorción Molecular (EAM).	0,01
Amonio	Envase plástico a 5°C	-	ASTM Standard D6919-09. Determinación de cationes por cromatografía iónica con supresión química.	0,02
Nitrato	Envase plástico de 50 ml a 5°C	50	4110 B Standard Methods For The Examination of Water and Wastewater, Edit Vigente. Determinación de aniones por cromatografía iónica con supresión química.	0,005
Fosfato				0,04
Clorofila-a	Botella ambar de 50 ml a 5°C	20	Fluorómetro 10-AU Turner Designs	-
Fitoplancton	Envase plástico de 50 ml, lugol (3 gotas)	25	Recuento e Identificación de microalgas. Método de utermöhl (1958)	-

Fuente: Elaboración Propia.

5.1.5. Análisis estadístico

Previo al tratamiento de los datos se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar si los datos presentaban distribución normal. Dado que, no se encontró normalidad en los datos se utilizó la prueba de comparaciones pareadas U Mann-Whitney para establecer diferencias significativas entre el control y los tratamientos/niveles de los parámetros de clorofila-a, abundancia de microalgas, nitrato y fosfato del experimento 1 y 2. Cabe mencionar, que el análisis estadístico de clorofila- a, solo se efectuó en el experimento 1.

Para el experimento 1 se efectuó un análisis de correlación por rango de Spearman para determinar la relación entre las variables abundancia celular y clorofila- a.

Se consideraron diferencias significativas cuando el valor de $P < 0,05$. Todos los análisis fueron realizados con el programa R versión 3.5.0.



6. OBJETIVOS PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE

A nivel mundial existe una gran preocupación por el cuidado del medio ambiente, es por esto que los 193 estados miembros de las Naciones Unidas requieren de esfuerzo para lograr el desarrollo sostenible que tiene como misión “*satisfacer las necesidades del presente sin comprometer la capacidad de las futuras generaciones para satisfacer sus propias necesidades*”. Para lograr esto, durante 3 años se llevó a cabo un proceso transparente y participativo que logró definir 3 elementos centrales: el crecimiento económico, inclusión social y protección ambiental, cada uno de ellos están interconectados y son fundamentales para el bienestar de las personas y las sociedades. Con estos 3 pilares base se propusieron a nivel mundial 17 objetivos y 169 metas dentro de Agenda de 2030 para el desarrollo sostenible (ONU, 2015).

Dentro de los 17 objetivos para el desarrollo sostenible (ODS), esta habilitación profesional contribuye directamente al ODS 6: agua limpia y saneamiento, ODS 14: vida submarina y ODS 15: vida de ecosistemas terrestres, además, por ser el foco del estudio aguas servidas también favorece de manera indirecta al ODS 12: producción y consumo responsable.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Determinar el consorcio microalgal nativo para la remoción de nitrógeno y fósforo de aguas servidas

7.1.1. Caracterización fisicoquímica y biológica del Efluente de la PTAS y Lago Lanalhue

Las principales características fisicoquímicas y biológicas de las captaciones de agua antes de iniciar con el experimento n°1 se presentan a continuación:

7.1.1.1. Parámetros medidos *In situ*

a) Temperatura

La temperatura desempeña un rol fundamental en el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos al regular o afectar otras propiedades del agua como el pH, oxígeno disuelto, conductividad, densidad, entre otras. Con respecto a la medición *in situ* de este parámetro en el agua del lago Lanalhue esta fue de 12.8°C, valor por debajo a los registrados en enero de 2018 (ver Anexo 3).

Por otro lado, cambios de temperatura en el cuerpo de agua se pueden deber a descargas de agua provenientes de PTAS o industrias, dado que los efluentes poseen una temperatura más alta que la de las aguas no contaminadas como consecuencia de la energía liberada en las reacciones químicas para degradar la materia orgánica (Metcalf & Eddy, 1995 & García Serrano *et al.*, 2016). El efluente de la PTAS de Contulmo presentó una temperatura de 16.3°C, lo que permite afirmar lo mencionado por los autores. No obstante, según el Decreto Supremo N° 90, en el marco normativo para la descarga de aguas residuales a aguas marinas y continentales superficiales (Ministerio Secretaría General de la Presidencia, 2000), el valor se encuentra dentro del límite máximo permitido para la descarga de residuos líquidos al sistema lacustre, ver Anexo 54. De acuerdo, con el efluente de dos PTAS pertenecientes a la Región del Biobío, estas registraron temperaturas que fluctuaron entre los 18.1 – 19.6°C (Saavedra Mondaca, 2015).

b) Oxígeno Disuelto (O.D)

El oxígeno disuelto es la cantidad de oxígeno que se encuentra disuelto en el agua, por lo que su concentración es un importante indicador de contaminación del recurso hídrico y de la capacidad para sostener la vida acuática ($\geq 5.0 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$), esto quiere decir, que a mayor concentración de O.D indica aguas de buena calidad ambiental y de una mayor biodiversidad como supervivencia de los organismos acuáticos (Norma Chilena Oficial N° 1.333. of87, 1978 & Peña *et al.*, 2007).

Los resultados medidos *in situ* al momento de la captación de las aguas arrojaron que el oxígeno disuelto en el efluente de la PTAS fue de 9.03 mg L^{-1} y para el agua del lago Lanalhue correspondió a 11.03 mg L^{-1} . De acuerdo con los rangos de oxígeno disuelto apreciados en la RED MAPSA del año 2007 (ver Anexo 5) menciona que la condición de oxígeno disuelto en ambos lugares es buena, permitiendo que los ecosistemas sean apropiados para la vida de los organismos acuáticos presentes en los dos sitios de captación. Por el contrario, esta diferencia en el O.D se debe a que en el lago Lanalhue existe una mayor diversidad y abundancia de especies, produciendo un aumento en la producción de oxígeno disuelto en el agua durante el proceso de fotosíntesis. Esto acompañado con la entrada de luz en los diferentes lugares, ya que un aumento en la intensidad del sol, incrementa la actividad fotosintética (Kwong Ch *et al.*, s.f). Por otro lado, según Metcalf & Eddy (1995) las reacciones químicas producidas para degradar la materia orgánica en el tratamiento de aguas servidas ocasionan una reducción del oxígeno combinado con un aumento de la temperatura.

c) pH

El pH es una medida del grado de acidez o basicidad, específicamente mide el número de iones de hidrógeno (H^+) presentes en el agua. (Moreno Grau & Luque Moreno, 1991). En los ecosistemas de agua dulce los niveles de pH se encuentran regulados para mantener la vida de los organismos acuáticos. Según la NCh 1.333, sobre los requisitos de calidad del agua para diferentes usos, señala que las aguas

deben cumplir con un rango de pH entre los 6 a 9. De acuerdo con los resultados del agua del lago Lanalhue el pH- metro entregó un valor cercano a la neutralidad y, por lo tanto, apto para mantener la vida acuática en el agua (ver Tabla 3).

Por otro lado, los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales pueden alterar la composición y modificar la actividad biológica de las aguas superficiales (Espigares & Pérez, 1985). En el caso de la PTAS Contulmo el pH fue de 6.22 valor cercano a la neutralidad y dentro de los valores aceptados para la descarga de aguas servidas a aguas superficiales, como también para mantener la vida acuática en el lago, ver Anexo 5.

Esta diferencia de pH en los dos puntos de captación se debe a que en el lago Lanalhue la abundancia celular e intensidad lumínica es más alta que en la salida de la planta, lo que ocasiona un incremento en la actividad fotosintética. Según Beltrán Rocha *et al.*, 2017, señalan que las comunidades microalgales durante el proceso de fotosíntesis necesitan asimilar el CO₂, este proceso tiende a elevar el pH del medio, indicando que valores básicos tienden a una mayor actividad fotosintética.

d) Conductividad

La conductividad según Rigola Lapeña (1999) es la capacidad que posee el agua para conducir una corriente eléctrica a través de sustancias disueltas denominadas electrolitos. La diferencia de resultados entre las dos matrices de agua (ver Tabla 3) se debe a la presencia y concentración de iones (impurezas) contenidos en el efluente, ya que es mucho mayor que la del agua del lago, lo que permite deducir que esta agua descargada tiene una alta capacidad para conducir la corriente eléctrica (Moreno & Luque, 1991).

7.1.1.2. Parámetros analizados en laboratorio

a) Nitrógeno Total

El aprovechamiento de este nutriente por parte de los microorganismos depende de su disponibilidad en el ambiente, es decir bajas concentraciones pueden reducir sus tasas de crecimiento. Por otro lado, concentraciones elevadas de nitrógeno en el ecosistema acuático estimula el proceso de eutrofización (Espigares García *et al.*, 1985 & Claros Bedoya, 2012).

El efluente de la Planta de Tratamiento arrojó un valor de 9.54 mg L^{-1} , resultado que se encuentra dentro del límite máximo permisible para la descarga de aguas residuales al sistema lacustre, ver Anexo 5. De acuerdo con registros de nitrógeno en el agua del Lago, en verano de 2018, el Estero El Peral presentó la concentración más alta con un valor de 0.51 mg L^{-1} (Anexo 3), de modo que la descarga de agua servida permite un incremento en las concentraciones de este nutriente al lago Lanalhue, por lo que estimula el desarrollo y proliferación de organismos fotosintéticos primarios, contribuyendo a la eutrofización. A pesar de que se encuentre dentro de los rangos permitidos por el DS N°90.

a) Amonio (NH_4^+):

El NH_4^+ se obtiene a partir del nitrógeno orgánico por un proceso denominado mineralización o amonificación. Esta transformación consiste en la degradación, por hidrólisis (descomposición bacteriana), de los aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, y urea para producir amoniaco (Metcalf & Eddy, 1995).

El análisis de este parámetro en el agua del lago Lanalhue fue de 1.06 mg L^{-1} . Al comparar la concentración de amonio con respecto a 14 lagos de Chile, se puede observar que este valor es más alto a los indicados en el trabajo de investigación de Almanza *et al.* (2019) donde los valores estuvieron entre los 0.01 a 0.84 mg L^{-1} . Por otro lado, en verano las concentraciones fluctuaron entre los $<0.02 - 0.17 \text{ mg L}^{-1}$ (Anexo 3).

b) Nitrato (NO_3^-):

En la naturaleza y en presencia de oxígeno, el nitrito se oxida a nitrato, en el proceso de nitrificación, por medio de bacterias nitrificantes llamadas Nitrobacter. El nitrato corresponde a la forma más oxidada a la que se puede encontrar el nitrógeno y es el compuesto nitrogenado más abundante en los ecosistemas acuáticos, además, de ser esencial para el crecimiento de las algas (Metcalf & Eddy, 1995; Moreno Grau & Luque Moreno, 1991 & Claros Bedoya, 2012).

Los resultados de las dos matrices de agua, arrojaron que el nitrato en el efluente de la PTAS fue de 24.74 mg L^{-1} y en el agua del lago Lanalhue correspondió a 0.52 mg L^{-1} .

c) Fósforo Total:

La concentración de fósforo a la salida de la PTAS, según el Decreto Supremo N° 90, se encuentra dentro del límite máximo permisible para la descarga de residuos líquidos a cuerpos de aguas superficiales (ver Tabla 3 y Anexo 5). De acuerdo con Saavedra Mondaca en el año 2015 reportó que el fósforo total en el efluente de las PTAS de Los Ángeles y Santa Barbará, pertenecientes a la Región del Biobío, Chile en el año 2013 presentaron concentraciones de 8.9 y 5.4 mg L^{-1} , respectivamente, resultados más altos a los registrados en este estudio.

d) Fosfato (PO_4^{3-})

El fosfato corresponde a una de las formas que puede adquirir el fósforo a través de la oxidación, forma sales muy poco solubles y es un elemento crítico en la eutrofización de las aguas superficiales. El resultado del análisis de fosfato en el efluente de la PTAS entregó un valor de 0.40 mg L^{-1} , en cambio el agua del Lago estuvo por debajo del límite de detección $<0.04 \text{ mg L}^{-1}$. Del Anexo 3 se aprecia que este parámetro es limitante en las 7 estaciones de muestreo ($<0.04 \text{ mg L}^{-1}$).

e) Clorofila- a

La clorofila- a es un pigmento interno de color verde que permite a los organismos (incluye a las plantas y a diversos grupos protistas denominados macro y microalgas) absorber parte de la energía que aporta la radiación solar para realizar los procesos que ocurren en la fotosíntesis. La cuantificación de la clorofila- a en el efluente de la PTAS Contulmo fue de 0.60 mg m^{-3} y la concentración en el lago Lanalhue correspondió a 3.32 mg m^{-3} . Lo anterior, permite deducir que el número de células de la comunidad microalgal en el lago es más alta que en el efluente, ver Anexo 7.

f) Composición específica y abundancia relativa (%) de la comunidad microalgal

La composición y abundancia del fitoplancton depende de las condiciones físicas e hidrológicas (temperatura, intensidad lumínica, turbulencia, tasa de sedimentación de los organismos), de la composición química del agua (nutrientes, materia orgánica, minerales, pH, metales, entre otras) y de factores biológicos (depredación, parasitismo). A continuación, se presentan los resultados de los análisis de las dos matrices de agua para llevar a cabo el objetivo 1.

La abundancia relativa de la comunidad fitoplanctónica en el efluente de la planta de tratamiento de aguas servidas Contulmo estuvo representado en su mayoría por organismos pertenecientes a la clase Cyanophyceae con un 36 % seguido de la clase Coscinodiscophyceae con un 33%, ver Figura 9.a. El género dominante fue *Aulacoseira* con un 32%, seguido de *Oscillatoria*, *Euglena*, *Aphanocapsa* y en menor proporción se encontraron individuos del género *Tabellaria*, *Sphaerocystis* y *Navicula* con porcentajes menores al 9% (Figura 10.a). Información complementada en el Anexo 6 y Anexo 7.

El gráfico de torta (Figura 9.b) que presenta la abundancia relativa de la comunidad microalgal en el lago Lanalhue estuvo constituido por 7 clases de microalgas, siendo dominante las Chlorophyceae con un 44% del total de los organismos encontrados,

seguido de la clase Cyanophyceae y Bacillariophyceae con porcentajes sobre el 19%. El género dominante correspondió al género de *Sphaerocystis* (38%), seguido de *Dolichospermum* y *Tabellaria*, entre otros, ver Figura 10.b. Información complementada en el Anexo 6 y Anexo 77.

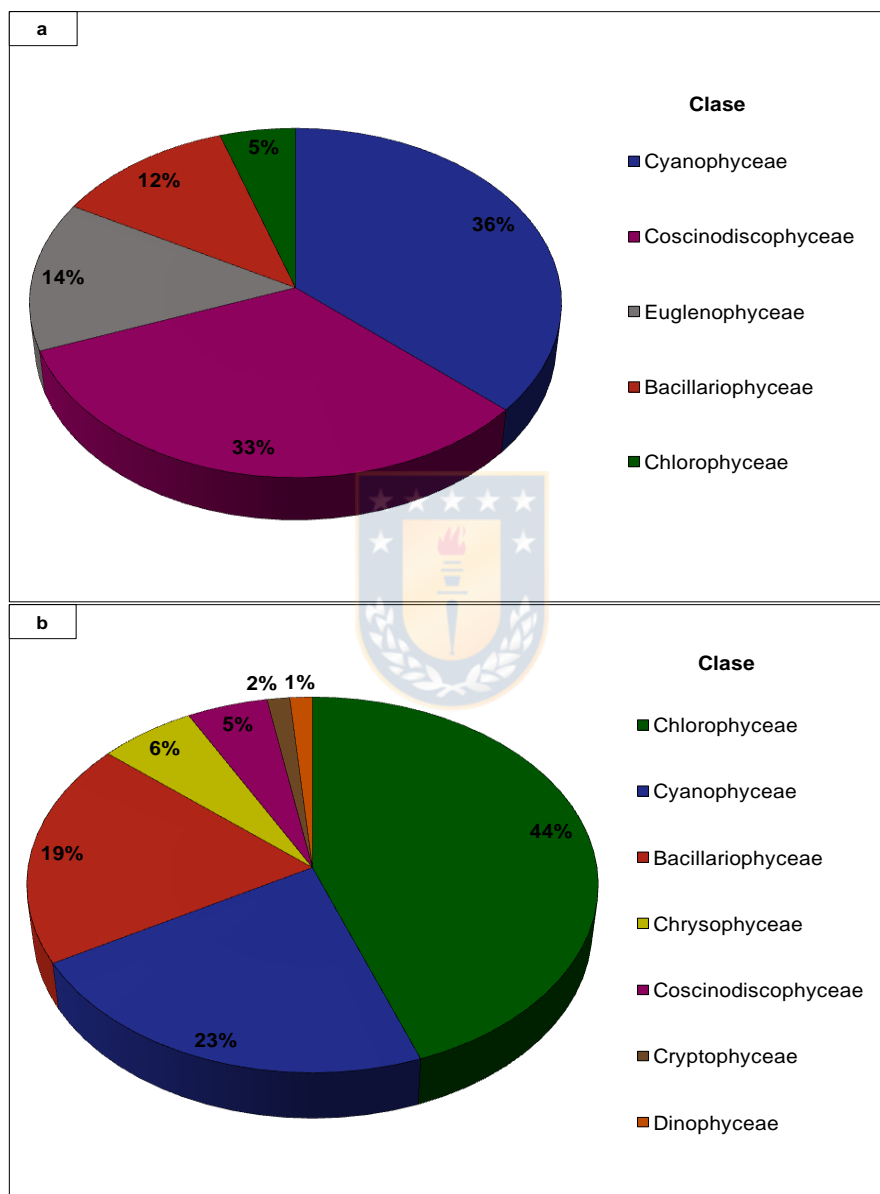


Figura 9. Abundancia relativa (%) de clases de microalgas. a. Efluente Planta de Tratamiento de Aguas Servidas Contulmo. b. Agua lago Lanalhue.

Fuente: Elaboración propia.

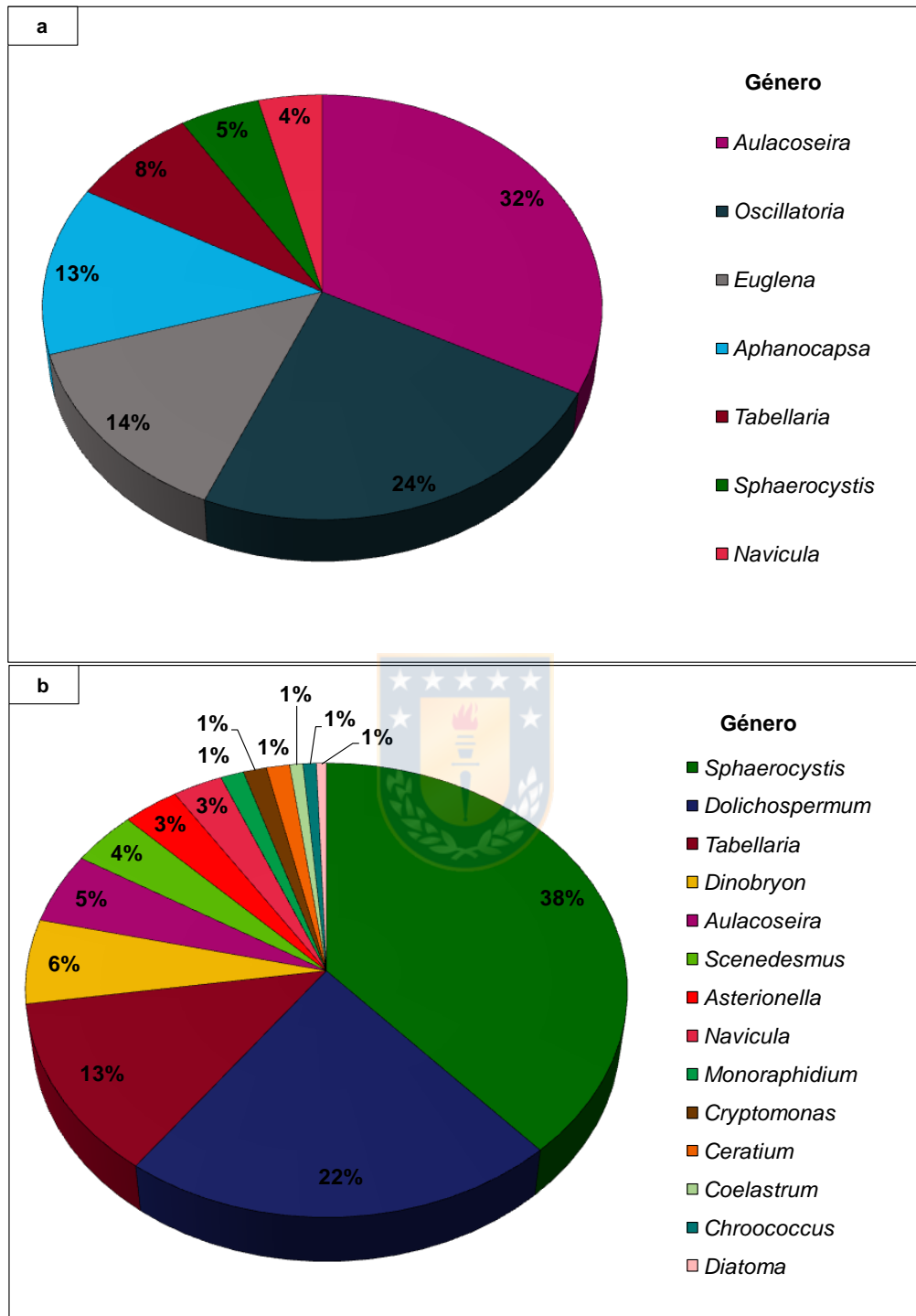


Figura 10. Abundancia Relativa (%) de géneros de microalgas. a. Efluente Planta de Tratamiento de Aguas Servidas Contulmo. b. Agua lago Lanalhue.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 3. Parámetros físicos, químicos y biológicos de las dos matrices de aguas medidos *in situ* o laboratorios.

Medición	Parámetros	lago Lanalhue	Agua servida
<i>In Situ</i>	Temperatura (°C)	12,8	16,3
	Oxígeno disuelto (mg/L)	11,03	9,03
	pH	7,18	6,22
	Conductividad (µS/cm)	65,4	611
Laboratorio	Nitrógeno Total (mg/L)	-	9,54
	Amonio (mg/L)	1,06	2,83
	Nitrato (mg/L)	0,52	24,74
	Fósforo Total (mg/L)	-	1,02
	Fosfato (mg/L)	<0,04	0,4
	Clorofila- a (mg/m ³)	3,32	0,6
	Abundancia (cél L ⁻¹)	888.742	79.325

Fuente: Elaboración propia.

7.1.2. Experimento N°1: Obtención consorcio microalgal autóctono

Para la obtención del consorcio microalgal se trabajó con tres tratamientos a distintas proporciones de agua servida y agua de lago Lanalhue más un control T. La concentración de Amonio, Nitrato y Fosfato en el efluente de la PTAS de Contulmo fue más alta que la del agua del lago, sin embargo, el análisis de nitrógeno y fósforo total se encontraron dentro de los límites máximos permitidos por el Decreto Supremo N°90.

Los análisis se realizaron en los días 29/05/2018 (D₀), 05/06/2018 (D₇) y 12/06/2018 (D₁₄).

A continuación, se explican los resultados obtenidos:

7.1.2.1. Pigmento fotosintético y abundancia

La determinación de la biomasa fitoplanctónica aporta información sobre la productividad primaria del sistema acuático y la cantidad de materia orgánica disponible para el consumo por parte del zooplancton y el resto de la cadena alimentaria. La biomasa microalgal se puede evaluar de dos formas (Bellinger *et al.*, 2015):

1. Pigmento fotosintético: Determinar la concentración de clorofila- *a*.
2. Abundancia: A partir del biovolumen de especies individuales y grupos taxonómicos más altos usando métodos de conteo.

a) Clorofila- *a* (mg m⁻³)

Durante el experimento n°1, se observó en el control, constituido de solo agua de lago Lanalhue, un incremento en las concentraciones de clorofila- *a*, a través del tiempo alcanzando en el día 14 valores entre los 8.36 – 13 mg m⁻³ con un promedio de 10.92 ± 1.9 mg m⁻³.

