



**Universidad Científica del Perú - UCP**

*Registrado en el Asiento N° A00010 de la Partida N° 11000318, Personas Jurídicas de Iquitos,  
Superintendencia de los Registros Públicos - SUNARP*

**FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA  
PROGRAMA ACADÉMICO DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**TESIS**

**REMOCIÓN DE AMONIACO POR MICROALGAS  
INMOVILIZADAS EN AGUAS PARA TRANSPORTE  
DE PECES ORNAMENTALES, LORETO 2018.**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL**

**AUTOR** : Bach. Santiago Galindo Silva

**ASESORES** : Blga. Marianela Cobos Ruíz, Dra.

Lic. Ecol. Segundo Levi Estela Moreno

**San Juan Bautista – Maynas – Loreto – Perú**

**2021**

## **DEDICATORIA**

Esta tesis está dedicada a mis padres y hermanos, por su apoyo incondicional, siendo el soporte fundamental para terminar mi trabajo de investigación y mi carrera profesional, gracias por darme su amor y su gran confianza.

**Autor: Santiago Galindo Silva.**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por brindarme la vida, la salud y las fuerzas cada día para concluir satisfactoriamente mi carrera profesional y mi trabajo de investigación.

A la Universidad Científica del Perú por permitirme realizar la parte experimental de la tesis en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología y Bioenergética.

Agradezco a mis asesores:

A la Dra. Marianela Cobos Ruiz, jefa del Laboratorio de Biotecnología y Bioenergética por guiarme académicamente durante toda mi investigación y permitirme el uso de equipos, materiales, reactivos y las instalaciones del laboratorio.

Agradezco al Dr. Juan Carlos Castro Gómez, por ser el maestro que me guio, aconsejo y compartió sus conocimientos en Biotecnología y la investigación científica.

Al Lic. Segundo Levi Estela Moreno, por su experiencia, tiempo e instrucciones que me brindo en la parte técnica del laboratorio y por su apoyo incondicional hasta la culminación de la tesis.

Al Programa Nacional de Beca y Crédito Educativo (PRONABEC) por darme la oportunidad de estudiar una carrera profesional, siendo uno de los pilares fundamentales de apoyo que me permitió concluir satisfactoriamente mis estudios.

Agradezco a todas las personas que forman parte del Laboratorio de Biotecnología y Bioenergética por su apoyo que me brindaron.

A todas aquellas personas que de alguna manera contribuyeron en la realización de mi tesis.

## CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ - UCP

El presidente del Comité de Ética de la Universidad Científica del Perú - UCP

Hace constar que:

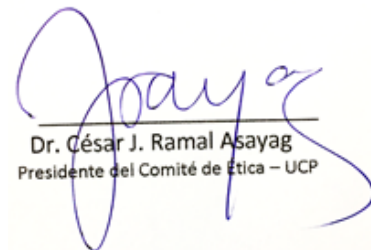
La Tesis titulada:

**“REMOCIÓN DE AMONIACO POR MICROALGAS INMOVILIZADAS EN AGUAS  
PARA TRANSPORTE DE PECES ORNAMENTALES, LORETO 2020.”**

De los alumnos: **SANTIAGO GALINDO SILVA**, de la Facultad de Ciencias e Ingeniería, pasó satisfactoriamente la revisión por el Software Antiplagio, con un porcentaje de **4% de plagio**.

Se expide la presente, a solicitud de la parte interesada para los fines que estime conveniente.

San Juan, 27 de julio del 2021.



Dr. César J. Ramal Asayag  
Presidente del Comité de Ética - UCP

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

### FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

Con Resolución Decanal N° 574 de fecha 21 de setiembre de 2018 y con modificación de resolución N°235 de fecha 24 de mayo de 2021, la FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA DE LA UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ - UCP designa como Jurado Evaluador de la sustentación de tesis a los señores:

- Ing. Carmen Patricia Cerdeña del Águila, Dra. Presidente
- Blgo. Jorge Luis Marapara del Águila, Dr. Miembro
- Blgo. Carlos Roberto Dávila Flores, M.Sc. Miembro

Como Asesores: **Blga. Marianela Cobos Ruiz, Dra. y Lic. Ecol. Segundo Levi Estela Moreno**

En la ciudad de Iquitos, siendo las 10:00 horas del día 20 de agosto del 2021, a través de la plataforma ZOOM supervisado en línea por la Secretaria Académica del programa Académico de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la Universidad Científica del Perú, se constituyó el Jurado para escuchar la sustentación y defensa de la Tesis: **“Remoción de amoniaco por microalgas inmovilizadas en aguas, para transporte de peces ornamentales, Loreto 2018.”**

Presentado por el sustentante: **SANTIAGO GALINDO SILVA**

Como requisito para optar el título profesional de: **INGENIERO AMBIENTAL**

Luego de escuchar la sustentación y formuladas las preguntas las que fueron: **ABSUELTAS**  
El Jurado después de la deliberación en privado llegó a la siguiente conclusión:

La sustentación es: **APROBADA POR UNANIMIDAD**

En fe de lo cual los miembros del Jurado firman el acta.



