

Artículo original

EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE ARSÉNICO UTILIZANDO LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS EN AGUAS SUPERFICIALES DEL RÍO UCHUSUMA EN TACNA, PERÚ

EVALUATION OF ARSENIC REMOVAL USING THE MICROALGAE CHLORELLA VULGARIS IN SURFACE WATERS OF THE UCHUSUMA RIVER IN TACNA, PERU

Shirley Almendra Bartra Reyna ¹

 <https://orcid.org/0000-0002-9261-0935>

César Huanacuni Lupaca ²

 <https://orcid.org/0000-0002-1148-4050>

Información del artículo:

Recibido: 21/01/2021

Aceptado: 01/06/2021

Publicado: 28/06/2021

¹ Escuela de Ingeniería ambiental, Universidad Privada de Tacna

² Docente en la Escuela de Ingeniería Ambiental, Universidad Privada de Tacna

E-mail: ¹shiney_abr@hotmail.com, ²chuanacuni@yahoo.es



Vol. 3, N° 1

Enero - junio del 2021

ISSN – Online: 2708-3039

DOI: <https://doi.org/10.47796/ing.v3i1.487>



Esta obra está bajo licencia internacional
Creative Commons Reconocimiento 4.0



Facultad de Ingeniería
Publicación Oficial

Resumen

El presente trabajo de investigación se estimó la remoción de Arsénico de los efluentes del Río Uchusuma en Tacna, se realizó un cultivo de *Chlorella Vulgaris* en el laboratorio de aguas de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental (EPIAM), se llevó a cabo el sistema de remoción a escala de laboratorio en matraces de 500ml con 5mL de microalga y midiéndose en mL los distintos porcentajes de volumen de arsénico, río uchusuma. Las concentraciones de Arsénico a evaluar fueron de 20, 40, 60, 80 y 100% respectivamente, teniendo un valor inicial el de 0.119 mg.L^{-1} , continuando su composición volumétrica con agua destilada, nutriente (Bayfoland) y por último la microalga *Chlorella Vulgaris*. La evaluación de la densidad celular y/o crecimiento de la microalga *Chlorella Vulgaris* se realizó mediante la cámara de Neubauer de 0.1 mm de profundidad, dónde el conteo efectúa en el cuadro del centro que con tiene 25 cuadrados, la forma más eficiente para ejecutar el conteo fue de forma diagonal. Para calcular el arsénico se utilizó el test kit de hach, que contiene una serie de reactivos que hacen que el líquido o efluente que se va a analizar mediante una tira de analisis con una almohadilla dentro del frasco dónde se encuentra el efluente, presente una coloración de amarillo a marrón (0 a 500 ppb), siendo el amarillo menos contaminante por arsénico.

Palabras Clave: efluentes, remoción, nutriente, densidad celular.

Abstract

The present research work was estimated the removal of arsenic from the effluents of the River Uchusuma in Tacna, a culture of *Chlorella Vulgaris* was carried out in the water laboratory of the Professional School of Environmental Engineering (EPIAM), the laboratory-scale removal system was carried out in 500 ml flasks with 5 ml microalgae and the different percentages of arsenic volume, river uchusuma, were measured in mL. The concentrations of Arsenic to be evaluated were 20, 40, 60, 80 and 100% respectively, having an initial value of 0.119 mg.L^{-1} , continuing its volumetric composition with distilled water, nutrient (Bayfoland) and finally the microalgae *Chlorella Vulgaris*. The evaluation of the cell density and/or growth of the microalgae *Chlorella Vulgaris* was carried out using the Neubauer chamber of 0.1 mm depth, where the counting takes place in the box of the center with 25 squares, The most efficient way to run the count was diagonally. To calculate the arsenic was used the test kit axe, which contains a series of reagents that cause the liquid or effluent to be analyzed using a strip of analysis with a pad inside the bottle where the effluent is located, has a colour from yellow to brown (0 to 500 ppb), the yellow least polluting by arsenic..

Keywords: effluents, removal, nutrient, cell density.

1. Introducción

La contaminación de los Ríos es una de las problemáticas de hoy en día, causada por diversos factores; la ubicación geográfica del Río Uchusuma, la minería ilegal y la deforestación de la Región han provocado un incremento en la presencia de arsénico. El Ministerio de Agricultura y Riego mostraron resultados negativos siendo estos perjudiciales a la salud humana ocasionando principalmente cáncer. La exposición y riesgo diario obliga a probar y desarrollar procedimientos novedosos para conseguir la eliminación de sustancias tóxicas, en la actualidad las microalgas se consideran con un alto potencial y una opción de biorremediación para el tratamiento de agua ya que presenta una alta tolerancia a la exposición de metales tóxicos, asimismo los nutrientes inorgánicos presentes en el agua favorecen al crecimiento funcionando este como medio de cultivo.