Por el contrario, la Figura 11.a muestra que el tratamiento 1 y 2 en el séptimo día presentan una disminución en la concentración media de clorofila- *a*, y el

tratamiento 3 se mantiene relativamente constante. En el día 14 se observa que la concentración promedio de este pigmento aumentó en los tres tratamientos.

El efecto ocasionado por la adición de agua servida a distintas concentraciones se vio reflejado en cada tratamiento. En el caso del tratamiento 1, cuyo volumen de agua añadido era de 150 mL equivalente a un 30%, arrojó en el día 0 el valor más alto de clorofila- a, y el tratamiento 3 constituido de un 70% de agua servida obtuvo la concentración más baja (0.57 mg m^{-3}). En cuanto, al tratamiento 2 en ese mismo día registró una concentración de 2.18 mg m^{-3} .

A pesar de que la biomasa fitoplanctónica del tratamiento 1 en un comienzo fue de 2.85 mg m^{-3} , este no logró superar en el día 14 las concentraciones del tratamiento 2, cuyos valores oscilaron entre los $4.99 - 9.17 \text{ mg m}^{-3}$ con un promedio total de $6.41 \pm 2 \text{ mg m}^{-3}$. Por otro lado, la concentración de clorofila-a del T1 y T3 en el último día resultaron ser relativamente homogéneas con valores de $3.29 \pm 0.7 \text{ mg m}^{-3}$ y $3.48 \pm 0.8 \text{ mg m}^{-3}$ (T3).

La prueba estadística de U Mann- Whitney indica que existen diferencias significativas entre el control T con los respectivos tratamientos ($P < 0.05$) en los días evaluados.

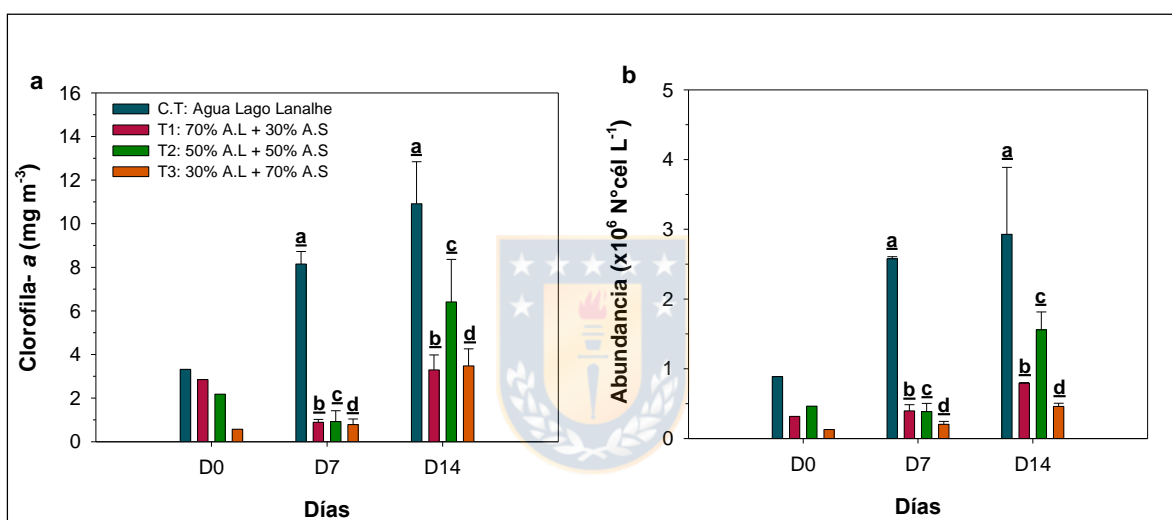
a) Abundancia ($\text{N}^\circ \text{cél L}^{-1}$)

En la Figura 11.b se observa que el control presenta abundancias promedio más altas que los tratamientos, además, se refleja una posible tendencia exponencial en el número de células a través del tiempo, alcanzando en el último día resultados que fluctuaron entre los $1.940.593 - 3.815.473 \text{ cél L}^{-1}$ con una media de $2.927.677 \pm 960.659 \text{ cél L}^{-1}$.

El número de células de la comunidad fioplanctónica del tratamiento 1 y 3 incrementó en el transcurso de los días evaluados. El tratamiento que poseía un volumen más alto de agua de lago (70%) presentó en el día 14 una abundancia promedio de $792.861 \pm 8.040 \text{ cél L}^{-1}$, en cambio el tratamiento 3 en ese mismo día obtuvo una concentración media de $459.988 \pm 46.443 \text{ cél L}^{-1}$.

En relación al tratamiento 2, en el día 7 existió una disminución en la concentración celular obteniendo un promedio de $385.632 \pm 118.012 \text{ cél L}^{-1}$, y ya en el último día de evaluación se observó un crecimiento algal que estuvo entre $1.294.339 - 1.898.050 \text{ cél L}^{-1}$ con un promedio de $1.558.463 \pm 257.758 \text{ cél L}^{-1}$, resultado que supera la densidad celular fitoplanctónica de los otros tratamientos.

La prueba estadística de U Mann-Whitney determinó que existen diferencias significativas en el número de células entre el control T con los respectivos tratamientos ($P < 0.05$).



*Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas entre control y niveles ($P < 0,05$).

Figura 11. Concentración media y desviación estándar de los diferentes tratamientos con proporciones distintas de agua servida y agua de lago durante un período de 14 días. a. Clorofila- a (mg m^{-3}). b. Abundancia ($\text{N}^{\circ}\text{cél L}^{-1}$).

Fuente: Elaboración propia.

El tratamiento conformado de 70% de agua de lago y 30% de agua servida (T1) en el día 0 obtuvo una concentración promedio de clorofila- a superior al tratamiento 2, caso contrario a lo que ocurre con la abundancia donde el T1 fue inferior al T2, esto se puede atribuir al momento de realizar el recuento celular por el experimentador, en este caso tesista. Por otro lado, en el día 14 la concentración de clorofila- a en el tratamiento 3 fue relativamente homogénea al tratamiento 1, en cambio la densidad celular del T3 fue menor al T1 (ver Figura 11). Sin embargo, en los dos gráficos se observa que el control y los tres tratamientos siguen el mismo patrón de comportamiento.

7.1.2.2. Análisis de correlación

El análisis de correlación por rango de Spearman mostró que la abundancia del fitoplancton se correlaciona directa y fuertemente con la clorofila- a siendo está altamente significativa ($r_s: 0.877; p < 0.001$).

En la Figura 12 se observa que en el control existe una tendencia al aumento del número de células y concentración de la clorofila- a respecto a los tratamientos, debido a que a los microorganismos no se les modificó el medio en el que se encontraban originalmente (agua de lago) y las condiciones de cultivos fueron óptimas para su crecimiento. Dado lo anterior, se demuestra que el agua servida procedente directamente del efluente de la PTAS generó cambios en la densidad fitoplanctónica de la comunidad microalgal en los distintos tratamientos, permitiendo que el desarrollo de los individuos fuese más lento. A pesar de esto, en el tratamiento 2 las microalgas lograron adaptarse a las concentraciones provenientes del agua servida alcanzando un crecimiento algal y una concentración de clorofila- a superior al T1 y T3.

Guerrero et al. (2018) demostraron que someter el cultivo de un consorcio de microalgas a distintas concentraciones de efluente de agua residual, proveniente del proceso de manufactura de la industria alimentaria ($\text{NO}_3^-: 24.7 \text{ mg L}^{-1}$ & $\text{PO}_4^{3-}: 7.5 \text{ mg L}^{-1}$), provocó cambios en el crecimiento y adaptabilidad de los organismos

debido a que la presencia de altas concentraciones de nutrientes es letal para el desarrollo de las especies. El tratamiento con 100% de agua residual presentó una menor abundancia y el tratamiento con una concentración del 60% obtuvo el mayor crecimiento del consorcio de microalgas inoculado.

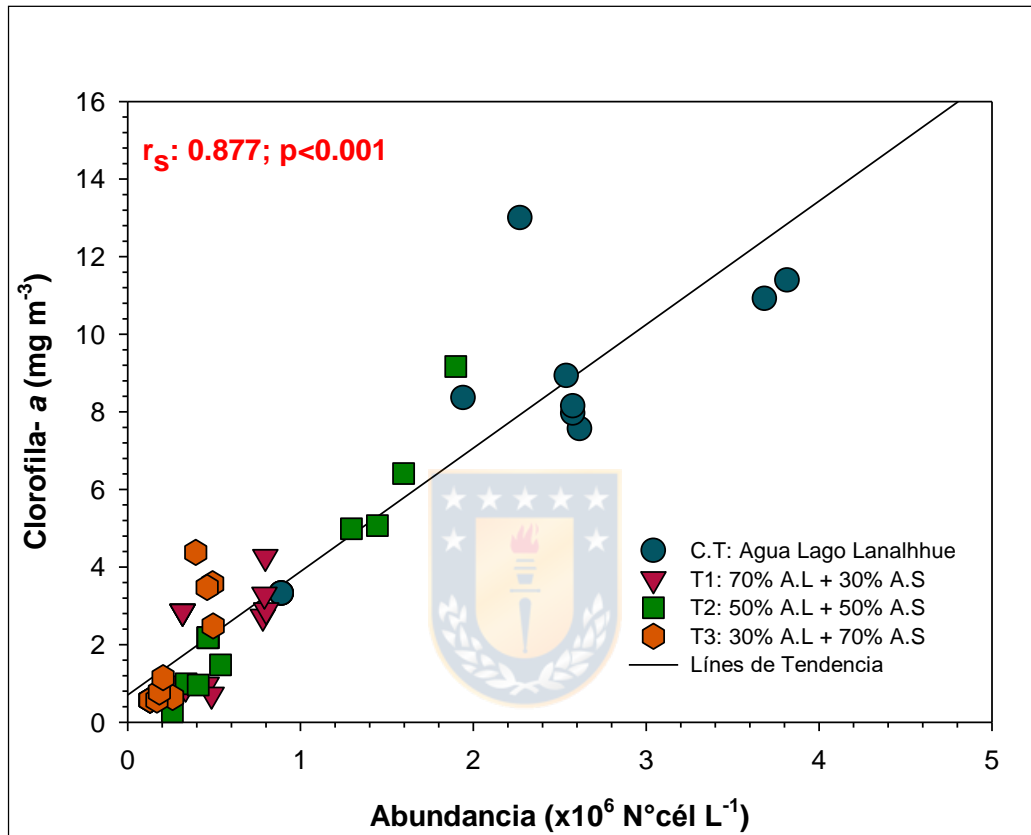


Figura 12. Correlación de Spearman (n= 36) entre la concentración de la abundancia y la clorofila- a del experimento n°1.

Fuente: Elaboración propia.

7.1.2.3. Concentración de nitrato y fosfato respecto a la concentración de clorofila- a

En la Figura 13.b y Anexo 8 se presentan las concentraciones de nitrato obtenidas para cada tratamiento y control. Las concentraciones promedio de este parámetro para los tres tipos de tratamientos se mantuvieron relativamente constante en el transcurso de los días. Cabe destacar, que los cultivos pertenecientes al tratamiento 3 (30% A.L + 70% A.S) obtuvieron las concentraciones más altas de NO_3^- con resultados relativamente homogéneos que variaron en un rango de 17.42 – 17.96 mg L^{-1} , mientras que al ir diluyendo con agua de lago la concentración de nitrato fue menor. Por otra parte, los cultivos constituidos de sólo agua de lago Lanalhue presentaron las concentraciones más bajas de nitrato que con el tiempo (día 14) disminuyeron entre los 0.14 a 0.23 mg L^{-1} con un promedio de $0.19 \pm 0.04 \text{ mg L}^{-1}$.

Para el caso del fosfato, se aprecia en la Figura 13.c y Anexo 9, en el día 7 las concentraciones en los tres tratamientos estuvieron por debajo del límite de detección, sin embargo, el control en un inicio presentó una concentración bajo los 0.04 mg L^{-1} . Según Martínez García (2008) cuando el medio de cultivo se encuentra con deficiencia en las concentraciones de fósforo el crecimiento de algunas especies de microalgas se ve limitado, no obstante, existen especies que absorben el fósforo en exceso de las aguas y lo almacenan en pequeños gránulos de polifosfato (esféricos u ovals) con el propósito de sobrevivir y adaptarse por algún tiempo cuando el sistema se encuentre bajo en fosfato (Parra & Bicudo, 1995; González G, 2010).

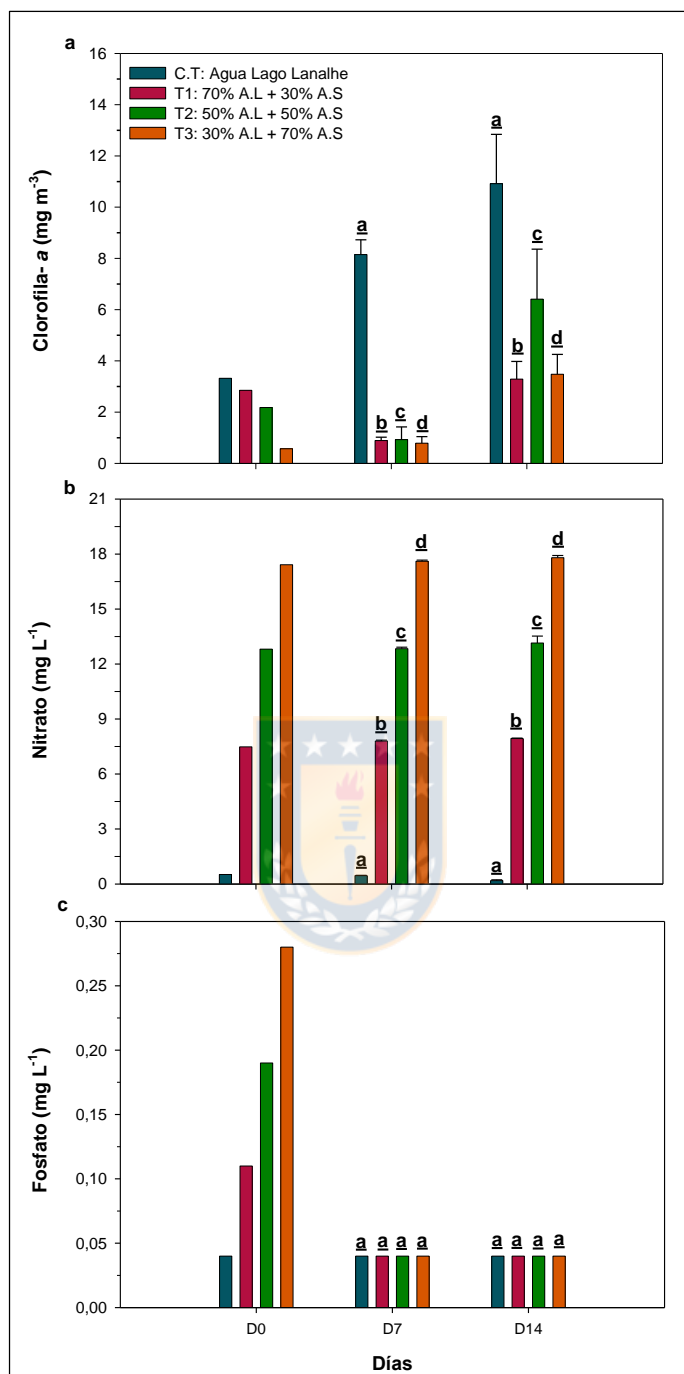
En la Figura 13 se observa que en los tres tratamientos la concentración de clorofila- a disminuye producto que el agua servida adicionada afectó en el crecimiento de los organismos algales, por lo que tuvieron que aclimatarse para poder desarrollarse de manera positiva a las condiciones de nutriente, luz y fotoperiodo del cultivo. En cambio, en los cultivos que solo presentaban agua de lago, manteniendo las condiciones iniciales de nutrientes del agua superficial, se observa que la clorofila- a va en aumento a medida que el nitrato disminuye, es decir, las microalgas no se

vieron limitados en su crecimiento al someterlas a las concentraciones de nutrientes, luz y fotoperiodo.

De acuerdo con los resultados reportados por Krustok et al. (2015) durante el desarrollo de su experimento existe una reducción en las concentraciones de amonio y un incremento en las concentraciones de nitrato a 1.6 mg L^{-1} en reactores aeróbicos constituidos de ww + lw y ww + w ¹. El aumento lo atribuyen a altas concentraciones de bacterias nitrificantes, comúnmente encontradas en aguas residuales, que oxidan el amonio a nitrito y luego a nitrato. Por el contrario, desde un inicio las concentraciones de fósforo total son bajas y después de 16 días de experimento los niveles están por debajo de los 0.05 mg L^{-1} , la baja concentración de P_T la asocian al tratamiento que recibió el agua residual al momento de ser descargado por la planta de tratamiento.



¹ Siglas = ww: agua residual; lw: agua de lago; w: agua destilada.



*Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas entre control y niveles ($P < 0,05$).

Figura 13. Concentración media y desviación estándar. a. Abundancia ($N^{\circ} \text{cél L}^{-1}$).
 b. Nitrato (mg L^{-1}). c. Fosfato (mg L^{-1}).

Fuente: Elaboración propia.

7.1.2.4. Composición específica de la comunidad microalgal

La composición de microalgas del control y los tratamientos se ve reflejado en la Figura 14 y 15, donde se muestra la abundancia y abundancia relativa respecto a 14 días de evaluación. En el transcurso del experimento n°1 se identificaron en total 27 géneros de microalgas, pero solo se graficaron los que presentaron abundancias mayores a 70.000 cél L⁻¹ y abundancias relativas sobre el 5%. La comunidad de microalgas se fraccionó en 9 clases (Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Chrysophyceae, Coscinodiscophyceae, Cryptophyceae, Cyanophyceae, Dinophyceae, Euglenophyceae y Synurophyceae). La división que presentó una mayor variedad de géneros fue Bacillariophyceae (8), seguida en importancia Chlorophyceae (7) y Cyanophyceae (4). Sin embargo, la abundancia relativa (%) dominante estuvo representada por la clase Chlorophyceae seguida de la Bacillariophyceae. El Anexo 10 contiene una lista de las clases identificadas con su porcentaje asociado y en el Anexo 11 se observan los géneros encontrados durante los días analizados.

A través del tiempo se reconocieron 21 géneros de microalgas en la comunidad fitoplanctónica del control distribuidas en 7 clases. En el día 0, el consorcio microalgal estuvo representado por el género *Sphaerocystis*, *Dolichospermum* y *Tabellaria*, los que constituyeron el 72.7% de la abundancia relativa total de fitoplancton (38.4%, 21.7% y 12.6%, respectivamente). Por el contrario, en el último día de evaluación el género dominante correspondió a *Tabellaria* con un promedio total de 1.562.979 cél L⁻¹ equivalente al 53.4%, seguido del género *Sphaerocystis* y *Fragilaria*, con porcentajes mayores al 10% y en menor proporción se encontraron individuos del género *Asterionella*, *Scenedesmus*, *Aulacoseira*, entre otros. En cuanto al control no se observó presencia de *Ankistrodesmus* (ver Figura 14 y 15, Anexo 12).

El enriquecimiento con agua servida afectó positiva como negativamente el desarrollo de algunos microorganismos y la composición específica de la comunidad

algal. En la Figura 14 y 15 se observan las microalgas que crecieron en el transcurso del experimento. A continuación, se mencionan los géneros más abundantes:

Durante 14 días de experimento se registraron en el tratamiento n°1 22 géneros repartidos en 7 clases de microalgas. En un comienzo, el taxón dominante de la comunidad algal correspondió al género *Sphaerocystis* con una abundancia promedio de fitoplancton total de 172.855 cél L⁻¹ (54.5%), a medida que transcurrieron los días su crecimiento fue en disminución hasta alcanzar una media de 101.562 cél L⁻¹, representando el 12.8% total del consorcio. Es importante destacar que en el día 7, se observa crecimiento del género *Ankistrodesmus* con una abundancia media de 16.952 cél L⁻¹ equivalente a un 4.3%. Luego de 7 días más de experimento este género fue dominante dentro de los consorcios microalgales con una densidad celular promedio de 270.079 cél L⁻¹ (34.1%). El resto de la comunidad (día 14) estuvo compuesta por *Chroococcus*, *Scenedesmus*, *Pediastrum*, *Monoraphidium*, *Tabellaria*, entre otros, ver Anexo 11 y Anexo 12.

En el tratamiento 2 en primera instancia se hallaron en total 12 géneros de algas divididos en las siguientes clases: Bacillariophyceae (5), Chlorophyceae (2), Chrysophyceae (1), Coscinodiscophyceae (1), Cryptophyceae (1), Cyanophyceae (1) y Euglenophyceae (1). La clase Bacillariophyceae (129.899 cél L⁻¹) y Chlorophyceae (238.364 cél L⁻¹) fueron las más representativas, cuyos géneros dominantes correspondieron a *Sphaerocystis* (48.3%), *Tabellaria* y *Asterionella*. Además, *Dolichospermum* y *Aulacoseira*, pertenecientes a otras clases, obtuvieron densidades celulares sobre los 35.000 cél L⁻¹. En el segundo análisis del tratamiento existió un descenso en el número de células de algunas microalgas y, a su vez, crecimiento de nuevos individuos, no detectados la primera vez, registrándose en total 17 géneros correspondientes a 6 clases, siendo los más abundantes en los consorcios microalgales *Sphaerocystis*, *Ankistrodesmus*, *Dinobryon* y *Tabellaria* con densidades celulares promedio sobre los 48.000 cél L⁻¹. Finalmente, en el último día de evaluación, existió un aumento que alcanzó el 1.558.463 ± 257.758 cél L⁻¹, donde los consorcios presentaron 13 géneros distribuidos en 5 clases. La clase que

presentó una mayor variedad de organismos fue Chlorophyceae (6) con una abundancia celular total de 1.402.884 cél L⁻¹ equivalente al 90%, representada en un 83.5% por células de *Ankistrodesmus*.

En relación al tratamiento compuesto con más agua servida (T3), se identificaron en total 8 clases y 14 géneros de microalgas, donde la máxima densidad de individuos estuvo dominada por microorganismos pertenecientes a las clases Bacillariophyceae, Chlorophyceae y Cyanophyceae, cuyos géneros abundantes fueron *Sphaerocystis* (29.7%), *Tabellaria* (29.1%) y *Dolichospermum* (20%), respectivamente. Luego de 7 días de adaptación de los organismos, la densidad promedio total aumentó y junto con ello existió un crecimiento/decrecimiento en la abundancia celular de algunos organismos como también desarrollo de microalgas, que no fueron detectados. Los 17 géneros se dividen en 6 clases de microalgas reportadas en esta investigación, donde Chlorophyceae con 122.708 cél L⁻¹ (60%) obtuvo la densidad fitoplanctónica más abundantes, representada por el género *Sphaerocystis* seguida de *Ankistrodesmus*. En el último análisis, la productividad celular promedio de las cuatro réplicas fue de 459.988 ± 257.758 cél L⁻¹ con un total de 15 géneros distribuidos en 6 clases, siendo Chlorophyceae la más abundante con un promedio de 373.081 cél L⁻¹ correspondiente al 81.1% total de la comunidad. La clorofícea más abundante en los consorcios fitoplanctónicos fue *Ankistrodesmus* con un 61%.