Miembro



Presidente



Miembro

## HOJA DE APROBACIÓN

Tesis sustentada a través de la plataforma zoom supervisado en línea por la secretaría académica del programa de Ingeniería Ambiental el día 20 de agosto a las 10 hrs del 2021.

-----  
Ing. Carmen P. Cerdeña del Águila Dra.  
**PRESIDENTA DEL JURADO**

-----  
Blgo. Jorge Luis Marapara del Águila Dr.  
**MIEMBRO DEL JURADO**

-----  
Blgo. Carlos Roberto Dávila Flores M.Sc.  
**MIEMBRO DEL JURADO**

### ASESORES (a)

-----  
Dra. Marianela Cobos Ruíz.

-----  
Lic. Segundo Levi Estela Moreno

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
HOJA DE APROBACIÓN	iv
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	3
2.1. Tipo y Diseño de investigación	3
2.2. Población y muestra	3
2.2.1. Población	4
2.2.2. Muestra	4
2.3. Técnicas, Instrumentos y Procedimientos de Recolección de Datos	4
2.3.1. Técnicas de Recolección de Datos	4
2.3.2. Instrumentos de Recolección de Datos	4
2.3.3. Procedimientos de Recolección de Datos	4
2.4. Procesamiento de la información	9
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
3.1. Resultados	10
3.2. Discusión	14
CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	16
4.1. Conclusiones	16
4.2. Recomendaciones	16
CAPÍTULO V: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
CAPÍTULO VI: ANEXOS	20

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>N°</b>	<b>TITULO</b>	<b>Pág.</b>
01.	Datos obtenidos de absorbancias medidos a 640 nm de NH <sub>3</sub>	24
02.	Peso y tamaño de las esferas de alginato	24
03.	Peso y tamaño de los peces ornamentales	25
04.	Registro diario de temperatura de los ensayos	25
05.	Soluciones que conforman el medio BG11	26



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>N°</b>	<b>TITULO</b>	<b>Pág.</b>
01.	Inmovilización celular de la microalga <i>Chlorella</i> sp	10
02.	Perfil de crecimiento celular de <i>Chlorella</i> sp, durante los días de evaluación	11
03.	Capacidad de remoción de amoníaco de la microalga inmovilizada	13
04.	Flujograma del proceso de remoción de amoníaco por microalgas inmovilizadas, en aguas para el transporte de peces ornamentales.	20
05.	Sistema experimental utilizado durante la ejecución de la tesis	30
06.	Encapsulamiento de microalgas en esferas de alginato	30
07.	Medición de las esferas	31
08.	Evaluación diaria de los niveles de absorbancia del amoníaco en el nanoespectrofotómetro	22
09.	Evaluación microscópica de las microalgas	23
10.	Evaluación de los niveles de absorbancia del amoníaco	27
11.	Registro de absorbancias de la remoción de amoníaco	27
12.	Curva de regresión lineal para el cálculo de NH <sub>3</sub> .	28

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo por objetivo principal evaluar la remoción de amoníaco con microalgas inmobilizadas en aguas para el transporte de peces ornamentales. La investigación fue de tipo analítico descriptivo con un diseño metodológico experimental, conformado por dos tratamientos ( $t_1$ ,  $t_2$ ) y un grupo control ( $t_0$ ).  $t_1$  estuvo constituido por agua contaminada con  $\text{NH}_3$  mas microalgas inmobilizadas, el  $t_2$ , microalgas inmobilizadas más peces ornamentales, el grupo control contenía peces más agua, donde se evaluaron las concentraciones de amoníaco, el crecimiento celular cada 24 horas por 14 días, sin recambio de agua. Se obtuvo como resultados un crecimiento entre  $4,5 \times 10^7$ ,  $8,5 \times 10^7$  Cell/esf., con un porcentaje de remoción con valores entre 76,1 % y 78,59 % para los tratamientos  $t_1$  y  $t_2$ . En conclusión las microalgas inmobilizadas son capaces de tener un buen crecimiento y remover altas concentraciones de amoníaco cuando son sometidas a procesos de inmobilización celular.

**Palabras clave:** Alginato de sodio, Amoníaco, inmobilización, microalga, remoción.

## ABSTRACT

The main objective of this research was to evaluate the removal of ammonia with immobilized microalgae in water used to transport ornamental fish. The research was of a descriptive analytical type with an experimental methodological design, consisting of two treatments ( $t_1$ ,  $t_2$ ) and a control group ( $t_0$ ).  $t_1$  consisted of water contaminated with  $\text{NH}_3$  plus immobilized microalgae,  $t_2$ , immobilized microalgae plus ornamental fish, the control group contained fish plus water, where ammonia concentrations and cell growth were evaluated every 24 hours for 14 days, without water replacement. The results obtained were a growth between  $4,5 \times 10^7$ ,  $8,5 \times 10^7$  Cell/esf., with a removal percentage with values between 76.1 % and 78.59 % for treatments  $t_1$  and  $t_2$ . In conclusion, immobilized microalgae are able to have good growth and remove high concentrations of ammonia when subjected to cell immobilization processes.

