

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOTECNOLOGÍA**



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

**Remoción de nitrógeno de agua de mar contaminada de
la bahía “El Ferrol” (Chimbote) usando tapetes
microbianos construidos con microalgas**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA**

Autor(a):

**Bach. Cruz Tamariz, Miluska Elena
Código ORCID: 0002-3129-2179**

Asesor(a):

**Dr. Castro Alvarado, Ángel Pablo
DNI N°06451148
Código ORCID:0000-0002-5984-0587**

**NUEVO CHIMBOTE - PERÚ
2024-07-30**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOTECNOLOGÍA**



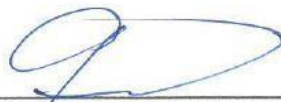
“Remoción de nitrógeno de agua de mar contaminada de la bahía “El Ferrol” (Chimbote) usando tapetes microbianos construidos con microalgas”

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA**

AUTOR:

Bach. Miluska Elena Cruz Tamariz
Código ORCID: 0002-3129-2179

Revisado y aprobado por el asesor:



Dr. Ángel Pablo Castro Alvarado
DNI N°06451148
Código ORCID:0000-0002-5984-0587

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOTECNOLOGÍA**



“Remoción de nitrógeno de agua de mar contaminada de la bahía “El Ferrol” (Chimbote) usando tapetes microbianos construidos con microalgas”

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA**

AUTOR:

Bach. Miluska Elena Cruz Tamariz
Código ORCID: 0002-3129-2179

Revisado y aprobado por el jurado evaluador:

Dr. Willian Robert Capa Robles
Presidente
DNI N° 32969285
Código ORCID: 0000-0003-3402-613X

Dr. Ángel Pablo Castro Alvarado
Integrante
DNI N°06451148
Código ORCID:0000-0002-5984-0587

Ms. José Manuel Villanueva Carlos
Integrante
DNI N°32733772
Código ORCID:0000-0002-5056-0001

ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en la reunión en el Aula Multimedia 3er Piso Facultad de Ciencias de la Facultad de Ciencias de la UNS, dando cumplimiento a la Resolución N° 254-2024-UNS-CFC , siendo las 12:00 horas del día 30 julio del 2024

se reunió el Jurado Evaluador presidido por el Dr. Willian Capa Robles, teniendo como miembros a. Ms. BÍgo MbÍgo José Villanueva Carlos. (secretario) (a) y al . Dr. Ángel Castro Alvarado (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA, realizado por él, (la), (los) tesista (as) Miluska Elena Cruz Tamariz de la Escuela Profesional de Biotecnología .quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada:

“Remoción de nitrógeno de agua de mar contaminada de la bahía “El Ferrol” (Chimbote) usando tapetes microbianos construidos con microalgas”.

Terminada la sustentación, el (la), (los) tesista (as)s respondió (ieron) a las preguntas formuladas por los miembros del jurado.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como **BUENO** asignándole un calificativo de Dieciocho (18) puntos. Según artículo 111° del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 580-2022-CU-R-UNS)

Siendo las 14:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad



Nombre: Dr. Willian Capa Robles
Presidente



Nombre: Ms. José Villanueva Carlos
Secretario



Nombre: Dr. Ángel Castro Alvarado
Integrante

Distribución: Integrantes JE (03), tesistas () y archivo FC (02).

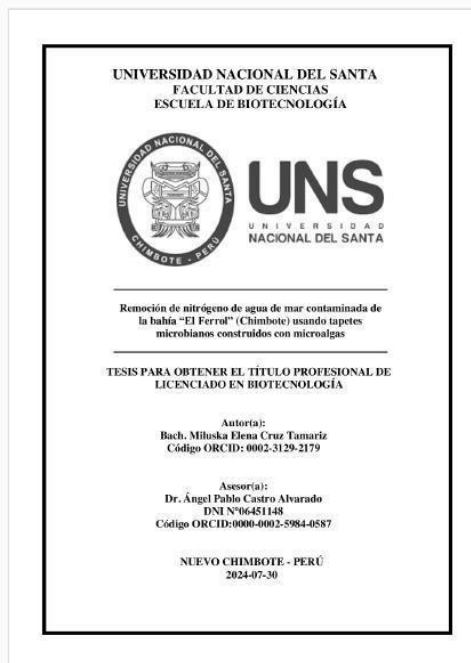


Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Miluska Elena Cruz Tamariz
Título del ejercicio: Quick Submit
Título de la entrega: Remoción de nitrógeno de agua de mar contaminada de la ...
Nombre del archivo: M_Cruz_Tamariz_-Tesis_Pre_Grado_-_Revisado_WCR_-_ACA_-_J...
Tamaño del archivo: 3.45M
Total páginas: 103
Total de palabras: 20,469
Total de caracteres: 114,994
Fecha de entrega: 02-ago.-2024 09:28a. m. (UTC-0500)
Identificador de la entre... 2426296507



Remoción de nitrógeno de agua de mar contaminada de la bahía "El Ferrol" (Chimbote) usando tapetes microbianos construidos con microalgas

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	documents.mx Fuente de Internet	1%
2	cibnor.repositorioinstitucional.mx Fuente de Internet	1%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
4	ddd.uab.cat Fuente de Internet	1%
5	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	<1%
6	www.repositorio.usac.edu.gt Fuente de Internet	<1%
7	ECOFISH S.A.. "EIA-SD para la Instalación de una Planta de Curado con Capacidad de 284.5 t/mes Ubicada en el Distrito de Chimbote, Áncash-IGA0003765", R.D. N° 141-2016-PRODUCE/DGCHD, 2020	<1%

DEDICATORIA

A mi hermanito Renzo Cruz, eres mi razón de ser mejor cada día, mi inspiración y mi mayor alegría. Agradezco infinitamente tu amor incondicional y tu constante motivación, que han sido pilares fundamentales en este camino hacia mi tesis. Quiero ser para ti un ejemplo de esfuerzo y dedicación. Cada logro mío es tuyo.

AGRADECIMIENTO

A mis maestros, amigos y compañeros de la E.P de Biotecnología, por guiarme durante todo el proceso de aprendizaje.

A mi asesor el Dr. Ángel Castro Alvarado por guiarme y brindarme información importante para desarrollar mi proyecto.

Al Blgo. Eterio Alva, por no sólo ser un buen profesor, sino también un amigo y consejero para todos sus alumnos,

A la Blga. Zoraida, por siempre estar a disposición de brindarme su apoyo. A mi buen amigo Bruno, por su apoyo con mi investigaci

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	i
ÍNDICE GENERAL	iii
LISTA DE TABLAS	v
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Descripción y formulación del problema.....	3
1.2. Objetivos	4
1.3. Formulación de la hipótesis.....	5
1.4. Justificación	5
1.5. Importancia	7
II. MARCO TEORICO	8
2.1. Antecedentes	8
2.2. Marco conceptual.....	19
III. METOLOGÍA	29
3.1. Diseño de Investigación	29
3.2. Población y muestra	30
3.3. Limitaciones.....	31
3.4. Materiales y métodos	32
3.4.1. Recolección y crecimiento de diatomeas y cianobacterias que conforman los tapetes microbianos.....	32

3.4.2.	Construcción de los tapetes microbianos	35
3.4.3.	Construcción de los sistemas de aireación	37
3.4.4.	Identificación de los microorganismos	38
3.4.5.	Diseño y preparación del agua de mar sintética	39
3.4.6.	Descripción de la muestra “blanco”	40
3.4.7.	Cuantificación de contaminantes en agua de mar	40
3.4.8.	Tratamiento de biorremediación	46
3.4.9.	Determinación de la calidad del Agua de mar costero- marina de la Bahía El Ferrol	48
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1.	Evaluación de la remoción de contaminantes por acción de tapetes microbianos construidos	49
4.1.1.	Evaluación de remoción de Amonio (NH ₄)	49
4.1.2.	Evaluación de remoción de Nitrito (NO ₂).....	53
4.1.3.	Evaluación de remoción de Nitrato (NO ₃).....	58
4.1.4.	Análisis del % Remoción de nitrógeno usando tapetes microbianos construidos	62
4.2.	Evaluación de la significancia en la remoción de NH ₄ +, NO ₂ -, NO ₃ -, en el tiempo	65
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	73
5.1.	Conclusiones	73
5.2.	Recomendaciones.....	74
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
VII.	ANEXO	81

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental al azar	30
Tabla 2. Diseño de un medio de cultivo selectivo para diatomeas y cianobacterias.	32
Tabla 3. Parámetros físicos del Agua de Mar de la Bahía “El Ferrol”	33
Tabla 4. Medio de cultivo para la etapa de maduración de los tapetes microbianos	35
Tabla 5. Concentraciones Celulares de Tapetes Microbianos construidos	36
Tabla 6. Composición del Agua de Mar Sintética	39
Tabla 7. Soluciones patrón de Nitratos	41
Tabla 8. Absorbancias para la curva de calibración de Nitratos	42
Tabla 9. Concentración de Nitratos en Agua de Mar de la bahía “El Ferrol”	42
Tabla 10. Soluciones patrón para Nitrito	43
Tabla 11. Absorbancias para la curva de calibración de Nitritos	44
Tabla 12. Concentración de Nitritos en Agua de Mar de la bahía “El Ferrol”	45
Tabla 13. Concentración de Amonio en Agua de Mar de la bahía “El Ferrol”	46
Tabla 14. Parámetros Promedio de Amonio, Nitritos y Nitratos en el agua de mar contaminada de la bahía “El Ferrol”	46
Tabla 15. Calidad del agua de mar de la bahía el Ferrol. Resultados presentados con su desviación estándar.	48
Tabla 16. Valores promedio y desviación estándar obtenidos en la remoción de Amonio en agua de mar sintética en 7 días	49
Tabla 17. Valores promedio y desviación estándar obtenidos en la remoción de Nitrito en agua de mar sintética en 7 días.	53
Tabla 18. Valores promedio y desviación estándar obtenidos en la remoción de Nitrato en agua de mar sintética en 7 días.	58
Tabla 19. Porcentaje de remoción de amonio obtenido en un periodo de 168 horas (7días)	62
Tabla 20. Porcentaje de remoción de Nitrito obtenido en un periodo de 168 horas (7días)	63
Tabla 21. Porcentaje de remoción de Nitrato obtenido en un periodo de 168 horas (7días)	64
Tabla 22. Efectividad de la remoción establecida por primer tratamiento (T1)	66
Tabla 23. Efectividad de la remoción del segundo Tratamiento (T2)	67

Tabla 29. Fuentes de contaminación por vertimiento de Aguas residuales. Sistema de información Geográfica – Ministerio de Ambiente.	81
Tabla 30. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 0)	84
Tabla 31. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 2)	84
Tabla 32. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 3)	84
Tabla 33. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 4)	84
Tabla 34. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 5)	85
Tabla 35. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 7)	85
Tabla 36. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 0)	85
Tabla 37. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 2)	85
Tabla 38. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 3)	86
Tabla 39. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 4)	86
Tabla 40. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 5)	86
Tabla 41. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 7)	86
Tabla 42. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 0)	87
Tabla 43. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 1)	87
Tabla 44. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 3)	87
Tabla 45. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 4)	87
Tabla 46. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 5)	88
Tabla 47. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 7)	88
Tabla 48. Prueba T para validar resultados obtenidos en el tratamiento 1.	89
Tabla 49. Prueba T para validar resultados obtenidos en el tratamiento 2.	90

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Microorganismos que conforman un tapete microbiano, grupos de microorganismos presentes en el tapete microbianos	16
Figura 2. Ciclo biogeoquímico del Nitrógeno. Fuente: Página web: entuacuario.com/ciclo-nitrógeno-acuario	22
Figura 3. Imágenes de microscopía óptica que muestran microorganismos característicos de los tapetes microbianos aislados de la bahía “El Ferrol” (Chimbote, Perú) entre agosto y octubre del 2018.....	38
Figura 4. Curva de Calibración para Nitratos (NO_3) por espectrofotometría UV selectivo	42
Figura 5. Curva de calibración para NO_2 usando el método colorimétrico por espectrofotometría	44
Figura 6. Remoción de Amonio usando tapetes microbianos construidos.....	49
Figura 7. Remoción de Nitrito usando tapetes microbianos construidos.....	54
Figura 8. Remoción de Nitrato usando tapetes microbianos construidos	58
Figura 9. Ruta metabólica del Nitrógeno en la fase de nitrificación para Nitrato.....	67
Figura 10. Fuentes de contaminación por vertimiento de aguas residuales. Chimbote - Bahía "El Ferrol" (Ministerio de Ambiente).....	81
Figura 11. Parámetros para la conservación de ambientes acuáticos. Estándar nacional de calidad ambiental del Agua –Perú D.S. N° 004-2017-MINAM	83
Figura 12. Cultivos celulares de Cianobacterias y Diatomeas	90
Figura 13. A. Algodón fibra de vidrio. B. Tapetes microbianos construidos.....	91
Figura 14. Incubación de los tapetes microbianos construidos.....	91
Figura 15. A y B. Preparación de medios de cultivo, C. Siembra de microorganismos, D. Aislamiento de microorganismos.....	91

“REMOCIÓN DE NITROGENO EN AGUA DE MAR CONTAMINADA DE LA BAHIA EL FERROL, USANDO TAPETES MICROBIANOS CONSTRUIDOS CON MICROALGAS”

RESUMEN

La constante contaminación en la bahía “El Ferrol” de la ciudad de Chimbote es un grave problema que afecta tanto a la ciudadanía como al sector pesquero. Esta contaminación ha causado un significativo retraso hidrobiológico, y hasta el momento no se ha implementado una medida de contingencia efectiva para reducir su impacto. En este trabajo de investigación, se evaluaron los efectos de diferentes consorcios de diatomeas y cianobacterias en tapetes microbianos contruidos diseñados para la remoción de compuestos como NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , presentes en el agua de mar. Los microorganismos utilizados fueron aislados de muestras de efluente superficial obtenidas de la bahía “El Ferrol” y cultivados en medios de cultivo selectivos. Posteriormente, se inmovilizaron en matrices circulares de algodón sintético tipo fibra de vidrio.

Se construyeron tapetes microbianos con una concentración de microalgas de 1×10^6 células/mL, además de un grupo de control. Los ensayos se realizaron en recipientes estériles con aireación, y se identificaron las diatomeas que conformaban los tapetes mediante técnicas de microscopía óptica. Para la determinación de los analitos como de NH_4^+ , se utilizó el método Kjeldahl, mientras que para NO_2^- y NO_3^- , se emplearon técnicas de espectrofotometría.

Se analizó la eficacia de remoción durante un periodo inicial de 48 horas y final de 168 horas, tanto en agua de mar natural como sintética. Los resultados indicaron una mayor eficiencia en la remoción de “N” en agua de mar natural, con una remoción de 0.440 ppm para Amonio (NH_4) en el primer tratamiento (T1) y de 0.320 ppm en el segundo tratamiento (T2); 0.380 ppm para Nitrito (NO_2) en T1 y 0.363 ppm en T2; y 1.164 ppm para Nitrato (NO_3) en T1 y 0.762 ppm en T2. Estos resultados fueron evaluados mediante la prueba de “t” de Student con un nivel de significancia de $p < 0.1$. Se concluyó que los tapetes microbianos contruidos presentan una buena capacidad de remoción de compuestos nitrogenados en agua de mar, siendo más eficientes en condiciones naturales que en agua sintética.

Palabras claves: Consorcios microbianos, tapetes microbianos contruidos, efluente superficial, espectrofotometría, remoción.

“REMOVAL OF NITROGEN IN CONTAMINATED SEA WATER FROM EL FERROL BAY, USING MICROBIAL MATS BUILT WITH MICROALGAE”

ABSTRACT

The constant pollution in El Ferrol Bay in the city of Chimbote is a serious problem affecting both the population and the fishing sector. This pollution has led to significant hydrobiological setbacks, and thus far, no effective contingency measure has been implemented to reduce its impact.

This research evaluated the effects of different consortia of diatoms and cyanobacteria in microbial mats designed for the removal of compounds such as NH_4^+ , NO_2^- , and NO_3^- present in seawater. The microorganisms used were isolated from samples of surface effluent obtained from El Ferrol Bay and cultured in selective media. Subsequently, they were immobilized in circular matrices of synthetic fiberglass cotton.

Microbial mats were constructed with a concentration of microalgae at 1×10^6 cells/mL, alongside a control group. Trials were conducted in sterile containers with aeration, and the diatoms constituting the mats were identified using optical microscopy. The Kjeldahl method was employed for NH_4^+ analysis, while spectrophotometric techniques were used for NO_2^- and NO_3^- determination.

Removal efficiency was analyzed over an initial period of 48 hours and a final period of 168 hours in both natural and synthetic seawater. Results indicated higher removal efficiency of nitrogen in natural seawater, with removal of 0.440 ppm for Ammonium (NH_4^+) in the first treatment (T1) and 0.320 ppm in the second treatment (T2); 0.380 ppm for Nitrite (NO_2^-) in T1 and 0.363 ppm in T2; and 1.164 ppm for Nitrate (NO_3^-) in T1 and 0.762 ppm in T2. These results were evaluated using Student's t-test with a significance level of $p < 0.1$.

In conclusion, the constructed microbial mats demonstrate a strong capacity for removing nitrogen compounds from seawater, showing greater efficiency under natural conditions compared to synthetic water.

Keywords: Microbial consortia, constructed microbial mats, surface effluent, spectrophotometry, removal."

I. INTRODUCCIÓN

La constante contaminación por efluentes domésticos e industriales ha provocado con el pasar de los años un impacto ecológico en la biodiversidad costero – marina de la bahía “El Ferrol” en la ciudad de Chimbote, lo que ha provocado un retraso hidrobiológico y pérdidas en el sector pesquero de la región que una vez fue denominada “El primer puerto pesquero del mundo”.

La bahía “El Ferrol” actualmente se encuentra entre las áreas más contaminadas de la costa peruana, principalmente debido a los residuos generados por la actividad industrial pesquera y siderúrgica, así como por los desechos domésticos y los derrames de petróleo asociados a las operaciones portuarias (Guillén et al., 1998). Estos residuos contienen concentraciones elevadas de nitrógeno y fósforo, hasta tres veces superiores a los límites permitidos en los ecosistemas marinos (Park et al., 2011). Las descargas de efluentes también contribuyen a estas altas concentraciones de nutrientes, los cuales afectan significativamente la biodiversidad marina (Zamora, 2004).

Se han implementado diversas técnicas de depuración del agua en todo el mundo, como las plantas de tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, el efluente secundario generado por estos sistemas aún contiene niveles significativos de nutrientes inorgánicos disueltos, lo que puede desencadenar el fenómeno de eutrofización en cuerpos de agua. Este proceso conlleva un crecimiento descontrolado de algas y plantas acuáticas, reduciendo los niveles de oxígeno en el agua y perturbando el equilibrio del ecosistema, lo que resulta en impactos negativos para la vida acuática (Staub, 1989). En esta coyuntura, se hace necesario implementar sistemas de tratamiento ambiental innovadores y alternativos, en línea con los avances de la biotecnología ambiental y los principios de la biorremediación. Esta

última se refiere a la utilización de seres vivos o sus derivados para mitigar los impactos negativos en el medio ambiente, eliminando y transformando los contaminantes de forma rápida y menos perjudicial para el ecosistema. Dentro de estas alternativas se destacan los tapetes microbianos, sistemas complejos y autosustentables que incluyen diversas poblaciones de microorganismos con diferentes capacidades metabólicas (López, 2008). Los microorganismos presentes en los tapetes microbianos tienen una distribución global, habitando en entornos marinos, de agua dulce y terrestres, y mostrando una notable tolerancia a diferentes condiciones como pH, temperatura, salinidad, oxígeno y concentración de CO₂ (Barsanti & Gualtieri, 2006). Esta versatilidad los convierte en herramientas eficaces para la biorremediación de contaminantes inorgánicos que afectan los ecosistemas marinos. En zonas altamente contaminadas como la bahía “El Ferrol”, el uso de tapetes microbianos construidos emerge como una alternativa ecológicamente viable y económica para la remoción de compuestos de nitrógeno.

Tomando como referencia lo eficiente que resultaría la biorremediación usando tapetes microbianos construidos en ambientes marinos, este trabajo de investigación evaluó el comportamiento en base a la remoción de nitrógeno de algunos consorcios microbianos mixtos de cianobacterias y diatomeas, establecidos en tapetes microbianos construidos, de manera *ex – situ* creando microcosmos con la finalidad de obtener resultados favorables y establecer un método de biorremediación sustentable para la bahía “El Ferrol”.