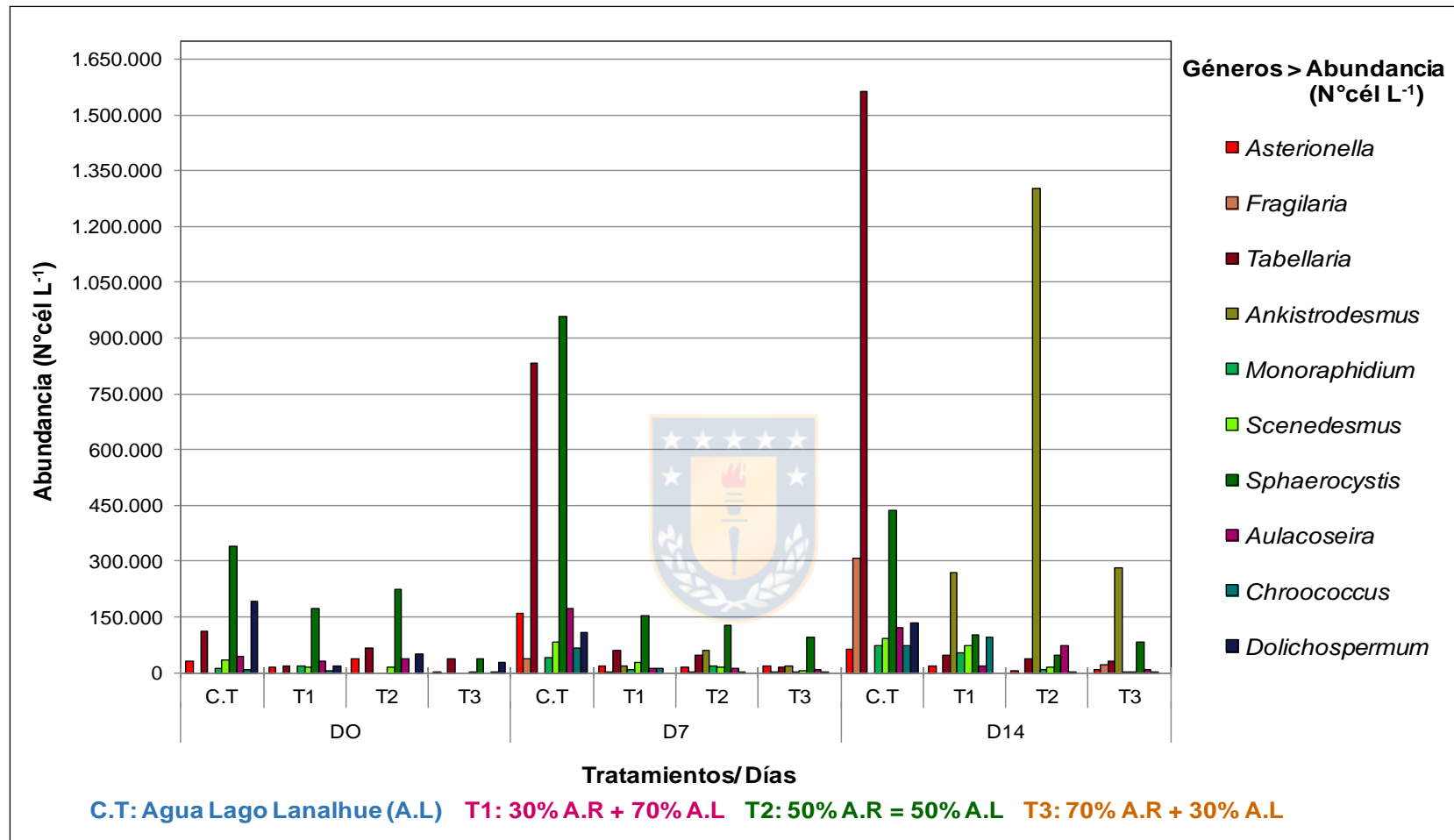


Figura 14. Abundancia promedio de la comunidad microalgal más abundante del experimento n°1 durante un período de 14 días a distintas concentraciones de efluente de agua servida y agua de lago.

Fuente: Elaboración propia.

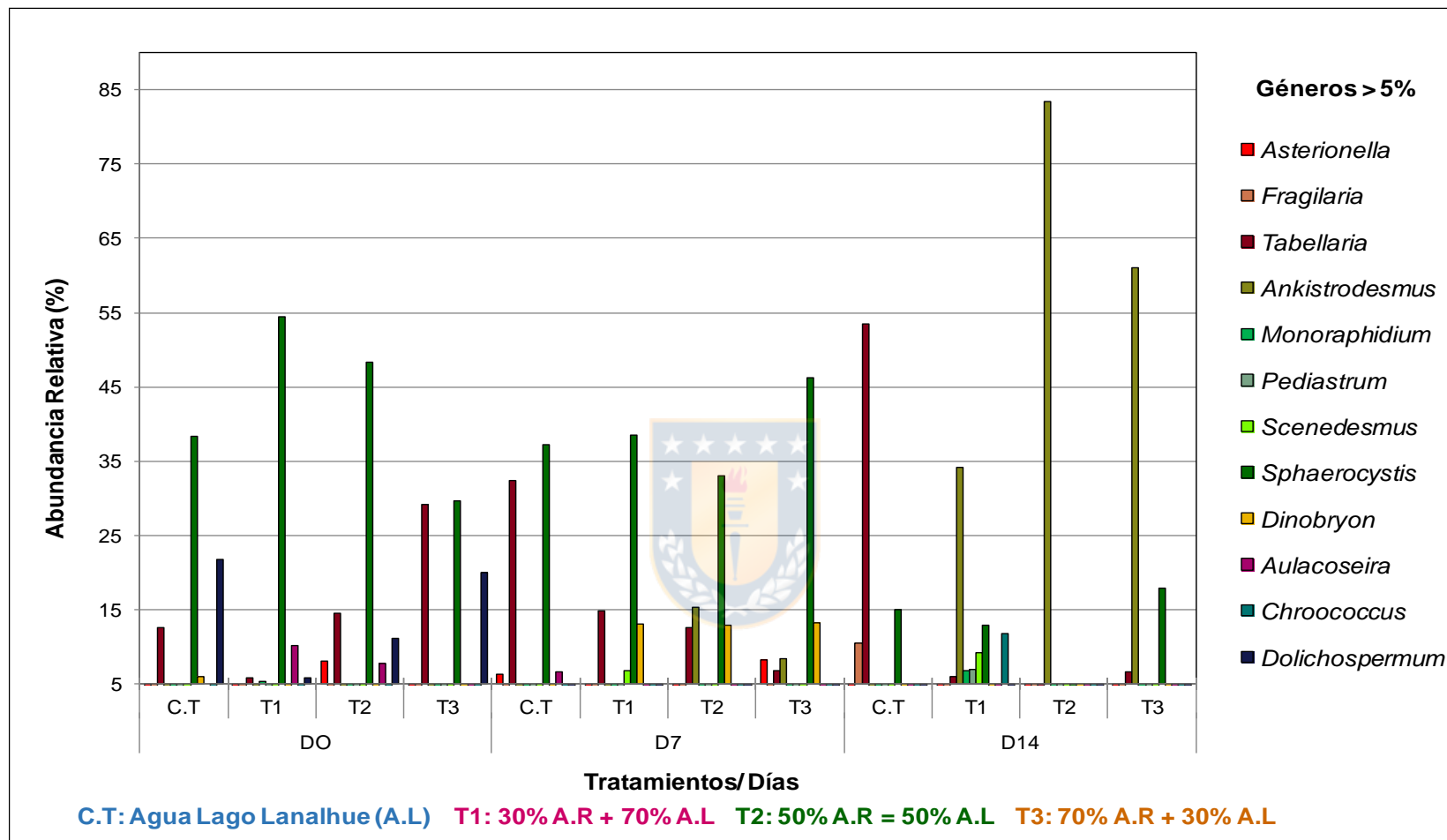


Figura 15. Abundancia relativa promedio de la comunidad microalgal más abundante del experimento n°1 durante un período de 14 días a distintas concentraciones de efluente de agua servida y agua de lago.

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con los resultados obtenidos de la mezcla de agua servida y agua de lago a distintas proporciones, con concentraciones más altas de nitrato que de fosfato, se observó lo siguiente:

Los consorcios de microalgas tuvieron un período de adaptación de 7 días, por lo que es necesario que los cultivos requieran de un tiempo de aclimatación para que se adapten a las nuevas condiciones (Guerrero *et al.*, 2018). Al pasar los días el fitoplancton se desarrolló de manera positiva a las condiciones de cultivo, es decir temperatura, intensidad de la luz, fotoperiodo, pH y nutrientes. Abdel Raouf *et al.* (2012) menciona que el crecimiento de microalgas depende de la disponibilidad de nutrientes, de factores abióticos y bióticos, como es el caso de la densidad algal. Por otro lado, los microorganismos fotoautótrofos conviven con bacterias, que durante su desarrollo interactúan con el medio y las microalgas, sin embargo, para este estudio las bacterias no fueron consideradas.

En el transcurso del experimento, las concentraciones de nitrato en los tres tratamientos no disminuyeron pero si el fosfato estuvo bajo el límite de detección ($<0.04 \text{ mg L}^{-1}$), por lo que los géneros de los distintos consorcios fueron capaces de asimilar de manera rápida el ion fosfato, ya que el consumo de este nutriente es fundamental para su crecimiento y en los procesos celulares, especialmente los que están implicados en la biosíntesis de ácidos nucleicos y transferencia de la energía metabólica (Ji *et al.*, 2013; Hernández Pérez *et al.*, 2014).

Durante el desarrollo del experimento las comunidades microalgales (del T1, T2 y T3) presentaron variaciones a lo largo del tiempo tanto en abundancia como en composición de las especies (Figura 14). En primera instancia, las comunidades estuvieron dominadas por el género *Sphaerocystis* y en el último día por *Ankistrodesmus*, microorganismos pertenecientes a la clase Chlorophyceae. Según Almanza (2016b) *Sphaerocystis* es capaz de generar un aumento de biomasa en cuerpos de aguas continentales ante condiciones ambientales favorables.

Las algas verdes, denominadas así por la presencia en su estructura de clorofila– *a* y *b*, carotenoides y xantofitas, son consideradas como uno de los grupos de algas más diversos en géneros como en especies y son ecológicamente grandes productores de biomasa en sistemas de agua dulce (cerca del 90%), capaces de provocar florecimientos o *blooms* de microalgas en cuerpos de aguas dulce. Las clorofíceas tienen la capacidad de sobrevivir en hábitat con constantes cambios ambientales y tener éxito en ambientes eutróficos y turbios (Parra *et al.*, 1995 & Bellinger *et al.*, 2015; Almanza, 2016b).

7.1.2.5. Fotografías

A continuación, se presentan imágenes fotografiadas usando microscopio de fluorescencia y/o microscopio invertido (objetivo: 40x) durante el desarrollo del primer experimento, complementado en el Anexo 13.

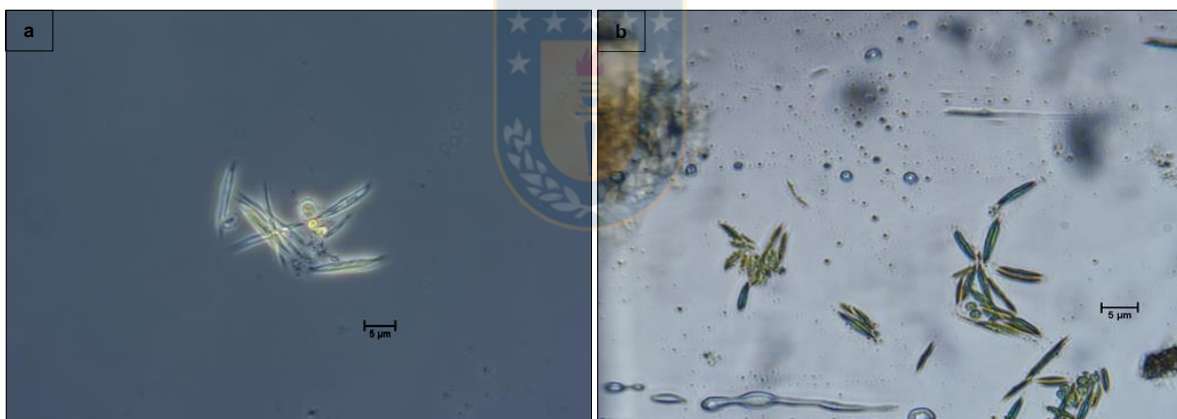


Figura 16. Género *Ankistrodesmus*. a. Microscopio de fluorescencia. b. Microscopio invertido.

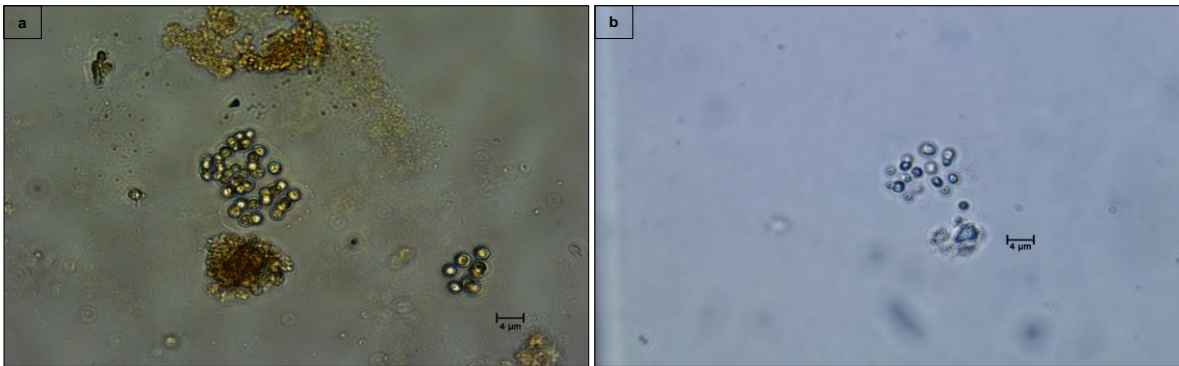


Figura 17. Género *Sphaerocystis*. a. Microscopio de fluorescencia. b. Microscopio invertido.

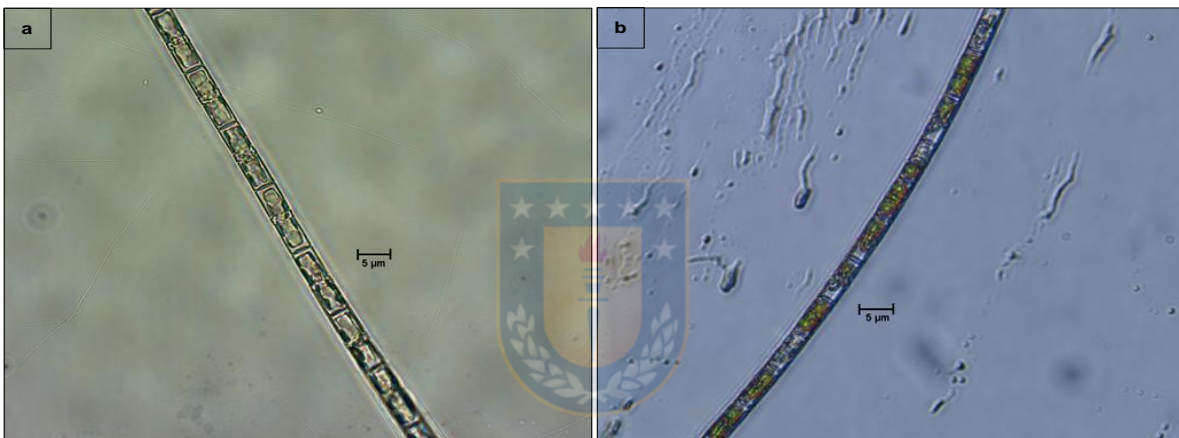


Figura 18. Género *Aulacoseira*. a. Microscopio de fluorescencia. b. Microscopio invertido.

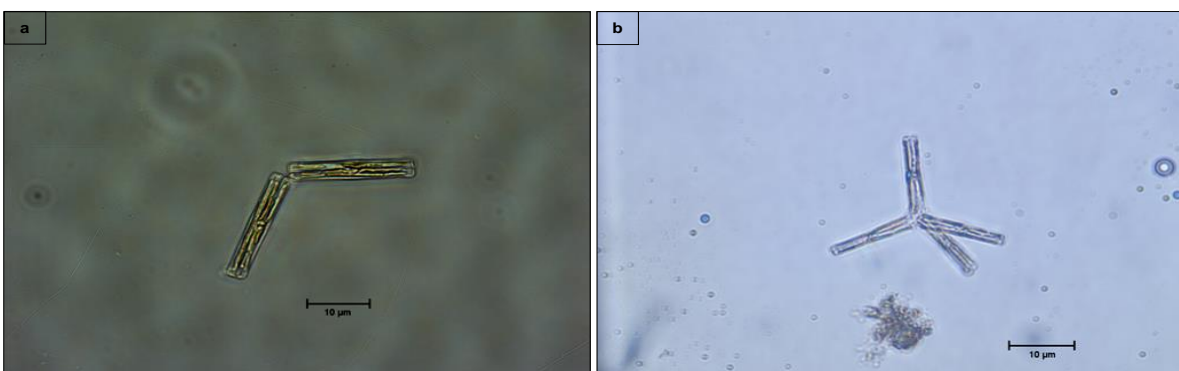
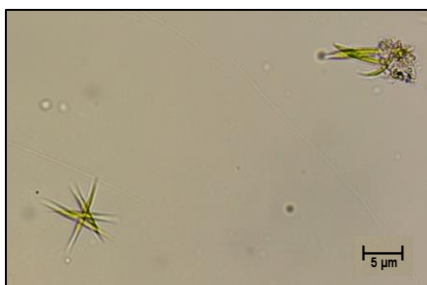


Figura 19. Género *Tabellaria*. a. Microscopio de fluorescencia. b. Microscopio invertido.

7.1.2.6. Selección del consorcio microalgal que se desarrolló mejor en condiciones de laboratorio

En el último día de evaluación, el género dominante en los diferentes consorcios algales cultivados en el laboratorio (T1, T2 y T3) correspondió a *Ankistrodesmus*. Sin embargo, para el siguiente experimento se seleccionó el consorcio del tratamiento n°2 y tratamiento n°3, dado que la abundancia relativa de esta alga verde fue de 83.5% para el T2 y 61% para el T3. En el caso del tratamiento n°1, no superó el 35% de la densidad celular total.



Según la literatura, se han encontrado registros que *Ankistrodesmus* se encuentra presente en aguas residuales debido a su tolerancia. A continuación, se citan algunos estudios:

Palmer en el año 1969 menciona que *Ankistrodesmus* se encuentra con más frecuencia en estanques de estabilización de aguas residuales, cercanas al efluente. Además, Patil en el año 1991 señala que de estudios anteriores usando esta tecnología *Ankistrodesmus* permanece constante durante todo el año, mientras que el resto de las microalgas aparecen dependiendo de la temporada del año. Lo anterior, se reafirma en el año 2009 por Shanthala y sus colaboradores donde identificaron que las microalgas dominantes durante todo el año en el efluente de estanques de estabilización de residuos correspondieron a *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus* y *Euglena*, revelando que las algas verdes se adaptan a sistemas de aguas contaminados.

Por otro lado, Cerón Hernández et al. (2015) indica que en los sistemas de lagunas algales de alta tasa se encuentran presentes géneros *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, entre otros, para el tratamiento de aguas residuales. Por otra parte, Hussein & Gharib (2012) analizaron la diversidad de especies microalgales en aguas residuales mezclada con agua de drenaje, donde registraron a lo largo del

período de estudio especies de *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus falcatus*, entre otras, indicando que esta última es una especie tolerable a la contaminación.

- **Consortio microalgal**

Anteriormente, se mencionó que se decidió seleccionar los consorcios del T2 y T3 dado que la abundancia relativa de *Ankistrodesmus* presentó la mejor respuesta. Según Abdel Raouf et al. (2012) la densidad inicial influye en el crecimiento microalgal mencionando que mientras mayor sea la densidad algal mejor será el crecimiento y la eficiencia de remoción de nutrientes. Por lo tanto, se procedió a mantener el cultivo de los dos tratamientos durante un período de 7 días, volviéndose a evaluar la abundancia en el tratamiento 2 y 3. Finalmente, el consorcio microalgal seleccionado estuvo compuesto principalmente por *Ankistrodesmus*, *Monoraphidium*, *Scenedesmus* y *Chroococcus*.

Algunos de estos géneros constituyen beneficios tales como:

Bioindicadoras: *Scenedesmus* y *Ankistrodesmus* son bioindicadoras de lagos Hipereutróficos a mediados de verano, aludiendo que el análisis y la detección de algas indicadoras provee una evaluación rápida del estado trófico de un cuerpo de agua (Bellinger & Sigeo, 2015). Así mismo, Abdel Raouf et al. (2012) comenta que la presencia o ausencia de *Scenedesmus* se puede utilizar para evaluar la calidad del agua.

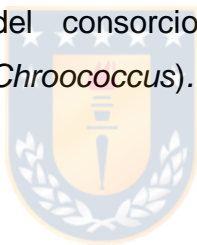
Tolerar la contaminación orgánica: Un estudio realizado por Palmer (1969) modificado por Bellinger & Sigeo (2015) señala que *Scenedesmus* y *Ankistrodesmus* son géneros capaces de tolerar la contaminación orgánica, la cual tiende a influir en la flora algal más que otros factores del medio acuático, además, de ser indicadores de contaminación del agua, ver Anexo 14.

Biorremediación: Según Holbrook et al. (2014) el género *Monoraphidium* posee la capacidad de crecer a densidades elevadas en aguas residuales por lo que es capaz de fitorremediar las aguas contaminadas con nitrato y fosfato. Por otro lado,

Scenedesmus ha sido estudiada para su aplicación en el tratamiento de aguas residuales (Koreiviené *et al.*, 2014).

Fuente comercial: Diferentes géneros de microalgas tienen la capacidad de almacenar un alto contenido de lípido en su biomasa como, por ejemplo, *Ankistrodesmus* (25 – 40%), *Scenedesmus* (11 – 55%) y *Monoraphidium* para la producción de biocombustible (Faife Pérez *et al.*, 2012, Holbrook *et al.*, 2014 & Shrivastav *et al.*, 2015). Así mismo, Sipaúba Tavares *et al.* (2008) indican que la biomasa resultante de *Ankistrodesmus* se considera como una fuente comercial con un alto valor agregado interesante para la producción de biocombustible (biogás o biodiésel) y alimentación para los organismos herbívoros de zooplancton como crustáceos y larvas de peces

En el Anexo 15 al 18 se describe la clasificación taxonómica, morfología y ecología de la comunidad microalgal del consorcio seleccionado (*Ankistrodesmus*, *Monoraphidium*, *Scenedesmus* y *Chroococcus*).



7.2. Determinar el porcentaje de remoción de nutrientes del consorcio microalgal

7.2.1. Inóculo de microalgas

La densidad celular inoculada en cada réplica para el segundo experimento correspondió a 7.468.543 cél L⁻¹ tomando un inóculo de 40 ml, ver Tabla 4.

Tabla 4. Densidad celular inicial inoculada en el experimento N°2.

Parámetro	Unidad de Medida	Tratamientos	
		Tratamiento 2	Tratamiento 3
Abundancia	cél L ⁻¹	14.060.000	279.602
Abundancia	cél ml ⁻¹	14.060	280
N° células	células	3.515.000	69.901
N° Células Total	células	3.584.901	
N°cél inoculado	células	298.742	
Abundancia Inoculada	cél L ⁻¹	7.468.543	

Fuente: Elaboración Propia.

7.2.2. Experimento N° 2: Cultivo de un consorcio microalgal en medio bristol para la remoción de nitrato y fosfato

Para el cultivo del consorcio microalgal en medio bristol se trabajó con dos niveles a diferentes concentraciones de NO₃⁻ y PO₄⁻³ más un control N. El inóculo (40 ml) de microalgas en cada réplica fue de 7.468.543 cél L⁻¹. Es importante mencionar, que antes del día 0 existió un período de aclimatación de los individuos ya que el inóculo se sometió a extremas condiciones de nutrientes.