**Key words:** Sodium alginate, ammonia, immobilization, microalgae, removal.  
is technical-scientific

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

En la región Loreto la extracción de peces ornamentales se desarrolla a pequeña escala, convirtiendo esta actividad en fuente de ingresos económicos para algunas familias (1). En los últimos años la exportación de estos especímenes se ha incrementado, debido a la fuerte demanda de especies exóticas en el mercado internacional (2). Sin embargo, existen limitaciones respecto a las condiciones del transporte, los cuales se realizan generalmente en cajas hechas de madera y bolsas con agua, lo que muchas veces provoca que la calidad del líquido cambie progresivamente, presentando variaciones en los parámetros físico-químicos, respecto a las condiciones naturales (3).

Estos cambios son generados debido a la aceleración que ocurre en el metabolismo de los peces, incrementando la producción de excretas, ocasionando una elevación en la concentración de amoníaco, el cual alcaliniza el pH del medio acuoso y disminuye la concentración de O<sub>2</sub> en el agua (4). Se cree que la carencia de oxígeno, la acumulación de toxina, concentración total de amonio y amoníaco presentes en el agua son las principales causas de la mortalidad de los peces durante el transporte (5).

Una de las alternativas que ha surgido en estos últimos años es el cultivo de microalgas, estas especies cultivadas a nivel de laboratorio han tenido mucho éxito (6). Algunas especies como *Ankistrodesmus* sp, *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp, vienen siendo estudiadas y utilizadas como alimento vivo para algunos organismos acuáticos (7). De igual forma se viene utilizando como sistemas biológicos alternativos para el tratamiento de aguas contaminadas, debido a la gran capacidad metabólica que estas presentan para remover cantidades significativas de nitratos, fosfatos, amoníaco y materia orgánica (8, 9).

Asimismo estos microorganismos juegan un rol importante en la oxigenación de los ecosistemas acuáticos por el proceso fotosintético que realizan (10). En la actualidad el Laboratorio de Biotecnología y Bioenergética de la UCP, viene cultivando microalgas (11). Estas microalgas al ser separadas de los medios de cultivo y sometidas a un proceso de inmovilización con diferentes matrices

orgánicas, por ejemplo, alginato de sodio, son capaces de remover altas concentraciones de sustancias orgánicas e inorgánicas similares al tratamiento en condiciones normales (12, 13).

Además la biomasa microalgal utilizada en la remoción de contaminantes puede ser reutilizada, al término de los tratamientos (14). El método de inmovilización más frecuente empleado a nivel de laboratorio es la matriz de alginato de sodio, sustancia orgánica que permite encapsular las células libres, concentrándolas dentro del gel (15). Los poros del gel de alginato de sodio son de menor diámetro que las células, lo que permiten la difusión de moléculas a través del material sin que la célula pueda escapar, incrementando la concentración celular y la tasa de remoción (16).

Por lo tanto, en el presente trabajo el objetivo principal fue evaluar la remoción de amoníaco por microalgas inmovilizadas en aguas para el transporte de peces ornamentales, y como objetivos específicos la obtención de células inmovilizadas de la especie *Chlorella* sp con alginato de sodio; evaluar el perfil de crecimiento celular y evaluar la capacidad de remoción de amoníaco con microalgas inmovilizadas en diferentes periodos de tiempo, contribuyendo a la búsqueda de alternativas que permitan la reducción de la tasa de mortalidad de los peces.

## **CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Área de estudio**

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Bioenergética de la Universidad Científica del Perú (UCP), ubicada en la Av. José Abelardo Quiñones km 2,5, distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, departamento de Loreto.

### **2.2. Tipo y diseño de la investigación**

La investigación fue de tipo analítico descriptivo con un diseño metodológico experimental, donde las microalgas fueron sometidas a un proceso de inmovilización, conteo celular y mediciones de las concentraciones de amoníaco durante la fase experimental. (Ver Figura 1)

### **2.3. Población y muestra**

#### **2.3.1. Población**

La población estuvo constituida por microalgas y peces ornamentales amazónicos.

#### **2.3.2. Muestra**

La muestra estuvo conformada por la especie microalgal *Chlorella* sp y la especie de pez ornamental *Corydoras Arcuatos*.

### **2.4. Técnicas, instrumentos y procedimientos**

#### **2.4.1. Técnicas para la recolección de datos**

Para la recolección de datos se utilizaron técnicas de cultivo, de inmovilización, conteo celular y analíticas, estos sirvieron para obtener la biomasa microalgal requerida, inmovilizar las células y determinar las concentraciones de amoníaco en diferentes periodos de tiempo. Todas las técnicas aplicadas fueron de acuerdo a Ávila (8), Fernández (17) y Forero-Cujiño (12).