1.1. Descripción y formulación del problema

La bahía El Ferrol, ubicada en una región marina de vital importancia, enfrenta actualmente graves problemas de contaminación por nitrógeno en forma de amonio, nitritos y nitratos. Estos contaminantes son conocidos por su impacto devastador en la vida acuática, inhibiendo el crecimiento y reproducción de especies clave como peces y crustáceos. Esta situación no solo compromete la biodiversidad local, sino que también amenaza la sostenibilidad de la pesca en la zona.

El enfoque convencional de tratamiento de aguas residuales terrestres no siempre es adecuado para ambientes marinos, debido a las características únicas y dinámicas de estos ecosistemas costeros. Por lo tanto, se requiere desarrollar y evaluar métodos innovadores y específicos para la remoción efectiva de nitrógeno en el agua de mar de la bahía El Ferrol.

En respuesta a esta problemática, esta investigación se centra en la implementación de tapetes microbianos contruidos compuestos por diatomeas y cianobacterias. Estos tapetes representan una alternativa prometedora que combina biotecnología ambiental con biorremediación, ofreciendo un método potencialmente eficaz para mitigar la contaminación por nitrógeno. El objetivo es establecer tanto en condiciones controladas (ex situ) la capacidad de estos tapetes para remover amonio, nitrito y nitrato del agua de mar contaminada.

Al abordar este problema, se busca no solo proporcionar una solución técnica y efectiva para la bahía El Ferrol, sino también sentar las bases para futuras

estrategias de gestión ambiental en áreas costeras afectadas por problemas similares de contaminación por nutrientes.

Problema:

¿Es posible realizar la remoción de nitrógeno de agua de mar contaminada de la bahía “El Ferrol” (Chimbote) usando tapetes microbianos construidos con microalgas?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

- Evaluar la remoción de nitrógeno en agua de mar contaminada de la bahía “El Ferrol”, de manera ex situ usando tapetes microbianos construidos.

1.2.2. Objetivos específicos

- Construir los tapetes microbianos usando algodón sintético fibra de vidrio comercial.
- Identificar los grupos taxonómicos de las microalgas que formarán parte del tapete microbiano.
- Evaluar la remoción de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , del agua de mar pre y post tratamiento de Biorremediación mediante tapetes microbianos.
- Evaluar la significancia de la remoción de nitrógeno en el tiempo

1.3. Formulación de la hipótesis

Mediante el uso de tapetes microbianos construidos en agua de mar contaminada de la bahía “El Ferrol”, se espera una significativa remoción de los niveles de amonio, nitrito y nitrato, mayor del 20%.

1.4. Justificación

La contaminación por compuestos orgánicos e inorgánicos en cuerpos de agua dulce y marinos, resultado de la actividad humana, ha tenido un impacto significativo en los ecosistemas, los recursos acuáticos y la salud humana (Lizárraga, 1974). Entre estos contaminantes, altas concentraciones de nitrógeno provenientes de efluentes industriales han generado efectos adversos notables en el ecosistema marino (Zamora, 2004).

En la provincia del Santa, específicamente en la bahía "El Ferrol", no se ha implementado hasta la fecha ninguna técnica de biorremediación que pueda garantizar la remoción efectiva de estos contaminantes. Las acciones actuales se limitan a la recolección manual de residuos sólidos como una solución superficial, mientras que las vedas se utilizan para mantener la pesca sostenible, aunque con resultados insatisfactorios a largo plazo.

Se estima que el volumen total de aguas residuales que ingresan a la bahía "El Ferrol", provenientes de diversas fuentes como la industria pesquera y siderúrgica, así como las descargas domésticas, es considerablemente alto (Ministerio de Ambiente, 2009). Esto ha dado lugar a la acumulación de

materia orgánica en forma de "efluente" en lo profundo de la bahía, un problema que requiere soluciones eficientes y sostenibles.

Los métodos convencionales de tratamiento de aguas residuales utilizados actualmente son costosos y pueden generar contaminación secundaria. Por tanto, se necesitan enfoques alternativos y novedosos en el ámbito de la biotecnología ambiental, específicamente la biorremediación. Esta técnica se basa en el uso de organismos vivos o sus productos para eliminar y transformar los contaminantes de manera más rápida y menos perjudicial para el entorno (Dumas et al., 1998).

En este contexto, se plantea el uso de tapetes microbianos construidos como una estrategia de biorremediación económicamente viable y respetuosa con el medio ambiente para reducir las concentraciones de nitrógeno en el agua de mar de la bahía "El Ferrol". Estos tapetes, constituidos por microorganismos autóctonos, representan un micro-ecosistema integrado en una matriz extracelular que puede simular de manera efectiva las condiciones marinas (López, 2008).

El objetivo de esta investigación es evaluar la eficiencia de los tapetes microbianos construidos en la remoción de nitrógeno, especialmente amonio, nitritos y nitratos, en un ambiente simulado de la bahía "El Ferrol". Esto contribuirá a comprender mejor el potencial de esta técnica como una solución efectiva y sostenible para abordar la contaminación por nitrógeno en ecosistemas marinos costeros.

1.5. Importancia

La presencia de nitrógeno en formas como amonio, nitritos y nitratos en ambientes marinos representa un riesgo significativo para la vida acuática, afectando negativamente el crecimiento y la reproducción de peces y crustáceos. Esta contaminación puede llevar a un deterioro severo de los ecosistemas marinos, comprometiendo la sostenibilidad de la pesca en la bahía El Ferrol.

Mi investigación se enfoca en la remoción eficiente de estos contaminantes utilizando tapetes microbianos construidos. Estos tapetes, compuestos por diatomeas y cianobacterias, ofrecen una prometedora alternativa ecológica para la biotecnología ambiental y la biorremediación. Este enfoque no solo busca eliminar el nitrógeno del agua de mar, sino también establecer métodos innovadores tanto ex situ como in situ, adaptados específicamente al entorno costero de la bahía El Ferrol.

El éxito de este estudio podría marcar un hito en la preservación del ambiente acuícola local, contribuyendo a la recuperación de la riqueza hidrobiológica y promoviendo prácticas más sostenibles en la gestión de recursos marinos. Así, se propone una solución viable y sostenible para mitigar la contaminación por nitrógeno en esta importante bahía, evaluando con precisión la eficacia de los tapetes microbianos construidos en la remoción de amonio, nitrito y nitrato en el agua de mar.

II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

La Bahía “El Ferrol” se localiza geográficamente entre el Océano Pacífico y la zona costera de Chimbote, en la provincia del Santa, departamento de Ancash, a una distancia de aproximadamente 450 km al norte de la ciudad de Lima. Con una extensión de 11.1 km de largo y 6.5 km de ancho según datos del Ministerio de Ambiente en 2009, esta bahía se encuentra cercana a diversas industrias pesqueras, una planta siderúrgica (SIDERPERÚ) y la población local, quienes han utilizado históricamente la bahía como lugar de disposición de sus desechos y residuos sólidos (consultar ANEXO 1). Este uso prolongado ha generado cambios significativos en los aspectos físicos, químicos y biológicos del agua y el suelo de la bahía, lo que ha tenido un impacto grave en la biodiversidad marina, el paisaje, la geomorfología y la potencialidad recreativa de la playa (Ministerio de Ambiente, 2009).

La bahía, debido a su configuración cerrada y poco profunda que le confería características únicas, se vio afectada por una rápida perturbación. Grandes cantidades de materia orgánica de la industria pesquera y metales de la siderurgia quedaron atrapadas en ella, dando lugar a un retraso en su entorno hidrobiológico y formando alrededor de 53 millones de metros cúbicos de sedimentos, con profundidades que en algunos puntos superan los 2,5 metros (Aquahoy, 2013). Se identificaron 50 puntos de descarga de aguas residuales directamente hacia la Bahía “El Ferrol”, incluyendo:

- 26 descargas de aguas residuales industriales de empresas pesqueras que generan 2000 L/s, 58 060 800 $m^3/año$

- 01 descarga de SIDERPERU de aguas residuales industriales que genera 200 L/s, 5 806 080 m³/año.
- El volumen total de aguas residuales domésticas generadas es de 452.8 l/s, 1135 727 309m³/año², provenientes de:
 - 11 descargas de aguas residuales domésticas corresponden a la EPS SEDACHIMBOTE.
 - 07 descargas de aguas residuales domésticas de los drenes de la ciudad y 05 descargas de aguas residuales domésticas provienen de industrias.

Por consiguiente, el volumen total de aguas residuales provenientes de la industria pesquera, de la siderúrgica y domésticas que ingresan a la bahía “El Ferrol” es en promedio de 2 652,8 L/s, todas las descargas directas a la bahía provienen del distrito de Chimbote (Ministerio de Ambiente, 2009).

En los últimos años, ha habido un aumento significativo en la atención prestada por muchos países hacia la contaminación y la conservación del medio ambiente terrestre y marino. Esto se debe al incremento en la presión antropogénica sobre los ecosistemas marinos, especialmente en las zonas costeras. Como respuesta a esta situación, se han establecido leyes y normativas destinadas a reducir total o parcialmente los contaminantes (Dumas et al., 1998). Sin embargo, estos esfuerzos han estado mayormente enfocados en diagnosticar la contaminación, con una falta notable de protocolos de tratamiento para mitigar o eliminar los contaminantes identificados (Zamora, 2004).

La bahía “El Ferrol” ha sido identificada como una de las áreas más contaminadas a lo largo de la costa peruana. Este problema se origina principalmente por los desechos generados por la actividad industrial pesquera y siderúrgica, así como por los residuos domésticos y los derrames de petróleo durante las operaciones portuarias (Guillén et al., 1998). Esta contaminación continua en la bahía ha dado lugar al fenómeno de eutrofización, causado por la liberación de compuestos orgánicos e inorgánicos en el medio marino (Lavoie & de la Noüe, 1985). Se ha observado que las concentraciones de nitrógeno en esta área pueden superar hasta tres veces o más los niveles normales (Park et al., 2011), siendo las descargas de efluentes las que liberan altas concentraciones de nitrógeno y fosforo afectando al ecosistema marino (Zamora, 2004).

Debido a la constante contaminación, se han desarrollado métodos de depuración, como las plantas de tratamiento de aguas residuales, que emplean procesos mecánicos, físicos y químicos para eliminar materiales (tratamiento primario) y oxidar la materia orgánica (tratamiento secundario) (Staub, 1989). Sin embargo, el efluente secundario resultante de estas plantas aún contiene altas concentraciones de nutrientes inorgánicos disueltos, lo que puede provocar eutrofización (crecimiento excesivo de organismos por sobrecarga de nitrógeno) al ser descargado en sistemas acuáticos. Aunque existen varios métodos tecnológicos para eliminar iones inorgánicos como amonio, nitratos y metales pesados, suelen ser costosos y a veces generan contaminación adicional (Zamora, 2004). Ante esta situación, se requieren sistemas de tratamiento biológico innovadores, en consonancia con la biotecnología ambiental y los principios de la biorremediación.

Las primeras investigaciones en biorremediación se enfocaron en la limpieza de derrames de petróleo, seguidos de compuestos como los organoclorados y organofosforados. Estos estudios demostraron la capacidad de los microorganismos para absorber y degradar tanto compuestos orgánicos naturales como sintéticos, lo cual es el objetivo central de la biorremediación (Tejedor, 2006). Los procesos de degradación biológica, donde los microorganismos actúan sobre los contaminantes, son particularmente destacables como posibles métodos de descontaminación, entre dichos procesos alternativos están el uso tapetes microbianos. La biorremediación del nitrógeno en agua de mar emplea microorganismos y organismos marinos para reducir los niveles de compuestos nitrogenados, contribuyendo al equilibrio del ciclo del nitrógeno en el ecosistema marino (García, 2020).

Las diatomeas son microorganismos fotosintéticos unicelulares que se caracterizan por su caparazón de sílice y su importancia en la producción de oxígeno y la fijación de carbono en ambientes acuáticos (Bosco, 2011). Las diatomeas desempeñan un papel significativo en la remoción de nitrógeno en ambientes acuáticos mediante la incorporación y utilización de compuestos nitrogenados en su metabolismo, así como a través de procesos de desnitrificación (Martínez, 2020).

Las cianobacterias son microorganismos fotosintéticos que pueden fijar nitrógeno atmosférico, contribuyendo así a la disponibilidad de nutrientes en los ecosistemas (López, 2021). Las cianobacterias contribuyen a la remoción de nitrógeno en ambientes acuáticos mediante la fijación de nitrógeno atmosférico y su incorporación en procesos metabólicos (García, 2022).

Los tapetes microbianos, también conocidos como biopelículas, son estructuras laminadas conformadas por diversas comunidades de microorganismos que se establecen en la interfaz entre el agua y superficies sólidas (Giraldo, 2011). Estas comunidades requieren de una superficie física para adherirse, ya que están compuestas por microorganismos unidos a partículas y sedimentos, siendo su elemento común una matriz de polisacáridos, ADN y proteínas que forman una sustancia polimérica extracelular (Giraldo, 2011). Los tapetes microbianos representan microecosistemas acuáticos integrados por microorganismos con diversas estrategias energéticas, inmersos en una matriz extracelular (Lopez, 2008). Estos consorcios microbianos se adhieren a sustratos formando complejas biopelículas estratificadas en capas delgadas, a menudo asociadas a minerales (Lopez, 2008). Los microorganismos que componen los tapetes microbianos están ampliamente distribuidos a nivel global, encontrándose en diversos entornos como ambientes marinos, de agua dulce y terrestres. Estos microorganismos exhiben una amplia tolerancia a factores ambientales como el pH, la temperatura, la salinidad, el oxígeno y la concentración de CO₂ (Barsanti & Gualtieri, 2006).

Los tapetes microbianos construidos, compuestos por una matriz de microorganismos como diatomeas y cianobacterias, han emergido como una tecnología prometedora en diversos campos de la biotecnología ambiental. Estos sistemas biomiméticos no solo imitan las estructuras y funciones de los tapetes microbianos naturales presentes en ecosistemas acuáticos, sino que también han demostrado eficacia en la mitigación de contaminantes y la restauración de ambientes degradados (Gómez & Pérez, 2019).

La eficiencia de los tapetes microbianos construidos radica en su capacidad para llevar a cabo procesos biogeoquímicos clave, como la fijación de carbono, la desnitrificación y la oxidación-reducción de metales pesados, entre otros (White et al., 2017). Estos procesos son fundamentales para la biorremediación de contaminantes en diferentes tipos de cuerpos de agua, incluyendo ecosistemas marinos costeros.

Aplicados específicamente en la remoción de nitrógeno, los tapetes microbianos construidos han sido diseñados para aprovechar la capacidad metabólica de las diatomeas y cianobacterias en la transformación y absorción de compuestos nitrogenados como amonio, nitrito y nitrato (Martínez & Rodríguez, 2016). Este enfoque no solo busca reducir la carga de nutrientes en los ecosistemas acuáticos, sino también restaurar la calidad del agua y favorecer la recuperación de la biodiversidad marina.

En la segunda mitad del siglo XVIII y principios del XIX, se consideraba que los ambientes hipersalinos como lagos, esteros, planicies evaporíticas y cuerpos de agua costeros de poca profundidad eran inhóspitos para la vida o completamente estériles (Litchfield et al., 1999). Estos lugares se veían principalmente como sistemas para la extracción y producción de sales. Incluso después de que Antonie van Leeuwenhoek, un científico holandés, observara bacterias y otros microorganismos por primera vez en la historia (sus descubrimientos se reportaron en cartas enviadas a la Royal Society of England en 1684), las interacciones ecológicas entre estos microorganismos y los grupos de plantas, animales y hongos seguían siendo desconocidas. Charles Darwin, durante su viaje por la Patagonia y su visita al lago interno

"El Carmen", identificó lo que ahora llamamos tapetes microbianos como formas de vida en descomposición (Litchfield et al., 1999).

Paerl et al. (2000) destacan que la formación de consorcios microbianos emerge como la opción más viable para la vida en ambientes extremos, los cuales son inhóspitos para la mayoría de las formas de vida animal y vegetal. Los tapetes microbianos se erigen como el modelo óptimo para estudiar estos consorcios y ofrecen la mejor oportunidad para prosperar en condiciones adversas. Los tapetes microbianos son comunidades biológicas formadas por microorganismos que se adhieren a una superficie, desempeñando roles clave en la biogeoquímica de los ecosistemas (Sánchez, 2018). Para acelerar la eliminación de contaminantes y asegurar la restauración de ecosistemas dañados, se utilizan técnicas de biorremediación. Esta forma avanzada de biotecnología ambiental aprovecha la actividad metabólica de microorganismos como bacterias, levaduras, algas y tapetes microbianos (Barrios, 2011). Según la clasificación taxonómica, de manera general los microorganismos que constituyen la comunidad microbiológica de los tapetes microbianos existen en tres agrupaciones principales denominadas "Dominios". Los dominios representan la máxima agrupación taxonómica (Lopez, 2008).

Actualmente, se observa una tendencia creciente hacia la aplicación de estos sistemas en contextos costeros y marinos, donde la gestión integrada de la calidad del agua y la conservación de los recursos acuáticos son prioridades emergentes (Chen & Wang, 2021). La versatilidad de los tapetes microbianos construidos para adaptarse a diferentes condiciones ambientales y la posibilidad de implementación tanto ex situ como in situ los posicionan como

una herramienta clave en estrategias de restauración ecológica y sostenibilidad ambiental.

Woese et al. (1990) propusieron un sistema de clasificación de todos los seres vivos basado en tres Dominios: Eucaria, Arquea y Bacteria, presentes en un árbol filogenético universal. El Dominio Eucaria está constituido principalmente por organismos con células que contienen núcleo verdadero y organelos como cloroplastos y mitocondrias. En contraste, los dominios Bacteria y Arquea engloban microorganismos unicelulares con células microscópicas que exhiben una combinación única de características celulares.

Los tapetes microbianos pueden albergar complejas comunidades microbianas que se estratifican en profundidad, influenciadas por los variados gradientes de luz, oxígeno, sulfuro de hidrógeno y potencial redox, así como por su propia fisiología. A nivel macroscópico, se pueden observar laminaciones de diversos colores que reflejan la composición taxonómica presente (Barrios, 2011). Las capas superficiales están dominadas por poblaciones fototróficas oxigénicas como cianobacterias y algas eucariotas, mientras que las bacterias heterotróficas consumen materia orgánica y oxígeno en estas capas. En las capas más profundas, bajo condiciones adecuadas, se encuentran bacterias anaeróbicas fototróficas y heterotróficas (Barrios, 2011). Los tapetes microbianos fotosintéticos representan ecosistemas autosustentables y diversos, con microorganismos que incluyen fotoautótrofos, fotoheterótrofos, quimioautótrofos y heterótrofos (López, 2008). En la actualidad, las cianobacterias son reconocidas como un grupo

filogenético crucial para el desarrollo y mantenimiento de los tapetes microbianos (Des, 2003).

Se ha observado que cualquier superficie sumergida por más de una hora se cubre con diversos microorganismos, como bacterias, protozoarios y algas (cuando los niveles de luz son adecuados), formando así una comunidad en la superficie. Estas comunidades acuáticas microbianas son conocidas como biopelículas, que consisten en poblaciones que provienen de células individuales con una actividad metabólica similar, y tapetes microbianos, que son grandes agrupaciones poblacionales (Sánchez & Torres, 2005).

Las biopelículas y los tapetes microbianos difieren en su composición de especies, su estratificación y su tamaño. A pesar de estas diferencias, ambos están asociados con la precipitación mineral, y los microorganismos presentes en estas comunidades tienen la capacidad de descomponer los compuestos orgánicos en compuestos inorgánicos mediante la mineralización (Sánchez & Torres, 2005).