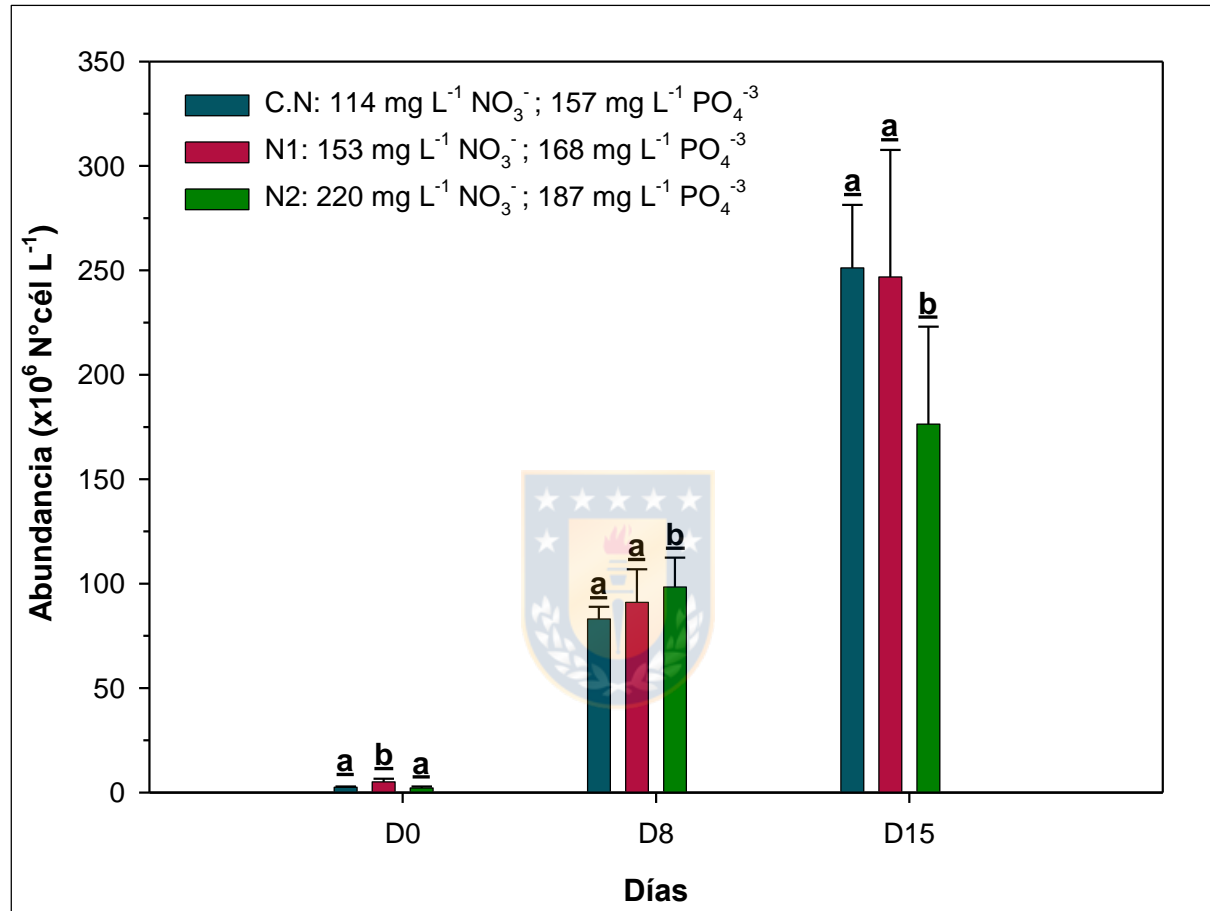
Los análisis se realizaron en los días 25/06/2018 (D₀), 03/07/2018 (D₈) y 10/07/2018 (D₁₅).

7.2.2.1. Abundancia (N°cél L⁻¹)

En el tiempo de aclimatación del consorcio seleccionado la abundancia celular en el control N y los dos niveles disminuyó a densidades de 2.483.100, 5.102.744 y 2.191.802 cél L⁻¹, según corresponda. Esto ocasionado por las altas concentraciones de nutrientes a la que estuvieron sometidos los microorganismos fotosintéticos.

En la Figura 20, se observa que durante 15 días de crecimiento la densidad algal aumentó de $2.483.100 \pm 401.279$ cél L⁻¹ a $251.178.931 \pm 30.213.629$ cél L⁻¹ en los cultivos donde la concentración de nitrato y fosfato no fue modificada (control N). En el último día solo se observan diferencias significativas entre el control N y nivel 2 ($p < 0.05$)

En cuanto a los niveles 1 y 2, el número de células incrementó a través del tiempo. El nivel que consistía en $153 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^- / 168 \text{ mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$ obtuvo una abundancia inicial que fluctuó entre los $3.718.869 - 7.209.972$ cél L⁻¹ con un promedio de $5.102.744 \pm 1.514.239$ cél L⁻¹ y transcurrido 15 días se observó un crecimiento algal promedio de $246.832.467 \pm 60.802.352$ cél L⁻¹, resultado que supera la densidad celular fitoplanctónica del otro nivel. En el caso del nivel dos, en el día 0 presentó una concentración celular algal que osciló entre el $1.263.688 - 2.39047.254$ con una media de $2.191.802 \pm 689.221$ cél L⁻¹, aumentando a $176.387.807 \pm 46.654.945$ cél L⁻¹ en el día 15.



*Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas entre control y niveles (P<0,05).

Figura 20. Concentración media y desviación estándar de la abundancia de los diferentes niveles con concentraciones distintas de NO₃⁻ y PO₄⁻³ durante un período de 15 días.

Fuente: Elaboración propia.

7.2.2.2. Composición específica y abundancia de la comunidad microalgal

Como se mencionó anteriormente el consorcio microalgal estuvo compuesto principalmente por 4 géneros de microalgas. En el caso de *Monoraphidium*, *Scenedesmus* y *Chroococcus* al final del experimento anterior estos presentaron bajas abundancias.

Cabe mencionar que se identificaron en total 12 géneros de microalgas, distribuidos en 4 clases. Los organismos encontrados se agruparon en las siguientes clases: Bacillariophyceae (3), Chlorophyceae (6), Coscinodiscophyceae (1) y Cyanophyceae (2). La dominancia durante el experimento (control y niveles) estuvo representada por las algas verde (Chlorophyceae) con porcentajes sobre el 97%, siendo el género abundante *Ankistrodesmus* (ver Anexo 19 y Anexo 21).

En la Figura 21, se observa que en el inicio del experimento el nivel 1 presentó la abundancia promedio más alta con 5.102.744 cél L⁻¹, representado principalmente por 5.043.053 cél L⁻¹ algas verdes equivalente al 98.8% de la abundancia relativa total del consorcio, siendo dominante *Ankistrodesmus* con 4.939.381 cél L⁻¹. Luego, en el octavo día se observa un incremento en el número de células del control y los niveles, donde el nivel 2 obtuvo la abundancia promedio más alta con 98.355.120 cél L⁻¹ representada por *Ankistrodesmus* (92.4%), *Monoraphidium* y *Scenedesmus*, pertenecientes a la clase Chlorophyceae, seguido de Cyanophyceae con el género *Chroococcus*. Finalmente, en el último día evaluado el control N y nivel 1, enriquecido con más fosfato que nitrato, registraron el máximo número de células con abundancias >246.000.000 cél L⁻¹. En relación con el nivel 2 obtuvo una concentración de células, no obstante, *Ankistrodesmus* siguió siendo dominante (ver Anexo 19 y Anexo 20).

De acuerdo con Sipaúba Tavares et al. (2008) en la necesidad de mejorar el cultivo de microalgas para la nutrición de zooplancton evaluaron el crecimiento de *Ankistrodesmus gracilis* usando medio de cultivo NPK y demostraron en su

investigación que esta especie puede cultivarse fácilmente en el laboratorio alcanzando picks de $135 - 144 \times 10^7$ cél L⁻¹ durante un período de 17 días. En cuanto a Zevallos Feria (2017) evaluó el crecimiento de *Ankistrodesmus* para la producción de biomasa y menciona que este género se adaptó al cultivo en medio nutritivo Bayfolan arrojando una máxima densidad celular de 5.55×10^9 cél L⁻¹.



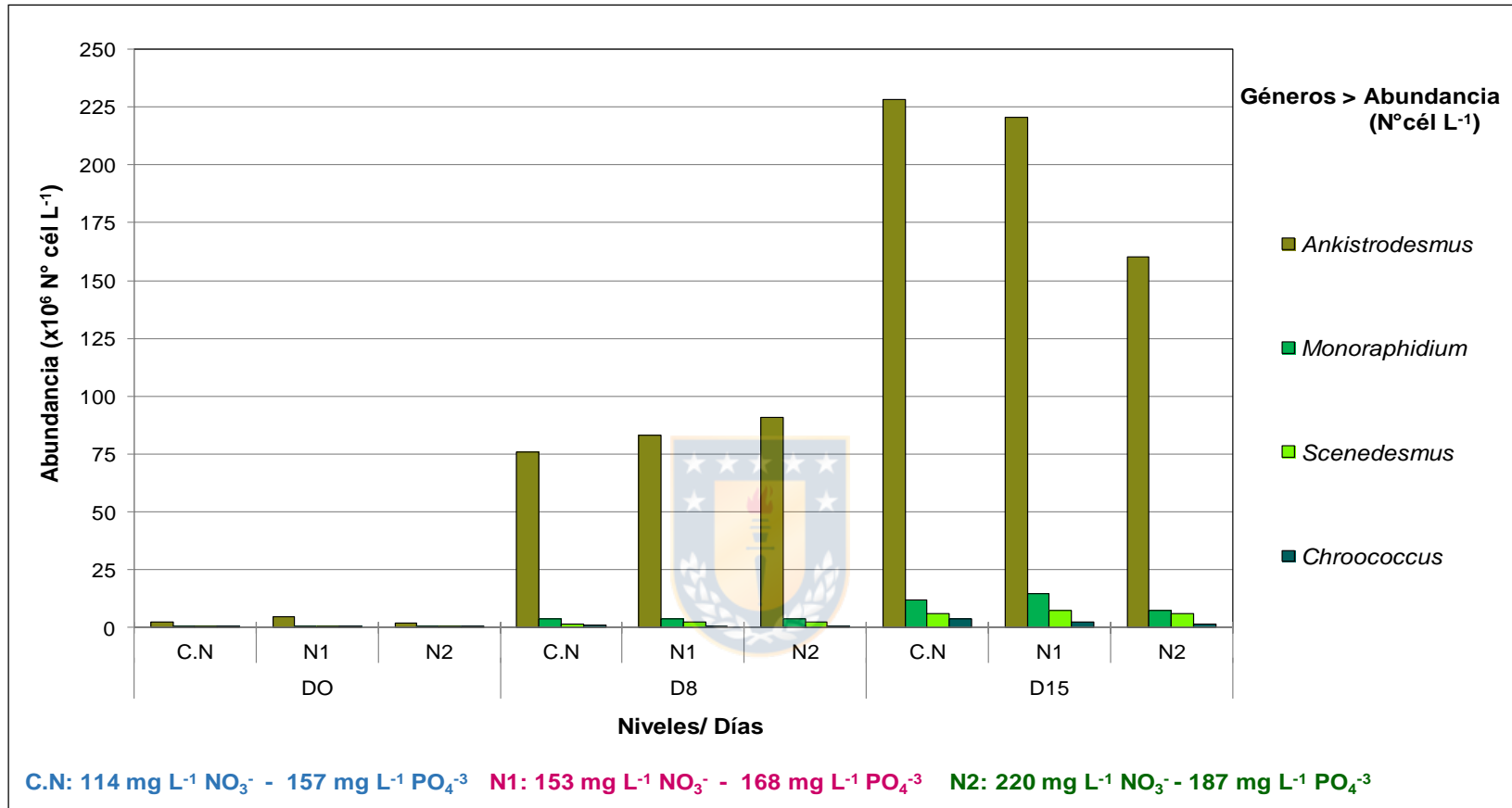


Figura 21. Abundancia relativa de la composición de la comunidad microalgal (N°cél L⁻¹) más abundante del experimento n°2 durante un período de 15 días a distintas concentraciones de NO₃⁻ y PO₄⁻³.

Fuente: Elaboración propia.

7.2.2.3. Fotografías

A continuación, se presentan imágenes fotografiadas de los géneros mencionados anteriormente usando microscopio de fluorescencia y/o microscopio invertido en objetivo 40x, complementado en el Anexo 22.

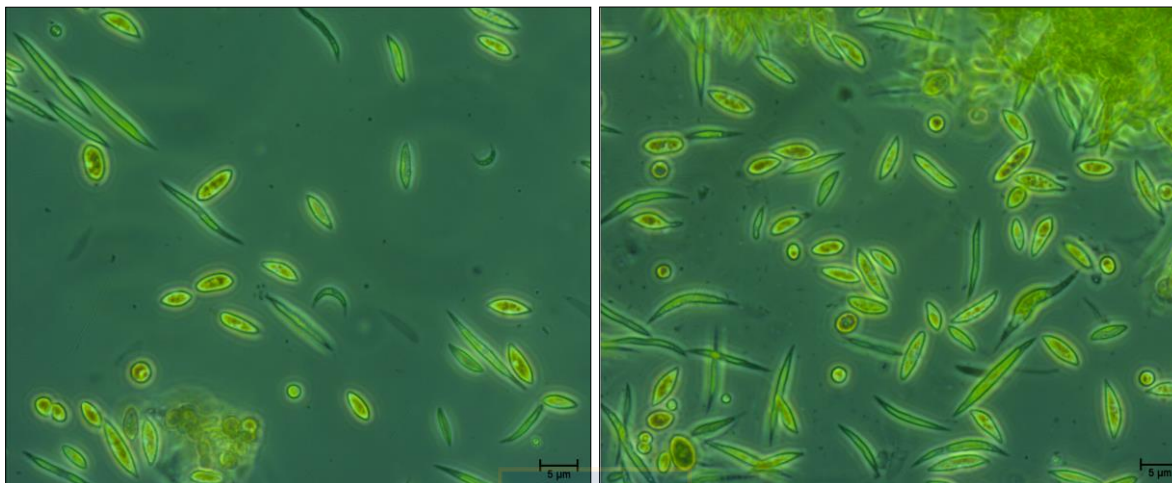


Figura 22. Consorcio de microalgas tomada con microscopio de fluorescencia.

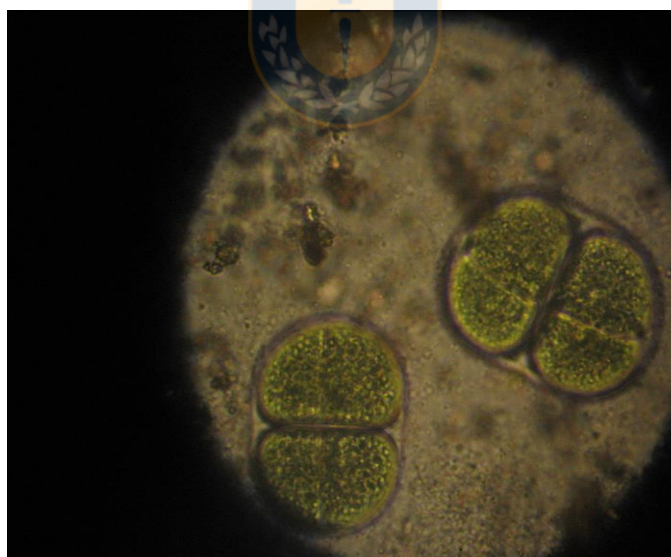


Figura 23. Género *Chroococcus*.

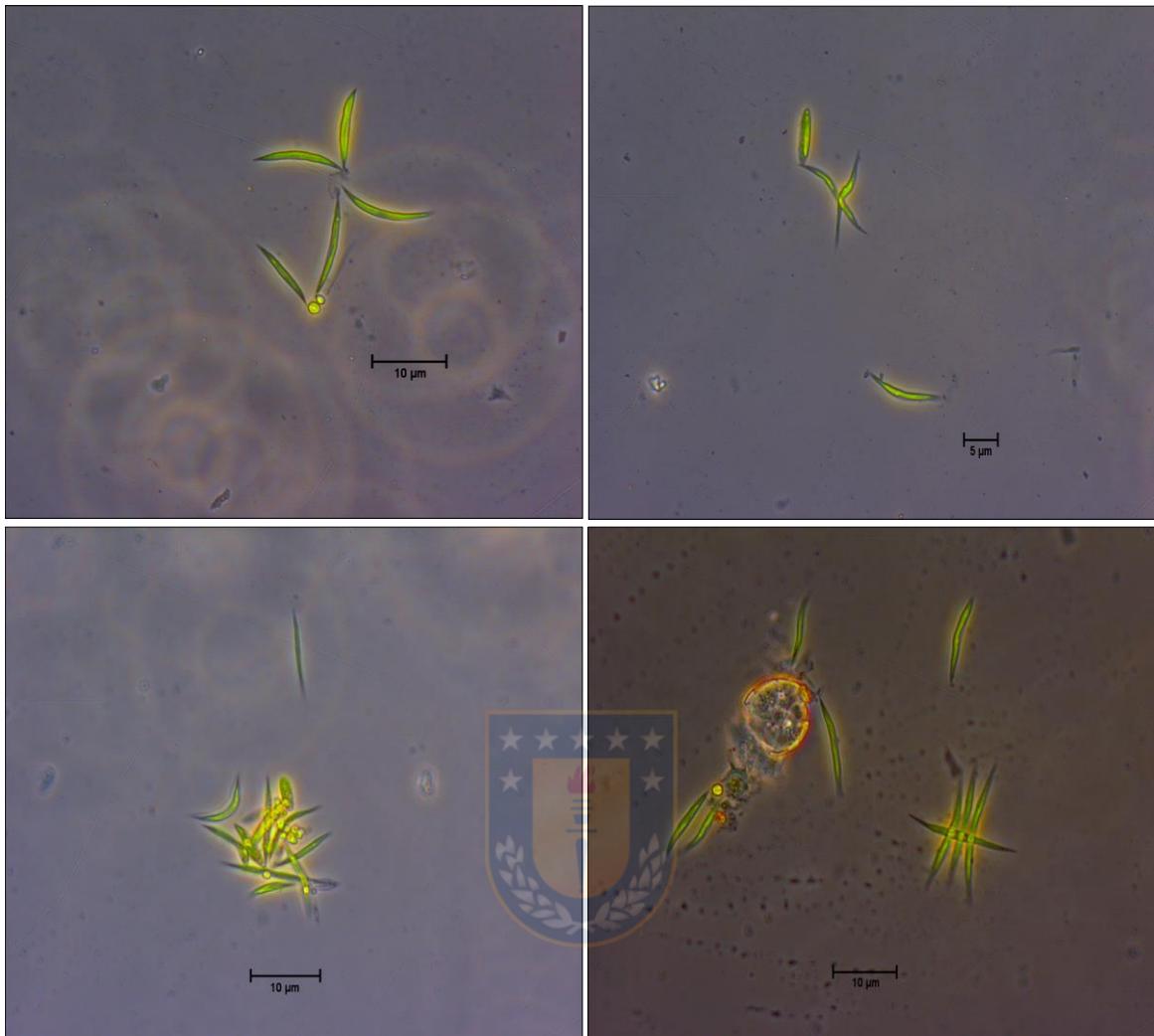


Figura 24. Género *Ankistrodesmus* tomada con microscopio de fluorescencia.

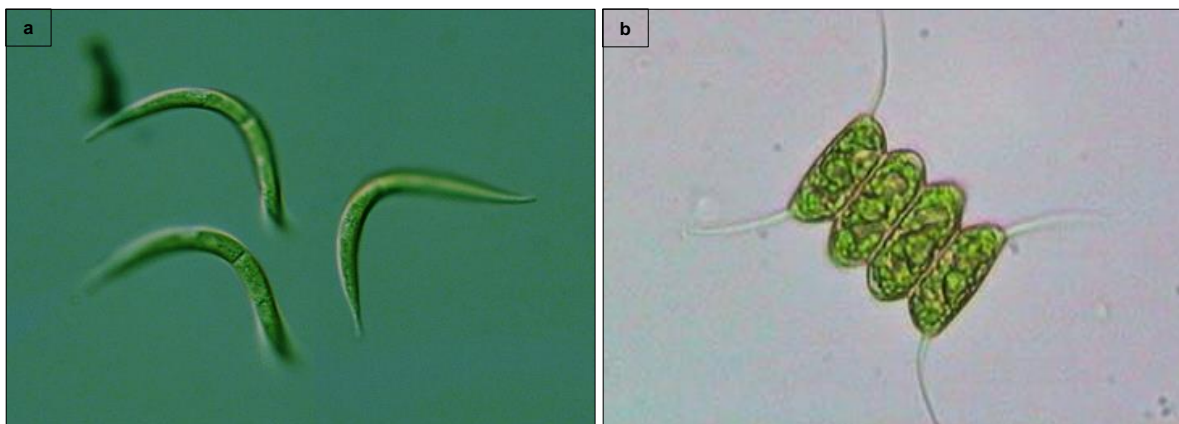


Figura 25. a. Género *Monoraphidium*. b. Género *Scenedesmus*.

7.2.2.4. Concentración de nitrato y fosfato (mg L^{-1}) respecto a la abundancia (cél L^{-1})

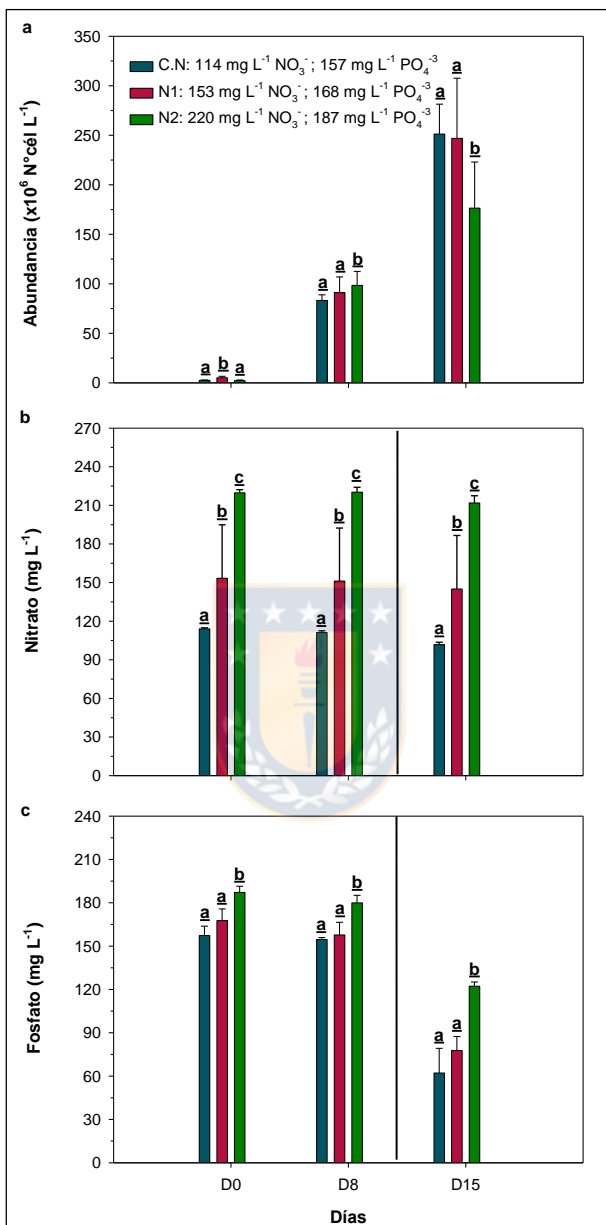
La disponibilidad de nutrientes es uno de los principales factores que regulan el crecimiento y desarrollo de las microalgas. En vista que el nitrógeno contribuye a la formación de proteínas (compuestas por cadenas de aminoácidos unidas por enlaces peptídicos) y el fósforo es esencial en los procesos celulares (Mata *et al.*, 2012; Ji *et al.*, 2013; George *et al.*, 2014).

En este estudio se trabajó con un enriquecimiento excesivo de estos nutrientes, no percibido en la realidad, a fin de observar el comportamiento de los individuos además de la capacidad de remoción de nitrato y fosfato en el cultivo a esas concentraciones. En la Figura 26 se observa que en los tres días evaluados las concentraciones de nitrato en el control N respecto a los niveles se diferencian significativamente ($p < 0.05$). Sin embargo, en el fosfato solo existen diferencias significativas en el control con el nivel 2.

La abundancia celular promedio más alta registrada en el último día de evaluación correspondió al control N con una densidad total de $251 \times 10^6 \text{ cél L}^{-1}$ versus concentraciones promedio de $102 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$ de nitrato y $62 \pm 17 \text{ mg L}^{-1}$ de fosfato. En segundo lugar, lo sigue el nivel 1 con concentraciones de $145 \pm 42 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ y $78 \pm 10 \text{ mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$ con un número de células de $246 \times 10^6 \text{ cél L}^{-1}$. En último lugar, el nivel donde la concentración inicial de los factores fue mayor presentó $212 \pm 6 \text{ mg L}^{-1}$ de NO_3^- y $122 \pm 3 \text{ mg L}^{-1}$ de PO_4^{3-} con una abundancia promedio de $176 \times 10^6 \text{ cél L}^{-1}$.