#### **2.4.2. Instrumentos de recolección de datos**

Los instrumentos utilizados para la recolección de datos fueron fichas y guías de observación, en las que se registró la información obtenida del proceso experimental tales como el crecimiento celular, las concentraciones de amoníaco y el registro del número de peces vivos o muertos. Para la obtención directa de los datos se utilizó los siguientes equipos, microscopio de luz invertida (Leica, DMI1), Nano espectrofotómetro (Thermo Scientific, NanoDrop® 2000), pH metro (Hanna Instruments, HI2210-01).

### **2.4.3. Procedimientos de recolección de datos**

#### **2.4.3.1. Obtención de células inmovilizadas**

##### **2.4.3.1.1. Cultivo de biomasa microalgal**

La microalga *Chlorella* sp, fue proporcionada por el banco de cepas del Laboratorio de Biotecnología y Bioenergética de la Universidad Científica del Perú (UCP), el cual se cultivó en matraces de 500 mL por un periodo de 4 semanas en medio de cultivo BG11, sometidas a condiciones controladas de aireación constante, a 25°C de temperatura, con un fotoperiodo de (12:12) luz/oscuridad e intensidad lumínica de 100  $\mu\text{E. m}^2. \text{S}^{-1}$ , obteniéndose la biomasa requerida para realizar el proceso de inmovilización.

##### **2.4.3.1.2. Implementación del sistema experimental**

Para la implementación, se utilizó un soporte de madera de 3,50 m de largo con una base de 40x40 cm de ancho a los extremos, por 50 cm de altura, con 9 orificios en la parte superior para instalar el sistema de aireación, para ello se utilizaron bombas aireadoras y mangueras flexibles conectadas en los extremos del soporte, soportando 9 recipientes de plástico de 5 L.

##### **2.4.3.1.3. Distribución y condición de los tratamientos**

Los ensayos fueron distribuidos equitativamente, en dos tratamientos,  $t_1$  y  $t_2$ . El  $t_1$  estuvo conformado por microalgas inmovilizadas + agua contaminada a una concentración de 800  $\mu\text{M}$  de  $\text{NH}_3$ , como contaminante se utilizó 6 g de  $\text{Cl}_2\text{NH}_4$ , mientras que

el t<sub>2</sub>, estuvo constituido por microalgas inmovilizadas + 60 peces ornamentales de la especie *Corydoras arcuatus* y el grupo control t<sub>0</sub>, estuvo conformado por 60 peces + agua, previamente tratada por un proceso de recirculación, permitiendo eliminar cualquier presencia de contaminante, todos los ensayos fueron realizados por triplicado distribuido en recipientes de plástico con un volumen de agua sin recambio de 5 L, con aireación constante, a 25 °C y un fotoperiodo de (12:12) luz/oscuridad con una intensidad lumínica de 100  $\mu\text{E. m}^2. \text{S}^{-1}$ . Donde se evaluó las concentraciones de amoníaco, el pH, el N° de cell/mL y el registro del número de peces vivos y muertos cada 24 H por 14 días.

#### **2.4.3.1.4. Inmovilización de células con alginato de sodio.**

Se preparó 600 mL de alginato de sodio al 3 %, previamente diluida en agua destilada por 60 minutos a 1200 rpm en un agitador magnético, la solución fue esterilizada en autoclave por 15 min a 121 °C, disolviéndose cualquier grumo que haya quedado durante la mezcla (10). Seguidamente se dejó enfriar por 6 horas a temperatura ambiente. En una cabina de flujo laminar se mezcló 300 mL de cultivo con la solución de alginato en un frasco de vidrio de 1 L, la mezcla se homogenizó por inversión suavemente por 15 min, simultáneamente se preparó 600 mL de una solución de CaCl<sub>2</sub> al 2% (18), con una Jeringa estéril de 20 mL se dejó caer gotas de alginato más microalgas en una solución de CaCl<sub>2</sub> a 120 rpm, donde reposo por 1 hora para su gelificación, obteniendo células inmovilizadas (12). Finalmente, los discos se lavaron 5 veces en agua destilada, eliminando cualquier exceso de CaCl<sub>2</sub> (8).

#### **2.4.3.2. Evaluación del perfil de crecimiento celular**

##### **2.4.3.2.1. Evaluación del crecimiento de las células inmovilizadas.**

Para la evaluación del perfil de crecimiento celular, se diluyó las esferas a 820 rpm por 15 minutos en una solución de bicarbonato



de sodio al 4 % (10). Para la evaluación, se colectó 3 esferas de cada tratamiento cada 24 horas, elegida de manera aleatoria. Para la dilución, se utilizó microtubos de 1,5 mL, a los cuales se añadió 200 µL de la solución, se dejó reposar por 5 min, seguidamente se agitó en vórtex por 3 min diluyendo completamente las capsulas. Finalmente se extrajo 3 µL de cada muestra y se realizó la lectura de absorbancia.