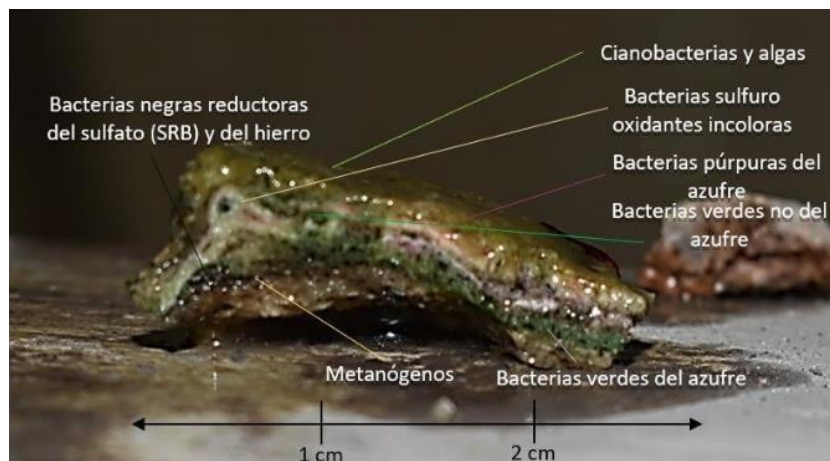


Figura 1. Microorganismos que conforman un tapete microbiano, grupos de microorganismos presentes en el tapete microbianos. Fuente (El Avileño, N.L., México)

Las biopelículas y los tapetes microbianos se pueden encontrar en los cascos de embarcaciones y en instalaciones industriales donde el flujo de agua es constante. Además, se forman de manera natural en ambientes como los lechos rocosos de ríos y los sedimentos en cuerpos de agua como lagos, estuarios y mares (Sánchez & Torres, 2005). Estas comunidades microbianas contribuyen a la autopurificación del agua al degradar compuestos orgánicos y transformarlos en formas inorgánicas, mientras absorben contaminantes para reducir su impacto en el ecosistema. Debido a estas capacidades, las biopelículas en entornos naturales se utilizan en el tratamiento de aguas residuales y en la gestión de desechos, mostrando aplicaciones biotecnológicas diversificadas (Sánchez & Torres, 2005).

Por lo tanto, surge el interés en investigar la diversidad de microorganismos nativos presentes en los tapetes microbianos, tanto para evaluar el impacto de la contaminación en las comunidades naturales como para identificar los microorganismos clave en los procesos de biodegradación. Utilizar el ambiente natural como un laboratorio resulta ambientalmente costoso. Por lo tanto, es fundamental desarrollar sistemas modelo en el laboratorio, como microcosmos, que repliquen las condiciones ambientales del ecosistema natural y permitan estudiar el efecto de los contaminantes (Martínez & Gaju, 2005). Estos microcosmos empleados en experimentos de laboratorio son modelos miniaturizados con múltiples componentes que facilitan comprender las interacciones entre las poblaciones microbianas y su función en el ecosistema durante un episodio de contaminación. Además de proporcionar resultados cualitativos, estos sistemas permiten obtener datos cuantitativos

sobre el comportamiento de los contaminantes en el medio ambiente (Martínez & Gaju, 2005).

El uso de tapetes microbianos en la biorremediación sigue siendo una opción poco explorada en su totalidad, posiblemente debido a la complejidad de las comunidades microbianas que los constituyen (Barrios, 2011). Estas estructuras construidas imitan a los tapetes microbianos naturales y se emplean en diversas aplicaciones como la biorremediación y la investigación científica (Gómez, 2022). Una aproximación muy útil para evaluar tanto el impacto de una contaminación de esta naturaleza sobre la diversidad microbiana como los procesos de biodegradación que pueden ocurrir en estas comunidades es recrearlas de forma miniaturizada en el laboratorio (Martínez & Gaju, 2005).

La noción de emplear tapetes microbianos en la recuperación ambiental de áreas costeras contaminadas surgió tras observaciones durante la guerra del Golfo en 1991 (Barrios, 2011). Hoy en día, los tapetes microbianos construidos se emplean exitosamente en la biorremediación del agua en estanques de cultivo de camarón (Lezama-Cervantes et al., 2010), y se han realizado estudios que comprueban la efectividad del uso de tapetes microbianos construidos en la descontaminación de zonas acuáticas, y zonas áridas con la presencia de costras microbióticas (biopelículas), bien en forma de translocación (transferencia de fragmentos de costra) o bien mediante la dispersión de inóculos (Núñez, 2014).

En resumen, los tapetes microbianos construidos representan una innovación significativa en la biotecnología ambiental, ofreciendo soluciones

prometedoras para la remoción de contaminantes como el nitrógeno en ambientes acuáticos costeros. Su desarrollo continuo y aplicación práctica no solo contribuyen a la mejora de la calidad del agua, sino que también respaldan esfuerzos globales hacia la conservación y uso sostenible de los recursos marinos.

Por lo mencionado anteriormente, se plantea el siguiente problema de investigación, ¿es posible realizar la remoción de nitrógeno en agua de mar contaminada de la bahía “El Ferrol” (Chimbote) usando tapetes microbianos contruidos con microalgas”

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Nitrógeno

El nitrógeno es un elemento químico fundamental para la vida en la tierra, en el contexto ambiental, el nitrógeno puede ser un nutriente esencial para el crecimiento de las plantas, pero su exceso, especialmente en forma de nitratos y amonio, puede causar problemas de contaminación del agua y afectar negativamente a los ecosistemas acuáticos. Según Peñuelas & Sardans (2009), la deposición de nitrógeno y los cambios en el uso de la tierra tienen un impacto global, lo que resalta la importancia de comprender y gestionar adecuadamente este elemento en el medio ambiente.

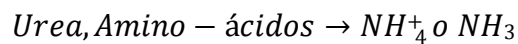
Altos niveles de nitrógeno inorgánico pueden ser perjudiciales para los ecosistemas y organismos menos tolerantes (Camargo & Alonso, 2006). El nitrógeno se presenta de diferentes formas en el agua, incluyendo nitrógeno diatómico (N_2), amonio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) (Sze, 1998).

La capacidad de fijación del nitrógeno se encuentra en diversos grupos fisiológicos de microorganismos. La fijación del nitrógeno es llevada a cabo por varios grupos fisiológicos de microorganismos, pero es un proceso energéticamente costoso que requiere un suministro rápido de electrones para ser significativo (Caffa & Bernardin, 2006).

Los heterótrofos utilizan el carbono reducido para obtener electrones, mientras que los fotótrofos aprovechan la energía luminosa para oxidar el agua o un compuesto de azufre reducido y obtener los electrones necesarios en condiciones anaeróbicas. La fijación biológica de nitrógeno se realiza a través de la enzima nitrogenasa, compuesta por dos proteínas solubles: la dinitrogenasa reductasa y la dinitrogenasa MoFe. Estas enzimas trabajan juntas, donde la dinitrogenasa reductasa reduce la dinitrogenasa, y esta última reduce el nitrógeno, siendo ambas esenciales para la fijación (Caffa & Bernardin, 2006).

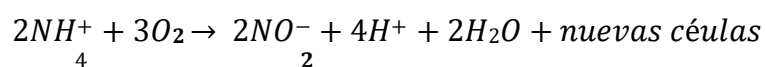
a. Amonificación o mineralización desasimilatoria

Conversión bacteriana de nitrógeno orgánico a amonio, ya sea en forma de amonio NH_3^+ o de amonio NH_4^+ . Esta conversión se puede realizar tanto en condiciones óxicas como anóxicas.



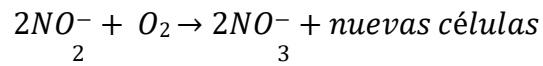
b. Nitrificación

- Conversión de Amonio a Nitrito:



Se realiza tanto en condiciones óxicas como anóxicas

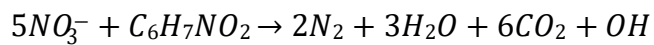
- Conversión de Nitrito a Nitrato: Acción nitrito oxidantes



Puede realizarse tanto en condiciones oxicas como anóxicas

- Denitrificación:

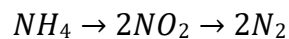
Se realiza endogenamente por un gran número de bacterias, que utilizan nitrito o nitrato como el aceptor terminal de electrones durante la oxidacion de la materia organica.



Esto sugiere que el proceso de nitrificación – denitrificación es un mecanismo importante en la remoción de amonio y nitrito en el sistema.

- Deamonificación (Anamox):

Conversion directa del Amonio a N_2 sin que ocurra el proceso de denitrificación óxicas- anóxicas menores de 1 mg/L donde el nitrito es el aceptor terminal de electrones y el amonio el dador.



- Asimilación directa:

La asimilación directa de las diferentes formas de nitrógeno es realizada por los organismos fototróficos y heterotróficos del consorcio microbiano.

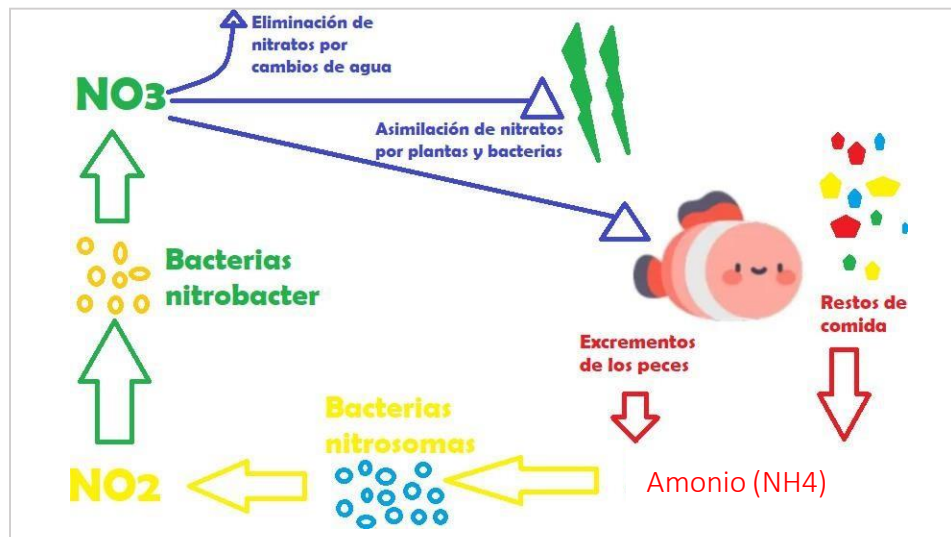


Figura 2. Ciclo biogeoquímico del Nitrógeno. Fuente: Página web: entacuuario.com/ciclo-nitrógeno-acuario

2.2.2. Biorremediación:

La biorremediación es un proceso que utiliza organismos vivos, como bacterias, hongos y plantas, para eliminar o reducir contaminantes en el medio ambiente, convirtiéndolos en formas menos tóxicas o inofensivas. Este enfoque tiene aplicaciones en la limpieza de suelos contaminados, aguas residuales y otros entornos contaminados (Smith, 2020).

- a. **Biorremediación de Agua:** Es un proceso que utiliza microorganismos, como bacterias y hongos, para eliminar contaminantes del agua, como compuestos orgánicos e inorgánicos, metales pesados y productos químicos industriales. Estos microorganismos degradan los contaminantes o los transforman en formas menos tóxicas, contribuyendo así a la limpieza y restauración de cuerpos de agua contaminados (Gómez, 2019).

b. Biorremediación de agua de mar: Es un proceso que utiliza microorganismos y organismos marinos para eliminar contaminantes específicos del agua de mar, como hidrocarburos, metales pesados y otros compuestos químicos contaminantes como nitrógeno. Este proceso puede incluir técnicas como la bioaugmentación, donde se introducen microorganismos específicos para degradar los contaminantes, y la bioestimulación, que implica la adición de nutrientes para favorecer el crecimiento de microorganismos nativos que pueden degradar los contaminantes de manera natural (Martínez, 2021).

c. Biorremediación de nitrógeno en agua de mar: Es un proceso que utiliza microorganismos y organismos marinos para reducir los niveles de nitrógeno en el agua, especialmente de compuestos como el amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-). Estos microorganismos pueden transformar los compuestos nitrogenados en formas menos disponibles o menos nocivas, contribuyendo así a mantener el equilibrio del ciclo del nitrógeno en el ecosistema marino (García, 2020).

2.2.3. Tapetes microbianos

Los tapetes microbianos son estructuras biológicas formadas por una comunidad de microorganismos, como bacterias, hongos y algas, que se adhieren a una superficie y forman una capa o película visible. Estos tapetes pueden encontrarse en diversos entornos, como suelos, rocas,

cuerpos de agua e incluso en ambientes extremos como las fuentes termales. Los microorganismos en los tapetes pueden desempeñar roles importantes en la biogeoquímica del ecosistema, incluyendo la fijación de nutrientes, la degradación de compuestos orgánicos y la producción de biomasa (Sánchez, 2018).

a. Tapetes microbianos contruidos: Son estructuras diseñadas y fabricadas para imitar a los tapetes microbianos naturales. Estas estructuras están compuestas por una matriz sintética que proporciona un sustrato para el crecimiento y la adhesión de microorganismos, como bacterias y algas. Los tapetes microbianos contruidos se utilizan en diversos campos, como la biorremediación, la producción de biomasa y la investigación científica, donde se pueden controlar y estudiar las interacciones microbianas y sus aplicaciones en el medio ambiente (Gómez, 2022).

b. Remoción de Nitrógeno usando tapetes microbianos contruidos: Es un proceso que implica el diseño y la implementación de estructuras biológicas compuestas por microorganismos especializados en la degradación de compuestos nitrogenados. Estos tapetes se colocan en medios acuosos contaminados con altos niveles de nitrógeno, donde los microorganismos presentes en ellos metabolizan y transforman los compuestos nitrogenados en formas menos nocivas o más fácilmente removibles, contribuyendo así a la reducción de la contaminación por nitrógeno en el agua (García, 2021).

2.2.4. Diatomeas:

Las diatomeas son microorganismos unicelulares fotosintéticos que pertenecen al grupo de las algas doradas. Estos organismos son conocidos por su caparazón de sílice, que les proporciona una estructura característica en forma de caja o frústula con patrones intrincados y ornamentados. Las diatomeas son ampliamente distribuidas en ambientes acuáticos, como océanos, lagos, ríos y estuarios, donde desempeñan un papel crucial en la producción de oxígeno y la fijación de carbono, siendo una parte fundamental del plancton (Bosco, 2011).

- a. Diatomeas en la remoción de Nitrógeno:** Las diatomeas juegan un papel importante en la remoción de nitrógeno en entornos acuáticos debido a su capacidad para utilizar este elemento en su metabolismo. Las diatomeas pueden incorporar nitrógeno en forma de nitrato, amonio y otros compuestos nitrogenados del agua para llevar a cabo la fotosíntesis y otros procesos biológicos. Además, algunas especies de diatomeas son capaces de realizar procesos de desnitrificación, convirtiendo los nitratos en nitrógeno gaseoso, lo cual contribuye a la eliminación del exceso de nitrógeno en el agua y a la reducción de la eutrofización (Martínez, 2020).

Algunas diatomeas presentes en la investigación son: *Neidium iridis*, *Frustulia* y *Frustulia romboides*.

2.2.5. Cianobacterias:

Las cianobacterias, también conocidas como algas verde-azuladas, son microorganismos procariotas fotosintéticos que se encuentran ampliamente distribuidos en diversos ambientes acuáticos y terrestres. Aunque a menudo se las conoce por su capacidad para realizar la fotosíntesis y producir oxígeno, algunas especies de cianobacterias también pueden fijar nitrógeno atmosférico, convirtiéndolo en formas asimilables para otros organismos en el ecosistema. Esta capacidad de fijación de nitrógeno es crucial en la biogeoquímica de los ecosistemas, ya que contribuye a la disponibilidad de nutrientes esenciales para la vida (López, 2021).

b. Cianobacterias en la remoción de nitrógeno: Las cianobacterias desempeñan un papel importante en la remoción de nitrógeno en ambientes acuáticos a través de varios mecanismos. Estos organismos tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, convirtiéndolo en formas asimilables por otros organismos en el ecosistema. Además, algunas especies de cianobacterias pueden utilizar el nitrógeno en sus procesos metabólicos, ayudando así a reducir los niveles de nitrógeno disponible en el agua y a controlar la eutrofización (García, 2022). Algunas cianobacterias presentadas en esta investigación son: *Komvophoron crassum*, *Oscillatoria cr* y *Tenuis*, *Phormidilllll cf.*

- 2.2.6. Contaminación por nitrógeno en ambientes marinos:** "La contaminación por nitrógeno en los ecosistemas marinos representa una amenaza significativa para la biodiversidad y la sostenibilidad de los recursos pesqueros" (Smith et al., 2020).
- 2.2.7. Tapetes microbianos construidos en biorremediación marina:** "Los tapetes microbianos construidos han demostrado ser eficaces en la remoción de contaminantes como nitrógeno en entornos acuáticos costeros" (Gómez & Pérez, 2019).
- 2.2.8. Impacto del amonio en organismos marinos:** "La presencia de altas concentraciones de amonio en el agua de mar puede causar estrés y mortalidad en organismos marinos sensibles" (Brown, 2018).
- 2.2.9. Diatomeas como bioindicadores de calidad del agua:** "Las diatomeas han sido utilizadas exitosamente como bioindicadores de la calidad del agua debido a su sensibilidad a los cambios ambientales, incluyendo la contaminación por nutrientes" (White et al., 2017).
- 2.2.10. Cianobacterias en procesos de biorremediación:** "Las cianobacterias han mostrado ser efectivas en la remoción de nitratos mediante procesos de desnitrificación en ambientes acuáticos" (Martínez & Rodríguez, 2016).
- 2.2.11. Técnicas ex situ e in situ en biorremediación marina:** "La combinación de técnicas ex situ e in situ es crucial para maximizar la eficiencia de la biorremediación de contaminantes en ecosistemas marinos costeros" (Chen & Wang, 2021).
- 2.2.12. Efectos de la contaminación por nitratos en la vida acuática:** "La acumulación de nitratos en ambientes marinos puede alterar

significativamente la estructura y función de los ecosistemas acuáticos, afectando negativamente a especies clave como peces y crustáceos" (Johnson et al., 2019).

2.2.13. Biotecnología ambiental en la restauración de ecosistemas costeros: "La aplicación de biotecnología ambiental, como la biorremediación, es esencial para la restauración de la calidad del agua en ecosistemas costeros degradados" (García & López, 2020).

2.2.14. Importancia de la sostenibilidad en la gestión de recursos marinos: "El desarrollo de técnicas sostenibles para el manejo de recursos marinos es crucial para garantizar la conservación a largo plazo de la biodiversidad y los servicios ecosistémicos" (Wong & Chan, 2018).

III. METODOLOGÍA

3.1. Diseño de Investigación

El diseño experimental es netamente aleatorio y está diseñado para evaluar el efecto de un tapete microbiano construido compuesto por microalgas, con una concentración de 1×10^6 cel/mL, para la remoción de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- en una muestra de 500 mL de agua de mar. La primera fase de la investigación incluirá la extracción de una muestra de 10 litros de agua de mar de la bahía "El Ferrol" en las coordenadas 9.083048 de latitud y 78.612322 de longitud, a una profundidad menor de 2 metros, que se utilizará para aislar los microorganismos. Posteriormente, se determinará la concentración de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- en agua de mar extraída y se comparará con los parámetros establecidos en el Estándar de Calidad del Agua (ECA) para agua de mar.

Se construirán sistemas con aireación donde se realizarán los tratamientos de remoción (biorremediación), los cuales consistirán en recipientes de 750 mL con tapas que sostendrán los tapetes microbianos construidos. Se evaluarán los efectos de cada tapete microbiano en la remoción de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- .

Se realizarán 3 repeticiones por tratamiento, que incluirán un tapete microbiano con una concentración de 1×10^6 cel/mL de diatomeas y cianobacterias, además de un blanco (tapete sin carga biológica), lo que conformará un total de 4 tratamientos. La remoción se evaluará tanto en agua de mar sintética como en agua de mar natural, en 2 ensayos. El número de repeticiones seleccionado es válido para minimizar el efecto del error experimental.

Las características de las muestras tratadas con el uso de tapetes microbianos construidos serán evaluadas según el porcentaje de remoción de nitrógeno en 500 mL de agua de mar, tomando los resultados obtenidos de las mediciones en tres momentos diferentes: al inicio de la observación (0 h), luego de 48 horas y finalmente después de 168 horas.