Con respecto a los porcentajes de remoción, el nivel 1 con una concentración inicial promedio de nitrato más baja que el fosfato ($153 \pm 42 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ y $168 \pm 8 \text{ mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$) presentó al día 15 una remoción del 54% fosfato y 5% nitrato. Sin embargo, en el control la eliminación correspondió al 61% de PO_4^{3-} y 11% de NO_3^- . Por otra parte, el nivel 2 con una concentración inicial de $220 \pm 2.4 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ y 187 ± 4.3

mg L⁻¹ PO₄⁻³ alcanzó una degradación de fosfato del 34% y de nitrato del 4% (ver Tabla 5).



*Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas entre control y niveles (P<0.05).

Figura 26. Concentración media y desviación estándar. a. Abundancia (N°cél L⁻¹).
b. Nitrate (mg L⁻¹). c. Fosfato (mg L⁻¹).

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5. Número de células por litro total y de *Ankistrodesmus* respecto a las concentraciones de nitrato y fosfato con su porcentaje de remoción analizada en el control N y los niveles durante el transcurso del experimento n°2.

Días	Identificación Muestra	Abundancia (N°Cél L ⁻¹)	<i>Ankistrodesmus</i> (N°Cél L ⁻¹)	Nitrato (mg L ⁻¹)	% Remoción Nitrato (D0-D15)	Fosfato (mg L ⁻¹)	% Remoción Fosfato (D0-D15)
D0	Control N	2.483.100	2.350.382	114,03 ± 0,83	10,83	157,33 ± 6,45	60,51
D8		83.117.094	75.826.068	111,15 ± 1,32		154,53 ± 1,36	
D15		251.178.931	228.133.122	101,68 ± 2,00		62,13 ± 17,14	
D0	Nivel 1	5.102.744	4.939.381	153,33 ± 41,56	5,43	167,63 ± 8,15	53,65
D8		91.083.681	83.244.097	151,20 ± 41,15		157,75 ± 8,72	
D15		246.832.467	220.749.664	145,00 ± 41,62		77,7 ± 9,70	
D0	Nivel 2	2.191.802	2.105.554	219,75 ± 2,44	3,57	187,15 ± 4,30	34,69
D8		98.355.120	90.881.627	220,23 ± 3,83		179,98 ± 5,20	
D15		176.387.807	160.105.159	211,90 ± 5,55		122,23 ± 2,92	

Fuente: Elaboración Propia.

El crecimiento de microorganismos fotosintéticos en un consorcio microalgal resulta de las interacciones cooperativas y competitivas entre ellos, ocasionando un aumento en la producción de la biomasa y en la eficiencia de degradación de nutrientes (Gonçalves *et al.*, 2017).

De acuerdo con los resultados obtenidos, durante un período de 15 días el consorcio microalgal inoculado a distintas concentraciones presentó un crecimiento sostenido de la abundancia de las microalgas desde el inicio del experimento hasta el último día y de acuerdo con la literatura este crecimiento es exponencial, alcanzando entre 176 – 250 millones de cel L⁻¹. Además, se observó que las microalgas se adaptaron a las altas concentraciones de nutrientes pudiendo desarrollarse en el medio. Por otro lado, los mejores resultados se obtuvieron usando concentraciones de fosfato más altas que las de nitrato, en donde se removió entre un 54 - 61% PO₄⁻³ y 5 - 11% NO₃⁻ con un crecimiento total estimado entre 246 - 251 x 10⁶ cél L⁻¹. Sin embargo, el nitrato se mantuvo alto y relativamente constante en el tiempo, por lo que el consorcio no asimiló rápidamente este nutriente. Por otra parte, la dominancia estuvo representada por el género *Ankistrodesmus*, el que presentó una alta tasa de crecimiento (228 x 10⁶ cél L⁻¹) y tolerancia a concentraciones elevadas de nutrientes.

Autores han estudiado el comportamiento de *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus* y *Monoraphidium* en medios de cultivos de laboratorio y la remoción de nutrientes que estas logran. A continuación, se citan estudios:

Patil en el año 1991 utilizó como medio de cultivo agua residual estéril a concentraciones de fosfato de 16.2 mg L⁻¹ y amonio a 24 mg L⁻¹ con el propósito de investigar el comportamiento de un consorcio microalgal obtenido del efluente de un estanque de agua residual y el crecimiento por separado y en combinación de *Ankistrodesmus falcatus* y *Scenedesmus quadricauda* para el tratamiento de aguas residuales. Según, sus resultados en 6 días el crecimiento de *Ankistrodesmus* (2.4 x10⁹ cél L⁻¹) fue mas abundante que el de *Scenedesmus* (1.8 x10⁹ cél L⁻¹), sin embargo, el número total de células en el cultivo mixto fue mayor que en los casos

individuales. A su vez, menciona que el aumento de la biomasa microalgal contribuyó significativamente a la remoción de fosfato (93.7%) y nitrógeno amoniacal (74.4%). Por otra parte, del consorcio algal, el cual contiene 6 diferentes tipos de microalgas, se observó que *Ankistrodesmus* se mantuvo en el medio de cultivo.

Por otro lado, en relación al género de *Monoroaphidium*, Holbrook et al. (2014) demostró en su investigación que esta microalga es capaz de sobrevivir en aguas residuales con concentraciones de nitrato y fosfato de 33 mg L⁻¹ y 6 mg L⁻¹, respectivamente, alcanzando a los 16 días una abundancia de 6 x10⁸ cél L⁻¹ y disminuciones de 0.8 mg L⁻¹ NO₃⁻ y 0.40 mg L⁻¹ PO₄⁻³.

Hay que mencionar, además, que Sipaúba Tavares et al. (2008) & Abdel Raouf et al. (2012) señalan que mantener las condiciones de cultivo en el laboratorio en relación con la intensidad lumínica, pH, temperatura y aireación es fundamental para el crecimiento y desarrollo exponencial de las microalgas. Dado lo anterior, un aumento de pH en el medio de cultivo da lugar a una reducción de la concentración de dióxido de carbono (CO₂), el que es utilizado por las microalgas en el proceso de fotosíntesis (Arnol, 2013; Renuka N et al., 2013; Gonçalves et al., 2017). Por lo tanto, en base a los resultados de pH y abundancia registrados en esta investigación, el control presentó el valor más alto de pH (9.0 ± 0.8) y la mayor abundancia con 251.178.931 cél L⁻¹, lo cual permite deducir que este parámetro no afectó en el crecimiento de los microorganismos y en la asimilación del fosfato removido (ver Anexo 23). Según Guerrero et al. (2018) el pH indica la fase de mayor crecimiento algal y de acuerdo a su publicación este se dio entre los rangos de 9.5 a 10.5. Otros autores, mencionan que *Ankistrodesmus* a pH entre 7-10 es resistente en el cultivo, por lo tanto, no inhibe su crecimiento (Patil, 1991; Cerón Hernández et al., 2015). Por otra parte, Arango (2015) menciona que valores de pH reportados en su estudio estuvieron entre los 8-8.5, atribuyendo la degradación de fosfato a la asimilación al interior de la biomasa de las microalgas y no a efectos de

precipitación. En cambio, Renuka N et al. (2013) indica que a pH mayores a 9 el fosfato comienza a precipitar a sales insolubles.

En cuanto a los rangos de oxígeno disuelto apreciados en el Anexo 5, se deduce que la condición de oxígeno disuelto en los niveles y control es buena, permitiendo que los cultivos son apropiados para sostener la vida de los microorganismos. Por otro lado, la conductividad medida entre los 539-692 $\mu\text{s cm}^{-1}$ fue similar a la obtenida del efluente de la planta de tratamiento de aguas servidas de Contulmo que fue de 611 $\mu\text{s cm}^{-1}$, indicando que el cultivo posee una gran cantidad de sales (ver Anexo 23).

7.3. Comparar con información bibliográfica los porcentajes de remoción de nitrógeno y fósforo respecto de otros sistemas biológicos de tratamiento

A continuación, se comparan los porcentajes de remoción de nutrientes del consorcio de microalgas con literatura basada en sistemas biológicos de consorcio de microalgas, convencionales y no convencionales

De la Tabla 6 se observa que los consorcios microalgales citados de artículos científicos presentan porcentajes de remoción que fluctúan entre un 52 - 100% de nitrógeno y 43 - 100% de fósforo. Si bien la remoción es más alta que la registrada en la presente investigación, lo anterior se pudo deber a las altas concentraciones de nitrato y fosfato ($> 100 \text{ mg L}^{-1}$) presente en el medio de cultivo dado que las microalgas remueven mas nutrientes a medidas que las concentraciones de nutrientes disminuyen.

De acuerdo con distintos consorcios de microalgas existe una mayor remoción cuando la concentración es menor. Además, existen estudios que evalúan el nitrógeno en forma de amonio o nitrógeno total, en donde se observa, por ejemplo, que el consorcio compuesto de *Chlamydomonas reinhardtii*, *Scenedesmus rubescens* y *Chlorella vulgaris* remueve más amonio y fosfato cuando la concentración es menor.

Por el contrario, la baja remoción de nitrógeno del consorcio seleccionado en comparación con los otros consorcios microalgales se pudo deber a que las microalgas no asimilaron de manera efectiva las concentraciones de nitrato.

Por otro lado, de la tabla comparativa de los porcentajes de remoción del consorcio de microalgas y tecnologías no convencionales, se observa que el consorcio autóctono posee eficiencias de remoción de fósforo más alta que la escorrentía superficial, lagunas de estabilización, infiltración rápida, lecho de turba y humedales construidos. Sin embargo, para la remoción de nitrógeno *Ankistrodesmus*, *Monoroaphidium*, *Scenedesmus* y *Chroococcus* no supera la eficiencia de estas tecnologías (ver Tabla 7).

En el caso, de la Tabla 8 se observa que el porcentaje de remoción de fósforo del consorcio de microalgas autóctono es más eficiente que las tecnologías convencionales encontradas en la literatura, a excepción del reactor de flujo discontinuo (SBR). Sin embargo, el nitrógeno removido de estas mismas tecnologías supera el porcentaje de retención del consorcio presentado en este estudio.

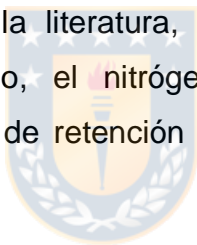


Tabla 6. Resumen de los resultados obtenidos en este estudio y comparados con otros trabajos previamente reportados.

Género	Sistema de Tratamiento/Medio cultivo	Procedencia Agua residual	Parámetro Operacional/ Eficiencia de remoción					Fuente
			Duración (d)	Nitrógeno		Fósforo		
				C _i (mg L ⁻¹)	% R	C _i (mg L ⁻¹)	% R	
Consortio microalgas: <i>Ankistrodesmus</i> , <i>Monorophidium</i> , <i>Scenedesmus</i> y <i>Chroococcus</i>	Sistema suspendido, medio bristol, modo batch, V= 500 mL	-	15	NO ₃ ⁻ : 114-219	4-11	P0 ₄ ⁻³ : 157-187	35-61	Este estudio
<i>Chlorella</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp., <i>Chlorococcum</i> sp. y <i>Chroococcus</i> sp	Sistema suspendido cerrado, modo batch, V = 0.8 L	Agua Residual Tratada Primariamente	14	NH ₄ ⁺ : 21.06 NO ₃ ⁻ : 83.7	100 81.47	P0 ₄ ⁻³ : 3.15	94.85	Renuka N. <i>et al.</i> , 2013
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , <i>Scenedesmus rubescens</i> y <i>Chlorella vulgaris</i>	Sistema suspendido cerrado, modo batch, V= 5 L	Agua Residual Municipal con Tratamiento Primario	NH ₄ ⁺ : 9 P0 ₄ ⁻³ : 7	NH ₄ ⁺ : 48.9	99	P0 ₄ ⁻³ : 4	100	Su <i>et al.</i> , 2012
			14	NH ₄ ⁺ : 92.6	52.8	P0 ₄ ⁻³ : 11.5	43.6	
<i>Chlorella</i> sp. y <i>Scenedesmus</i> sp.	Sistema suspendido cerrado a distintas [C], modo batch, V = 0.23 L.	Agua Residual Municipal con Tratamiento Primario	21	N: 14.1-56.5	88.6-96.4	P0 ₄ ⁻³ : 1.5-6.1	99.7-99.9	Koreiviené <i>et al.</i> , 2014

<i>Chlorella sp., Scenedesmus sp. y Chlorella zofingiensis</i>	Sistema suspendido cerrado, modo batch, V= 0.4 L	Agua Residual Láctea	7	N _T : 176	87-91	P _T : 39.6	91.2- 96	Qin <i>et al.</i> ,2016
<i>Chlorella Vulgaris</i>	Sistema suspendido cerrado, modo batch, V= 2 L	Agua Residual Municipal Tratada con Tratamiento Terciario	7	N _T : 8.7	100	P _T : 1.7	100	Ji <i>et al.</i> , 2013
<i>Scenedesmus Obliquus</i>	Sistema suspendido cerrado, modo batch, V= 2 L	Agua Residual Municipal Tratada con Tratamiento Terciario	7	N _T : 8.7	100	P _T : 1.7	100	Ji <i>et al.</i> , 2013
<i>Chlorella sp</i>	Sistema suspendido cerrado, modo batch V= 500 mL	Agua Residual Tratada con Tratamiento Secundario	9	N _T : 19.1	92	P _T : 1.2	86	Cho <i>et al.</i> , 2011

Tabla 7. Porcentajes de remoción en este estudio comparados con tecnologías no convencionales para el tratamiento de aguas servidas.

Tecnología de Tratamiento	Parámetro operacional / Eficiencia de remoción			Fuente
	TRH (d)	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	
Consorcio Microalgas: <i>Ankistrodesmus,</i> <i>Monoroaphidium,</i> <i>Scenedesmus y</i> <i>Chroococcus</i>	-	4-11	35-61	Este estudio
Filtro verde	-	90-95	85-90	Moreno Merino et al., 2003
Escorrentía Superficial	-	45-50	20-30	Moreno Merino et al., 2003
Laguna Estabilización (Facultativa)	15-45	< 60	< 35	Von Sperling, 2007b
Laguna Estabilización (Anaerobia)	3-6	< 60	< 35	Von Sperling, 2007b
Infiltración Rápida	-	30-95	25-40	Moreno Merino et al., 2003
Lecho de Turba	-	10-50	10-30	Moreno Merino et al., 2003
Humedales Construidos	1-15	25-65	5-60	Arias & Brix, 2003; Morales et al., 2013; Rojas et al., 2013

*TRH: Tiempo de Retención Hidráulico.

Tabla 8. Porcentajes de remoción en este estudio comparados con tecnologías convencionales para el tratamiento de aguas servidas.

Tecnología de Tratamiento	Parámetro operacional / Eficiencia de remoción			Fuente
	TRH (h)	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	
Consorcio Microalgas: <i>Ankistrodesmus,</i> <i>Monoroaphidium,</i> <i>Scenedesmus</i> y <i>Chroococcus</i>		4-11	35-61	Este estudio
Lodos activados - convencionales	4-8	25-30	25-30	Ramalho, 1996; Von Sperling, 2007c
Lodos activados - aireación extendida	15-36	15-25	10-20	Ramalho, 1996; Von Sperling, 2007c
Reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB)	4-12	15-25	10-20	Metcalf & Eddy, 1995; Von Sperling, 2007c
Reactor flujo discontinuo (SBR)	4-12	50-95	75-80	Vera Puerto, 2012
Laguna facultativa (aireación mecánica)	120- 240	< 30	< 35	Von Sperling, 2007b
Biodiscos	-	30-40	30-45	Torres <i>et al.</i> , 2006

*TRH: Tiempo de Retención Hidráulico.

8. CONCLUSIONES

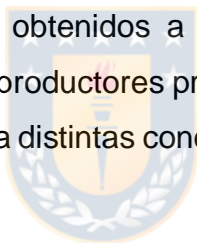
Al finalizar este estudio se concluyen sus resultados para dar respuesta a los objetivos propuestos para esta investigación, los cuales se detallan a continuación:

- El consorcio microalgal nativo seleccionado estuvo constituido por algas verdes (*Ankistrodesmus*, *Monorophidium*, *Scenedesmus*) y la cianobacteria *Chroococcus*.
- El agua servida procedente directamente del efluente de la PTAS generó cambios en la densidad celular y en la composición de la comunidad microalgal, dado que solo algunos géneros fueron capaces de adaptarse a las condiciones asignadas y desarrollarse hacia una mayor abundancia en el medio de cultivo.
- El consorcio de microalgas removió entre un 35 - 61% de fosfato y 4 - 11% de nitrato. En consecuencia, el consorcio desarrollado en este estudio es capaz de remover altas concentraciones de fosfato, por cual se podrían desarrollar experimentos adicionales con concentraciones cercanas a las registradas en los sistemas de efluentes de PTAS.
- En comparación con datos de literatura de otros sistemas biológicos microalgales el consorcio seleccionado no es eficiente en la remoción de nitrato y fosfato. Sin embargo, en la comparación con otras tecnologías (convencionales y no convencionales) es eficiente en la remoción de fosfato.
- De acuerdo con los resultados, se aprueba parcialmente la hipótesis del trabajo propuesto.

9. RECOMENDACIONES

Al dar término a la investigación desarrollada se recomienda lo siguiente en cuanto a la aplicación de los resultados:

- Evaluar metodología para aumentar la frecuencia del monitorio con el propósito de poder comprender mejor el comportamiento de las microalgas sobre la reducción de las concentraciones de nitrógeno y fósforo, requiriendo utilizar sondas de medición de clorofila- a y de nutrientes.
- Evaluar el porcentaje de remoción de nutrientes del consorcio de microalgas probando distintas concentraciones de nitrógeno y fósforo, aplicando el mismo medio de cultivo utilizado en esta investigación.
- Buscar nuevos consorcios obtenidos a partir de lagos eutróficos que se encuentren dominados por productores primarios con el propósito de evaluar la eficiencia en la remoción a distintas concentraciones de nitrógeno e iguales concentraciones de fósforo.



10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel Raouf, N., Al Homaidan, A., & Ibraheem, I. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(3), 257-275.
- Almanza Marroquín, V. (2016b). Floraciones de fitoplancton en ambientes eutróficos: Dinámica y factores condicionantes en los lagos someros de Concepción, Chile Central. Universidad de Concepción, *Sistemas acuáticos Continentales*, Concepción.
- Almanza, V., Parra, O., Bicudo, C., González, M. A., López, M., & Urrutia, R. (2016a). Phytoplankton blooms and changes in the phytoplankton community structure in three eutrophic shallow lakes of Central Chile. *Gayana. Botánica*, 73(2), 191-205.
- Almanza, V., Pedreros, P., Laughinghouse IV, H. D., Félez, J., Parra, O., Azócar, M., & Urrutia, R. (2019). Association between trophic state, watershed use, and blooms of cyanobacteria in south-central Chile. *Limnologica*, 75, 30-41.
- American Public Health Association (APHA). (2012). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 22th. American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation. Washigton DC, USA.
- Arango Muñoz, L. (2015). Remoción de materia orgánica y nutrientes de aguas residuales, purines de cerdo y digestato anaerobio utilizando un consorcio de microalgas-Bacterias. Tesis, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Arar, E. J., & Collins, G. B. (1997). Method 445.0 In Vitro Determination of Chlorophyll a and Pheophytin ain Marine and Freshwater Algae by Fluorescence. United States Environmental Protection Agency EPA: U.S, 22. Washigton D.C.

- Arias, C., & Brix, H. (2003). Humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*(13), 17-24.
- Arnol, M. (2013). Sustainable algal biomass products by cultivation in waste water flows. *VTT Technology* 147.
- Baraño, P. A., & Tapia, L. A. (2004). Tratamiento de las Aguas Servidas: Situación en Chile. 111-117.
- Bellinger, E., & Sigeo, D. (2015). *Freshwater Algae: Identification, Enumeration and Use as Bioindicators*, 2nd Edition. Wiley-Blackwell.
- Beltran Rocha, J. C., Guajardo Barbosa, C., Barceló Quintal, I. D., & López Chuken, U. J. (2017). Biotreatment of secondary municipal effluents using microalgae: Effect of pH, nutrients (C, N and P) and CO₂. *Biología Marina y Oceanografía*, 52(3), 417- 427.
- Brennan , L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy*, 14(2), 557-577.
- Burgos Salgado, V. (2015). Evaluación de Humedales Construidos Plantados con Especies Ornamentales en la Eliminación de Materia Orgánica, Nutrientes y Contaminantes Patógenos de Aguas Servidas de Origen Rural. Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Ambientales, Concepción.
- Carey, R. O., & Migliaccio, K. W. (2009). Contribution of Wastewater Treatment Plant Effluents to Nutrient Dynamics in Aquatic Systems: A Review. *Environmental Management*, 44 (2), 205-217.
- Carpenter, S. R., Caraco, N. F., Corell, D. L., Howarth, R. W., Sharpley, A. N., & Smith, V. H. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological applications*, 8(3), 559-568.

- Carr, J. (1966). Fresh Water Phytoplankton and Phytonekton From Lake Rotoiti (Vol. 12).
- Centro de Investigación y Desarrollo en Recursos Hídricos (CIDERH). (2015). Aguas Residuales y Tratamiento. Obtenido de <http://www.ciderh.cl/wp-content/uploads/2015/04/FICHA3.pdf>
- Cerón Hernández, V. A., Madera Parra, C. A., & Peña Varón, M. (2015). Uso de lagunas algales de alta tasa para tratamiento de aguas residuales. *Ingeniería y Desarrollo*, 33(1), 98-125.
- Chacón de Alba, K. M. (2011). Efecto del Fitoplancton sobre Diferentes Concentraciones de Manganeso (Mn) en la Planta de Tratamiento Tibitoc S.A. Pontificia Universidad Javeriana, Biología.
- Cho, S., Luong, T. T., Lee, D., Oh, Y. K., & Lee, T. (2011). Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. *Bioresource Technology*, 102(18), 8639-8645.
- Cirés, S., & Ballot, A. (2016). A review of the phylogeny, ecology and toxin production of bloom-forming *Aphanizomenon* spp. and related species within the Nostocales (cyanobacteria). *Harmful Algae*, 54, 21-43.
- Claros Bedoya, J. A. (2012). Estudio del Proceso de Nitrificación y Desnitrificación Vía Nitrito para el Tratamiento Biológico de Corrientes de Agua Residual con Alta Carga de Nitrógeno Amoniacal. Valencia.
- Confederación Hidrográfica del Ebro. (2005). Metodología para el establecimiento el Estado Ecológico según Directiva Marco del Agua: Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton.
- Doria, E., Longoni, P., Scibilia, L., Iazzi, N., Cella, R., & Nielsen, E. (2012). Isolation and characterization of a *Scenedesmus acutus* strain to be used for bioremediation of urban wastewater. *Journal of Applied Phycology*, 24(3), 375–383.