#### **2.4.3.2.2. Medición del crecimiento celular**

Las medidas de absorbancias se realizó en un espectrofotómetro UV/ visible Nanodrop 2000C, que consistió en seleccionar el software que controla el nanodrop y la opción de lectura de células a 680 nm (longitud de onda que se absorbe la clorofila a y b), luego se realizó la lectura basal (blanqueo) que consistió en poner 3 µL de cultivo BG11 en el sensor, finalmente se realizó la lectura con el mismo volumen de las muestras anteriormente preparadas (19).

Para calcular el crecimiento celular se utilizó la siguiente ecuación establecida por Cobos et al, para microalgas entre 3 a 4 µM de longitud.

$$A = (3 \times 10^9)(n) - 0,0025$$

$$n = \left( \frac{A + 0,0025}{3 \times 10^9} \right) / 1000 * 200$$

*Donde:*

*A = absorbancia*

*n = número de células/esf.*

Para ello se extrajeron un 1 mL de muestra y realizaron diluciones seriadas en (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128) en medio BG11, de cada dilución se realizó el conteo celular en una cámara de Neubauer y paralelamente se midió la absorbancia a 680 nm en un nanoespectrofotómetro estos datos fueron llenados en una hoja de

Excel, y se calculó la curva estándar con una correlación de 0.99 obteniendo finalmente la ecuación.

### **2.4.3.3. Evaluación de la capacidad de remoción de amoníaco**

#### **2.4.3.3.1. Preparación de reactivos y soluciones**

Se utilizó la técnica de indofenol para determinar las concentraciones de amoníaco, que consistió en preparar las siguientes soluciones y reactivos; Solución fenol, para ello se diluyó 1 g de fenol ( $C_6H_5OH$ ) en 10 mL de etanol ( $C_2H_5OH$ ) al 95 %, Solución de nitroprusiato de sodio  $Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$ , se disolvió 0,01 g de nitroprusiato de sodio en 10 mL de agua destilada, reactivo alcalino, se diluyó 2 g de citrato de sodio ( $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ ) R.A. y 0,1 g de hidróxido de sodio ( $NaOH$ ) en 10 mL de agua destilada, Solución de Hipoclorito de sodio ( $NaClO$ ) al 1,93 %, guardándose todos los compuestos en refrigeración en frasco ámbar, y una solución oxidante, se preparó todos los días antes de realizar las lecturas, consistió en mezclar 1 mL del R. A en 250  $\mu L$  de Hipoclorito de sodio.

#### **2.4.3.3.2. Determinación de la curva estándar**

Se preparó una solución estándar de amonio, que consistió en disolver 0,0535 g de  $Cl_2NH_4$  en 15 mL de agua destilada obteniendo una concentración de 10000  $\mu m$ , de esta solución patrón se extrajo 1 mL con las cuales se hizo los estándares y el stock de trabajo en diluciones seriadas (1/12,5, 1/25, 1/50, 1/100, 1/200, 1/300, 1/400, 1/500) y paralelamente se midió las absorbancias a 640 nm en un nanoespectrofotómetro los datos fueron procesados en una hoja de Excel y se obtuvo una correlación de 0,99, obteniendo de esta manera la siguiente ecuación para determinar las concentraciones de amoníaco:

$$Abs = (0,0015)(C) + 0,0025$$

$$C = \frac{Abs - 0,0025}{0,0015}$$

Donde:

Abs = absorbancia de la muestra

C = concentración de  $\text{NH}_3$  en  $\mu\text{M}$

#### **2.4.3.3.3. Lecturas de las concentraciones de amoniac**

Se colectó 250  $\mu\text{L}$  de muestra de agua de los ensayos para ser tituladas con 10  $\mu\text{L}$  de fenol y de nitroprusiato, se agitó por 1 min, posteriormente se añadió 25  $\mu\text{L}$  de la solución oxidante, finalmente todas las muestras fueron cubiertas con papel aluminio y se dejó reposar por 30 min a temperatura ambiente, paralelamente se preparó el blanco utilizando agua destilada y se añadió las mismas proporciones de las soluciones antes descritas, seguidamente se realizó las lecturas de absorbancias a 640 nm en un espectrofotómetro UV/ visible Nanodrop 2000C, que consistió en seleccionar el software que controla el nanodrop y la opción de lectura de absorbancia, por lo tanto se realizó la lectura basal (blanqueo) que consistió en colocar 3  $\mu\text{L}$  de muestra en el sensor y ejecutar la acción de blanqueo, se secó el sensor con papel filtro eliminando toda la muestra, simultáneamente se colocó 3  $\mu\text{L}$  de la muestra titulada y se realizó lectura de absorbancia a 640 nm con el mismo volumen de las muestras que fueron preparadas anteriormente de esta manera se obtuvo las absorbancias de las muestras y se calculó las concentraciones con la fórmula antes descrita.