El arsénico que se encuentra en el río uchusuma representa un problema para los ecosistemas y la salud humana, en la realización de la toma de muestra que se llevó a cabo del Comité de Monitoreo Ambiental Participativo (CMAP), donde se obtuvo como resultado que se superó el valor permisible por la norma ambiental utilizada (0,119 mg.L-1). En el caso del pH, los valores se encontraron en el rango establecido y aunque fueron aceptados, se debe limitar el valor de utilización sobre las aguas superficiales de la cuenca hidrográfica, ya que se encontraron concentraciones de arsénico total no deseadas, en Tacna la población que se abastece de agua para el uso agrícola y para el consumo poblacional a través del río Uchusuma que así mismo pasa por un sistema de aplicación de químicos sintéticos (Comité de Monitoreo Ambiental, 2013)

En el 2018, el Ministerio de Agricultura y Riego junto con la Autoridad Nacional del Agua expusieron resultados de fuentes contaminantes dónde el monitoreo de calidad de agua superficial que se halló en la cuenca Uchusuma, indicó que los resultados de arsénico excedían los Estándares de Calidad Ambiental (ECA), que describe que con un proceso adecuado de tratamientos puede ser potabilizada, esto se debe a que Tacna es una región de suelos volcánicos que genera una contaminación natural en el agua como también ocasionada por la agricultura, la minería ilegal y la deforestación que se hacen en las cuencas de la región, el mayor problema es una exposición prolongada al consumo de agua que podría ocasionar principalmente cáncer y lesiones cutáneas.

En la actualidad, existen algunos métodos para la purificación del agua, y con las tecnologías limpias y/o biotecnologías que tengan una facilidad de acceso e implementación, como también aprovechar las fuentes naturales y procesos biológicos como el uso de microorganismos, que no sea de un elevado costo, el uso de la microalga es muy beneficiaria ya que se reproducen muy rápido y con un adecuado ambiente pueden producir una alta cantidad de biomasa en pocas horas muy aparte de ello presenta un efecto mínimo en lo que se refiere a impactos ambientales para la remoción de arsénico.

2. Objetivos

Evaluar la remoción de arsénico utilizando la microalga *Chlorella vulgaris* en aguas superficiales del río uchusuma en Tacna.

3. Metodología

La investigación se realizó el cultivo en el laboratorio de aguas de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Privada de Tacna (UPT), la investigación consiste de cinco (05) tratamientos, dónde se tendrá un cultivo de *Chlorella vulgaris* extra en agua no contaminada para observar el crecimiento celular en condiciones normales.

Recolección del efluente

La recolección del agua del río uchusuma se realizó en la zona de Cerro Blanco, donde se divide el caudal de agua para la población de la del uso agrícola, unos 3 metros antes de ser dirigida a los embalses de almacenamiento que corresponden a la EPS, se tomó aproximadamente unos 10 L.

La muestra fue vertida en un matraz de 3 L y un recipiente de vidrio de 1 L dónde fue previamente filtrada con algodón para quitar algunos sólidos, y luego fue llevada al Laboratorio de Microbiología para su esterilización en el autoclave así despojar las partículas que no se pueden ver a simple vista y solo quede el arsénico existente en el agua. Mientras tanto que el cultivo de *Chlorella Vulgaris* se obtuvo la microalga *Chlorella Vulgaris* mediante la adquisición de un cultivo de un Biólogo de la Universidad de Nacional Jorge Basadre Grohmann (UNJBG).

Crecimiento de *Chlorella Vulgaris* en diferentes concentraciones de As

Para las evaluaciones del crecimiento de cultivo de *Chlorella Vulgaris*, se realizó en dieciséis matraces de 500ml de volumen que fueron correspondientemente esterilizados en el autoclave del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ingeniería, se monitoreó cinco tratamientos con tres repeticiones cada uno dónde se aplicó diluciones a distintas concentraciones de 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 100 % y una muestra adicional de referencia solo con agua destilada.