- Ecología Verde. (2019). ¿Qué es la eutrofización? Obtenido de <https://www.ecologiaverde.com/que-es-la-eutrofizacion-34.html>
- Errázuriz Domínguez, P. P. (2009). Declaración de Impacto Ambiental: Mejoramiento Planta de Tratamiento de Aguas Servidas de Contulmo.
- Espigares García, M., & Pérez López, J. (1985). Aspectos Sanitarios del Estudio de las Aguas. Universidad de Granada. Granada: Servicio de Publicaciones.
- ESSBIO. (03 de Noviembre de 2004). Millonaria multa a empresa Essbio. (emol.com, Ed.) Mercurio. Obtenido de <https://www.emol.com/noticias/nacional/2004/11/03/162952/millonaria-multa-a-empresa-essbio.html>
- Faife Pérez, E., Otero Rambla, M. A., & Alvarez Delgado, A. (2012). Producción de biodiesel a partir de microorganismos oleaginosos: Una fuente de energía renovable (Parte II: Microalgas). Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portuga, 46(3), 26-35.
- Fanés Treviño, I. (2008). Estudios Taxónomicos en algas verdes cocales del sur de España. Universidad de Granada, Botánica.
- FAO. (1996). Algal Production. En P. Lavens, & P. Sorgeloos (Edits.), Manual on the production and use of live food for aquaculture (págs. 10-30). Rome.
- Figuroa, G., & De Lara Isassi, G. (1998). Population growth of three microalgae in different culture media. Sociedad Mexicana de Historia Natural, 48, 1-6.
- García Serrano, P., Salgado, J. C., & Lillo Zenteno, A. (2016). Evaluación de parámetros Físico-Químicos de Fuentes Superficiales y Subterráneas de la Isla de Pascua. Santiago.
- George, B., Pancha, I., Desai, C., Chokshi, K., Paliwal, C., Ghosh, T., & Mishra, S. (Noviembre de 2014). Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae

- Ankistrodesmus falcatus – A potential strain for bio-fuel production. *Bioresource Technology*, 171, 367-374.
- Gonçalves, A. L., Pires, J. C., & Simões, M. (2017). A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*, 24, 403-415.
- González G, L. M. (2010). Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo en las interacciones competitivas entre *Chlorella Vulgaris* y *Scenedesmus Acutus*. Universidad Nacional de Colombia, Biología.
- Guerrero, G., Miño, K., Medina, C., Caluña, E., Guevara, L., Yaulema, F., . . . Gavilanes, A. (2018). Evaluación de la remoción de nutrientes y de la biomasa alcanzada mediante un cultivo de un consorcio de microalgas en aguas residuales.
- Hernández Pérez, A., & Labbé, J. (2014). Microalgae, culture and benefits. *Biología marina y oceanografía*, 49(2).
- Hernández, D., Riaño, B., Coca, M., Solana, M., Bertucco, A., & García-González, M. (2016). Microalgae cultivation in high rate algal ponds using slaughterhouse wastewater for biofuel applications. *Chemical Engineering Journal*, 285, 449-458.
- Holbrook, G. P., Davidson, Z., Tatara, R. A., Ziemer, N. L., Rosentrater, K. A., & Grayburn, W. S. (2014). Use of the microalga *Monoraphidium* sp. grown in wastewater as a feedstock for biodiesel: Cultivation and fuel characteristics. *Applied Energy*, 131, 386-393.
- Hussein, N. R., & Gharib, S. M. (2012). Studies on spatio-temporal dynamics of phytoplankton. *Journal of Environmental Biology*, 33(1), 101-105.
- iagua. (2017). Factores a evaluar para la elección y selección de operaciones y procesos en el diseño de una PTAR. Obtenido de <https://www.iagua.es/blogs/bettys-farias-marquez/factores-evaluar-eleccion-y-seleccion-operaciones-y-procesos-diseno-plan>

- Ji, M. K., Abou-Shanab, R., Kim, S. H., Salama, E. S., Lee, S. H., Kabra, A. N., . . . Jeon, B. H. (2013). Cultivation of microalgae species in tertiary municipal wastewater supplemented with CO₂ for nutrient removal and biomass production. *Ecological Engineering*, 58, 142-148.
- Jiménez Larraín, M. P. (12 de Diciembre de 2018). El Luchecillo en el Lago Lanahue: Una (IR) Responsabilidad Compartida. Obtenido de PRELA-Reportaje: <http://www.magisterenperiodismo.com/reportajes2018/lago-lanahue/>
- Koreivienė, J., Valčiukas, R., Karosienė, J., & Baltrėnas, P. (2014). Testing of *Chlorella/Scenedesmus* microalgae consortia for remediation of wastewater, CO₂ mitigation and algae biomass feasibility for lipid production. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management*, 22(2), 105-114.
- Krustok, I., Odlare, M., Shabiimam, M., Truu, J., Ligi, T., & Nehrenheim, E. (2015). Characterization of algal and microbial community growth in a wastewater treating batch photo-bioreactor inoculated with lake water. *Algal Research*, 11, 421-427.
- Kumar, K., Dasgupta, C., Nayak, B., Lindblad, P., & Das, D. (2011). Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresour Technol*, 102(8), 4945-4953.
- Kwadzah, K. T., & Iorhemen, O. T. (2015). Assessment of the Impact of Abattoir Effluent on the Water Quality of River Kaduna, Nigeria. *World Journal of Environmental Engineering*, 3 (3), 87-94.
- Kwong Ch, E., Salas R, N., Gutiérrez, E., & López, F. (s.f). Distribución del Oxígeno Disuelto, pH y Temperatura, de la Laguna Facultativa de la Planta Maracaibo Sur.
- Liu, J., Wu, Y., Wu, C., Muylaert, K., Vyverman, W., Yu, H.-Q., . . . Rittmann, B. (2017). "Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of

attached microalgae and bacteria: A review". *Bioresource Technology*, 241, 1127-1137.

Maldonado Fica, J. A. (2007). Informe Lago Lanalhue. Arauco. Obtenido de http://lanalhuesustentable.cl/upload/documentos/Informe_Final_Comision_Lanalhue_Sep07.pdf

Manaaki Whenua Landcare Research. (2019a). Obtenido de <https://www.landcareresearch.co.nz/resources/identification/algae/identification-guide/interpretation/indicator-taxa/poor-streams/ankistrodesmus>

Manaaki Whenua Landcare Research. (2019b). Obtenido de <https://www.landcareresearch.co.nz/resources/identification/algae/identification-guide/interpretation/indicator-taxa/nutrient-enriched-ponds-and-lakes/scenedesmus>

Manaaki Whenua Landcare Research. (2019c). Obtenido de <https://www.landcareresearch.co.nz/resources/identification/algae/identification-guide/interpretation/indicator-taxa/good-quality-ponds-and-lakes/chroococcus>

Márquez Vázquez, M. (2010). Tecnologías no convencionales para el tratamiento de las aguas residuales en la Facultad de Estudios Superiores Aragón. *Matices*, 5(13), 13-26.

Martínez García, L. (2008). Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas. Universidad de León, Instituto de Recursos Naturales, León.

Mata, T. M., Melo, A. C., Simões, M., & Caetano, N. S. (2012). Parametric study of a brewery effluent treatment by microalgae *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*, 107, 151-158.

Metcalf, & Eddy. (1995). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse* (3th ed.). New York, USA: McGraw Hill.

- Ministerio del Medio Ambiente, PRELA, Gobierno Regional, Universidad de Concepción, Centro EULA- Chile. (2019). Diversidad en la Cuenca del Lago Lanalhue. Comprendiendo la Relación entre su Patrimonio Natural y Cultural. (Vol. 12). Chile.
- Ministerio Secretaría General de la Presidencia. (2000). Decreto Supremo N° 90. Establece Norma de Emisión para la Regulación de Contaminantes Asociados a la Descarga de Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficiales. Santiago, Chile.
- Morales, G., López, D., Vera, I., & Vidal, G. (2013). Humedales construidos con plantas ornamentales para el tratamiento de materia orgánica y nutrientes contenidos en aguas servidas. 22(1), 33-46.
- Moreno Grau, M. D., & Luque Moreno, J. (1991). Depuración por lagunaje de aguas residuales. Manual de Operadores.
- Moreno Merino, L., Fernández Jurado, M. A., Rubio Campos, J. C., Calaforra Chordi, J. M., López Geta, J. A., Beas Torroba, J., . . . Gómez López, J. A. (2003). La depuración de aguas residuales urbanas de pequeñas poblaciones mediante infiltración directa en el terreno fundamentos y casos prácticos. (L. M. Merino, Ed.)
- NCh, Norma Chilena Oficial N° 1.333. of87. (1978). Requisitos de Calidad del Agua para Diferentes usos. Inscripción N° 49.092 por Instituto Nacional de Normalización, INN, 20. Santiago, Chile.
- NCh, Norma Chilena Oficial N° 2.083. (1999). Bioensayos de toxicidad aguda mediante la determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* o *Daphnia pulex* (Crustacea, Cladocera). Instituto Nacional de Normalización, 1ª ed. Santiago, Chile.

- Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos & Comisión Económica para América Latina y el Caribe (OCDE/CEPAL). (2016). Evaluaciones del desempeño ambiental: Chile 2016. Santiago.
- Organización de las Naciones Unidas. (2015). Objetivos de Desarrollo Sostenible. Obtenido de <http://www.onu.cl/es/sample-page/odm-en-chile/>
- Organización Meteorológica Mundial, Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (OMM & UNESCO). (1997). ¿Hay suficiente agua en el mundo?
- Orrego, J. P. (2002). El estado de las aguas terrestres en Chile: Cursos y aguas subterráneas. Santiago, Chile.
- Osorio, M. (2013). Estudio y Análisis Técnico-Económico de Planta de Tratamientos de Aguas Residuales. Concepción, Chile.
- Oswald, W. J., Gotaas, H. B., Golueke, C. G., Kellen, W. R., Gloyna, E. F., & Herman, E. R. (1957). Algae in waste treatment [with discussion]. En *Sewage and industrial wastes* (Vol. 29, págs. 437-457).
- Oyarzo Vargas, M. J. (2007). Precipitación química del fósforo mediante la adición de sulfato de aluminio en plantas de tratamiento de aguas. Tesis, Universidad de Magallanes, Ingeniería Química.
- Palmer, C. M. (1969). A Composite Rating Of Algae Tolerating Organic Pollution. *Journal of Phycology*, 5(1), 78-82.
- Park, J., Craggs, R., & Shilton, A. (2011). "Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production". *Bioresource Technology*, 102, 35-42.
- Parra, O. O., & Bicudo, C. E. (1995). Introducción a la Biología y Sistemática de las Algas de Aguas Continentales. Santiago, Chile.
- Parra, O., Valdovinos, C., Urrutia, R., Cisternas, M., Habit, E., & Mardones, M. (2003). Caracterización y tendencias tróficas de cinco lagos costeros de Chile

Central. Universidad de Concepción, Unidad de Sistemas Acuáticos, Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile.

Patil, H. S. (1991). The role of *Ankistrodesmus falcatus* and *Scenedesmus quadricauda* in sewage purification. *Bioresource Technology*, 37(2), 121-126.

Peña, E., & Chang, J. (2007). Calidad de Agua. Trabajo de investigación Oxígeno Disuelto (OD). Guayaquil.

Plan Regulador Comunal de Contulmo. (2017). Informe Ambiental Complementario. Evaluación Ambiental Estratégica.

Programa de Medio Ambiente Fundación Chile. (2010). Consultoría de Apoyo a los Procesos de Normas Ambientales en Sistemas Hídricos: Estimación de Costos de abatimiento de Contaminantes en Residuos Líquidos.

Qin, L., Wang, Z., Sun, Y., Shu, Q., Feng, P., Zhu, L., . . . Yuan, Z. (2016). Microalgae consortia cultivation in dairy wastewater to improve the potential of nutrient removal and biodiesel feedstock production. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(9), 8379-8387.

Ramalho, R. (1996). Tratamiento de Aguas Residuales. Barcelona, España: Reverté.

Ramírez, C., & San Martín, C. (2008). Ecosistemas Dulceacuícolas. En CONAMA, Biodiversidad de Chile Patrimonio y Desafíos (págs. 106-116).

Red de Monitoreo Ambiental Participativo de Sistemas Acuáticos, RED MAPSA. (2007). Guía para la utilización de las Valijas Viajeras – Oxígeno Disuelto. Obtenido de http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/propuestas/red/curso_2007/cartillas/tematicas/OD.pdf

Renuka, N., Sood, A., Prasanna, R., & Ahluwalia, A. (2015). Phycoremediation of wastewaters: a synergistic approach using microalgae for bioremediation and

- biomass generation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(4), 1443-1460.
- Renuka, N., Sood, A., Ratha, S. K., Prasanna, R., & Ahluwalia, A. S. (2013). Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production. *Journal of Applied Phycology*, 25(5), 1529-1537.
- Rigola Lapeña, M. (1999). *Tratamiento de aguas industriales: Aguas de proceso y residuales*.
- Rivera R, C., Zapata, Á., Pinilla, G., Donato, J., Chaparro, B., & Jiménez, P. (2005). Comparison of Spectrophotometric and Fluorometric Measurements of Chlorophyll-a. *Acta Biológica Colombiana*, 10(2), 95-103.
- Ruiz Martínez, A. (2011). Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Tesis, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Saavedra Mondaca, M. F. (2015). Evaluación de los efectos de efluentes de plantas tratamiento de aguas servidas sobre *Oncorhynchus mykiss* mediante el uso de experimentos de laboratorio y terreno en la cuenca del río Biobío. Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Ambientales, Sistemas Acuáticos Continentales, Concepción.
- Shanthala, M., Hosmani, S. P., & Hosetti, B. B. (2009). Diversity of phytoplankton in a waste stabilization pond at Shimoga Town, Karnataka State, India. (E. M. Assess, Ed.) 151(1-4), 437-443.
- Shrivastav, A., Mishra, S. K., Suh, W. I., Farooq, W., Moon, M., Kim, T. H., . . . Yang, J. W. (2015). Characterization of newly isolated oleaginous microalga *Monoraphidium* sp. for lipid production under different conditions. *Algal Research*, 12, 289-294.

- Sipaúba Tavares, L. H., & Pereira, A. M. (2008). Large scale laboratory cultures of *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chlorophyta) and *Diaphanosoma biergei* Korinek, 1981 (Cladocera). *Brazilian Journal of Biology*, 68(4), 1678-4375.
- Sistema de Información de Biodiversidad. (2019a). Obtenido de https://sib.gob.ar/ficha/PLANTAE*ankistrodesmus*sp.
- Sistema de Información de Biodiversidad. (2019b). Obtenido de https://sib.gob.ar/ficha/PLANTAE*Monoraphidium*sp.
- Smith, V. H., & Schindler, D. W. (2009). Eutrophication science: where do we go from here? *Trends in Ecology & Evolution*, 24(4), 201-207.
- Sonune, A., & Ghate, R. (2004). Developments in wastewater treatment methods. *Desalination*, 167(15), 55-63.
- Souza, F. A., Dzedzic, M., Cubas, S. A., & Maranhão, L. T. (2003). Restoration of polluted waters by phytoremediation using *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc., Haloragaceae. *Journal of Environmental Management*, 120, 5-9.
- Su, Y., Mennerich, A., & Urban, B. (2012). Coupled nutrient removal and biomass production with mixed algal culture: Impact of biotic and abiotic factors. *Bioresource Technology*, 118, 469-476.
- Superintendencia de Servicios Sanitarios (SIIS), Gobierno de Chile. (2017). Aguas Residuales. Obtenido de <http://www.siss.gob.cl/577/w3-article-3709.html>
- Superintendencia de Servicios Sanitarios (SIIS), Gobierno de Chile. (2019a). Sistemas de Tratamiento de Aguas Servidas. Obtenido de <http://www.siss.gob.cl/577/w3-article-4373.html>
- Superintendencia de Servicios Sanitarios (SIIS), Gobierno de Chile. (2019b). Sistemas de Tratamiento de Aguas Servidas. Obtenido de Plantas de

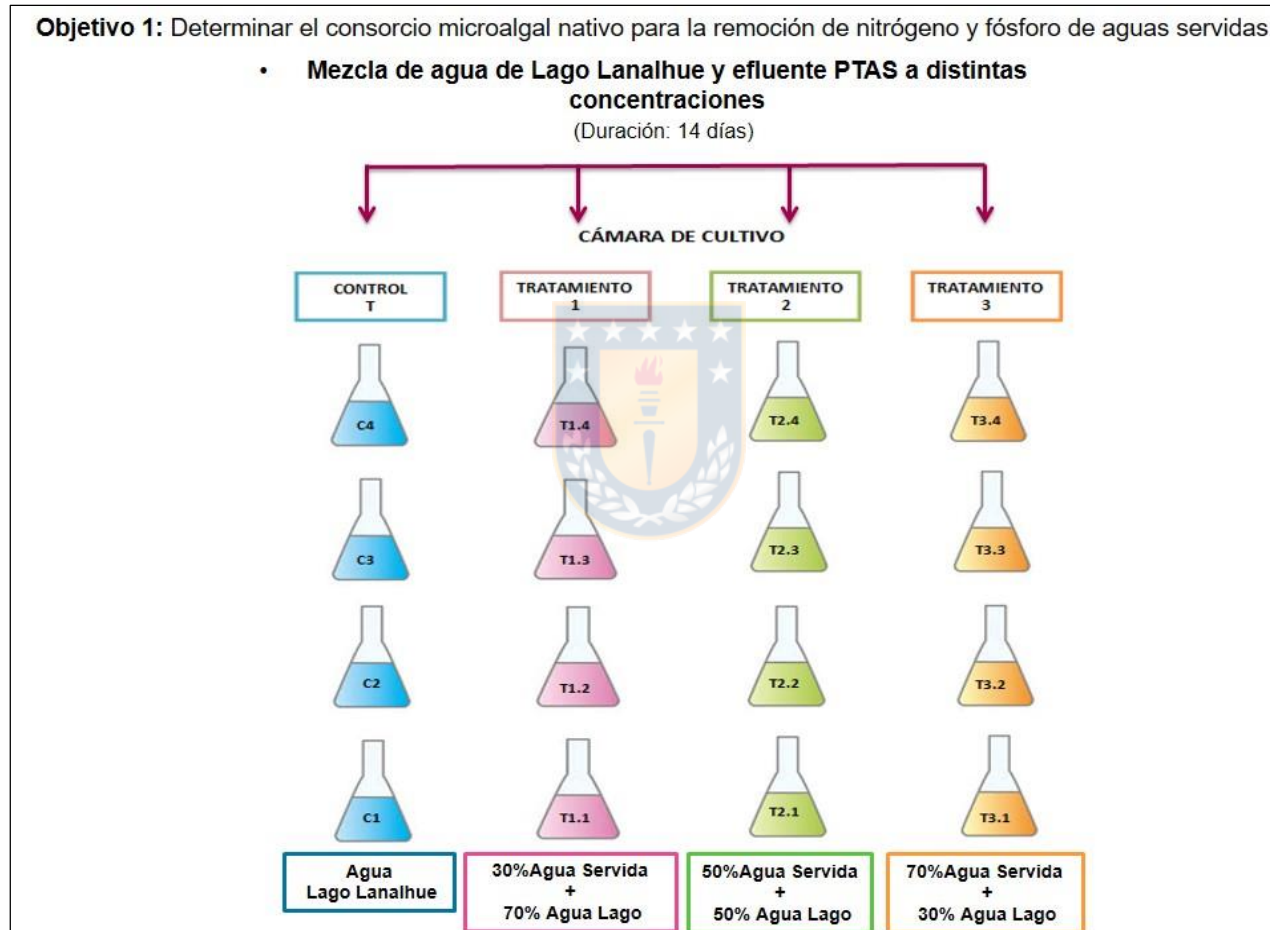
tratamiento de aguas servidas - VIII Región: <http://www.siss.gob.cl/577/w3-article-5139.html>

- Torres, P., Céron, J., Pomar, R., & Madera, C. (2006). Evaluación de alternativas biológicas para el tratamiento secundario del efluente de la PTAR-C. Proyecto de investigación Empresas Públicas de Cali (Emcali) y Universidad del Valle, Cali.
- Travieso, L., Benítez, F., Sánchez, E., Borja, R., León, M., Raposo, F., & Rincón, B. (2008). Assessment of a microalgae pond for post-treatment of the effluent from an anaerobic fixed bed reactor treating distillery wastewater. *Environmental Technology*, 29(9), 985-992.
- U.S.E.P.A (United States Environmental Protection Agency). (2004). *Primer for Municipal Wastewater Treatment Systems* (EPA 832-R-04-001 ed.). Washington D.C.
- UNE-EN-15204. (2007). Guía para el recuento de fitoplancton por microscopía invertida (técnica de Utermöl y cámara Sedgewich-Rafter).
- Urrutia, R. (2014). Eutrofización y floraciones algales. 61.
- Vera Puerto, I. L. (2012). Análisis de funcionamiento y patrones asociativos a sistemas de tratamiento convencionales y naturales de aguas servidas para la eliminación de materia orgánica y nutrientes. Universidad de Concepción, *Sistemas Acuáticos Continentales*, Concepción.
- Vieira Barros, L., Mariani Barros, F., Bonomo, P., Adenilson Rocha, F., & da Silva Amorin, J. (2013). Eutrofização em rios brasileiros. *Enciclopedia Biósfera*, 9(16), 2179.
- Vivanco T, X., & Seguel L, M. (2009). Manual Técnico: Curso Teórico-Práctico para el muestreo, identificación y enumeración de *Alexandrium Catenella* y otros taxa nocivos. Puerto Montt.

- Von Sperling, M. (2007a). Biological Wastewater Treatment. Volume 1: Wastewater characteristics, treatment and disposal. London, England: IWA Publishing.
- Von Sperling, M. (2007b). Biological Wastewater Treatment. Volume 3: Waste Stabilisation Ponds. London, England: IWA Publishing.
- Von Sperling, M. (2007c). Biological Wastewater Treatment. Volume 5: Activated Sludge and Aerobic Biofilm Reactors. London, England: IWA Publishing.
- Wehr, J., & Sheath, R. (2003). Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification. Amsterdam ; Boston : Academic Press,.
- Woelfl, S., Oyarzún, C., Duarte, C., Caputo, L., Rodriguez, J., Solminihac Tampier, H., . . . Cornejo, D. S. (2011). Antecedentes para evaluar el impacto económico y social de una norma secundaria de calidad de aguas en el Lago Ranco, Cuenca del Río Bueno. Universidad Austral, Santiago, Chile.
- Zevallos Fera, S. A. (2017). Producción de biomasa algal a partir de microalgas locales para la extracción de metabolitos secundarios. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Facultad de ciencias naturales y formales, Arequipa.

11. ANEXOS

Anexo 1. Diseño experimental para llevar a cabo objetivo n°1 y 2.

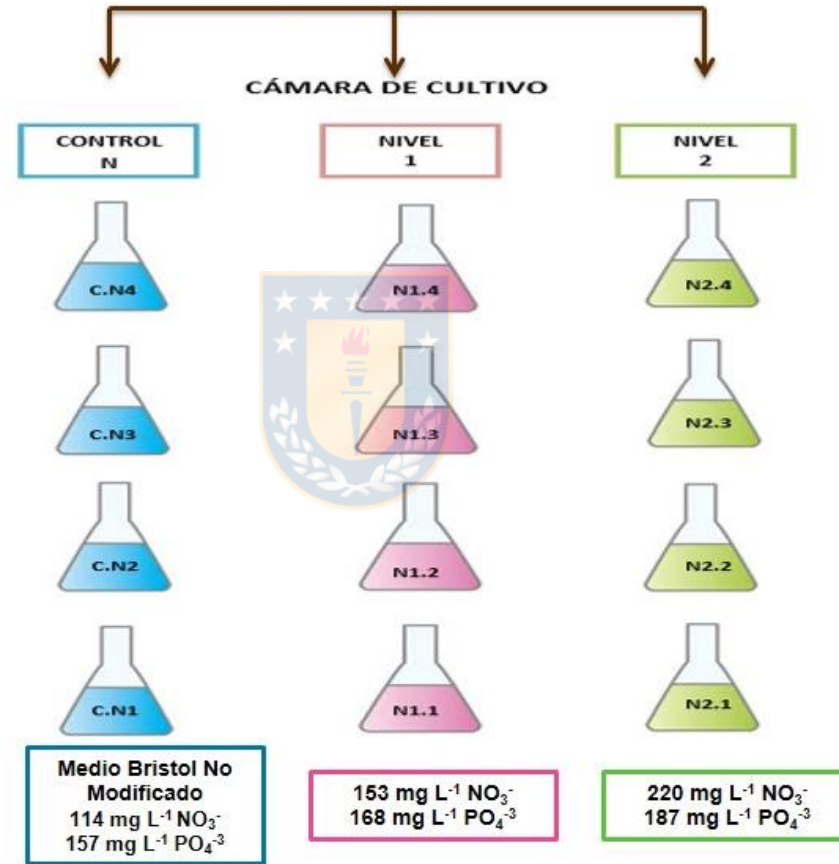


Fuente: Elaboración Propia.

Objetivo 2: Determinar el porcentaje de remoción de nutrientes del consorcio microalgal

- **Cultivar el consorcio de microalgas seleccionado**

(Duración: 15 días)



Fuente: Elaboración Propia.