#### **2.4.3.3.4. Medición del pH y registro de supervivencia de peces.**

Para la medición del pH se extrajo 50 mL de muestras de agua de todos los tratamientos en frascos, se midió y registro los niveles de pH de cada muestra cada 24 horas por 14 días utilizando pH metro.

#### **2.4.4. Procesamiento de la información**

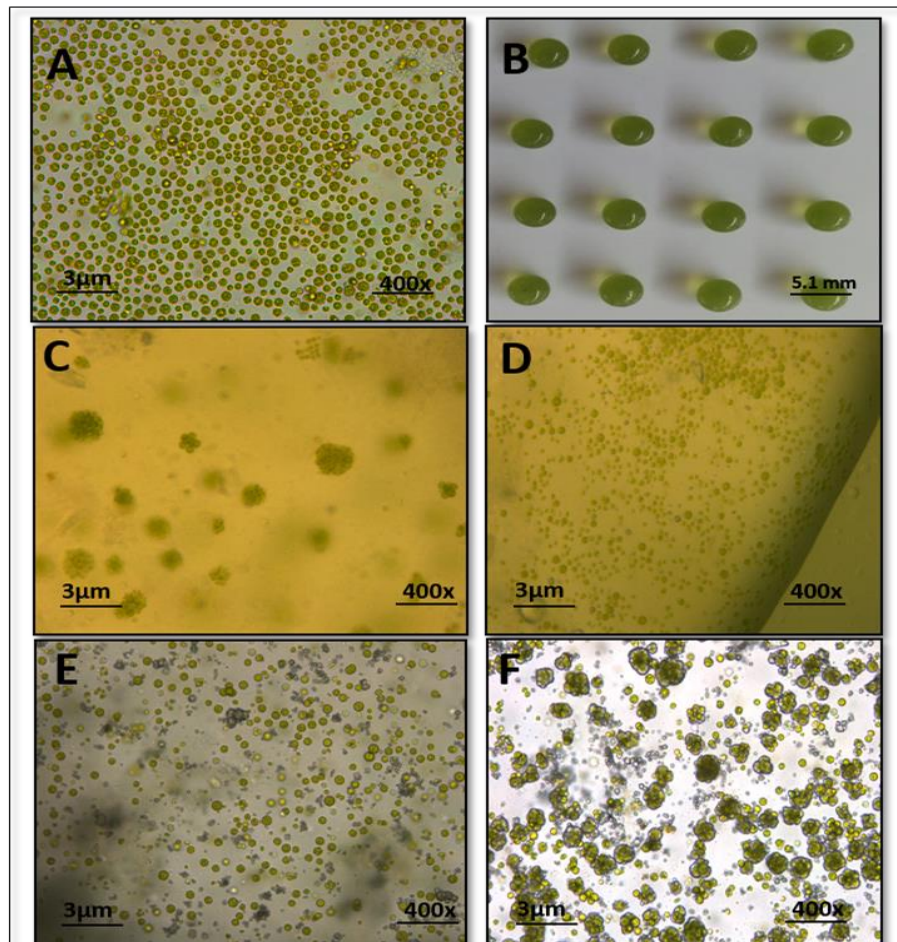
Los datos obtenidos durante la etapa experimental se almacenaron en una plantilla de base de datos del programa Microsoft Excel donde se obtuvieron, tablas y gráficos, de las concentraciones de amoníaco el crecimiento celular. Para comparar si existen diferencias entre los tratamientos evaluados se aplicó el test de Student, considerando que existen diferencias estadísticas significativas con un  $P < 0,05$ . Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa IBM SPSS Statistics v 24.

## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Resultados

#### 3.1.1. Inmovilización de la microalga *Chlorella* sp.

Del proceso de inmovilización se obtuvieron 8,796 esferas, entre 4,8 y 5,1 mm de diámetro con un peso promedio de 0,087 g distribuidas equitativamente en los tratamientos t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub> y un grupo control t<sub>0</sub>. Además, se observó por microscopía que la matriz de alginato de sodio encapsuló las células microalgales, mostrando una alta concentración celular y coloración verdosa (Ver Figura 1).