Conteo celular de microalgas

Para la evaluación y conocer el número celular de cada una de las muestras de las diferentes concentraciones del crecimiento diario de la microalga (*Chlorella Vulgaris*), se necesitó un microscopio binocular, una cámara de Neubauer de 0,1mm de profundidad marca Marienfeld y una pipeta electrónica de 100 – 1000 µl de marca Boeco. La cámara de Neubauer es una cámara de vidrio para el conteo de diferentes microorganismos que se ajusta al microscopio, está compuesta por 9 cuadros con 1 mm² de superficie.

Composición del medio de cultivo

Los medios de cultivo presentan una serie de componentes para el crecimiento y desarrollo de las microalgas como los nutrientes, minerales, la luz, la temperatura, aireación en necesarias condiciones (Barrero, 2016). El cultivo de microalga *Chlorella Vulgaris* en los distintos porcentajes y su relación volumétrica con el arsénico, agua destilada y nutriente se muestra en la tabla 1.

El procedimiento que se realizó fue en el orden siguiente:

Se esterilizó los materiales en la autoclave, luego se añadió primero el agua del río uchusuma en cantidades correspondientes, luego se continuó con el agua destilada, equilibrando las dosis.

Posteriormente se le añadió un nutriente (bayfoland) el cuál no influye en lo que respecta al arsénico, ya que con éste las microalgas podrían tener un crecimiento más acelerado y por último se añadió el inóculo de la microalga *Chlorella Vulgaris*.

Tabla 1*Composición volumétrica del cultivo de Chlorella Vulgaris*

Nº	Código	Volumen de río uchusuma (ml)	Volumen de agua destilada (ml)
1	Muestra 1,0	0	394,6
2	A1 – 20	78,9	315,7
3	B1 – 40	157,8	236,8
4	C1 – 60	236,8	157,8
5	D1 – 80	315,7	78,9
6	E1 - 100	394,6	0
7	A2 – 20	78,9	315,7
8	B2 – 40	157,8	236,8
9	C2 – 60	236,8	157,8
10	D2 – 80	315,7	78,9
11	E2 - 100	394,6	0
12	A3 – 20	78,9	315,7
13	B3 – 40	157,8	236,8
14	C3 – 60	236,8	157,8
15	D3 – 80	315,7	78,9
16	E3 - 100	394,6	0

Nota. El volumen de inóculo fue 5 mL para todos los cultivos, mientras que el volumen de nutriente bayfoland fue de 0,4 mL, también el volumen del preparado para todas las muestras son de 400 ml.

Conteo de células

Para conocer el número de células de cada una de las muestras diariamente por se utilizó la cámara de Neubauer de 0.1 mm, siendo ésta uno de los métodos más usados (Guillard, 1975), con la siguiente formula.

$$\frac{\left(\frac{\sum n}{5}\right)}{4} \times 10^6 \quad [1]$$

Dónde:

$(\sum n)/5$ = Promedio de conteo celular

N = Nº de microalgas

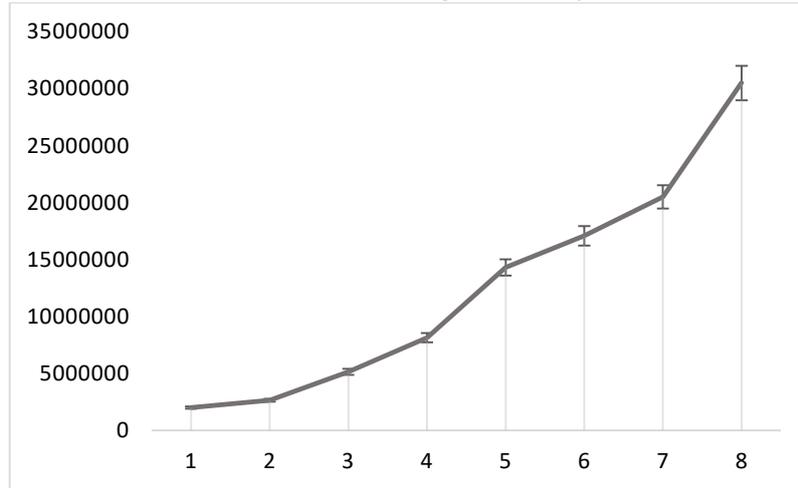
Análisis de Arsénico

Se utilizó el test kit 2822800 (EZ Arsénico), contiene un (1) frasco de 50ml con línea de carga y un set con una serie de reactivos como; oxono, fosfato de sodio, sal tetrasódica, etanol, zinc, mercurio bromuro y ácido sulfámico. Se recoge 50 ml de muestra en un vaso precipitado de vidrio que viene en el kit, se añade los dos primeros reactivos y agitando la muestra para que se disuelva los reactivos en polvo y así sucesivamente, parte de éste proceso se debe colocar una tira de análisis en la tapa para que al finalizar en la almohadilla de éstas tiras formen una coloración la cuál son comparadas con los colores monoparamétricos con un rango de 0 a 500 parte por billón (ppb), para un resultado rápido y eficiente, se realizaron las diluciones correspondientes por cada tratamiento y repetición y así obtener un promedio (Hach, 2006). Teniendo las recomendaciones correspondientes ya que la persona se expone a reactivos perjudiciales hasta cancerígenos al ser ingeridos o inhalados, se debe evitar que el ensayo toque la solución del recipiente de reacción.