Anexo 2. Listado de reactivos para preparación de medio Bristol.

Sales	Solución Madre	Volumen	Observaciones
NaNO ₃	25 g/L	10 ml	Agregar a 1 L de agua para análisis.
CaCl ₂ x 2H ₂ O	2,5 g/L	10 ml	
MgSO ₄ x 7H ₂ O	7,5 g/L	10 ml	
K ₂ HPO ₄	7,5 g/L	10 ml	
NaCl	2,5 g/L	10 ml	
KH ₂ PO ₄	17,5 g/L	10 ml	
KOH 85%	3,1 g/100 ml	1 ml	Solución Combinada KOH/EDTA
EDTA	5 g/100 ml		
H ₂ SO ₄	0,05 ml	1 ml	Solución Combinada FeSO ₄ x 7H ₂ O/ H ₂ SO ₄
FeSO ₄ x 7H ₂ O	0,249 g/50 ml		
H ₂ BO ₃	1,142 g/100 ml	1 ml	
Elementos Traza			
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	0,882 g/100 ml	1 ml	Disolver en 100 ml de agua para análisis
MnCl ₂ x 4H ₂ O	0,144 g/100 ml	1 ml	
MoO ₃	0,071 g/100 ml	1 ml	
CuSO ₄ x 5H ₂ O	0,157 g/100 ml	1 ml	
Co(NO ₃) ₂ x 6H ₂ O	0,049 g/100 ml	1 ml	

Fuente: NCh 2.083 Of 1999.

Anexo 3. Resultados de la caracterización de parámetros fisicoquímicos y biológicos de la calidad del agua del lago Lanalhue, muestreando los esteros tributarios (El Peral, Buchoco, Calebu y Elicura) y las estaciones distribuidas dentro del mismo (E-1, E-2, E-3).

Parámetros en agua superficial	Resultados						
	Estero El Peral	Estero Calebu	Estero Buchoco	Estero Elicura	E-1 S	E-2 S	E-3 S
Profundidad (m)	-	2,2	-	-	24,7	18,1	5
Transparencia (m)	-	-	-	-	5	4,60	2,20
pH	7,6	7,92	8,56	6,6	8,75	8,77	7,58
Temperatura (°C)	17,3	15	16,2	20,6	21,5	22	23,4
Oxígeno disuelto (mgO ₂ L ⁻¹)	9,35	9,72	9,99	8,83	7,79	8,27	8,65
Conductividad (uS cm ⁻¹)	71,4	51,3	86,9	45,2	66,4	59,2	80,7
Clorofila- a (mg m ⁻³)	-	-	-	-	2,33	1,69	3,45
Fósforo Total (mg L ⁻¹)	0,05	0,03	0,02	0,04	0,02	0,02	0,03
Fosfato (mg L ⁻¹)	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04
Nitrógeno Total (mg L ⁻¹)	0,51	0,11	0,03	0,23	0,16	0,14	0,25
Amonio (mg L ⁻¹)	0,17	<0,02	<0,02	< 0,02	<0,02	0,05	<0,02
Nitrito (mg L ⁻¹)	<0,015	<0,015	<0,015	<0,015	<0,015	<0,015	<0,015
Nitrato (mg L ⁻¹)	1,200	0,057	<0,005	0,273	<0,005	<0,005	<0,005

*E-1: Sector Frontal, Comuna de Cañete. *E-2: Sector Central. *E-3: Sector Interior, Comuna de Contulmo.

Fuente: Elaboración propia, estudio realizado en verano de 2018 para la institución Arauco S.A.

Anexo 4. Parámetros físico-químicos según NCh N° 1.333 (1978) & Ministerio Secretaría General de la Presidencia (2000).

Parámetros	Unidad	DS N°90 (L.M.P)	NCh N° 1.333
Fósforo	mg L ⁻¹	2	-
Nitrógeno Total	mg L ⁻¹	10	-
pH		6 – 8,5	6 - 9
Temperatura	°C	30	-
Oxígeno disuelto	mg L ⁻¹		≥ 5

*L.M.P: Límite Máximo Permissible.

Anexo 5. Rangos de concentración de oxígeno disuelto y consecuencias ecosistémicas frecuentes según RED MAPSA (2007).

[OD] mg/L	Condición	Consecuencias
0	Anoxia	Muerte masiva de organismos aerobios
0-5	Hipoxia	Desaparición de organismos y especies sensibles
5-8	Aceptable	[OD] adecuadas para la vida de la gran mayoría de especies de peces y otros organismos acuáticos.
8-12	Buena	
>12	Sobresaturada	Sistemas en plena producción fotosintética

Anexo 6. Abundancia y abundancia relativa de las ocho clases de microalgas identificadas en las dos matrices de agua.

Matriz de Agua	Efluente Planta de Tratamiento Aguas Servidas, Contulmo		Lago Lanalhue	
	Abundancia (N° cél L ⁻¹)	Abundancia Relativa (%)	Abundancia (N° cél L ⁻¹)	Abundancia Relativa (%)
Bacillariophyceae	9.424	11,9	172.237	19,4
Chlorophyceae	3.927	5	394.422	44,4
Chrysophyceae	-	-	53.393	6
Coccinodiscophyceae	25.918	32,7	44.782	5
Cryptophyceae	-	-	12.057	1,4
Cyanophyceae	29.060	36,6	199.795	22,5
Dinophyceae	-	-	12.057	1,4
Euglenophyceae	10.996	13,9	-	-
Total de individuos	79.325	100	888.742	100

Fuente: Elaboración Propia.

Anexo 7. Abundancia y abundancia relativa de los géneros microalgales con su respectiva clase de las dos matrices de agua.

Matriz de Agua	Efluente Planta de Tratamiento Aguas Servidas, Contulmo		Lago Lanalhue	
	Abundancia (N° cél L ⁻¹)	Abundancia Relativa (%)	Abundancia (N° cél L ⁻¹)	Abundancia Relativa (%)
Bacillariophyceae				
<i>Asterionella</i>	-		29.280	3,3
<i>Diatoma</i>	-		5.167	0,6
<i>Navicula</i>	3.142	4,0	25.836	2,9
<i>Tabellaria</i>	6.283	7,9	111.954	12,6
Chlorophyceae				
<i>Coelastrum</i>	-		6.889	0,8
<i>Monoraphidium</i>	-		12.057	1,4
<i>Scenedesmus</i>	-		34.447	3,9
<i>Sphaerocystis</i>	3.927	5,0	341.029	38,4
Chrysophyceae				
<i>Dinobryon</i>	-		53.393	6
Coccinodiscophyceae				
<i>Aulacoseira</i>	25.918	32,7	44.782	5
Cryptophyceae				
<i>Cryptomonas</i>	-		12.057	1,4
Cyanophyceae				
<i>Chroococcus</i>	-		6.889	0,8
<i>Aphanocapsa</i>	10.210	12,9	-	-
<i>Dolichospermum</i>	-		192.905	21,7
<i>Oscillatoria</i>	18.850	23,8	-	-
Dinophyceae				
<i>Ceratium</i>	-		12.057	1,4
Euglenophyceae				
<i>Euglena</i>	10.996	13,9	-	-
Total individuos	79.325	100	888.742	100

Fuente: Elaboración Propia.

Anexo 8. Concentraciones de nitrato (mg L^{-1}) del experimento n°1. a. Control (Agua lago Lanalhue). b. Tratamiento 1 (70% A.L + 30% A.S). c. Tratamiento 2 (50% A.L + 50% A.S). d. Tratamiento 3 (30% A.L + 70% A.S).

a Nitrato (mg L^{-1})			
Días	0	7	14
Identificación de la muestra	Control T		
C.T1	0,52	0,48	0,23
C.T2	0,52	0,45	0,18
C.T3	0,52	0,46	0,20
C.T4	0,52	0,43	0,14
Promedio	0,52	0,45	0,19
Desviación Estándar	0	0,02	0,04

b Nitrato (mg L^{-1})			
Días	0	7	14
Identificación de la muestra	Tratamiento 1		
T1.1	7,48	7,87	7,97
T1.2	7,48	7,79	7,93
T1.3	7,48	7,76	7,93
T1.4	7,48	7,78	7,91
Promedio	7,48	7,80	7,94
Desviación Estándar	0	0,05	0,03

c Nitrato (mg L^{-1})			
Días	0	7	14
Identificación de la muestra	Tratamiento 2		
T2.1	12,81	12,75	12,85
T2.2	12,81	12,79	12,99
T2.3	12,81	12,91	13,70
T2.4	12,81	12,90	13,05
Promedio	12,81	12,84	13,15
Desviación Estándar	0	0,08	0,38

d Nitrato (mg L^{-1})			
Días	0	7	14
Identificación de la muestra	Tratamiento 3		
T3.1	17,42	17,69	17,96
T3.2	17,42	17,61	17,80
T3.3	17,42	17,60	17,78
T3.4	17,42	17,54	17,66
Promedio	17,42	17,61	17,80
Desviación Estándar	0	0,06	0,12

Fuente: Elaboración Propia.

Anexo 9. Concentraciones de fosfato (mg L^{-1}) del experimento n°1. a. Control (Agua Lago Lanalhue). b. Tratamiento 1 (70% A.L + 30% A.S). c. Tratamiento 2 (50% A.L + 50% A.S). d. Tratamiento 3 (30% A.L + 70% A.S).

a Fوسفato (mg L^{-1})			
Días	0	7	14
Identificación de la muestra	Control T		
C.T1	<0,04	<0,04	<0,04
C.T2	<0,04	<0,04	<0,04
C.T3	<0,04	<0,04	<0,04
C.T4	<0,04	<0,04	<0,04
Promedio	<0,04	<0,04	<0,04
Desviación Estándar	0	0	0

b Fوسفato (mg L^{-1})			
Días	0	7	14
Identificación de la muestra	Tratamiento 1		
T1.1	0,11	<0,04	<0,04
T1.2	0,11	<0,04	<0,04
T1.3	0,11	<0,04	<0,04
T1.4	0,11	<0,04	<0,04
Promedio	0,11	<0,04	<0,04
Desviación Estándar	0	0	0

c Fوسفato (mg L^{-1})			
Días	0	7	14
Identificación de la muestra	Tratamiento 2		
T2.1	0,19	<0,04	<0,04
T2.2	0,19	<0,04	<0,04
T2.3	0,19	<0,04	<0,04
T2.4	0,19	<0,04	<0,04
Promedio	0,19	<0,04	<0,04
Desviación Estándar	0	0	0

d Fوسفato (mg L^{-1})			
Días	0	7	14
Identificación de la muestra	Tratamiento 3		
T3.1	0,28	<0,04	<0,04
T3.2	0,28	<0,04	<0,04
T3.3	0,28	<0,04	<0,04
T3.4	0,28	<0,04	<0,04
Promedio	0,28	<0,04	<0,04
Desviación Estándar	0	0	0

Fuente: Elaboración Propia.

Anexo 10. Abundancia relativa de las clases de microalgas identificadas en el control T y los tratamientos durante el transcurso del experimento n°1.

Abundancia Relativa (%)												
Días	0				7				14			
Clase	C.T	T1	T2	T3	C.T	T1	T2	T3	C.T	T1	T2	T3
Bacillariophyceae	19,4	12,7	27,3	34,5	40,7	21,0	18,9	16,7	67,5	8,9	2,7	13,1
Chlorophyceae	44,4	64,0	51,3	34,5	42,7	55,7	60,0	60,0	20,6	69,7	90,0	81,1
Chrysophyceae	6,0	3,7	1,5	2,4	0,3	13,0	12,9	13,1	0,1	4,1	2,0	2,2
Coccinodiscophyceae	5,0	10,1	7,7	-	6,6	7,0	5,4	6,8	4,5	4,9	5,1	1,7
Cryptophyceae	1,4	1,1	0,4	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyanophyceae	22,5	6,9	11,1	22,4	9,6	3,1	0,9	2,1	7,3	12,1	0,2	0,9
Dinophyceae	1,4	1,6	-	2,4	0,0	0,1	1,9	1,3	0,1	0,3	-	1,0
Euglenophyceae	-	-	0,7	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-
Synurophyceae	-	-	-	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Total individuos	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Elaboración Propia.

Anexo 11. Abundancia promedio de los géneros microalgales con su respectiva clase identificadas en el control T y los tratamientos durante el transcurso del experimento n°1.

Abundancia Promedio (N°cél L ⁻¹)												
Días	0				7				14			
Clase / Género	C.T	T1	T2	T3	C.T	T1	T2	T3	C.T	T1	T2	T3
Bacillariophyceae												
<i>Asterionella</i>	29.280	13.426	37.727	2.356	160.320	18.211	14.530	16.744	64.206	17.819	4.295	7.298
<i>Diatoma</i>	5.167	-	3.430	-	818	-	-	-	1.571	344	-	-
<i>Diatomea</i>	-	-	1.715	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cymbella</i>	-	1.678	-	-	-	-	-	-	409	884	-	-
<i>Fragilaria</i>	-	-	-	-	38.256	409	3.142	273	308.466	-	-	21.817
<i>Navicula</i>	25.836	6.713	17.148	4.712	17.115	5.661	6.283	3.251	37.257	4.860	-	1.058
<i>Pinnularia</i>	-	-	-	-	-	393	785	-	409	-	-	-
<i>Tabellaria</i>	111.954	18.460	66.879	37.699	832.491	58.529	48.302	13.919	1.562.979	46.437	37.335	29.889
Chlorophyceae												
<i>Ankistrodesmus</i>	-	-	-	-	-	16.952	58.709	16.908	-	270.079	1.301.850	280.796
<i>Coelastrum</i>	6.889	-	-	3.142	17.475	8.050	-	2.094	-	-	3.579	-
<i>Monoraphidium</i>	12.057	16.782	-	-	40.219	9.179	17.475	1.909	73.566	53.211	7.281	273
<i>Pediastrum</i>	-	-	-	-	-	6.283	14.137	3.000	-	54.536	29.976	8.465
<i>Scenedesmus</i>	34.447	13.426	13.719	3.142	83.645	26.442	13.745	4.003	92.235	72.895	14.775	1.091
<i>Sphaerocystis</i>	341.029	172.855	224.645	38.485	959.333	152.237	127.235	94.793	436.519	101.562	45.422	82.456
<i>Alga verde</i>	-	-	-	-	-	1.178	-	-	-	-	-	-
Chrysophyceae												
<i>Dinobryon</i>	53.393	11.747	6.859	3.142	7.134	51.542	49.873	26.824	1.636	32.741	31.351	10.101
Coccinodiscophyceae												

<i>Aulacoseira</i>	44.782	31.886	36.012	-	170.988	12.239	9.818	9.512	122.212	16.395	73.337	7.909
<i>Melosira</i>	-	-	-	-	-	15.528	10.996	4.363	8.852	22.728	5.727	-
Cryptophyceae												
<i>Cryptomonas</i>	12.057	3.356	1.715	2.356	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyanophyceae												
<i>Chroococcus</i>	6.889	3.356	-	3.142	67.152	11.977	785	1.091	71.799	93.855	1.767	2.182
<i>Dolichospermum</i>	192.905	18.460	51.445	25.918	107.011	-	-	-	135.072	-	-	-
<i>Oscillatoria</i>	-	-	-	-	73.828	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aphanocapsa</i>	-	-	-	-	-	393	2.553	3.207	6.316	2.062	1.767	2.116
Dinophyceae												
<i>Ceratium</i>	12.057	5.035	-	2.356	-	-	1.374	1.593	-	344	-	1.058
<i>Peridinium</i>	-	-	-	785	785	409	5.891	1.047	4.172	2.111	-	3.480
Euglenophyceae												
<i>Euglena</i>	-	-	3.430	785	-	-	-	-	-	-	-	-
Synurophyceae												
<i>Synura</i>	-	-	-	1.571	-	-	-	-	-	-	-	-
Total individuos	888.742	317.181	464.724	129.591	2.576.577	395.613	385.631	204.531	2.927.677	792.861	1.558.463	459.988
Desviación Estándar	-	-	-	-	31.155	88.555	118.012	39.759	960.659	8.048	257.758	46.443

Fuente: Elaboración Propia.

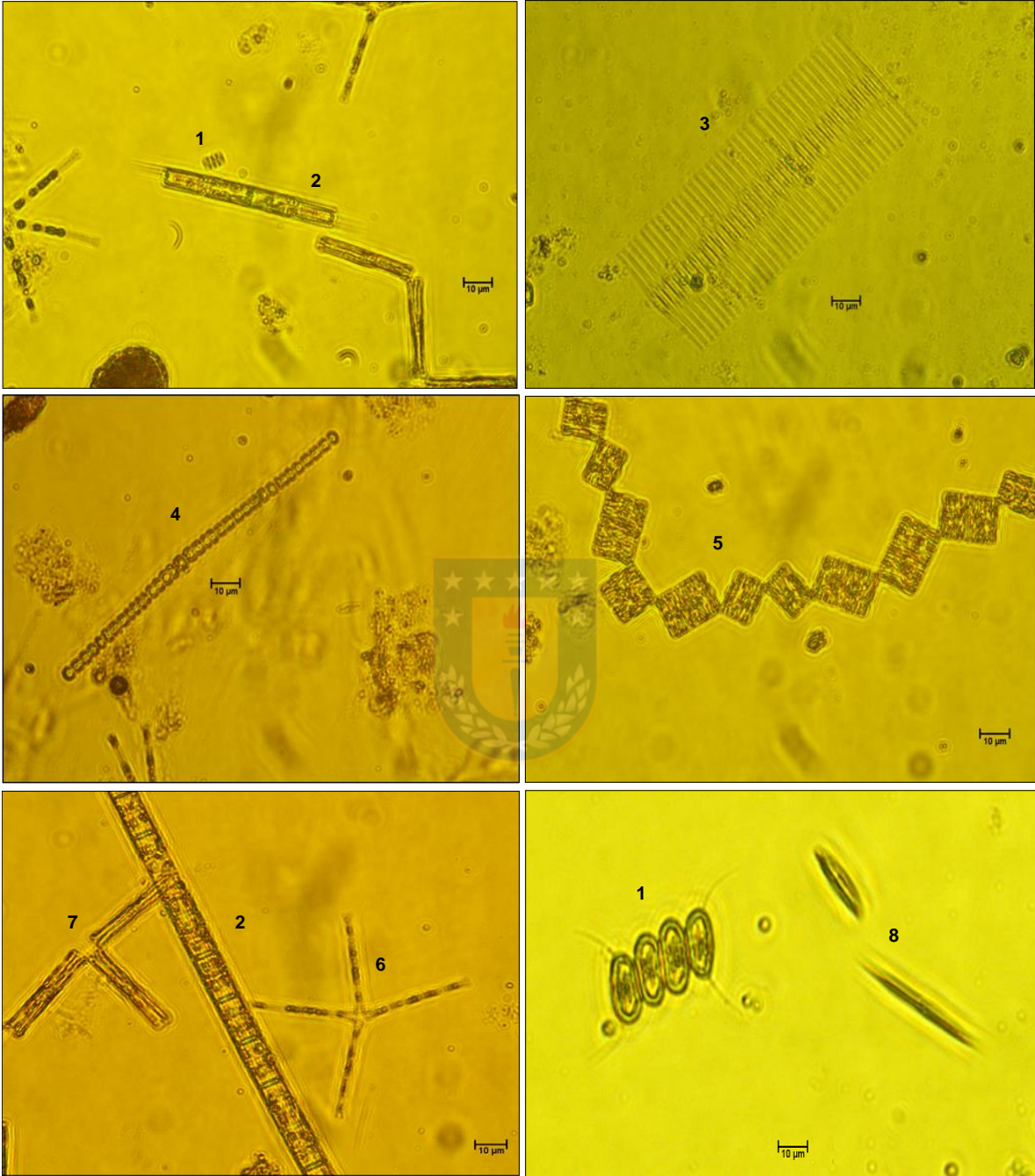
Anexo 12. Abundancia relativa de los géneros microalgales con su respectiva clase identificadas en el control T y los tratamientos durante el transcurso del experimento n°1.

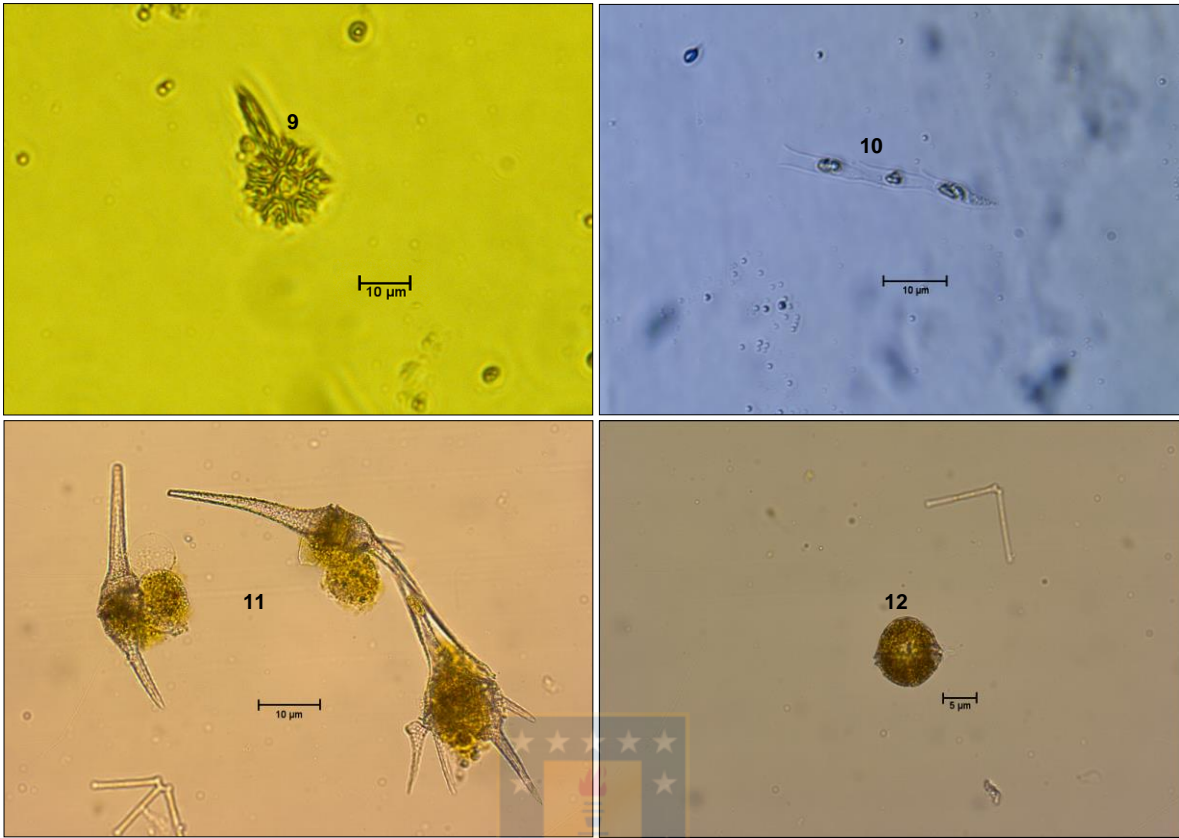
Abundancia Relativa (%)												
Días	0				7				14			
Clase / Género	C.T	T1	T2	T3	C.T	T1	T2	T3	C.T	T1	T2	T3
Bacillariophyceae												
<i>Asterionella</i>	3,3	4,2	8,1	1,8	6,2	4,6	3,8	8,2	2,2	2,2	0,3	1,6
<i>Diatoma</i>	0,6	-	0,7	-	0,0	-	-	-	0,1	0,0	-	-
<i>Diatomea</i>	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cymbella</i>	-	0,5	-	-	-	-	-	-	0,0	0,1	-	-
<i>Fragilaria</i>	-	-	-	-	1,5	0,1	0,8	0,1	10,5	-	-	4,7
<i>Navicula</i>	2,9	2,1	3,7	3,6	0,7	1,4	1,6	1,6	1,3	0,6	-	0,2
<i>Pinnularia</i>	-	-	-	-	-	0,1	0,2	-	0,0	-	-	-
<i>Tabellaria</i>	12,6	5,8	14,4	29,1	32,3	14,8	12,5	6,8	53,4	5,9	2,4	6,5
Chlorophyceae												
<i>Ankistrodesmus</i>	-	-	-	-	-	4,3	15,2	8,3	-	34,1	83,5	61,0
<i>Coelastrum</i>	0,8	-	-	2,4	0,7	2,0	-	1,0	-	-	0,2	-
<i>Monoraphidium</i>	1,4	5,3	-	-	1,6	2,3	4,5	0,9	2,5	6,7	0,5	0,1
<i>Pediastrum</i>	-	-	-	-	-	1,6	3,7	1,5	-	6,9	1,9	1,8
<i>Scenedesmus</i>	3,9	4,2	3,0	2,4	3,2	6,7	3,6	2,0	3,2	9,2	0,9	0,2
<i>Sphaerocystis</i>	38,4	54,5	48,3	29,7	37,2	38,5	33,0	46,3	14,9	12,8	2,9	17,9
<i>Alga verde</i>	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-

Chrysophyceae												
<i>Dinobryon</i>	6,0	3,7	1,5	2,4	0,3	13,0	12,9	13,1	0,1	4,1	2,0	2,2
Coscinodiscophyceae												
<i>Aulacoseira</i>	5,0	10,1	7,7	-	6,6	3,1	2,5	4,7	4,2	2,1	4,7	1,7
<i>Melosira</i>	-	-	-	-	-	3,9	2,9	2,1	0,3	2,9	0,4	-
Cryptophyceae												
<i>Cryptomonas</i>	1,4	1,1	0,4	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyanophyceae												
<i>Chroococcus</i>	0,8	1,1	-	2,4	2,6	3,0	0,2	0,5	2,5	11,8	0,1	0,5
<i>Dolichospermum</i>	21,7	5,8	11,1	20,0	4,2	-	-	-	4,6	-	-	-
<i>Oscillatoria</i>	-	-	-	-	2,9	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aphanocapsa</i>	-	-	-	-	-	0,1	0,7	1,6	0,2	0,3	0,1	0,5
Dinophyceae												
<i>Ceratium</i>	1,4	1,6	-	1,8	-	-	0,4	0,8	-	0,0	-	0,2
<i>Peridinium</i>	-	-	-	0,6	0,0	0,1	1,5	0,5	0,1	0,3	-	0,8
Euglenophyceae												
<i>Euglena</i>	-	-	0,7	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-
Synurophyceae												
<i>Synura</i>	-	-	-	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Total individuos	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Elaboración Propia.