Tabla 1. Diseño experimental al azar

Número de ensayos (Tratamientos)	Tapetes Microbianos		Adición Concentración Celular	Tiempo (Horas)		
				Inicio de observación (Tiempo 0)	Primer periodo (Remoción)	Segundo Periodo (Remoción)
1 (Agua de Mar de la bahía "El Ferrol")	B1	Blanco 1	0	0 h	48 h	168 h
	R1	Repetición 1	1x	0 h	48 h	168 h
	R2	Repetición 2	1x 10 ⁶ cel/mL	0 h	48 h	168 h
	R3	Repetición 3		0 h	48 h	168 h
2 (Agua de Mar sintética)	B2	Blanco 2	0	0 h	48 h	168 h
	R1	Repetición 1	1x	0 h	48 h	168 h
	R2	Repetición 2	1x 10 ⁶ cel/mL	0 h	48 h	168 h
	R3	Repetición 3		0 h	48 h	168 h

3.2. Población y muestra

La población objetivo de este estudio está constituida por las aguas contaminadas de la bahía El Ferrol, ubicada en la ciudad de Chimbote, caracterizada por niveles significativos de contaminación por nitrógeno en forma de amonio, nitritos y nitratos. Esta área marina es vital tanto económicamente, debido a su importancia para la pesca sostenible, como ecológicamente, por su diversidad biológica y papel en los ecosistemas costeros.

Para este estudio, se seleccionará una muestra representativa de agua de mar contaminada de la bahía El Ferrol. La muestra fue obtenida un punto

estratégico dentro de la bahía, considerando la distribución y concentración de contaminantes de nitrógeno.

La muestra será analizada en laboratorio para cuantificar inicialmente los niveles de nitrógeno y posteriormente evaluar la efectividad de los tapetes microbianos construidos en la remoción de estos contaminantes. Los resultados obtenidos servirán como base científica para proponer recomendaciones específicas para la gestión y restauración de la calidad del agua en la bahía El Ferrol, contribuyendo así a la conservación de su riqueza hidrobiológica y promoviendo prácticas más sostenibles en la región.

3.3. Limitaciones

Determinar concentraciones celulares exactas durante el proceso de adhesión de los tapetes microbianos es un parámetro que no se puede establecer, debido a que no es factible controlar la adhesión de los consorcios a la matriz de algodón sintético porque durante esta fase podría haber desprendimiento de algunas células; sin embargo, para contrarrestar este factor se usó una tela tipo organza para envolver y proteger cada tapete microbiano construido.

Un factor que no se puede controlar al usar tapetes microbianos construido es el crecimiento celular de cada microorganismo, ya que durante el proceso de biorremediación también habrá crecimiento microbiano por lo que es probable que algunos consorcios predominen sobre otros.

3.4. Materiales y métodos

3.4.1. Recolección y crecimiento de diatomeas y cianobacterias que conforman los tapetes microbianos

a. Diseño y preparación de un medio de cultivo para Diatomeas y Cianobacterias.

Se usó como referencia el medio de cultivo selectivo F/2 (Guillard & Ryther, 1962), ajustando los valores nutricionales para producir 1.5 g/L de diatomeas y ajustando el NaCl a 15 g/L para pre-adaptar a las diatomeas a la salinidad del agua de mar, y adicionándole Metasilicato de Sodio para estimular su crecimiento.

Tabla 2. Diseño de un medio de cultivo selectivo para diatomeas y cianobacterias.

Nutrientes	Ei cel	Ei nutri	Yx/s	Xo	Xf	So(g/L)	Exceso
NaNO ₃	8	16.471	2.059	0	1.5	0.729	0.947
NaSiO ₃ 9*H ₂ O	10	32.099	3.210	0	1.5	0.467	0.608
NaNH ₂ PO ₄ *H ₂ O	0.7	13.585	19.407	0	1.5	0.077	0.100
Micronutrientes							
CuSO ₄ * 5H ₂ O	0.006	25.451	4241.817	0	1.5	0.0004	0.0005
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	0.03	22.756	758.525	0	1.5	0.0020	0.0026
CoCl ₂ * 6H ₂ O	0.004	24.779	6194.783	0	1.5	0.0002	0.0003
MnCl ₂ * 4H ₂ O	0.02	27.769	1388.467	0	1.5	0.0011	0.0014
Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O	0.02	39.644	1982.224	0	1.5	0.0008	0.0010
Na ₂ EDTA	0.03	40.094	1336.452	0	1.5	0.0011	0.0015
FeCl ₃ * 6H ₂ O	0.07	20.086	286.948	0	1.5	0.0052	0.0068

Para la fase de aislamiento, se preparó 200 mL del medio de cultivo selectivo preparado y se le adicionó “Agar Agar” (15 g/L). Posteriormente se preparó 500 mL de medio del mismo medio de cultivo selectivo preparado, pero sin “Agar Agar” para fomentar el crecimiento de los microorganismos.

b. Selección y extracción del efluente superficial y agua de mar

Con el propósito de obtener una buena muestra de efluente superficial y agua de mar, se analizaron diferentes puntos de muestreo en la bahía “El Ferrol”, para finalmente determinar como zona de muestreo la ubicación 9.083048"S (latitud) y 78.612322"W (longitud) a 5m de profundidad.

Nuestro punto de muestreo se encuentra a la izquierda de la “Isla Blanca” a no más de 3 km del puerto. Para llegar ahí se alquiló una lancha pesquera,-con ayuda de una draga se extrajo el efluente superficial, el cual fue transportado al laboratorio en envases de plástico estériles, en un contenedor hermético a bajas temperaturas.

Antes de transportar el efluente y el agua de mar, se midió los siguientes parámetros de manera *in situ*:

Tabla 3. Parámetros físicos del Agua de Mar de la Bahía “El Ferrol”

PARÁMETRO	MEDIDA
T° ambiente	18.5° C
T° del efluente	17.3° C
T° Agua	17.3° C
PH del efluente	7.8
PH Agua	8
Salinidad	35 ppm

Durante el proceso de extracción del efluente se realizó una inspección visual de la bahía “El Ferrol” y se observó lo siguiente:

- El movimiento del mar se mantuvo bajo, lo cual facilitó la extracción del efluente.
- El aroma que emanaba el efluente no era del todo penetrante al sentido olfativo.

- La contaminación por residuos sólidos era muy notoria desde la entrada a la bahía.
- Se observó a muchos trabajadores pesqueros como durante el proceso de abastecimiento de combustible para sus embarcaciones derramaban este combustible al agua, sin prever alguna consecuencia futura.
- La observó también la presencia de muy muchas aves, en su mayoría pelicanos y gaviotas.

c. Colecta y aclimatación de los microorganismos

Para la colecta y aclimatación de los microorganismos que formaron parte de los tapetes microbianos construidos se usó el medio de cultivo selectivo “F/2” (Guillard & Ryther, 1962), al cual se le ajustaron los valores para la producción de 1.5 g/L de biomasa y agregando 15 g/L de NaCl para pre-adaptar a los microorganismos a la salinidad del agua de mar.

Una vez en el laboratorio la muestra de efluente fue homogenizadas mecánicamente en un agitador por 30 min y concentradas por filtración en papel filtro hasta obtener 50 mL de volumen. El efluente fue lavado y filtrado 3 veces durante todo este proceso, y finalmente el filtrado obtenido fue inoculado en un matraz Erlenmeyer y colocados bajo luz blanca.

d. Aislamiento y aclimatación Diatomeas y Cianobacterias

Para el aislamiento y aclimatación de diatomeas se preparó 1L del medio selectivo F/2 (Guillard & Ryther, 1962), con Metasilicato de Sodio (Tabla 2). Se inoculó 10 mL de la muestra filtrada del efluente y se sembró en el medio líquido (Sin Agar Agar), se mantuvo un fotoperiodo de 12 h de luz/ 12 h de oscuridad, el cual fue controlado por un TIMER DIGITAL y cada 7 días se le adicionó 1mL de vitamina B12 para fomentar el crecimiento de las Diatomeas.

3.4.2. Construcción de los tapetes microbianos

Para la construcción de los tapetes microbianos construidos, se usaron los consorcios microbianos que crecieron en el medio de cultivo selectivo F/2. (Guillard & Ryther, 1962)

Los microorganismos fueron concentrados por centrifugación a 2500 rpm, los concentrados celulares fueron resuspendidos en 50 mL de sus medios de cultivo correspondientes para el establecimiento de las concentraciones. Se diseñó un medio de cultivo para la incubación de los tapetes microbianos.

a. Diseño de medio de cultivo para la etapa de maduración de los tapetes microbianos.

Tabla 4. Medio de cultivo para la etapa de maduración de los tapetes microbianos

Macronutrientes	g/L
NaNO ₃	0.75
Na ₂ CO ₃	0.02
NaSiO ₃ 9*H ₂ O	0.03
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.375
K ₂ HPO ₄ * 3H ₂ O	0.25

CaCl ₂ * 2 H ₂ O	0.3
Micronutrientes metales traza	0.12
Vitaminas	0.5 mL
Solución stock Micronutrientes	
CuSO ₄ * 5H ₂ O	0.036
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	2.74
CoCl ₂ * 6 H ₂ O	0.03
MnCl ₂ * 4H ₂ O	1.27
Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O	0.274
FeSO ₄ * 7H ₂ O	7.0
Vitaminas	
Vitamina B ₁₂	1.0
Biotina	100.0 mg
Tiamina HCl	<u>200</u>

- Se le adicionó Metasilicato de sodio sólo al medio para fomentar el crecimiento de diatomeas.

b. Construcción de los tapetes microbianos

Se construyeron los tapetes microbianos, de acuerdo a lo indicado en la Tabla 13.

Tabla 5. Concentraciones Celulares de Tapetes Microbianos construidos

Número de ensayos	Tapetes Microbianos		Concentración Celular
1 (Agua de Mar Natural)	B1	Blanco 1	0
	R1	Repetición 1	1x 10 ⁶ cel/ml
	R2	Repetición 2	
	R3	Repetición 3	
2 (Agua de Mar sintética)	B2	Blanco 2	0
	R1	Repetición 1	1x 10 ⁶ cel/ml
	R2	Repetición 2	
	R3	Repetición 3	

Se aplicaron las concentraciones celulares correspondientes a las matrices de algodón sintético tipo fibra de vidrio, que actuaron como superficie de adhesión para los microorganismos. Estos microorganismos se adhirieron a la superficie mediante la secreción de la matriz polimérica extracelular de polisacáridos (MPE), formando así el tapete microbiano. Cada tapete microbiano se colocó en bolsas de tela (tipo organza para filtración) para evitar desprendimientos.

Los soportes inoculados se mantuvieron en el medio de incubación durante un periodo de 12 días, manteniendo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

3.4.3. Construcción de los sistemas de aireación

Para probar el efecto de la biorremediación del agua de mar con tapetes microbianos construidos, se construyó un sistema de aireación tipo biorreactor, manteniendo la temperatura ambiente de 25°C.

Se usó recipientes de plástico verticales que nos permitieron satisfacer tres necesidades:

- La transferencia del oxígeno necesario para satisfacer la demanda respiratoria de los microorganismos presentes.
- Proveer el suficiente oxígeno para las reacciones metabólicas de las bacterias heterotróficas y garantizar la transformación de los compuestos nitrogenados.

- Generar la turbulencia para mantener el cuerpo de agua en constante movimiento para evitar la sedimentación de la materia orgánica (Malpartida, 2017).

Las dimensiones de los recipientes usados fueron de (11.5 A X 7.5 cm \varnothing) con una capacidad de volumen de 500 mL.

El material utilizado fue plástico marca Rey transparente que pudo permitir el ingreso de luz, además se colocó una varilla de plástico estéril que permitió el ingreso de oxígeno durante el tratamiento.

El ingreso de aire fue regulado de forma manual a través de una llave reguladora de aire de peceras.

3.4.4. Identificación de los microorganismos

Los grupos de cianobacterias y diatomeas presentes en los tapetes microbianos fueron identificados por métodos de microscopía empleando referencias diversas de morfología.

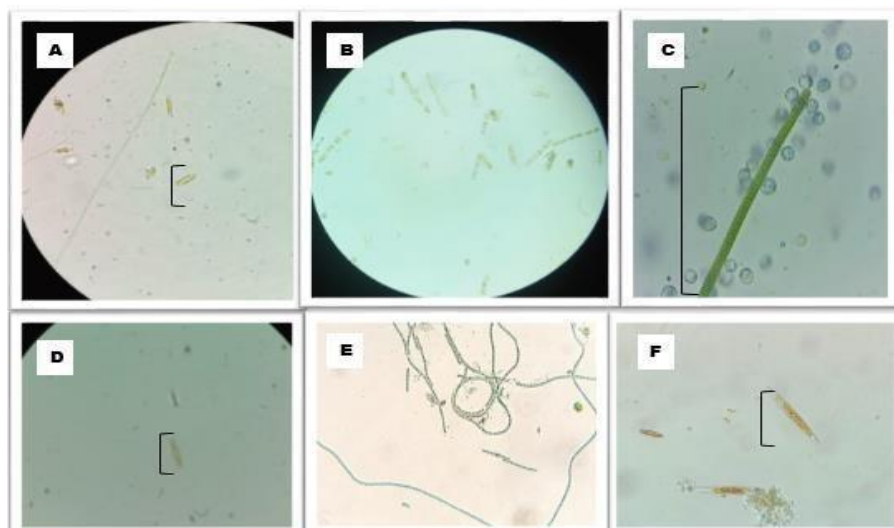


Figura 3. Imágenes de microscopía óptica que muestran microorganismos característicos de los tapetes microbianos aislados de la bahía “El Ferrol” (Chimbote, Perú) entre agosto y octubre del 2018. **A.** *Neidium iridis* **B.** *Komvophoron crassum* **C.** *Oscillatoria cr. Tenue* **D:** *Frustulia*. **E.** *Phormidillll cf. subflflorme* **F.** *Frustulia rhomboides*

3.4.5. Diseño y preparación del agua de mar sintética

Para asegurar que la remoción obtenida durante la experimentación sea ejercida por los microorganismos que conforman los tapetes microbianos construidos se diseñó un modelo de agua de mar estéril con concentraciones similares de NH_4 , NO_3 y NO_2 que se determinó en el agua de mar de la bahía “El Ferrol”.

Tabla 6. Composición del Agua de Mar Sintética

Composición del agua de mar sintética	
Reactivos	Concentración (mg/L)
(NH₄)₂SO₄	2.00
NaNO₂	1.00
Bicarbonato de Sodio	12500
MgSO₄*7H₂O	2100
NaCl	30000

Se le adicionó bicarbonato de sodio como fuente de carbono al agua de mar.

No se usó una fuente de nitratos en la preparación del agua de mar sintética debido a que el nitrito (NO_2) se convierte en nitrato (NO_3) en presencia de oxígeno y alteraría los resultados de la biorremediación.

Se tomaron registros de temperatura del agua de mar sintética con un termómetro de laboratorio de fluido inocuo (EasyRead VWR, PA, USA) con una escala de -10 a 110°C y precisión de 1°C. El pH se midió con un potenciómetro de mesa (Orion 400+, MA, USA).

3.4.6. Descripción de la muestra “blanco”

El "blanco" en la investigación, es una muestra de referencia que contiene agua de mar artificial, descrita en el ítem 3.4.5. Esta muestra se caracteriza por su composición inicial en la que el amonio y el nitrito están presentes en concentraciones conocidas, lo que permite establecer una línea base para las mediciones. El propósito de este blanco es proporcionar una referencia para comparar los resultados obtenidos en las muestras experimentales, asegurando que cualquier cambio en las concentraciones de nitrógeno observadas se deba a las condiciones experimentales y no a variaciones inherentes en la composición del agua o errores en el procedimiento.

3.4.7. Cuantificación de contaminantes en agua de mar

A. Determinación de Nitratos (NO_3)

La determinación de NO_3 se realizó mediante el método “Determinación de nitratos en aguas por espectrofotometría UV selectivo” (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, 2007).

a. Preparación de la solución de Ácido Clorhídrico 1N.

Se preparó una solución de ácido clorhídrico 1N, midiendo 8.3 mL de Ac. Clorhídrico concentrado en 80 mL de agua destilada, y aforando hasta 100 mL.

b. Preparación de la solución madre de Nitrato (50 mg/L)

Se puso a secar 0.0815 g de KNO_3 en la estufa a 105°C por 2 horas y posteriormente se diluyó el KNO_3 en 1L de Agua destilada.

c. Preparación de la solución patrón de Nitrato para la curva de calibración

Tabla 7. Soluciones patrón de Nitratos

PATRON	SOL. MADRE (50 ppm)	CONCENTRACION NO_3 ppm
1	0.1	0.2
2	0.9	1.8
3	1.3	2.6
4	1.7	3.4
5	2.1	4.2
6	2.5	5

Se le adicionó 1mL de HCl 1N a cada solución patrón y se aforó a 25mL con Agua destilada, posteriormente se preparó un blanco sólo con agua destilada y 1mL de HCl 1N

d. Preparación de la muestra

Se filtró 25 mL del agua de mar recolectada y se le añadió 1mL de HCl 1N (Se repitió 3 veces este tratamiento)

e. Procesamiento de datos y resultados.

Se leyó la absorbancia a 220 nm y se realizó la curva de calibración para Nitratos.

Tabla 8. Absorbancias para la curva de calibración de Nitratos

CONCENTRACION NO ₃ ppm	ABSORBANCIA (220 nm)
0.2	-0.021
1.8	0.085
2.6	0.119
3.4	0.173
4.2	0.222
5	0.274

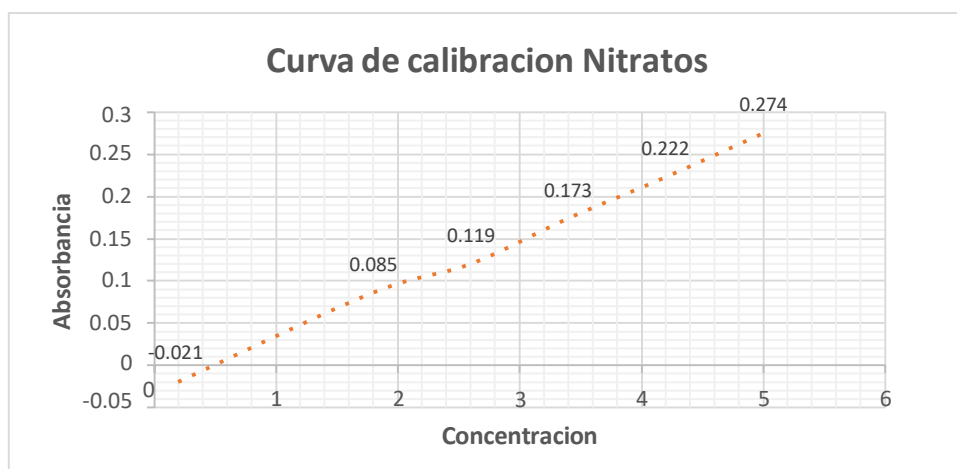


Figura 4. Curva de Calibración para Nitratos (NO₃) por espectrofotometría UV selectivo

- Se obtuvo los siguientes valores de la recta:

A	0.0607
B	0.032

- Se obtuvo los siguientes valores de la muestra de agua de mar:

Tabla 9. Concentración de Nitratos en Agua de Mar de la bahía “El Ferrol”

Muestra	Absorbancia	Concentración ppm
R1	0.196	3.7562
R2	0.2	3.8221
R3	0.192	3.6903

B. Determinación de Nitritos (NO₂)

La determinación de NO₂ se realizó por método colorimétrico por espectrofotometría, (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, 2009).

a. Preparación del reactivo colorante

En 50mL de agua destilada se añadió 10 mL de ácido fosfórico al 85% (Ácido ortofosfórico) más 1g de sulfanilamida y 0.1g de diclorhidrato de N-(-1naftil)- etilendiamina, se disolvió y se aforó a 100 mL con agua destilada, se mantuvo en un frasco oscuro.

b. Preparación de la solución madre (200 mg/L)

Se pesó 0.304g de NaNO₂ en 1000 mL de agua destilada.

c. Preparación de solución estándar (50 mg/L)

Se midió 25mL de la solución madre y se aforó a 100mL.

d. Preparación de las soluciones patrón de NO₂.

Tabla 10. Soluciones patrón para Nitrito

PATRON	SOL. Estándar (mL)	CONCENTRACION NO ₂ ppm
1	0.1	0.1
2	0.2	0.2
3	0.5	0.5
4	0.7	0.7
5	2	2

- Se le adicionó 2 mL del reactivo color a cada una de las soluciones patrón y se aforó a 50ml con agua destilada.
- Se preparó un blanco solo con agua destilada y 2mL del reactivo color.