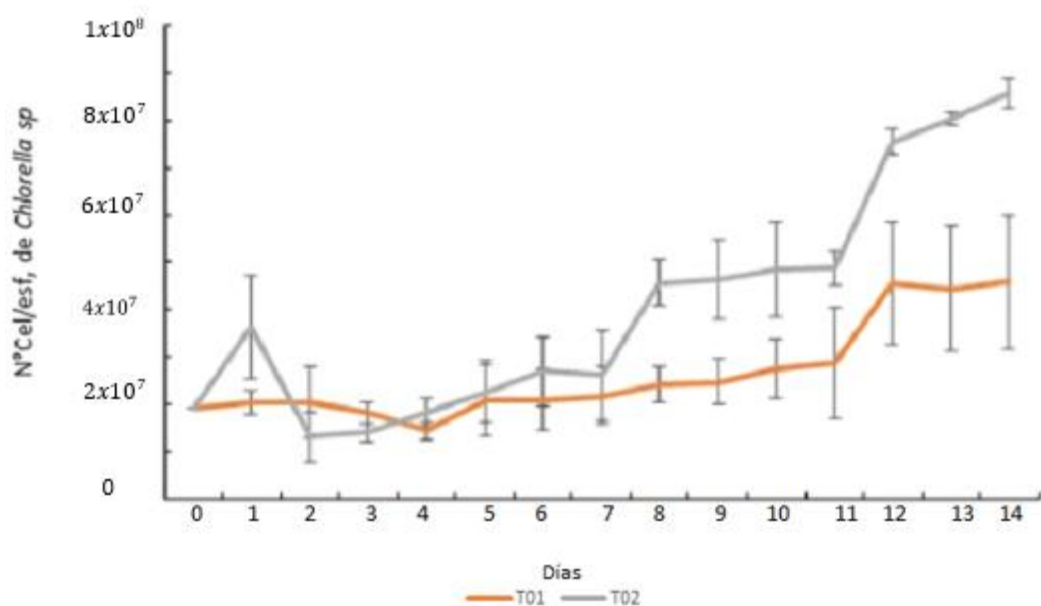


**Figura 1.** Inmovilización celular de la microalga *Chlorella* sp. A) Microfotografías de *Chlorella* sp. antes de ser inmovilizadas B) Microesferas de alginato de sodio al 3 % con células inmovilizadas. C) Observación de colonias microalgales en la parte interna de la microesfera. D) Observación de colonias microalgales en la parte lateral de la microesfera. E y F) Dispersión de colonias después de ser diluidas.

Durante los 14 días de evaluación, las esferas distribuidas en los recipientes se desintegraron, mostrando una alta concentración de colonias dentro de la matriz, siendo el t<sub>2</sub> el que mostró mayor desintegración, con 35,2 %, logrando recuperarse al final de la fase experimental 2,846 esferas, con un tamaño de 4,2 mm con un peso promedio de 0,068 g, mientras que en el t<sub>1</sub> se desintegró un 21,2 %, logrando recuperar 3,464 esferas con un tamaño de 6,36 mm y un peso promedio de 0,145 g. Cabe mencionar que el t<sub>1</sub> no mostró coloración en el agua a diferencia del t<sub>2</sub>, que si tuvo una intensa colación verdosa indicando un buen crecimiento microalgal y adaptación a las condiciones sometidas.

### 3.1.2. Perfil de crecimiento celular de la microalga *Chlorella* sp

De los ensayos experimentales entre los tratamientos t<sub>1</sub> y t<sub>2</sub>, fue el t<sub>2</sub> quien demostró tener un crecimiento exponencial a partir del día 8 hasta el término de la evaluación, con respecto al t<sub>1</sub>, el cual logró un mayor crecimiento a partir del día 12. Con respecto a la tasa de crecimiento entre los tratamientos al final de la evaluación, se obtuvo 0,062 d<sup>-1</sup> para el t<sub>1</sub>, y 0,106 d<sup>-1</sup> para el t<sub>2</sub> el cual nos indica que el t<sub>2</sub> obtuvo un mayor crecimiento en un intervalo de tiempo de 14 días (Figura 2).