Anexo 13: Fotografías de géneros de microalgas del experimento n°1.





1. *Scenedesmus*; 2. *Aulacoseira*; 3. *Fragilaria*; 4. *Dolichospermum*; 5. *Tabellaria*; 6. *Asterionella*; 7. *Tabellaria*; 8. *Ankistrodesmus*; 9. *Pediatrum*; 10. *Dinobryon*; 11. *Ceratium*; 12. *Peridinium*.

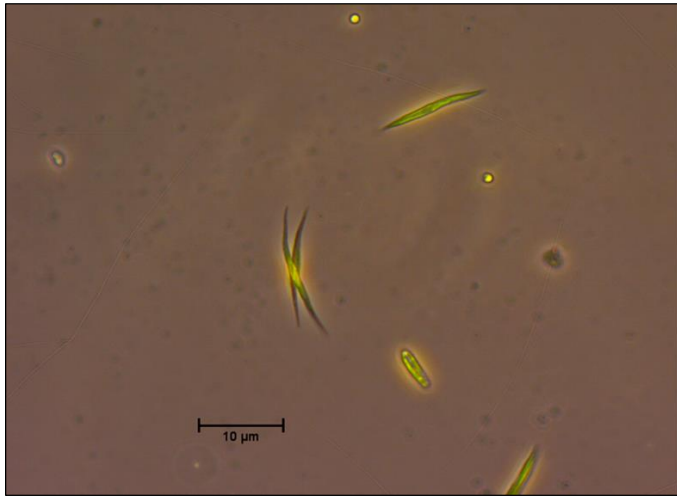
Anexo 14. Contaminación orgánica: Géneros de algas más tolerantes.

Número	Taxón (Género)	Clase	Índice de Contaminación	Hábitat de Agua Dulce
1	<i>Euglena</i>	Eu	5	Planctónico
2	<i>Oscillatoria</i>	Cy	5	Planctónico o bentónico
3	<i>Chlamydomonas</i>	Ch	4	Planctónico
4	<i>Scenedesmus</i>	Ch	4	Planctónico
5	<i>Chlorella</i>	Ch	3	Planctónico
6	<i>Nitzschia</i>	Ba	3	Planctónico o bentónico
7	<i>Navicula</i>	Ba	3	bentónico
8	<i>Stigeoclonium</i>	Ch	2	Adjunto
9	<i>Synedra</i>	Ba	2	Especies Planctónicas y Epifitas
10	<i>Ankistrodesmus</i>	Ch	2	Planctónico

Diez algas más tolerantes enumeradas en orden de decrecimiento de la tolerancia. Phyla de algas- Cyanophyta (Cy), Chlorophyta (Ch), Euglenophyta (Eu) y Bacillariophyta (Ba).

Fuente: (Palmer, 1969; Bellinger & Sigeo, 2015).

Anexo 15. Ficha técnica del género *Ankistrodesmus*.

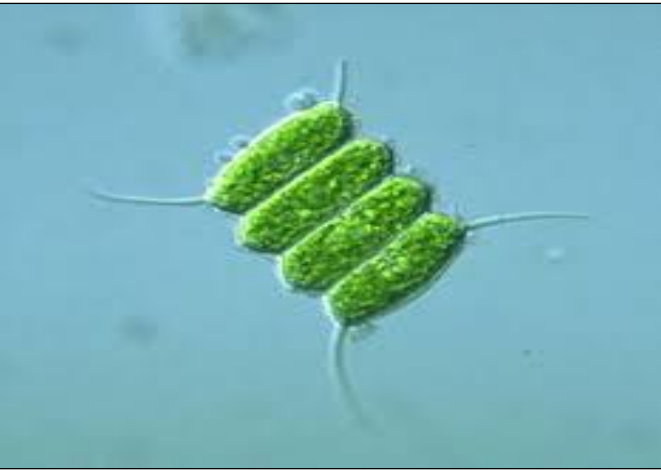
Clasificación taxonómica, morfología y ecología de <i>Ankistrodesmus</i>	
Clasificación taxonómica Dominio: Eucariota Reino: Planta Phylum: Chlorophyta Clase: Chlorophyceae Orden: Sphaeropleales Familia: Selenastraceae	
Morfología Células aisladas o formando pequeñas colonias con un número variables de individuos (2-4-8 cél) que se disponen de manera paralela, entrelazadas o cruzadas unidas en la parte central creando figuras estrelladas. Clorofícea alargada a veces corta, recta, ligeramente curvada o torcida, fusiforme en forma de media luna (husillo), generalmente más larga que ancha donde sus extremos son progresivamente atenuados, aguzados y puntiagudos. Alrededor de las células, a veces, presentan una envoltura mucosa fina de distinto ancho denominado mucilago. Posee un solo cloroplasto parietal con o sin pirenoide, que cubre la mayor parte de la pared celular que es delgada y lisa. Reproducción mediante 2-4-8 autóesporas que se disponen en paralelo dentro de la célula materna. Dimensiones: 1-5 µm de ancho, 20-165 µm de largo (Carr, 1966; Wehr <i>et al.</i> , 2003; Fanés Treviño, 2008; Bellinger <i>et al.</i> , 2015).	
Ecología Microalga cosmopolita que se encuentra en el plancton de sistemas acuáticos de agua dulce lo que incluyen arroyos, ríos, estanques, cascadas y lagos eutróficos. Algunas especies se localizan en aguas ligeramente más ácidas pero prefieren	

aguas ricas en nutrientes (Bellinger *et al.*, 2015; Manaaki Whenua, 2019a & SIB, 2019a).

Anexo 16. Ficha técnica del género *Monoraphidium*.

Clasificación taxonómica, morfología y ecología de <i>Monoraphidium</i>	
Clasificación taxonómica Dominio: Eucariota Reino: Planta Phylum: Chlorophyta Clase: Chlorophyceae Orden: Sphaeropleales Familia: Selenastraceae	
Morfología Células solitarias de color verde, fusiformes, irregularmente arqueadas o curvadas en forma de media luna, algunas son delgadas. Estas presentan extremos celulares progresivamente atenuados en punta afilada, aguda o redondeada. Además, posee un solo cloroplasto parietal, en casi toda la célula, con o sin presencia de pirenoide. Su pared celular es delgada y lisa, sin envoltura de mucílago. La reproducción es mediante (2)-4-8-(16) autóesporas, dependiendo de la especie. Dimensiones: 1-5 µm de ancho, 7-100 µm de largo (Fanés Treviño, 2008 & Bellinger <i>et al.</i> , 2015).	
Ecología Clorofícea cosmopolita presente en el plancton de cuerpos de agua dulce, principalmente aquellos con alto contenido de nutrientes, que se encuentran en aguas meso- a eutróficas por ejemplo lagos, ríos, arroyos, estanques, embalses y charcos (Fanés Treviño, 2008 & SIB, 2019b).	

Anexo 17. Ficha técnica del género *Scenedesmus*.

Clasificación taxonómica, morfología y ecología de <i>Scenedesmus</i>	
Clasificación taxonómica Dominio: Eucariota Reino: Planta Phylum: Chlorophyta Clase: Chlorophyceae Orden: Sphaeropleales Familia: Scenedesmaceae	
Morfología Alga cenobial con un número variable de 2-4-8 células (ocasionalmente 16 o 32) que se encuentran ordenadas en fila (generalmente simples) en formas paralelas y a veces alternadas. Las células de color verde son largamente elipsoides, ovoides o cilíndricas hasta fusiformes, algunas con extremos alargados terminados en punta. Existen especies que presentan espinas, crestas y otras sin ornamentación, que se posicionan en los vértices de las células externas. La pared celular es lisa o rugosa que posee cloroplasto parietal y usualmente con un pirenoide rodeado de almidón. Su reproducción es por formación de autóesporas que forman el cenobio ya en la célula materna (Fanés Treviño, 2008; González G, 2010; Bellinger <i>et al.</i> , 2015 & Manaaki Whenua, 2019b).	
Ecología Alga cosmopolita planctónica presente en ecosistemas de agua dulce ricos en nutrientes (lagos y estanques), especialmente con un alto contenido de nitrógeno. Abundante en aguas residuales en cualquier época del año (González G, 2010 & Manaaki Whenua, 2019b).	

Anexo 18. Ficha técnica del género *Chroococcus*.

Clasificación taxonómica, morfología y ecología de <i>Chroococcus</i>	
Clasificación taxonómica Dominio: Procariota Reino: Eubacteria Phylum: Cyanobacteria Clase: Cyanophyceae Orden: Chroococcales Familia: Chroococcaceae	
Morfología Género unicelular planctónico que forma pequeñas colonias de 2-4-8-16 células hijas, rodeadas de una envoltura mucilaginosa incolora o amarillenta denominado mucílago. Las células jóvenes son esféricas u ovales y después son de forma hemisférica o irregular (un segmento de la esfera), además estas poseen un diámetro de 2-58 μm . La reproducción celular ocurre por fragmentación de colonias y su división es por fisión binaria o bipartición en tres direcciones, las células hijas forman su propia vaina gelatinosa (homogénea con el mucílago circundante) y pueden reformarse después de cada división celular, generando una cobertura de varias capas. Solo algunas especies poseen vesículas de gas (Wehr & Sheath, 2003; Bellinger & Sigee, 2015).	
Ecología Alga de agua dulce presente en lagos y ríos (Manaaki Whenua, 2019c).	

Anexo 19. Abundancia relativa de las clases de microalgas identificadas en el control N y los niveles durante el transcurso del experimento n°2.

Abundancia Relativa (%)									
Días	0			8			15		
Clase	C.N	N1	N2	C.N	N1	N2	C.N	N1	N2
Bacillariophyceae	0,6	-	0,2	-	-	-	-	-	-
Chlorophyceae	98,6	98,8	98,6	98,4	98,9	99,7	98,4	98,8	99,1
Chrysophyceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coccinodiscophyceae	0,1	-	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	0,1
Cyanophyceae	0,6	1,2	1,1	1,5	1,0	0,3	1,5	1,0	0,9
Total individuos	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Elaboración Propia.

Anexo 20. Abundancia promedio de los géneros microalgales con su respectiva clase identificadas en el control N y los dos niveles durante el transcurso del experimento n°2.

Abundancia Promedio (N°cél L ⁻¹)									
Días	0			8			15		
Clase / Género	C.N	N1	N2	C.N	N1	N2	C.N	N1	N2
Bacillariophyceae									
<i>Asterionella</i>	-	-	1.888	-	-	-	-	-	-
<i>Navicula</i>	545	-	0	-	-	-	-	-	-
<i>Tabellaria</i>	14.544	-	2.517	-	-	-	-	-	-
Chlorophyceae									
<i>Ankistrodesmus</i>	2.350.382	4.939.381	2.105.554	75.826.068	83.244.097	90.881.627	228.133.122	220.749.664	160.105.159
<i>Monoraphidium</i>	182	5.236	12.766	3.732.799	3.712.153	3.677.197	11.779.565	14.666.070	7.655.664
<i>Pediastrum</i>	23.998	23.038	7.527	125.000	200.521	260.712	720.029	268.817	213.745
<i>Scenedesmus</i>	35.634	69.115	12.849	1.790.491	2.466.319	2.293.028	6.010.396	7.674.970	6.150.433
<i>Sphaerocystis</i>	39.270	6.283	21.577	-	-	-	-	-	-
<i>Alga verde</i>	-	-	-	273.077	441.493	933.188	594.542	497.073	621.122
Coccinodiscophyceae									
<i>Melosira</i>	2.909	-	2.574	121.154	104.861	24.691	291.179	425.346	142.045
Cyanophyceae									
<i>Chroococcus</i>	15.635	57.596	24.549	1.248.504	864.236	284.677	3.650.097	2.550.527	1.499.639
<i>Dolichospermum</i>	-	2.094	-	-	50.000	-	-	-	-
Total individuos	2.483.100	5.102.744	2.191.802	83.117.094	91.083.681	98.355.120	251.178.931	246.832.467	176.387.807

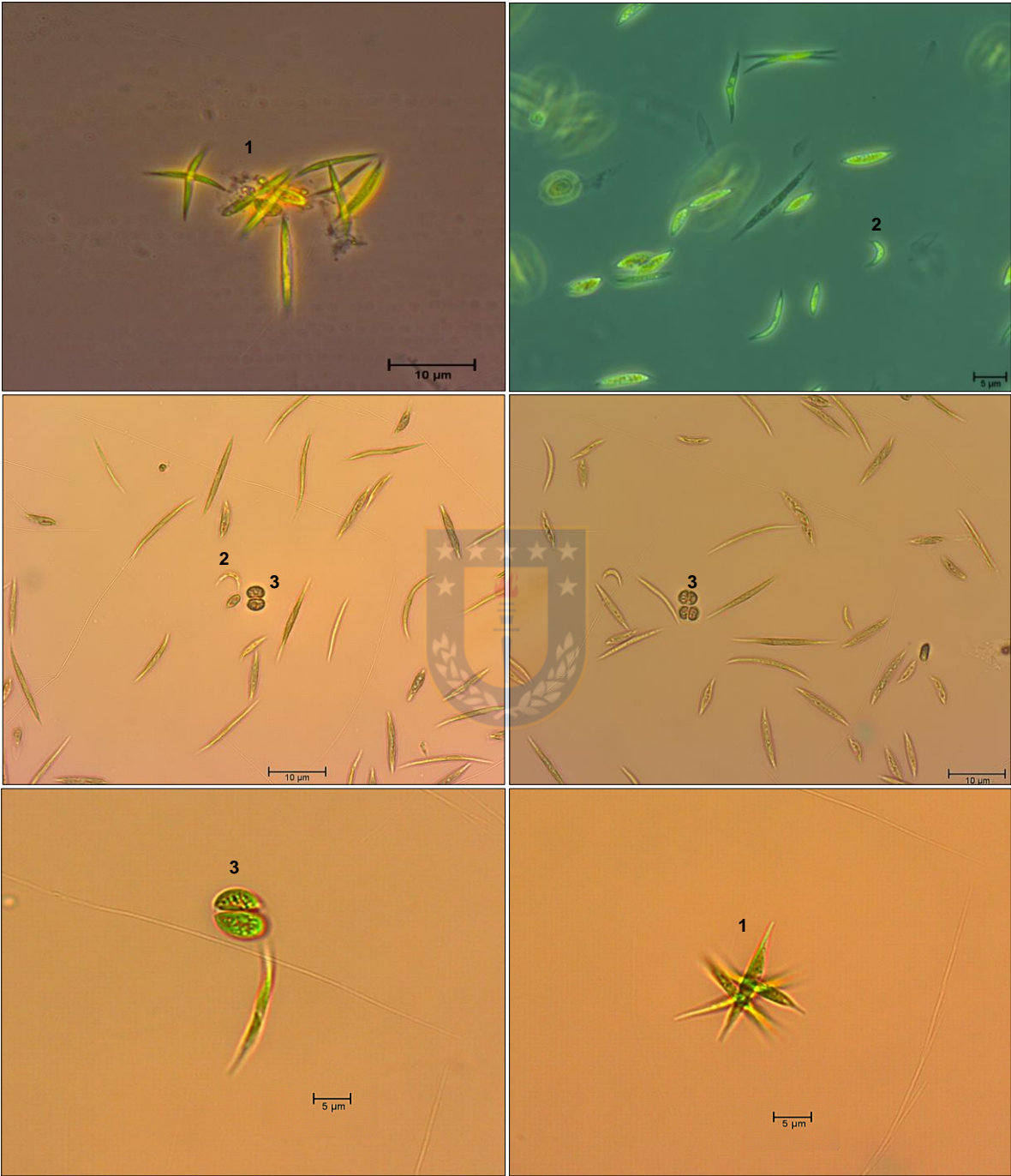
Fuente: Elaboración Propia.

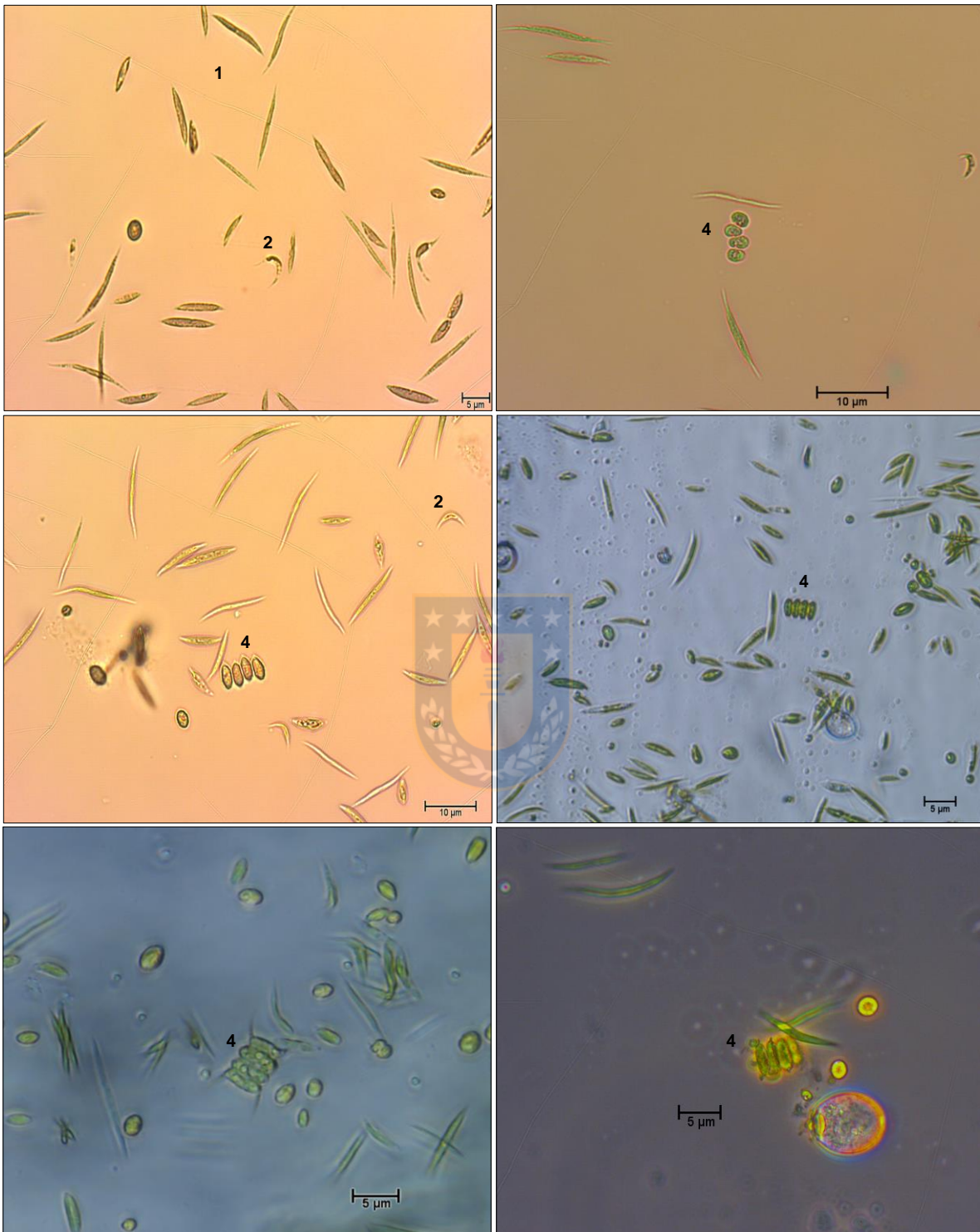
Anexo 21. Abundancia relativa de los géneros microalgales con su respectiva clase identificadas en el control N y los dos niveles durante el transcurso del experimento n°2.

Abundancia Relativa (%)									
Días	0			8			15		
Clase / Género	C.N	N1	N2	C.N	N1	N2	C.N	N1	N2
Bacillariophyceae									
<i>Asterionella</i>	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
<i>Navicula</i>	0,0	-	0,0	-	-	-	-	-	-
<i>Tabellaria</i>	0,6	-	0,1	-	-	-	-	-	-
Chlorophyceae									
<i>Ankistrodesmus</i>	94,7	96,8	96,1	91,2	91,4	92,4	90,8	89,4	90,8
<i>Monoraphidium</i>	0,0	0,1	0,6	4,5	4,1	3,7	4,7	5,9	4,3
<i>Pediastrum</i>	1,0	0,5	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3	0,1	0,1
<i>Scenedesmus</i>	1,4	1,4	0,6	2,2	2,7	2,3	2,4	3,1	3,5
<i>Sphaerocystis</i>	1,6	0,1	1,0	-	-	-	-	-	-
<i>Alga verde</i>	-	-	-	0,3	0,5	0,9	0,2	0,2	0,4
Coscinodiscophyceae									
<i>Melosira</i>	0,1	-	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	0,1
Cyanophyceae									
<i>Chroococcus</i>	0,6	1,1	1,1	1,5	0,9	0,3	1,5	1,0	0,9
<i>Dolichospermum</i>	-	0,0	-	-	0,1	-	-	-	-
Total individuos	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Elaboración Propia.

Anexo 22. Fotografías de géneros de microalgas del experimento n°2.





Consortio de microalgas dominados principalmente por *Ankistrodesmus* (1).

2. *Monoraphidium*; 3. *Chroococcus*, 4. *Scenedesmus*;

Anexo 23. Parámetros fisicoquímicos medidos en cada uno de los tratamientos con su promedio y desviación estándar.

Niveles	pH	Conductividad ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	Oxígeno Disuelto (mg L^{-1})
Control N	$9,0 \pm 0,8$	539 ± 55	$9,92 \pm 0,5$
Nivel 1	$8,76 \pm 1,0$	634 ± 121	$10,09 \pm 0,7$
Nivel 2	$8,26 \pm 0,9$	692 ± 32	$9,66 \pm 0,2$

Fuente: Elaboración Propia.