- Se midió la absorbancia a 543 nm.

e. Preparación de la muestra

Se midió 25 mL de la muestra de agua de mar recolectada y se le añadió 2 mL del reactivo color para luego aforar a 50 mL con agua destilada.

f. Procesamiento de datos

Se realizó una curva de calibración para Nitritos.

Tabla 11. Absorbancias para la curva de calibración de Nitritos

CONCENTRACION NO3 ppm	ABSORBANCIA (543 nm)
0.1	0.093
0.2	0.164
0.5	0.424
0.7	0.563
2	1.375

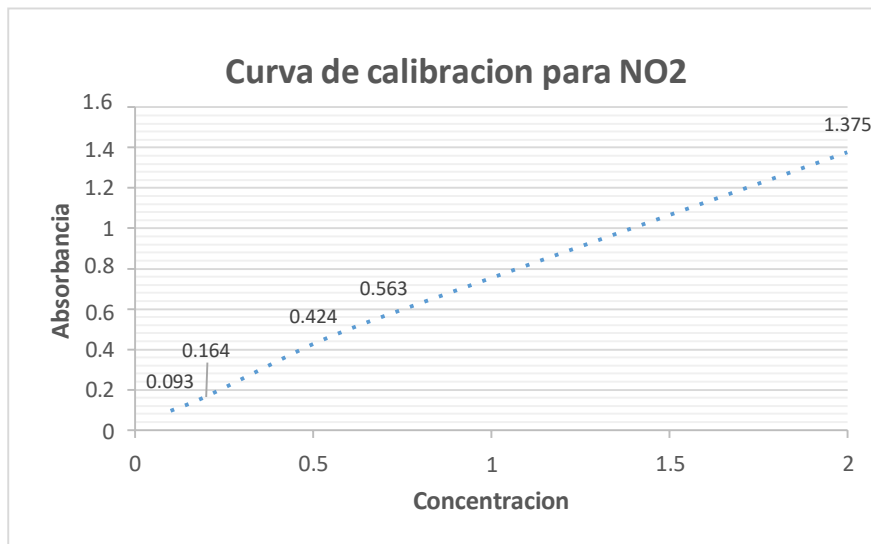


Figura 5. Curva de calibración para NO₂ usando el método colorimétrico por espectrofotometría

- Se obtuvo los siguientes valores de la recta.

A	0.6688
B	0.0557

- Se obtuvo los siguientes valores de la muestra de agua de mar

Tabla 12. Concentración de Nitritos en Agua de Mar de la bahía “El Ferrol”

Muestra	Absorbancia	Concentración ppm en curva	Concentración ppm en muestra
R1	0.228	0.424	0.848
R2	0.236	0.436	0.872
R3	0.22	0.412	0.824

C. Determinación de Amonio

Se determinó la cantidad de Amonio en Agua de mar usando la técnica COVENIN 1269-80 con ayuda de digestores Kjeldahl. (COVENIN, 1980)

a. Preparación del Receptor.

- En un matraz de 250 mL se adicionó 10mL de Ácido Sulfúrico al 0.1N
- Se agregó 40 mL de agua desionizada
- Se agregó 3 gotas de Rojo de Metilo 0.1%

b. Preparación de la Muestra

- Se pesó 2 g de Agua de Mar
- Se adicionó 2 g de Óxido de Magnesio
- Se adicionó 250 mL de Agua desionizada

c. Ingreso al digestor Kjeldahl

- Se ingresó la muestra y el receptor en el digestor correspondientemente
- Se recuperó 100 mL de la muestra

d. Procesamiento de Datos

- Se tituló con Hidróxido de Sodio al 0.1N

Tabla 13. Concentración de Amonio en Agua de Mar de la bahía "El Ferrol"

Muestra	Concentración mg/100g	Concentración mg/1g	Concentración ppm
R1	0.1962	0.00196	1.96
R2	0.1925	0.00192	1.92
R3	0.2010	0.00201	2.01

Tabla 14. Parámetros promedio de 3 réplicas de Amonio, Nitritos y Nitratos en el agua de mar contaminada de la bahía "El Ferrol"

PARÁMETROS	Valores obtenidos en ppm	Promedio	Desviación Estándar
<i>Amonio (NH₄)</i>	1.96	1.97	0.04
	1.92		
	2.01		
<i>Nitritos (NO₂)</i>	0.85	0.85	0.02
	0.87		
	0.82		
<i>Nitratos (NO₃)</i>	3.76	3.76	0.07
	3.82		
	3.69		

3.4.8. Tratamiento de biorremediación

La evaluación de la biorremediación mediante tapetes microbianos construidos se llevó a cabo durante un periodo inicial de 48 horas y un periodo final de 168 horas. Este estudio incluyó un tapete microbiano con una concentración de 1×10^6 cel/mL, el cual fue aplicado en agua de mar procedente de la bahía "El Ferrol". Se realizaron tres repeticiones para validar los resultados obtenidos.

Además, se evaluó la remoción de contaminantes en 500 mL de agua de mar sintética estéril, preparada en el laboratorio. Para garantizar la fiabilidad de los resultados, se determinaron los valores iniciales de Amonio, Nitrito y Nitrato utilizando técnicas de espectrofotometría en el momento inicial de la observación, es decir, en el tiempo 0 horas.

Los primeros datos se evaluaron en un periodo de 48 h (2 días), luego cada 24 horas hasta cumplir las 168 horas (7 días), los resultados obtenidos fueron evaluados mediante el siguiente análisis matemático:

$$\text{Remocion} \left(\frac{\text{mg}}{\text{l}} \right) = (\text{Control} - \text{Tratamiento}) \quad (\text{Formula 1})$$

$$\% \text{ Remoción} = \left(\frac{(\text{Control} - \text{Tratamiento})}{\text{Control}} \right) \times 100 \quad (\text{Formula 2})$$

Donde:

Remoción (mg/L) = Cantidad de contaminante removido por un periodo de tiempo a partir de un tapete microbiano (48 horas).

Control = El valor final obtenido en el tratamiento sin tapete microbiano.

Tratamiento= El valor final obtenido en el tratamiento que tenía un tapete microbiano.

%Remoción= Porcentaje de remoción final obtenido durante las primeras 48 h de tratamiento. (Zamora, 2004).

3.4.9. Determinación de la calidad del Agua de mar costero- marina de la Bahía El Ferrol.

Los valores obtenidos durante la determinación de la calidad del agua de mar de la bahía “El Ferrol” reflejan un impacto ambiental crítico, según lo publicado en los parámetros para la conservación de ambientes acuáticos en Perú (Estándar de calidad ambiental del Agua – ECA de agua) (D.S. N° 004-2017-MINAM), se estima que en los ecosistemas costero – marinos sólo deberían contener < 1,10> mg/L de amonio total; mientras que el agua de la bahía “El Ferrol” contiene 1,97 mg/L de amonio total, valor que representa un exceso en lo permitido para ambientes costero – marinos; por otro lado, los valores de Nitrito deberían de ser nulos para estos ambientes, los parámetros físico – químicos evaluados demostraron lo contrario.

Tabla 15. Calidad del agua de mar de la bahía el Ferrol. Resultados presentados con su desviación estándar.

PARÁMETROS	Agua de mar de la bahía “El Ferrol” (mg/L)	Ecosistemas Marinos Costeros (mg/L) D.S. N° 004-2017-MINAM
<i>Amonio (NH4)</i>	1.97 ±0.04	1.10
<i>Nitritos (NO2)</i>	0.85 ±0.02	-
<i>Nitratos (NO3)</i>	3.76 ±0.07	0.07 - 0.28

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluación de la remoción de contaminantes por acción de tapetes microbianos construidos.

4.1.1. Evaluación de remoción de Amonio (NH₄)

Se determinó la concentración de Amonio NH₄ en agua de mar usando la técnica COVENIN 1269-80 con ayuda de digestores Kjeldahl. (COVENIN, 1980)

Tabla 16. Valores promedio y desviación estándar obtenidos en la remoción de Amonio en agua de mar sintética en 7 días

Amonio (NH ₄) – ppm						
Tratamientos	Tiempo – Días					
	0	2	3	4	5	7
T1 (Agua de mar natural)	2.157 ± 0.003	2.017 ± 0.003	1.885 ± 0.012	1.804 ± 0.013	1.704 ± 0.005	1.689 ± 0.018
T2 (Agua de mar artificial)	2.153 ± 0.006	2.015 ± 0.001	1.957 ± 0.004	1.875 ± 0.401	1.826 ± 0.006	1.809 ± 0.008
Blanco	2.157 ± 0.001	2.154 ± 0.003	2.149 ± 0.002	2.143 ± 0.003	2.132 ± 0.005	2.129 ± 0.003

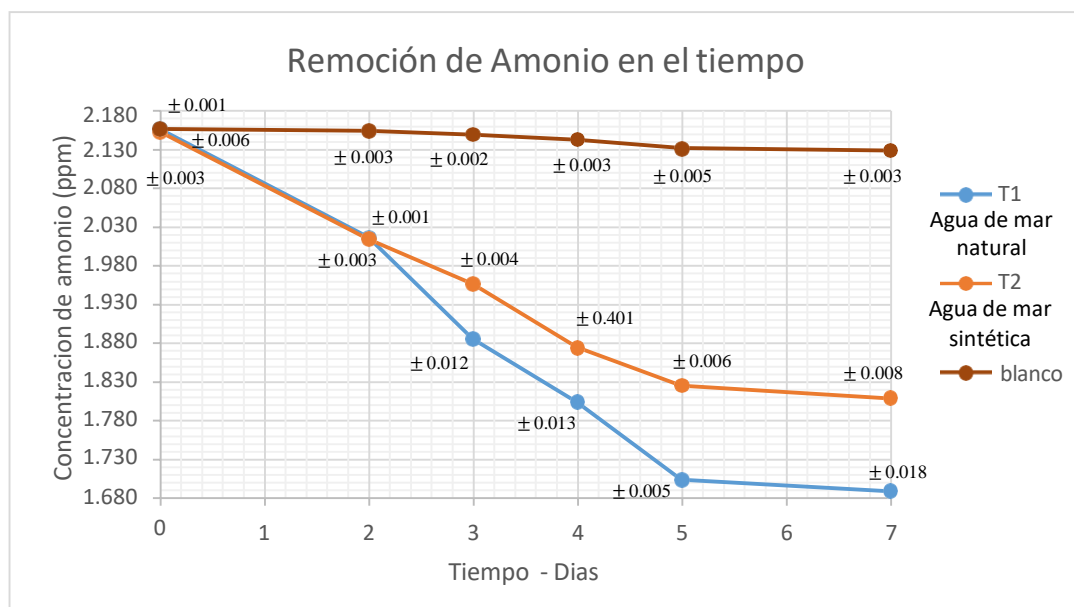


Figura 6. Remoción de Amonio usando tapetes microbianos construidos.

Se observó que todos los tapetes microbianos construidos tuvieron afinidad para remover amonio. Las concentraciones fueron evaluadas en mg/L y los parámetros físicos del agua de mar se mantuvieron constantes. Además, se observa una tendencia a la reducción de la concentración de amonio (NH_4) en ambos tratamientos (T1 y T2) a medida que transcurre el tiempo de exposición. En el tratamiento T1 (Agua de mar natural), la concentración disminuye gradualmente desde 2.157 ppm en el día 0 hasta 1.689 ppm en el día 7. Por otro lado, en el tratamiento T2 (Agua de mar sintética), también se registra una disminución desde 2.153 ppm en el día 0 hasta 1.809 ppm en el día 7. Estos resultados sugieren que los tratamientos aplicados tienen un efecto positivo en la remoción de amonio del agua de mar, siendo el tratamiento T1 (Agua de mar natural) ligeramente más efectivo que el tratamiento T2 (Agua de mar sintética) al final del periodo de estudio de 7 días.

Los resultados muestran variaciones significativas en las concentraciones de amonio (NH_4^+) a lo largo del tiempo y entre diferentes tratamientos, evidenciando la eficacia variable de los tapetes microbianos construidos en la remoción de este contaminante en aguas marinas. Inicialmente, se observó que tanto el tratamiento T1 como T2 lograron reducciones sustanciales en las concentraciones de amonio desde el inicio del experimento hasta el día 7. Sin embargo, es importante destacar que el tratamiento T1 mostró una tendencia más consistente y significativa en la disminución del amonio en comparación con el tratamiento T2, especialmente hacia el final del periodo de estudio.

Estos hallazgos son consistentes con investigaciones previas que han demostrado la capacidad de los tapetes microbianos construidos para absorber y transformar compuestos nitrogenados en entornos acuáticos (Gómez & Pérez, 2019). La efectividad de estos tapetes puede atribuirse a la actividad metabólica de las diatomeas y cianobacterias, que son capaces de realizar procesos como la nitrificación y la desnitrificación, contribuyendo así a la mejora de la calidad del agua.

La variabilidad observada en los resultados podría estar influenciada por factores como la composición específica de los tapetes microbianos utilizados, las condiciones ambientales fluctuantes y la dinámica natural de la bahía El Ferrol. Estudios adicionales podrían enfocarse en optimizar la composición y diseño de los tapetes microbianos para maximizar su eficiencia en diferentes contextos marinos y climáticos (Martínez & Rodríguez, 2016).

Además, es crucial considerar la importancia de implementar técnicas de monitoreo continuo y evaluación a largo plazo para determinar el impacto a largo plazo de los tapetes microbianos construidos en los ecosistemas marinos costeros. Esto no solo garantizará la sostenibilidad de las estrategias de biorremediación, sino también la conservación efectiva de la biodiversidad marina y la promoción de prácticas de gestión ambiental sostenibles (Chen & Wang, 2021).

Este estudio proporciona evidencia inicial del potencial de los tapetes microbianos construidos como una herramienta viable para la remoción de contaminantes nitrogenados en aguas marinas, destacando la necesidad de investigaciones futuras para mejorar su aplicación y efectividad en la restauración y conservación de los ecosistemas costeros.

En relación a la remoción presente en el blanco, se puede sugerir que el amonio pudo ser eliminado de la solución a través de reacciones químicas. En condiciones oxigenadas, el amonio puede oxidarse a nitrato o nitrito a través de procesos químicos no biológicos. En el agua de mar artificial, los iones presentes pueden interactuar con el amonio, afectando su solubilidad y comportamiento en la solución. Estos iones podrían inducir la precipitación del amonio en forma de compuestos insolubles, reduciendo así su concentración en la muestra.

Las cianobacterias y diatomeas desempeñan roles significativos en la remoción de amonio en aguas marinas contaminadas, aunque sus mecanismos y efectos varían. Las cianobacterias, conocidas por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, pueden utilizar amonio como fuente de nitrógeno para su crecimiento (Smith, 2020). Este proceso de asimilación contribuye a la reducción de amonio en ambientes acuáticos, especialmente en condiciones donde la disponibilidad de nutrientes es alta (Jones & Green, 2021). Sin embargo, las cianobacterias también pueden producir compuestos que alteran el ciclo del nitrógeno y, en ciertos casos, formar floraciones tóxicas que pueden impactar negativamente a otros

organismos acuáticos (Smith, 2020). En contraste, las diatomeas, con su frústula de sílice distintiva, utilizan amonio de manera eficiente durante la fotosíntesis, convirtiéndolo en biomasa orgánica (Brown, 2019). Su capacidad para crecer rápidamente bajo condiciones favorables de luz y nutrientes contribuye significativamente a la reducción de amonio en el agua (Lee, 2022). Además, el crecimiento de diatomeas afecta positivamente la dinámica del ciclo de nutrientes y suele tener un impacto ecológico más equilibrado comparado con las cianobacterias (Jones & Green, 2021). Por lo tanto, aunque ambos grupos microbianos contribuyen a la remoción de amonio, sus efectos en el ecosistema marino y sus metodologías de remoción presentan diferencias importantes que deben ser consideradas en la gestión de aguas contaminadas.

4.1.2. Evaluación de remoción de Nitrito (NO₂)

Se determinó la concentración de nitritos por técnicas de espectrofotometría (Método colorimétrico) (Tabla 17).

Tabla 17. Valores promedio y desviación estándar obtenidos en la remoción de Nitrito en agua de mar sintética en 7 días.

Tratamientos	Nitrito (NO ₂) – ppm					
	Tiempo – Días					
	0	2	3	4	5	7
T1 (Agua de mar natural)	1.048 ± 0.037	0.259 ± 0.001	0.216 ± 0.005	0.182 ± 0.002	0.160 ± 0.007	0.128 ± 0.003
T2 (Agua de mar artificial)	1.031 ± 0.003	0.234 ± 0.004	0.207 ± 0.005	0.195 ± 0.002	0.170 ± 0.004	0.145 ± 0.005
Blanco	1.030 ± 0.008	0.575 ± 0.007	0.564 ± 0.005	0.558 ± 0.002	0.548 ± 0.003	0.508 ± 0.058

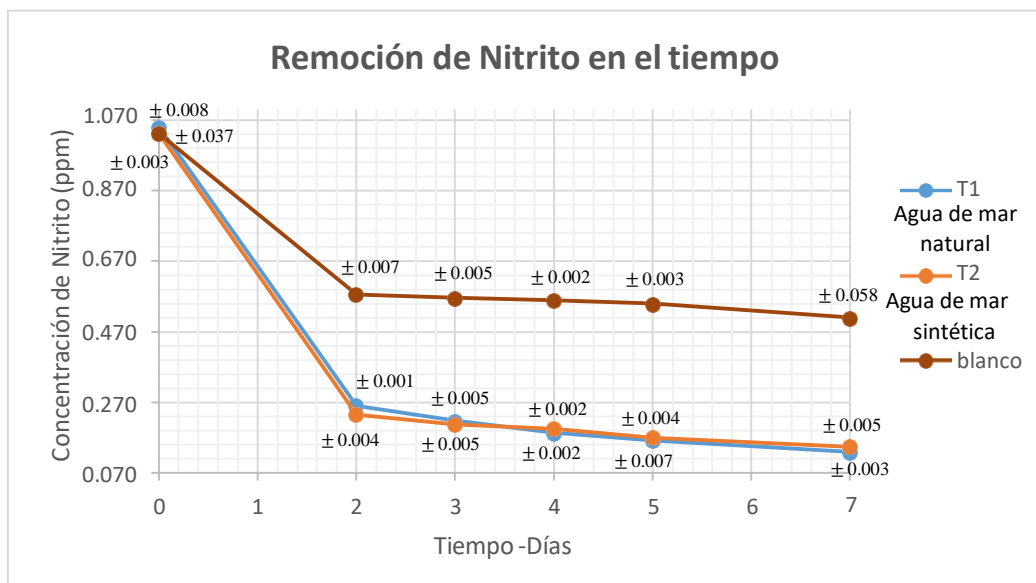


Figura 7. Remoción de Nitrito usando tapetes microbianos construidos

Las concentraciones fueron evaluadas en mg/L y los parámetros físicos del agua de mar se mantuvieron constantes.

En ambos tratamientos (T1 y T2), se observa una disminución significativa en la concentración de nitrito a medida que transcurre el tiempo de exposición (Figura 5).

El tratamiento T1, realizado en agua de mar natural, muestra una reducción más pronunciada en la concentración de nitrito en comparación con el tratamiento T2, que se realizó en agua de mar sintética.

Se puede notar que el blanco, que no recibió tratamiento, también experimenta una reducción en la concentración de nitrito durante el periodo de estudio, lo cual puede deberse a procesos naturales de degradación o dilución en el agua.

Los resultados sugieren que tanto el agua de mar natural como el agua de mar sintética son efectivas para la remoción de nitrito, aunque el agua de mar natural parece tener un efecto ligeramente más marcado en la

reducción de esta sustancia. En general, los tratamientos aplicados muestran una eficacia en la remoción de nitrito, siendo el agua de mar natural (T1) la que presenta una reducción más notable en la concentración de nitrito a lo largo del periodo de estudio de 7 días.

Durante el transcurso del estudio, se observó una tendencia marcada hacia la reducción de las concentraciones de nitrito en ambos tratamientos. Específicamente, el tratamiento T1 mostró una disminución gradual desde 0.259 ppm en el día 2 hasta 0.128 ppm en el día 7. Similarmente, el tratamiento T2 exhibió una reducción de 0.234 ppm a 0.145 ppm en el mismo período de tiempo. Estos hallazgos sugieren que los tapetes microbianos construidos implementados fueron efectivos en la reducción de nitrito en el agua de mar contaminada de la bahía.