4. Resultados

Los resultados indican que el promedio inicial de la densidad de la microalga y el efluente del río uchusuma fueron: densidad de la *Chlorella vulgaris*; $5,75 \times 10^6$ cel/ml, mientras que el arsénico presento 0,119 mg/l, mientras el crecimiento de la micro alga en el periodo de 8 días, en un medio de cultivo de control con agua destilada se muestra en la figura 1.

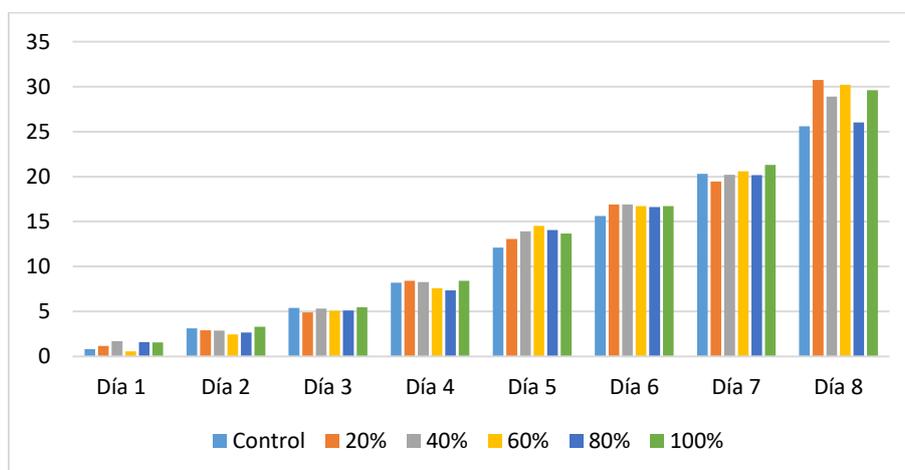
Figura 1
Crecimiento del inóculo Chlorella Vulgaris en un periodo de 8 días.



En la figura 2 se puede apreciar el desarrollo del incremento de las células de la microalga, que presenta un crecimiento óptimo en todas las concentraciones, se puede observar que en el porcentaje del 20 % tuvo un crecimiento significativo en casi los últimos días.

Figura 2

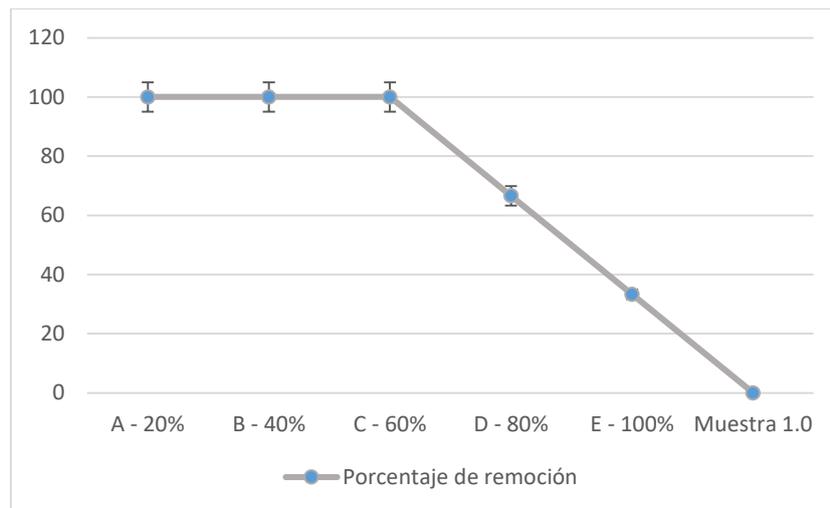
Crecimiento del inóculo Chlorella Vulgaris en un periodo de 8 días en los distintos porcentajes de tratamientos con arsénico.