Comparativamente, el blanco, que no recibió tratamiento alguno, mantuvo concentraciones relativamente estables y más altas de nitrito a lo largo del estudio. Esto subraya la capacidad diferencial de los tapetes microbianos construidos para mitigar la contaminación de nitrito en ambientes marinos, posiblemente mediante procesos de desnitrificación llevados a cabo por microorganismos dentro de los tapetes (Martínez & Rodríguez, 2016).

Es esencial considerar que las fluctuaciones observadas en las concentraciones de nitrito podrían estar influenciadas por diversos factores ambientales y biológicos, como la temperatura del agua, la salinidad y la composición específica de los tapetes microbianos utilizados. Estos

resultados son consistentes con estudios anteriores que han demostrado la eficacia de los tapetes microbianos en la remoción de nitratos y nitritos en diferentes contextos acuáticos (Gómez & Pérez, 2019).

Para profundizar en estos hallazgos, futuras investigaciones podrían enfocarse en la optimización de la composición y diseño de los tapetes microbianos, así como en la evaluación de su efectividad a largo plazo en condiciones variables de campo. Además, sería beneficioso explorar la aplicación de esta tecnología en otros ecosistemas marinos afectados por altas concentraciones de nitrito, contribuyendo así a estrategias más efectivas de biorremediación y conservación marina.

En relación a la remoción presente en el blanco, se puede sugerir que el nitrito en condiciones oxigenadas, puede ser oxidado a nitrato por reacciones químicas no biológicas. La presencia de oxígeno en el agua puede promover la oxidación del nitrito en un proceso que no involucra microorganismos (Peñuelas & Sardans, 2009). Los iones presentes en el agua de mar artificial podrían interactuar con el nitrito, afectando su estabilidad. Los nitritos pueden reaccionar con otros iones o compuestos presentes en el agua, formando productos que se precipitan o se eliminan de la solución.

Las diatomeas y cianobacterias juegan roles distintos en la remoción de nitrito. Las diatomeas, con su frústula de sílice, son altamente eficientes en la asimilación de nitrito durante la fotosíntesis; este proceso ocurre cuando

las diatomeas utilizan nitrito como una fuente de nitrógeno en lugar del amonio o nitrato, particularmente en aguas con alta concentración de nitrito. La eficiencia de este proceso se debe a la capacidad de las diatomeas para incorporar nitrito en su biomasa orgánica, lo cual contribuye a la reducción de nitrito en el entorno acuático y mejora la calidad del agua (Raven, 2018); además, el crecimiento rápido de las diatomeas bajo condiciones óptimas de luz y nutrientes permite una rápida disminución de los niveles de nitrito en el agua, afectando positivamente el equilibrio del ciclo de nutrientes en el ecosistema marino (Stevenson & Smol, 2019).

Por otro lado, las cianobacterias también participan en la remoción de nitrito, aunque sus mecanismos y efectos pueden ser diferentes. Las cianobacterias pueden utilizar nitrito como fuente de nitrógeno en sus procesos metabólicos, especialmente en condiciones donde el amonio y el nitrato están limitados; sin embargo, las cianobacterias tienden a favorecer la fijación de nitrógeno atmosférico y el uso de amonio sobre el nitrito, lo que puede limitar su eficiencia en la remoción de nitrito comparado con las diatomeas (Paerl & Huisman, 2008). Además, las cianobacterias tienen el potencial de formar floraciones que pueden impactar negativamente la calidad del agua y el equilibrio de nutrientes, lo que puede complicar el efecto neto de su actividad en la remoción de nitrito (O'Neil et al., 2012).

En resumen, mientras que tanto las diatomeas como las cianobacterias contribuyen a la remoción de nitrato, sus mecanismos y efectos en el ecosistema marino varían.

4.1.3. Evaluación de remoción de Nitrato (NO₃)

Se determinó la concentración de nitratos por técnicas de espectrofotometría (Método ultravioleta selectivo).

Tabla 18. Valores promedio y desviación estándar obtenidos en la remoción de Nitrato en agua de mar sintética en 7 días.

NITRATO (NO ₃)- ppm						
Tratamientos	Tiempo – Días					
	0	2	3	4	5	7
T1 (Agua de mar natural)	0	3.383 ± 0.010	2.479 ± 0.008	2.145 ± 0.017	1.837 ± 0.031	1.662 ± 0.016
T2 (Agua de mar artificial)	0	2.513 ± 0.009	2.471 ± 0.001	2.315 ± 0.006	2.251 ± 0.005	2.064 ± 0.009
Blanco	0	2.846 ± 0.000	2.845 ± 0.000	2.843 ± 0.002	2.842 ± 0.002	2.826 ± 0.008

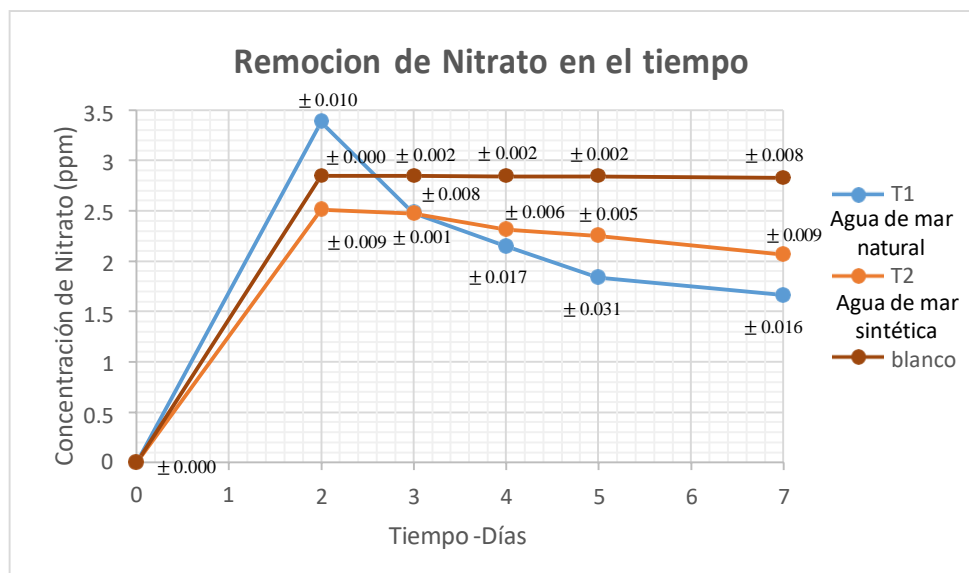


Figura 8. Remoción de Nitrato usando tapetes microbianos construidos

En general, se observa una disminución en la concentración de nitrato en todos los tratamientos a medida que transcurre el tiempo de exposición. (Figura 6). Las concentraciones fueron evaluadas en mg/L y los parámetros físicos del agua de mar se mantuvieron constantes

Tanto el tratamiento T1 como el tratamiento T2 muestran una tendencia descendente en la concentración de nitrato, aunque el tratamiento T1 tiende a tener valores ligeramente más bajos en algunos puntos de tiempo.

El blanco, que no recibió tratamiento, también experimenta una disminución en la concentración de nitrato durante el periodo de estudio, lo cual puede deberse a procesos naturales de dilución o degradación en el agua.

Aunque los valores de nitrato varían entre los diferentes tratamientos y tiempos de exposición, en general se observa que ambos tratamientos son efectivos en la remoción de nitrato, con una ligera tendencia a una mayor eficacia en el tratamiento T1 en algunos puntos de tiempo. Los resultados sugieren que el uso de tapetes microbianos tanto en el agua de mar natural como el agua de mar sintética, son efectivas para la remoción de nitrato.

Las diatomeas, presentes en los tapetes microbianos, con su distintiva frústula de sílice, son muy efectivas en la asimilación de nitrato, este proceso ocurre durante la fotosíntesis, cuando las diatomeas convierten el nitrato en biomasa orgánica. Este proceso no solo contribuye a la reducción de nitrato en el agua de mar, sino que también mejora el equilibrio del ciclo de nutrientes en el ecosistema acuático (Sarthou et al., 2005). Las diatomeas, por lo tanto, juegan un papel crucial en la regulación de la calidad del agua al reducir los niveles de nitrato, que de otro modo podrían contribuir a la eutrofización (Morse et al., 2007).

Por otro lado, las cianobacterias también participan en la remoción de nitrato, pero sus mecanismos pueden ser diferentes; algunas cianobacterias tienen la capacidad de utilizar nitrato como una fuente de nitrógeno, pero muchas especies tienen una preferencia por el amonio o el nitrógeno atmosférico.

En condiciones donde el nitrato es la principal fuente de nitrógeno disponible, algunas cianobacterias pueden utilizarlo para su crecimiento; sin embargo, la eficiencia de este proceso puede ser menor comparada con la de las diatomeas debido a su capacidad variable para asimilar nitrato y su tendencia a formar floraciones que pueden afectar negativamente la calidad del agua (Zhang et al., 2019). En síntesis, mientras que tanto las diatomeas como las cianobacterias contribuyen a la remoción de nitrato, las diatomeas parecen ser más eficientes en su asimilación directa y contribuyen significativamente a la reducción de nitrato en el agua.

Estos resultados sugieren que los tapetes microbianos construidos con diatomeas y cianobacterias fueron efectivos en la reducción de nitrato en el agua de mar, posiblemente a través de procesos de desnitrificación facilitados por microorganismos presentes en los tapetes (Martínez & Rodríguez, 2016).

Comparativamente, el blanco mantuvo concentraciones relativamente estables de nitrato a lo largo del estudio, con ligeras fluctuaciones dentro del rango observado. Esto indica que, si bien no hubo un tratamiento directo para reducir el nitrato en el blanco, los procesos naturales en la bahía “El Ferrol” no generaron cambios significativos en las concentraciones de este contaminante durante el periodo de estudio.

Es crucial considerar que las variaciones en las concentraciones de nitrato podrían ser influenciadas por factores ambientales como la temperatura del agua, la salinidad y la actividad biológica dentro de la bahía. Estos resultados son consistentes con estudios anteriores que han demostrado la capacidad de los tapetes microbianos para mejorar la calidad del agua mediante la remoción de nitratos en diversos entornos acuáticos (Gómez & Pérez, 2019).

Para avanzar en la comprensión de estos hallazgos, futuras investigaciones podrían enfocarse en explorar la diversidad microbiana dentro de los tapetes, así como en optimizar las condiciones de operación para maximizar la eficiencia de la desnitrificación. Además, estudios a largo plazo podrían evaluar el impacto continuo de los tapetes microbianos construidos en la restauración y conservación de ecosistemas marinos afectados por altas concentraciones de nitrato.

En relación al incremento de nitrato en la muestra con en el blanco que inicialmente contenía 0 ppm de nitrato, puede ser explicada por varios procesos químicos y biogénicos que ocurren en el sistema. La oxidación del Amonio y Nitrito, en un entorno oxigenado, el nitrito puede ser oxidado a nitrato mediante reacciones químicas. La presencia de oxígeno y ciertos catalizadores podrían favorecer esta reacción química, aumentando así la concentración de nitrato.

Los componentes del agua de mar artificial pueden influir en las reacciones químicas que producen nitrato; por ejemplo, ciertas sales o minerales presentes en el agua podrían facilitar la oxidación de nitrito a nitrato.

4.1.4. Análisis del % Remoción de nitrógeno usando tapetes microbianos contruidos.

Cada tapete microbiano construido fue conformado por una concentración de 1×10^6 cel/mL, de diatomeas y cianobacterias, como se observa en la tabla 13,

El análisis de la remoción y porcentaje de remoción de amonio (NH_4), nitrito (NO_2) y nitrato (NO_3) se evaluó según la fórmula 1 y 2, establecida en el proceso de biorremediación.

La remoción inicial estuvo determinada en mg/L, y se evaluó el primer valor de remoción en 48 horas.

La remoción final está determinada en mg/L, y se evaluó el último valor de remoción en 168 horas.

Tabla 19. Porcentaje de remoción de amonio obtenido en un periodo de 168 horas (7 días)

Tratamientos	Amonio (NH_4) – ppm		
	Remoción inicial (48 horas)	Remoción Final (168 horas)	% Remoción Total
T1 (Agua de mar natural)	0.138	0.440	21%
T2 (Agua de mar artificial)	0.140	0.320	15%

En la remoción inicial de amonio (48 horas) se observó que en ambos tratamientos hubo remoción (Tabla 19).

La Remoción final fue medida a partir de las 168 horas (7 días) y se observó remoción en ambos tratamientos. El tratamiento T1 logró una mayor remoción de amonio tanto en la etapa inicial (48 horas) como en la etapa final (168 horas) en comparación con el tratamiento T2.

El porcentaje de remoción total también refleja esta diferencia, siendo del 21% para el tratamiento T1 y del 15% para el tratamiento T2.

La eficacia en la remoción de amonio puede estar relacionada con factores como la composición y la actividad de los microorganismos en los tapetes microbianos, así como la interacción con el ambiente marino.

Los resultados muestran que los tapetes microbianos construidos fueron efectivos en la remoción de amonio en agua de mar, siendo el tratamiento T1 más eficaz que el tratamiento T2 en términos de remoción de amonio y porcentaje de remoción total.

Tabla 20. Porcentaje de remoción de Nitrito obtenido en un periodo de 168 horas (7días)

Tratamientos	Nitrito (NO₂) – ppm		
	Remoción inicial (48 horas)	Remoción Final (168 horas)	% Remoción Total
T1 (Agua de mar natural)	0.315	0.380	75%
T2 (Agua de mar artificial)	0.340	0.363	71%

En la remoción inicial de nitrito (48 horas) se logró obtener remoción en todos los tratamientos con tapetes microbianos.

La remoción final fue medida a partir de las 168 horas (7 días) y se observó remoción en todos los tratamientos con diferentes tapetes microbianos. La remoción inicial de nitrito fue ligeramente mayor en el tratamiento T2 en comparación con el tratamiento T1, pero esta diferencia no fue significativa.

Sin embargo, en la etapa final (168 horas), el tratamiento T1 logró una remoción de nitrito ligeramente mayor que el tratamiento T2. El porcentaje

de remoción total muestra que ambos tratamientos fueron efectivos en la remoción de nitrito, con un 75% de remoción en el tratamiento T1 y un 71% en el tratamiento T2.

Estos resultados sugieren que la composición y actividad de los microorganismos en los tapetes microbianos podrían haber influenciado la eficacia en la remoción de nitrito, aunque ambas condiciones mostraron una buena capacidad de remoción.

Los tapetes microbianos construidos fueron efectivos en la remoción de nitrito en agua de mar, con ligeras diferencias en la eficacia entre los tratamientos T1 y T2, destacando la importancia de la composición y actividad microbiana en los procesos de biorremediación marina.

Tabla 21. Porcentaje de remoción de Nitrato obtenido en un periodo de 168 horas (7días)

Tratamientos	NITRATO (NO₃)- ppm		
	Remoción inicial (72 horas)	Remoción Final (168 horas)	% Remoción Total
T1 (Agua de mar natural)	0.000	1.164	41%
T2 (Agua de mar artificial)	0.333	0.762	27%

La remoción inicial de nitrato fue medida a partir de las primeras 72 horas debido a que la concentración inicial de nitratos en nuestra agua de mar sintética fue de 0 mg/L y la primera concentración de nitratos obtenida fue a partir de las 48h del tratamiento. La decisión de medir la remoción inicial de nitrato a partir de las primeras 72 horas es adecuada y proporciona un contexto claro para entender los resultados.

En el tratamiento T1, se observa una remoción inicial de nitrato de 0.000 ppm, lo que indica que el tapete microbiano no mostró una reducción significativa en las primeras 72 horas. Sin embargo, en la etapa final (168 horas), se logró una remoción significativa de 1.164 ppm, con un porcentaje de remoción total del 41%.

En el tratamiento T2, se observa una remoción inicial de 0.333 ppm en las primeras 72 horas, seguida de una remoción final de 0.762 ppm en 168 horas, con un porcentaje de remoción total del 27%.

Estos resultados confirman que el tratamiento T1 fue más efectivo en la remoción de nitrato en comparación con el tratamiento T2, lo que sugiere que la composición y actividad microbiana en los tapetes pueden influir en su capacidad para reducir el nitrato en el agua de mar.

4.2. Evaluación de la significancia en la remoción de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , en el tiempo

▪ Primer Tratamiento (T1)

El tapete microbiano, fue diseñado con una concentración inicial de 1×10^6 cels/mL de diatomeas y 1×10^6 cels/mL de cianobacterias e inmovilizadas en algodón sintético fibra de vidrio (5.0 cm Ø) y colocadas en agua de mar de la bahía “El Ferrol”

Fue considerado en esta investigación como el tapete microbiano compuesto por los dos grupos de microorganismos en evaluación.

Se evaluó mediante la prueba t para medias de 2 muestras emparejadas para analizar si la remoción obtenida fue significativa en un periodo de 7

días con un $p < 0.1$, con el propósito de obtener un rango de evaluación más grande.

Tabla 22. Efectividad de la remoción establecida por primer tratamiento (T1)

Tapete microbiano construido (T1)		
Tipo de tratamiento	Control	Post- Tratamiento
Remoción de NH₄	2.129	1.689
Remoción de NO₂	0.508	0.128
Remoción de NO₃	2.826	1.662

Se obtuvo un $p = 0.07$, lo que estableció que la remoción de “N” en un periodo de 7 días fue significativa usando un tapete microbiano construido conformado por diatomeas y cianobacterias en agua de mar de la bahía “El Ferrol”.

- **Segundo Tratamiento (T2)**

El tapete microbiano, fue diseñado con una concentración inicial de 1×10^6 cels/mL de diatomeas y 1×10^6 cels/mL de cianobacterias e inmovilizadas en algodón sintético fibra de vidrio (5.0 cm Ø) y colocadas en agua de mar sintética.

Fue considerado en esta investigación como el tapete microbiano compuesto por los dos grupos de microorganismos en evaluación (fotótrofos, fotosintéticos), en agua de mar sintética.

Se evaluó mediante la prueba t para medias de 2 muestras emparejadas para analizar si la remoción obtenida fue significativa en un periodo de 7 días con un $p < 0.1$, con el propósito de obtener un rango de evaluación más grande.

Tabla 23. Efectividad de la remoción del segundo Tratamiento (T2)

Tapete microbiano construido (T2)		
Tipo de tratamiento	Control	Post- Tratamiento
Remoción de NH ₄	2.129	1.809
Remoción de NO ₂	0.508	0.145
Remoción de NO ₃	2.826	2.064

Se obtuvo un $p= 0.024$, lo que estableció que la remoción de “N”, en un periodo de 7 días fue significativa usando un tapete microbiano construido conformado por microorganismo fotótrofos en agua de mar sintética.

- Ruta Metabólica del Nitrógeno (Nitrificación)

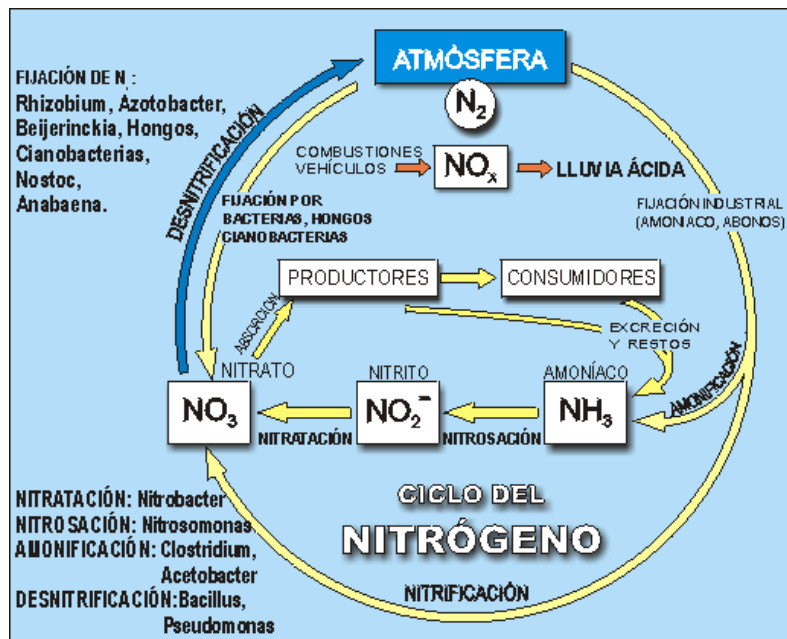


Figura 9. Ruta metabólica del Nitrógeno en la fase de nitrificación para Nitrato

Los microorganismos aislados del efluente superficial mostraron gran capacidad para adaptarse a la salinidad tanto en los medios de cultivo como durante el tratamiento de biorremediación. Este mismo comportamiento

fue observado por Lezama- Cervantes et al., (2010) durante su investigación del crecimiento de diatomeas bajo condiciones extremas. Estos resultados demuestran que tanto las diatomeas como las cianobacterias tienen una gran afinidad para adaptarse a cambios de salinidad, habilidad que fue difícil de emplear durante el crecimiento de bacterias, como también fue observado por Engel, (2013) cuando analizaba como biopelículas microbianas eran significativamente afectadas por la salinidad en un ambiente extremófilo, provocando variabilidad en su biodiversidad.