Por otro lado en la figura 3 se puede apreciar el desarrollo del incremento de las células de la microalga, lo cuál presenta un crecimiento óptimo en todas las concentraciones, se puede observar que en el porcentaje del 20 % tuvo un crecimiento significativo en casi los últimos días. La Organización Mundial de la Salud establece que el número recomendado para poder beber el agua es de 10 parte por billón (ppb).

Figura 3

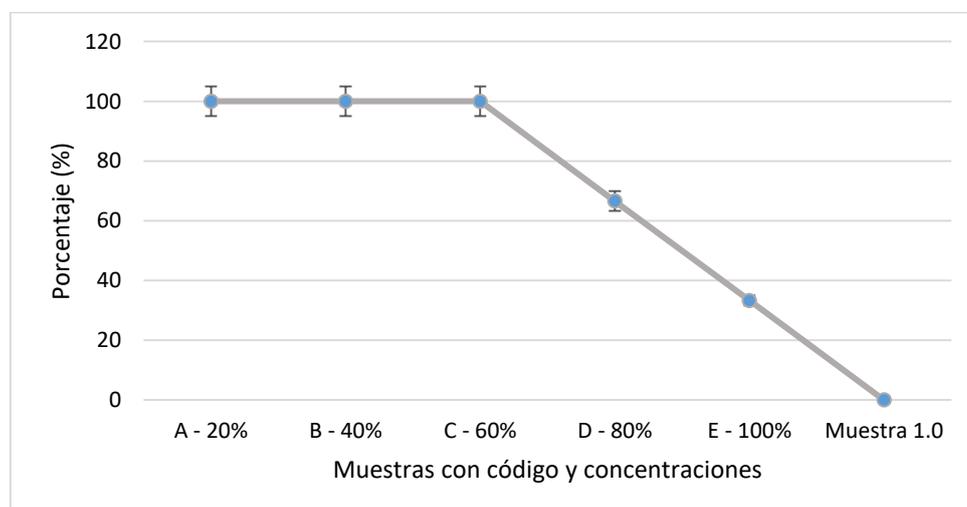
Concentración de remoción de arsénico en cada uno de distintos tratamientos, calculado en partículas por billón (ppb)



Como se puede ver en la figura 3, las concentraciones a 20, 40 y 60 % fueron efectivas en el tiempo realizado, más que al 80 % y 100 %. Por otro lado el porcentaje de remoción en las distintas concentraciones de arsénico se puede observar en la figura 4.

Figura 4

Porcentaje (%), de remoción por *Chlorella Vulgaris* en las distintas concentraciones de arsénico



El resumen estadístico de los resultados de las muestras se presenta en la tabla 2 indicando las probabilidades de la variabilidad de los datos de dispersión respecto con su media.

Tabla 2

Resumen estadístico de resultados

	Recuento	Promedio	Mediana	Varianza	Desviación Estándar	Coficiente de Variación (%)
Muestra 1.0	7	9,36	8,2	49,3425	7,02442	75,0473
A1	7	9,30714	9,9	61,2687	7,82743	84,1013
A2	7	9,53571	8,4	50,3348	7,0947	74,4013
A3	7	6,96429	5,7	31,9281	5,6505	81,1353
B1	7	9,42143	7,6	51,8315	7,19941	76,4153
B2	7	9,70714	7,45	54,1345	7,35762	75,7959
B3	7	9,87143	8,25	51,9849	7,21005	73,0396
C1	7	9,45714	7,7	56,0537	7,4869	79,1666
C2	7	9,79286	8,15	48,5412	6,96715	71,1452
C3	7	9,63571	7,6	58,8564	7,67179	79,6183
D1	7	9,64286	7,35	52,9512	7,27676	75,4627
D2	7	9,73571	7,85	54,8839	7,40837	76,0948
D3	7	9,85	8,0	45,99	6,78159	68,8487
E1	7	9,97857	8,15	54,019	7,34977	73,6555
E2	7	9,07143	7,1	50,2899	7,09154	78,1744
E3	7	10,05	8,4	54,24	7,36478	73,2814
Total	112	9,46134	7,925	45,1675	6,72068	71,0331

La prueba estadística para determinar las diferencias estadísticas fue el análisis de varianza el cual se puede observar en la tabla 3.

Tabla 3

Tabla de análisis de varianzas (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	53,6952	15	3,57968	0,07	1,0000
Intra grupos	4959,9	96	51,6656		
Total (Corr.)	5013,6	111			

En la tabla 3 se observa que la razón-F, que es igual a 0,07 y el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, por lo tanto no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 16 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

5. Discusión

Una de las dificultades que se presentó en la investigación fue que la *Chlorella Vulgaris* son microorganismos que necesitan de una serie de parámetros para un crecimiento poblacional óptimo, ya que son muy delicadas, pero si se observa a tiempo se pueden recuperar, porque la energía lumínica, la temperatura, la aireación principalmente influyen mucho en su crecimiento.

Lo favorable de la microalga *Chlorella Vulgaris* es que en ambientes de alta carga contaminante o altas concentraciones con contaminantes, logra adaptarse de manera eficiente, con facilidad y de manera rápida (Kurade et al, 2017).

La microalga *Chlorella vulgaris* tiene una capacidad de crecimiento de forma factible en un periodo de 30 días, siendo la más favorable con biomasa celular seca y un máximo nivel de sanilidad notándose que la salinidad influye negativamente sobre su crecimiento y su adaptación con el medio (Astocondor et al, 2007). Para el día 0 donde se observó la adaptabilidad y reacción de la microalga a trabajar, se analizó con cuánto de densidad se estaría partiendo el sistema del proyecto, así mismo, se podía observar las posibles complicaciones que podrían representar, ya que la energía lumínica debería permanecer las 24 horas del día, como también la aireación, que tenía que ser constante se utilizó una bomba de aire de 18 W que alimentaba los dieciséis matraces como también el cultivo madre.

Analizando el comportamiento de las microalgas en los primeros en los ocho días de desarrollo experimental se observó gracias a las curvas de crecimiento que tuvo un crecimiento lento en los matraces que contenían arsénico, lo cual pudo haber influenciado en su crecimiento por este compuesto, como también la aireación en las dificultades que se tuvo por la potencia y fuerza de la bomba de aire. En los porcentajes de remoción y los resultados de concentración de arsénico final, solo se pudo analizar éstas muestras en valores a escala de parte por billón (ppb), por lo que solo presentaría un resultado dependiendo de la variación de color en las tiras del test kit de arsénico.

6. Conclusiones

La microalga *Chlorella Vulgaris*, tuvo un crecimiento significativo teniendo en cuenta que los ocho días de análisis y exponiéndose al arsénico, lo que hace favorable para tratamientos en aguas que contienen arsénico de manera eficaz.

Se identificó que la microalga no resultó con complicaciones en el crecimiento poblacional en los tratamientos 1, 2, 3, 4 y 5, que presentaban un tamaño y forma adecuada que resulta ser fácilmente analizable en condiciones de laboratorio.

El crecimiento celular fue casi triplicado por el día 7 y 8, demostrando resistencia ante el arsénico, por parte de la microalga en sí, presentó una alta bioabsorción y/o remoción en las concentraciones de arsénico del tratamiento 20, 40 y 60 %, mientras en el porcentaje de 80 % no había una alta diferencia, mientras que con el tratamiento al 100 % si hubo una diferencia muy reveladora por una coloración que se definió en los resultados.

Aunque no se logró disminuir totalmente el arsénico en todos los tratamientos a niveles permisibles dados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), el estudio del cultivo de microalgas genera un tema discutible en la remoción ya que presenta resultados alentadores que podrían ayudar a las disminuciones de contaminantes existentes en el agua.

7. Referencias bibliográficas

- Barrero Cuevas, L. (2016). Microbiología Clínica. Madrid: Síntesis.
- Comité de Monitoreo Ambiental. (2013). Monitoreo al río Uchusuma revela alta contaminación. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.
- Enriquez Castro, D. (2015). Nivel alto del arsénico y su repercusión en la salud. Ciencia y Desarrollo, 19; 7-10.
- Guillard, R. (1975). Culture of marine invertebrate animals. New York: Plenum Press.
- Hach, C., & Hach, K. (2006). HACH. Obtenido de <https://es.hach.com/>
- Kurade, M., Roh, H.-S., Xiong, J.-Q., & Kim, J. (2017). Ciprofloxacin toxicity and its co-metabolic removal by a freshwater microalga *Chlamydomonas mexicana*. J. Hazard Mater.
- Garza González, M. T., Rivera de la Rosa, J., Lorena Medrano, J. A., & Almaguer Cantú, V. (2010). Bioingeniería ambiental aplicada a una columna empacada con *Chlorella* sp. Inmovilizada para remoción de metales pesados. Ciencia UNAL.
- Rodríguez, J., & Sanchez, J. (2003). Biorremediación: Fundamentos y aspectos microbiológicos. Industria y minería, 12-6.