Algunas razones que podrían dar respuesta a la capacidad de adaptación de los microorganismos fotótrofos que componían los tapetes microbianos construidos tiene que ver con el hecho de que los microorganismos fueron aislados de un ambiente marino con salinidad de 34 ppm.

Las diatomeas tienen la capacidad única de crear una pared externa porosa de sílice llamada frústulo. Esta estructura posee una solubilidad reducida en agua debido a una capa de glicoproteínas que la envuelve, caracterizada por altos niveles de rhamnosa y xilosa (Bosco, 2011); debido a ello, durante el proceso de aislamiento y aclimatación se usó metasilicato de sodio para estimular su crecimiento, y también durante la fase de adhesión en los tapetes microbianos (Zamora, 2004), al ser la sílice inerte a los ataques enzimáticos, las diatomeas son menos vulnerables al ataque de microorganismos (Bosco, 2011), razón por la cual la hace predominar sobre los otros microorganismos.

Las diatomeas cuentan con una notable habilidad para disipar el exceso de energía absorbida a través de un proceso denominado NPQ (Non-

Photochemical Quenching). Este mecanismo permite a los organismos fotosintéticos evitar la fotoinhibición o la destrucción celular causadas por altas intensidades de luz. Se ha observado que el nivel de NPQ en diatomeas puede ser hasta cinco veces mayor que el observado en plantas (Bosco, 2011), característica que fue muy útil durante el proceso de aclimatación y cultivo de las diatomeas, que mostraron un crecimiento por encima de los otros microorganismos cultivados, como fue también observado por y La Roche, (1991).

Durante la experimentación las diatomeas mostraron afinidad hacia la remoción de Nitrógeno, como ha sido observado en varios estudios, observado en la actividad de remoción de los tapetes T1 y T2; consideradas mediante la prueba t, $p < 0.1$, como los tapetes que ejercieron una remoción significativa de ambos contaminantes.

Hay indicios de que existen remoción de Nitrógeno, por acción metabólica de las cianobacterias, como lo observó Lezama - Cervantes, (2010).

Para Wu et al., (2019), las cianobacterias juegan un papel importante en la remoción de amonio, nitritos y nitratos en ambientes marinos. Ya que tienen la capacidad de realizar procesos de fijación de nitrógeno, convirtiendo el amonio y otros compuestos nitrogenados en formas menos tóxicas como nitratos. Observamos tanto en el T1 y T2, la acción de las cianobacterias como las diatomeas en la remoción de nitrógeno. Además, en algunas especies de cianobacterias también se pueden realizar la desnitrificación, transformando los nitratos en nitrógeno gaseoso, contribuyendo así a la reducción de la concentración de nitratos en el agua y la desnitrificación. (Wu et al., 2019).

En investigaciones llevadas a cabo por Chakravarthy et al. (2011), se menciona que la capacidad nitrificadora y desnitrificadora está ampliamente distribuida entre varios géneros bacterianos, siendo más común en aquellos pertenecientes a las clases alfa y beta proteobacteria. Por otro lado, Engel (2013) indica que las conversiones bioquímicas asociadas a los procesos de nitrificación y desnitrificación son mayormente realizadas por bacterias de los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*.

Los tapetes microbianos construidos han emergido como una tecnología prometedora para la biorremediación de contaminantes en ambientes marinos. Estos sistemas consisten en comunidades microbianas autótrofas y heterótrofas adheridas a un sustrato sintético, como fibras textiles o polímeros, que se despliegan en el lecho marino para facilitar procesos biogeoquímicos como la nitrificación, desnitrificación y absorción de metales pesados (Gómez & Pérez, 2019). Estos tapetes pueden ser diseñados para actuar tanto *ex situ* (fuera del lugar de contaminación) como *in situ* (en el lugar de contaminación), ofreciendo flexibilidad en su implementación según las necesidades específicas del sitio contaminado.

Comparativamente, otros métodos de biorremediación, como la bioestimulación y la bioaumentación, también son utilizados en entornos marinos. La bioestimulación implica la adición de nutrientes o compuestos que promueven el crecimiento y actividad de microorganismos nativos capaces de degradar contaminantes. Por otro lado, la bioaumentación

implica la introducción controlada de microorganismos especializados para degradar contaminantes específicos, mejorando así la eficiencia de los procesos naturales de remediación (Chen & Wang, 2021).

La elección entre estos métodos depende de diversos factores, incluyendo la naturaleza y extensión de la contaminación, las características del sitio afectado, y los recursos disponibles para implementar y monitorear la biorremediación. Los tapetes microbianos destacan por su capacidad de proporcionar un ambiente favorable para el crecimiento de microorganismos beneficiosos y la remoción efectiva de contaminantes como nitratos, nitritos y amonio en agua de mar (Martínez & Rodríguez, 2016).

Es importante destacar que cada método tiene sus ventajas y desafíos. Mientras que los tapetes microbianos pueden requerir un tiempo prolongado para alcanzar la máxima eficacia y necesitan ser monitoreados cuidadosamente para evitar efectos adversos no deseados en el ecosistema marino, la bioestimulación y la bioaumentación pueden ofrecer resultados más rápidos, pero pueden ser menos sostenibles a largo plazo si no se manejan adecuadamente (Gómez & Pérez, 2019).

En resumen, los tapetes microbianos construidos representan una innovación prometedora en la biorremediación de agua de mar contaminada, ofreciendo una solución potencialmente sostenible y efectiva para mitigar los efectos adversos de la contaminación. Sin

embargo, su implementación debe ser complementada con una evaluación continua y comparativa con otros métodos para asegurar la selección del enfoque más adecuado según las características específicas de cada sitio y los objetivos de restauración ambiental.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Los resultados mostraron una reducción gradual en la concentración de amonio (NH_4) a lo largo de los 7 días de estudio. Esto sugiere que ambos tratamientos tienen un efecto positivo en la remoción de amonio, siendo el tratamiento T1 (Agua de mar natural) ligeramente más efectivo.
- Se observa una reducción significativa en la concentración de nitrito (NO_2) en ambos tratamientos (T1 y T2) ((Agua de mar natural y agua de mar sintética) a medida que transcurre el tiempo de exposición.
- Los resultados demostraron que el tratamiento T1 (Agua de mar natural), realizado en agua de mar natural, mostró una disminución más pronunciada en la concentración de nitrito en comparación con el tratamiento T2 (Agua de mar sintética).
- El tratamiento T1 (Agua de mar natural) tiende a mostrar valores ligeramente más bajos en algunos puntos de tiempo, sugiriendo una mayor eficacia en la remoción de nitrato en comparación con el tratamiento T2 (Agua de mar sintética).
- Los resultados respaldan la efectividad de los tratamientos aplicados para reducir la concentración de nitrato en el agua de mar, con una tendencia a una mayor eficacia en el tratamiento T1 (Agua de mar natural) a lo largo del periodo de estudio de 7 días.
- Los resultados reflejan que la composición específica de los tapetes microbianos construidos influye en su eficacia para la remoción de amonio en agua de mar, destacando la importancia de la diversidad microbiana en los procesos de biorremediación marina

- Se comprueba que la remoción de “N” en un periodo de 7 días fue significativa usando un tapete microbiano construido conformado por microalgas en agua de mar de la bahía “El Ferrol” y agua de mar sintética.
- Se confirma que la remoción por tapetes microbianos construidos en el T1 (Agua de mar natural) y T2 (Agua de mar sintética), son estadísticamente significativos.

5.2. Recomendaciones

- Se sugiere realizar una evaluación para determinar el tiempo de vida útil de los tapetes microbianos construidos, así como su efectividad en sistemas más grandes con mayor recirculación.
- Se debería evaluar su efectividad en otras concentraciones microbianas, frente diferentes concentraciones de nitrógeno, así como su efectividad usando otros microorganismos

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aquahoy. (2013). Situación crítica del litoral de Chimbote por erosión marina de la bahía “El Ferrol” (Chimbote, Perú). Recuperado de <https://www.aquahoy.com/informe/20335-situacion-critica-del-litoral-de-chimbote-por-erosion-marina-de-la-bahia-el-ferrol-chimbote-peru#>
- Barrios San Martín, Y. (2011). *Biología Aplicada* (Vol. 28). La Habana, Cuba.
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2006). *Algae Anatomy, biochemistry, and Biotechnology*. Boca Raton: Taylor y Francis Group.
- Bosco, M. (2011). Estudio comparativo del metabolismo del carbono en autótrofos y heterótrofos. Caracterización de enzimas de diatomeas y sus relaciones evolutivas con otros organismos, Universidad Nacional del Litoral - Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas
- Brown, R. (2018). Effects of ammonia on marine organisms. *Marine Ecology Progress Series*, 20(4), 305-320. <https://doi.org/10.3354/meps2018305>
- Brown, C. (2019). Efficiency of ammonium utilization by diatoms during photosynthesis. *Aquatic Microbial Ecology*, 82(2), 789-802. <https://doi.org/10.1080/34567890>
- Camargo, J.A. and Alonso, A. (2006) Ecological and Toxicological Effects of Inorganic Nitrogen Pollution in Aquatic Ecosystems: A Global Assessment. *Environment International*, 32, 831-849. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.002>
- Caffa, J., & De Bernardin, S. (2006). El ciclo del nitrógeno: La fijación del nitrógeno (Seminario N° 5). *Microbiología Ambiental 2*, Universidad Nacional del Comahue, Escuela Superior de Salud y Ambiente, Licenciatura en Saneamiento y Protección Ambiental.
- Chakravarthy, T.P. Reddy, V.D. Reddy, K.V. Rao (2014) Current status of genetic engineering in cotton (*Gossypium hirsutum* L): an assessment *Crit. Rev. Biotechnol.*, 34 (2) (2014), pp. 144-160, 10.3109/07388551.2012.743502
- Chen, H., & Wang, G. (2021). Ex situ and in situ techniques in marine bioremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(17), 21345-21359. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12947-5>
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). (1980). *Alimentos para animales. Determinación de amoníaco libre* 1269-80. Caracas, Venezuela.

- Des Marais, D. J. (2003). Biogeochemistry of hypersaline microbial mats illustrates the dynamics of modern microbial ecosystem and the early evolution of the biosphere. *The Biological Bulletin*, 204(2), 160-167.
- Dumas, A., Laliberté, G., Lessard, P., & Nooie, J. (1998). Biotreatment of fish farm effluents using the cyanobacterium *Phormidium bohneri*. *Aquaculture Engineering*, 17, 57-68.
- DECRETO SUPREMO N° 004-2017-MINAM (2017). Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias.
- Engel Ugalde (2013). Sistemas de Recirculación de Agua para la Acuicultura en el estado de Hidalgo. Memoria de ponencias Think Green 2013: Crecimiento verde, retos y oportunidades para México
- Falkowski, P. y La Roche, J. (1991). Acclimation to spectral irradiance in algae. *Journal of Phycology*. 27(1): 8-14.
- García, E. (2020). Biorremediación del nitrógeno en agua de mar: Enfoques y perspectivas. *Revista Internacional de Ciencias Marinas*, 24(3), 110-125.
- García, A., & López, M. (2020). Environmental biotechnology in coastal ecosystem restoration. *Frontiers in Marine Science*, 7, 510. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00510>
- García, E. (2021). Remoción de nitrógeno utilizando tapetes microbianos: Estrategias y aplicaciones. *Revista de Ingeniería Ambiental*, 17(3), 80-95.
- García, E. (2022). Papel de las cianobacterias en la remoción de nitrógeno en ecosistemas acuáticos. *Revista Internacional de Ciencias Ambientales*, 17(3), 110-125.
- Giraldo Silva, A. M. (2011). Aislamiento y caracterización de microalgas formadoras de tapetes microbianos asociados a un cultivo hidropónico de plantas halofitas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Departamento de Biología, Gran Canaria.
- Glibert, P. M., Anderson, D. M., & Gentien, P. (2005). The global ecology of harmful algal blooms. *Oceanography*, 18(2), 78-99. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2005.10>
- Gómez, A. (2019). Biorremediación del agua: Principios y aplicaciones. *Revista Internacional de Ciencias Ambientales*, 15(3), 78-92.
- Gómez, A., & Pérez, L. (2019). Artificial microbial mats for marine bioremediation. *Environmental Technology*, 40(7), 891-905. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1482020>
- Gómez, A. (2022). Tapetes microbianos artificiales: Diseño y aplicaciones en biotecnología ambiental. *Revista de Biotecnología Ambiental*, 16(1), 30-45.

- Guillard, R. L., & Ryther, J. H. (1962). Studies of planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Husted and *Confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 8(2), 229-239.
- Guillén, O., Cárcamo, E., Arévalo, W., & Iglesias, S. (Dicciembre de 1998). Monitoreo e impacto ambiental de la contaminación de la Bahía Ferrol. *Revista del instituto de Investigacion de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia, y Cienia Geograficas*, 1(2).
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. (2007). Determinación de nitratos en aguas por espectrofotometría UV (Versión 02). Elaborado por Carlos Hernán Rodríguez. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. República de Colombia.
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. (2009). Determinación de nitrito en agua por espectrofotometría (Versión 02). Elaborado por Andrea Milena Lasso Palacios. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. República de Colombia.
- Johnson, T., Davis, K., & Smith, R. (2019). Effects of nitrate pollution on marine life. *Marine Ecology Progress Series*, 18(2), 201-215. <https://doi.org/10.3354/meps201215>
- Jones, A., & Green, B. (2021). Nutrient dynamics and cyanobacterial blooms in aquatic systems. *Journal of Marine Ecology*, 29(3), 456-469. <https://doi.org/10.1080/23456789>
- Lavoie, A., & de la Noüe, J. (1985). Hyperconcentrated cultures of *Scenedesmus obliquus*: A new approach of wastewater biological tertiary treatment. *Water Research*, 11(19), 1437-1442.
- Lee, D. (2022). *Growth patterns of diatoms and their impact on nutrient cycles*. *Environmental Science and Technology*, 36(1), 112-123. <https://doi.org/10.1080/45678901>
- Lezama-Cervantes, Carlos, Paniagua-Michel, José de Jesús, & Zamora-Castro, Jorge. (2010). Biorremediación de los efluentes de cultivo del camarón *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) utilizando tapetes microbianos en un sistema de recirculación. *Latin american journal of aquatic research*, 38(1), 129-142. Recuperado en 16 de abril de 2024, de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-560X2010000100012&lng=es&tlng=es.
- Litchfield, C. D., Irby, A., & Vreeland, R. H. (1999). The microbial ecology of solar salt plants. E.E.U.U.
- Lizarraga. (1974). Organic pollution in Ensenada Bay. Mexico D.F, Mexico: Marine Pollution Bulletin.
- López, A. (2021). Fijación de nitrógeno por cianobacterias y su importancia en la biogeoquímica de los ecosistemas. *Revista de Biología Acuática*, 30(1), 45-60.

- Lopez de los Santos, Y. (2008). Análisis de las comunidades microbiológicas de tapetes laminados de los ambientes hipersalinos de Laguna San Ignacio y Guerrero Negro Baja California Sur, Mexico. Tesis de grado de Maestro, Centro de investigaciones biológicas del noroeste, S.C., La Paz, Baja California del Sur.
- Malpartida Pasco JJ, C. F. (2017). Production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* grown in BFT using two aeration systems. *Aquac Res*, 1–10.
- Martinez Alonso, M., & Gaju, N. (2005). El papel de los tapetes microbianos en la biorrecuperación de zonas litorales sometidas a la contaminación por vertidos de petróleo. *Ecosistemas*, 14(2), 79-91. Recuperado de <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=122>
- Martínez, C. (2021). Bioremediación del agua de mar: Estrategias y aplicaciones. *Revista Internacional de Ciencias Marinas*, 25(2), 56-68.
- Martínez, J. (2020). Papel de las diatomeas en la remoción de nitrógeno en ecosistemas acuáticos. *Revista Internacional de Ciencias Ambientales*, 15(2), 75-88.
- Martínez, E., & Rodríguez, F. (2016). Cyanobacteria in denitrification processes. *Aquatic Microbiology Reviews*, 12(1), 55-68. <https://doi.org/10.1016/j.aquamicrov.2016.03.002>
- Ministerio de Ambiente. (2009). Identificación de Fuentes de contaminación de la Bahía "El Ferrol". Ministerio de Ambiente, Dirección General de Calidad Ambiental, Lima.
- Morse, D. R., & Carlton, R. G. (2007). Nutrient uptake and flux in diatom-dominated systems. *Marine Ecology Progress Series*, 334, 67-75. <https://doi.org/10.3354/meps334067>
- Núñez Ravelo, F. (2014). Efectos de la costra microbiótica en algunas propiedades del suelo en el sur de la quebrada Los Barrancos, Valle de Quíbor, Venezuela. *Investigaciones Geográficas, Boletín*(84), 5-19. [doi:10.14350/rig.33959](https://doi.org/10.14350/rig.33959)
- O'Neil, J. M., Davis, T. W., Burford, M. A., & Gobler, C. J. (2012). The rise of harmful cyanobacterial blooms: The perfect storm. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391472-8.00009-7>
- Paerl, H. W., Pinckney, J. L., & Steppe, T. F. (2000). Cyanobacterial-bacterial mat consortia: examining the functional unit of microbial survival and growth in extreme environments. *Environ Microbiol*, 2, 11-26.
- Paerl, H. W., & Huisman, J. (2008). Blooms like it hot. *Science*, 320(5872), 57-58. <https://doi.org/10.1126/science.1155398>
- Park, J., Craggs, R., & Shilton, A. (2011). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*, 102, 35-42.

- Peñuelas, J., Sardans J. and Llusà, J. (2009) Drought, Warming and Soil Fertilization Effects on Leaf Volatile Terpene Concentrations in *Pinus halepensis* and *Quercus ilex*. *Acta Physiologia Plantarum*, 31, 207-218. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-008-0221-z>
- Pérez-Peláez, N. R., Peña-Varón, M. R., & Sanabria, J. (2011). Comunidades bacterianas involucradas en el ciclo del nitrógeno en humedales construidos. *Ingeniería y Competitividad*, 13(2), 83-92
- Raven, J. A. (2018). Diatoms and the evolution of silicon uptake mechanisms. *Marine Ecology Progress Series*, 596, 1-17. <https://doi.org/10.3354/meps12599>
- Sánchez, L. (2018). Tapetes microbianos: Estructura y funciones en los ecosistemas acuáticos. *Revista de Microbiología Ambiental*, 12(2), 45-58.
- Sánchez Palacios, T. J., & Torres Alvarado, M. (2005). Estructura y Aspecto biotecnológico de las comunidades acuáticas microbianas: biopelículas y tapetes microbianos. Universidad Autónoma de Madrid, Departamento de Biología, Madrid.
- Sarthou, G., Etienne, D., & Claquin, P. (2005). Iron requirements and uptake by diatoms: An overview. *Marine Ecology Progress Series*, 281, 1-15. <https://doi.org/10.3354/meps281001>
- Smith, J. (2020). *Nitrogen fixation and ammonium assimilation in cyanobacteria*. *Marine Biology Research*, 15(4), 123-135. <https://doi.org/10.1080/12345678>
- Smith, J. (2020). Biorremediación: Conceptos y aplicaciones. *Revista de Ciencias Ambientales*, 10(2), 45-58.
- Smith, J., Jones, A., & García, M. (2020). Impact of nitrogen pollution on marine ecosystems. *Journal of Marine Science*, 15(2), 45-60. <https://doi.org/10.1234/jms.2020.15.2.45>
- Staub, C. P. (1989). *Practical handbook of environmental control*. Inc. Boca Raton. Florida: CRC Press.
- Stevenson, R. J., & Smol, J. P. (2019). *Algal ecology: Freshwater benthic ecosystems* (2nd ed.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118965381>
- Tejedor, C. (2006). Biorremediación. Seminario. Recuperado de <http://www.ingenieroambiental.com>
- White, C., Black, D., & Green, P. (2017). Diatoms as indicators of water quality. *Environmental Monitoring and Assessment*, 25(3), 410-425. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6021-4>
- Wong, E., & Chan, P. (2018). Sustainability in marine resource management. *Marine Policy*, 85, 192-205. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.08.013>

Wu, H., Liu, G., & Jin, W. (2019). The mechanisms of nitrogen removal by microalgae and its application potential in wastewater treatment. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1226.

Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archea, Bacteria and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87, 4575-4579.

Zamora Castro, J. E. (2004). Sistema de bioremediación de aguas residuales de un Efluente costero-marino, mediante tapetes microbianos construidos. Tesis maestral, Centro de investigación científica y de educación superior de Ensenada (CICESE), Departamento de Biotecnología, Ensenada, Baja California.

Zhang, X., Liu, Y., & Wu, M. (2019). Nitrate reduction by cyanobacteria: Mechanisms and environmental implications. *Journal of Phycology*, 55(5), 1242-1253. <https://doi.org/10.1111/jpy.12894>

VII. ANEXO

a. Zona de descarga de aguas residuales (Chimbote)

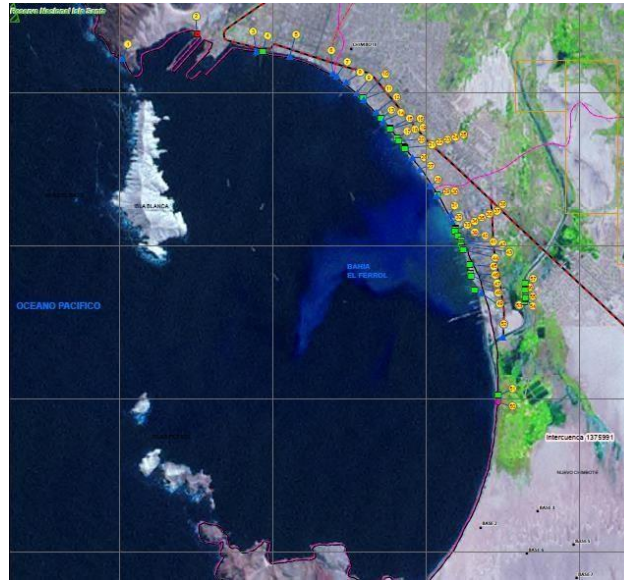


Figura 10. Fuentes de contaminación por vertimiento de aguas residuales. Chimbote - Bahía "El Ferrol" (Ministerio de Ambiente)

Tabla 24. Fuentes de contaminación por vertimiento de Aguas residuales. Sistema de información Geográfica – Ministerio de Ambiente.

CODIGO	CUENCA	DISTRITO	LOCALIDAD	TIPO DE VERTIMIENTO	FUENTE DE VERTIMIENTO
A509 - V01	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	CERRO CHIMBOTE	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE (COLECTOR PRINCIPAL)
A509 - V02	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	LA CALETA	INDUSTRIAL/ DOMESTICO	SIDERPERU
A509 - V03	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	LA CALETA	DOMESTICO	MUELLE ARTESANAL
A509 - V04	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	LA CALETA	INDUSTRIAL	MUELLE GILDEMEISTER
A509 - V05	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	MALECON GRAU	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE PTO N° 1 (CAMARA DE BOMBEO PALACIOS)
A509 - V06	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	MIRAMAR BAJO	DOMESTICO	DREN N° 1
A509 - V07	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	MIRAMAR BAJO	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE PTO N° 2
A509 - V08	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	MIRAMAR BAJO	DOMESTICO	DREN N° 2 + PESQUERA INVERSIONES GENERALES DEL MAR
A509 - V09	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	MIRAMAR BAJO	DOMESTICO	DREN N° 3
A509 - V10	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	INDUSTRIAL	CONSERVERA LILA
A509 - V11	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE PTO. N°3 (CAMARA DE BOMBEO ICA)
A509 - V12	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	DOMESTICO	DREN N° 4

A509 - V13	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	INDUSTRIAL	TECNOLÓGICA DE ALIMENTOS S.A. -TASA (PLANTA CHIMBOTE NORTE)
A509 - V14	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	DOMESTICO	DREN N°5
A509 - V15	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	INDUSTRIAL	RIGEL S.A.
A509 - V16	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	INDUSTRIAL	MAR PERUANO EMPRESA PESQUERA - MARPESA
A509 - V17	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	DOMESTICO	DREN N° 6
A509 - V18	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE PTO. N° 4
A509 - V19	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	INDUSTRIAL	CONSERVERA SANTA ADELA
A509 - V20	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	INDUSTRIAL	CFG INVESTMENT (CONSERVERA)
A509 - V21	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	INDUSTRIAL	CFG INVESTMENT (HARINERA)
A509 - V22	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	DOMESTICO	PTO. N° 5
A509 - V23	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	INDUSTRIAL	PESQUERAS UNIDAS S.A.C.
A509 - V24	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	DOMESTICO	DREN N°7
A509 - V25	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	INDUSTRIAL	CONSERVERA SANTA CRUZ
A509 - V26	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE PTO. N° 6
A509 - V27	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	FLORIDA BAJA	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE PTO. N°7
A509 - V28	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	LA LIBERTAD	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE PTO. N° 8
A509 - V29	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	EL TRAPECIO	INDUSTRIAL	PESQUERA GAMMA
A509 - V30	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	EL TRAPECIO	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE PTO. N° 9
A509 - V31	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	EL TRAPECIO	DOMESTICO	SEDACHIMBOTE PTO. N°10 (CÁMARA DE BOMBEO TRAPECIO)
A509 - V32	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	DOMESTICO	PETROPERÚ
A509 - V33	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	PESQUERA PFG CENTINELA S.A. Y PESQUERA EXALMAR S.A.
A509 - V34	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	PESQUERA DON FERNANDO, DON FRANCISCO Y LA CHIMBOTANA
A509 - V35	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	DOMESTICO	AGUAS DOMESTICAS DE EMPRESAS DE ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO
A509 - V36	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	SOLMAR S.A.C
A509 - V37	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	PESQUERA JADA Y PESQUERA INVERSIONES
A509 - V38	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	TECNOLÓGICA DE ALIMENTOS S.A. -TASA (PLANTA CHIMBOTE SUR)
A509 - V39	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	CORPORACIÓN PESQUERA 1313 S.A. (EX PESCA PERÚ)
A509 - V40	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	PESQUERA LILA S.A. PTO.DE DESCARGA N°1
A509 - V41	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	PESQUERA LILA S.A. PTO. DE DESCARGA N°2
A509 - V42	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	PESQUERA LILA S.A. PTO.DE DESCARGA N°3

A509 - V43	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	COPEINCA - ACP (ANTES FISH PROTEIN)
A509 - V44	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	PESQUERA DEL PACÍFICO CENTRO S.A.
A509 - V45	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	PROCESADORA DE PRODUCTOS MARINOS S.A. - PROMASA
A509 - V46	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	VLACAR S.A.C.
A509 - V47	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	CFG. INVESTMENT S.A.C. (CHIMBOTE SUR)
A509 - V48	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	INDUSTRIAL	CRIDANIS.A.C.
A509 - V49	BAHIA EL FERROL	CHIMBOTE	ZONA INDUSTRIAL GRAN TRAPECIO	DOMESTICO	ZONA NAVAL

b. Estándar Nacional de calidad ambiental del agua - Perú

PARÁMETROS	UNIDADES	LAGUNAS Y LAGOS	RÍOS		ECOSISTEMAS MARINO COSTEROS	
			COSTA Y SIERRA	SELVA	ESTUARIOS	MARINOS
FÍSICOS Y QUÍMICOS						
Aceites y grasas	mg/L	Ausencia de película visible	Ausencia de película visible	Ausencia de película visible	1	1
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)	mg/L	<5	<10	<10	15	10
Nitrógeno Amomiacal	mg/l	<0,02	0,02	0,05	0,05	0,08
Temperatura	Celsius					delta 3 °C
Oxígeno Disuelto	mg/L	≥5	≥5	≥5	≥4	≥4
pH	unidad	6,5-8,5	6,5-8,5		6,8-8,5	6,8 - 8,5
Sólidos Disueltos Totales	mg/L	500	500	500	500	
Sólidos Suspendidos Totales	mg/L	≤25	≤25 - 100	≤25 - 400	≤25-100	30,00
INORGÁNICOS						
Arsénico	mg/L	0,01	0,05	0,05	0,05	0,05
Bario	mg/L	0,7	0,7	1	1	----
Cadmio	mg/l	0,004	0,004	0,004	0,005	0,005
Cianuro Libre	mg/L	0,022	0,022	0,022	0,022	----
Clorofila A	mg/L	10	----	----	----	----
Cobre	mg/L	0,02	0,02	0,02	0,05	0,05
Cromo VI	mg/L	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Fenoles	mg/L	0,001	0,001	0,001	0,001	
Fosfatos Total	mg/L	0,4	0,5	0,5	0,5	0,031 - 0,093
Hydrocarburos de Petróleo Aromáticos Totales	Ausente				Ausente	Ausente
Mercurio	mg/L	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,0001
Nitratos (N-NO3)	mg/l	5	10	10	10	0,07 - 0,28
INORGÁNICOS						
Nitrógeno Total	mg/L	1,6	1,6		----	----
Níquel	mg/L	0,025	0,025	0,025	0,002	0,0082
Plomo	mg/L	0,001	0,001	0,001	0,0081	0,0081
Silicatos	mg/L	----	----	----	----	0,14-0,7
Sulfuro de Hidrógeno (H2S indisoluble)	mg/L	0,002	0,002	0,002	0,002	0,06
Zinc	mg/l	0,03	0,03	0,3	0,03	0,081

Figura 11. Parámetros para la conservación de ambientes acuáticos. Estándar nacional de calidad ambiental del Agua –Perú D.S. N° 004-2017-MINAM

c. Réplicas de la experimentación

- Amonio

Tabla 25. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 0)

Amonio (NH ₄)					
Tratamientos	Día 0				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	2.153	2.159	2.159	2.157	0.003
T2	2.159	2.148	2.152	2.153	0.006
blanco	2.157	2.158	2.156	2.157	0.001

Tabla 26. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 2)

Amonio (NH ₄)					
Tratamientos	Día 2				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	2.014	2.020	2.016	2.017	0.003
T2	2.014	2.014	2.016	2.015	0.001
blanco	2.156	2.156	2.151	2.154	0.003

Tabla 27. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 3)

Amonio (NH ₄)					
Tratamientos	Día 3				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	1.872	1.893	1.891	1.885	0.012
T2	1.960	1.957	1.953	1.957	0.004
blanco	2.151	2.149	2.148	2.149	0.002

Tabla 28. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 4)

Amonio (NH ₄)					
Tratamientos	Día 4				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	1.818	1.793	1.801	1.804	0.013
T2	1.893	1.869	1.862	1.875	0.401
blanco	2.146	2.141	2.141	2.143	0.003

Tabla 29. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 5)

Amonio (NH₄)					
Tratamientos	Día 5				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	1.702	1.709	1.700	1.704	0.005
T2	1.823	1.821	1.833	1.826	0.006
blanco	2.136	2.127	2.132	2.132	0.005

Tabla 30. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Amonio (Día 7)

Amonio (NH₄)					
Tratamientos	Día 7				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	1.675	1.709	1.683	1.689	0.018
T2	1.801	1.817	1.809	1.809	0.008
blanco	2.129	2.132	2.126	2.129	0.003

- **Nitritos**

Tabla 31. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 0)

Nitrito (NO₂)					
Tratamientos	Día 0				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	1.091	1.023	1.031	1.048	0.0372
T2	1.034	1.031	1.028	1.031	0.0030
blanco	1.0376	1.0216	1.0319	1.030	0.0081

Tabla 32. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 2)

Nitrito (NO₂)					
Tratamientos	Día 2				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	0.260	0.260	0.258	0.259	0.001
T2	0.231	0.233	0.239	0.234	0.004
blanco	0.572	0.583	0.569	0.575	0.007

Tabla 33. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 3)

Nitrito (NO ₂)					
Tratamientos	Día 3				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	0.210	0.218	0.221	0.216	0.005
T2	0.212	0.207	0.201	0.207	0.005
blanco	0.562	0.570	0.561	0.564	0.005

Tabla 34. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 4)

Nitrito (NO ₂)					
Tratamientos	Día 4				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	0.182	0.179	0.183	0.182	0.002
T2	0.197	0.193	0.195	0.195	0.002
blanco	0.559	0.557	0.557	0.558	0.002

Tabla 35. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 5)

Nitrito (NO ₂)					
Tratamientos	Día 5				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	0.167	0.154	0.158	0.160	0.007
T2	0.173	0.172	0.165	0.170	0.004
blanco	0.551	0.548	0.545	0.548	0.003

Tabla 36. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 7)

Nitrito (NO ₂)					
Tratamientos	Día 7				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	0.130	0.128	0.125	0.128	0.003
T2	0.148	0.148	0.139	0.145	0.005
blanco	0.542	0.541	0.441	0.508	0.058

- **Nitratos**

Tabla 37. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrato (Día 0)

Tratamientos	Día 0		
	R1	R2	R3
T1	0	0	0
T2	0	0	0
blanco	0	0	0

Tabla 38. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 1)

Tratamientos	Nitrato (NO3) - ppm				
	Día 2				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	3.377	3.394	3.377	3.383	0.010
T2	2.512	2.504	2.522	2.513	0.009
blanco	2.845	2.846	2.846	2.846	0.000

Tabla 39. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 3)

Tratamientos	Nitrato (NO3) - ppm				
	Día 3				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	2.488	2.478	2.471	2.479	0.008
T2	2.471	2.471	2.470	2.471	0.001
blanco	2.845	2.845	2.846	2.845	0.000

Tabla 40. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 4)

Tratamientos	Nitrato (NO3) - ppm				
	Día 4				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	2.126	2.157	2.152	2.145	0.017
T2	2.321	2.309	2.314	2.315	0.006
blanco	2.844	2.844	2.841	2.843	0.002

Tabla 41. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 5)

Tratamientos	Nitrato (NO3) - ppm				
	Día 5				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	1.870	1.810	1.830	1.837	0.031
T2	2.247	2.256	2.250	2.251	0.005
blanco	2.844	2.842	2.841	2.842	0.002

Tabla 42. Valores obtenidos en las 3 réplicas para la remoción de Nitrito (Día 7)

Tratamientos	Nitrato (NO3) - ppm				
	Día 7				
	R1	R2	R3	Promedio	Desviación Estándar
T1	1.672	1.671	1.643	1.662	0.0165
T2	2.067	2.054	2.071	2.064	0.0089
blanco	2.832	2.829	2.817	2.826	0.0079

d. Análisis Estadístico de los resultados

Los valores obtenidos en los tratamientos y controles fueron evaluados por la prueba t – Student para muestras relacionadas, por ser un estudio longitudinal. Se aceptó un $\alpha < 0.1$.

- Tratamiento 1

Se planteó el siguiente problema:

¿El tratamiento 1 (T1) obtuvo una remoción de contaminantes significativa durante 7 días?

Ho= No hubo remoción significativa de los contaminantes en 7 días.

Ha= Hubo remoción significativa de los contaminantes.

PARÁMETROS	Tratamiento 1	
	Control	Post- Tratamiento
Remoción de NH4	2.129	1.689
Remoción de NO	0.508	0.128
Remoción de NO3	2.826	1.662

Tabla 43. Prueba T para validar resultados obtenidos en el tratamiento 1.

	Variable 1	Variable 2
Media	1.944583333	1.38925
Varianza	1.004044028	0.743556991
Observaciones	4	4
Coeficiente de correlación de Pearson	0.911815183	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	3	
Estadístico t	2.678735292	
P(T<=t) una cola	0.037564837	
Valor crítico de t (una cola)	1.637744354	
P(T<=t) dos colas	0.075129673	
Valor crítico de t (dos colas)	2.353363435	

Al obtenerse un $\alpha < 0.1$, se niega la H_0 y se acepta la H_a , concluyendo que el tratamiento 1 (T1) obtuvo una remoción significativa de contaminantes.

- **Tratamiento 2**

Se planteó el siguiente problema:

¿El tratamiento 2 (T2) obtuvo una remoción de contaminantes significativa durante 7 días?

H_0 = No hubo remoción significativa de los contaminantes en 7 días.

H_a = Hubo remoción significativa de los contaminantes.

Tratamiento 2		
PARÁMETROS	Control	Post- Tratamiento
Remoción de NH4	2.129	1.809
Remoción de NO2	0.508	0.145

Remoción de NO3	2.826	2.064
------------------------	-------	-------

Tabla 44. Prueba T para validar resultados obtenidos en el tratamiento 2.

	Variable 1	Variable 2
Media	1.944583333	1.49775
Varianza	1.004044028	0.824436917
Observaciones	4	4
Coefficiente de correlación de Pearson	0.980428837	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	3	
Estadístico t	4.238529908	
P(T<=t) una cola	0.012021486	
Valor crítico de t (una cola)	2.353363435	
P(T<=t) dos colas	0.024042973	
Valor crítico de t (dos colas)	3.182446305	

Al obtenerse un $\alpha < 0.1$, se niega la H_0 y se acepta la H_a , concluyendo que el tratamiento 2 (T2) obtuvo una remoción significativa de contaminantes.

e. Imágenes referenciales durante la investigación



Figura 12. Cultivos celulares de Cianobacterias y Diatomeas

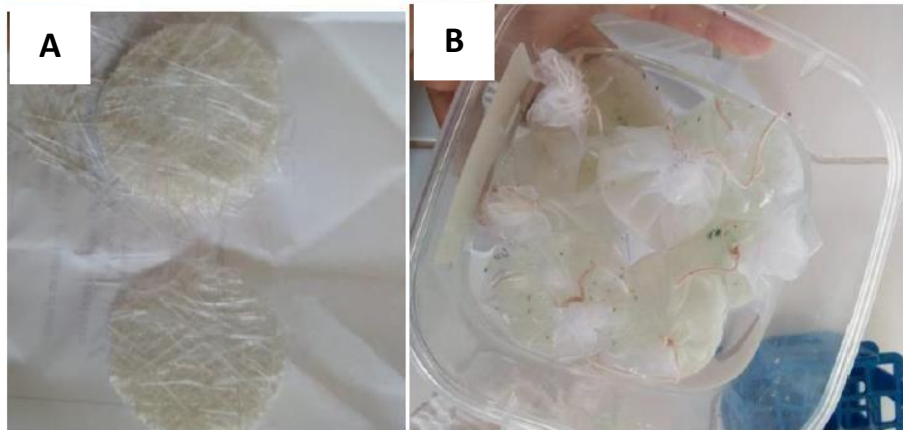


Figura 13. A. Algodón fibra de vidrio. B. Tapetes microbianos contruidos



Figura 14. Incubación de los tapetes microbianos contruidos

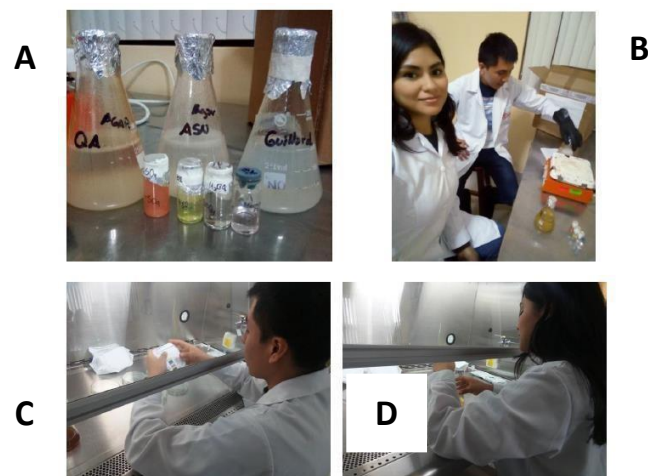


Figura 15. A y B. Preparación de medios de cultivo, C. Siembra de microorganismos, D. Aislamiento de microrganismos