**Figura 2.** Perfil de crecimiento celular de *Chlorella* sp, durante 14 días de evaluación.

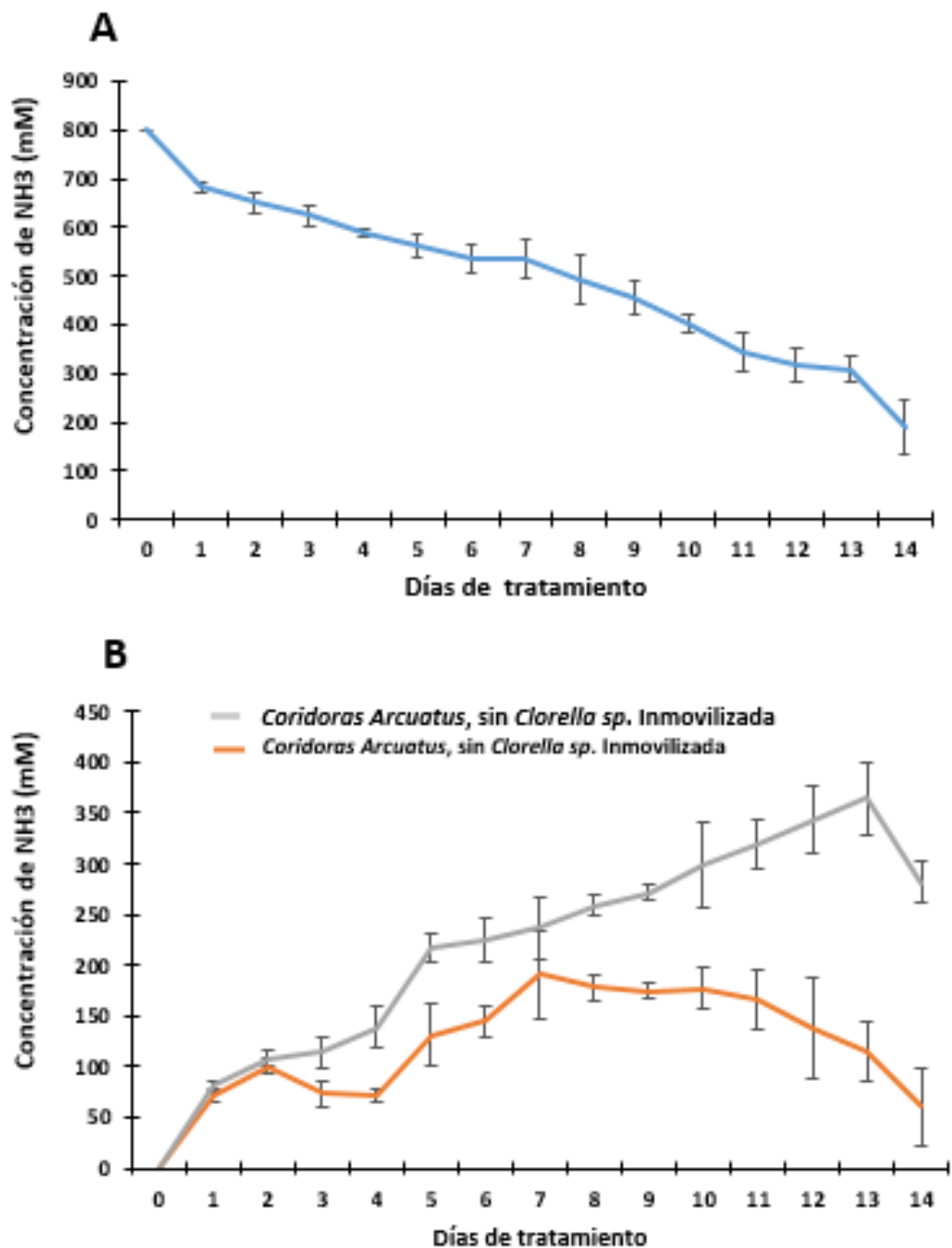
Durante la evaluación se observó que el t<sub>2</sub>, en el cual diariamente se agregaba alimento balanceado para peces, el crecimiento celular fue mayor, viéndose influenciado por los desechos orgánicos producto del metabolismo de los peces y los nutrientes que se obtenían de la descomposición del alimento utilizado en los peces, logrando incrementar las concentraciones de amoníaco y otros compuestos orgánicos. Los cuales servían como fuente nutricional para el crecimiento celular. En el t<sub>1</sub>, el crecimiento celular fue menor debido a que el tratamiento solamente contenía amoníaco inorgánico en altas concentraciones.

Los resultados obtenidos nos muestran que, si existen diferencias significativas en el crecimiento de las microalgas, siendo mayor cuando son cultivadas con los peces en comparación con sólo amoníaco ( $t = -2,069$ ;  $gl = 28$ ;  $P = 0,048$ ).

Cabe mencionar también que el pH se mantuvo entre 6,8 a 7,3 aproximadamente en el t<sub>1</sub>, mientras que en el t<sub>2</sub> estuvo entre 7,1 y 7,5, condiciones óptimas reportadas para el crecimiento microalgal (20).

### **3.1.3. Remoción de amoníaco con microalgas inmovilizadas en diferentes periodos de tiempo.**

Los niveles de concentración de NH<sub>3</sub>, disminuyeron entre 19,37 y 78,59 % desde el día 7 hasta el 14 con respecto al grupo control, removiendo 2,49 % más que el t<sub>1</sub>, el cual alcanzó un 76,1 %. El crecimiento celular exponencial alcanzado en el t<sub>2</sub> contribuyó a la remoción de los niveles de concentración de amoníaco, demostrando que existe diferencias significativas en el crecimiento de las microalgas asociadas al cultivo de peces en comparación con las microalgas cultivadas solo con una determinada concentración inicial de amoníaco (800 µM), ( $t = -3,158$ ;  $gl = 28$ ;  $P = 0,004$ ).



**Figura 3.** Capacidad de remoción de amoníaco de la microalga *Chlorella* sp. Inmovilizada

Las altas concentraciones de amoníaco generado en el transporte de peces ornamentales pueden disminuir si se utiliza microalgas inmovilizadas, logrando una mayor probabilidad en la supervivencia de los peces. Esto demuestra que existen diferencias significativas entre la remoción de amoníaco y el perfil de crecimiento microalgal.



### 3.2. Discusión

Las microalgas se han convertido en estos últimos años en una fuente de gran importancia para la industria de nutraceuticos, producción de biomasa y diversos productos biotecnológicos (21). Sin embargo, los parámetros que se debe tener en cuenta cuando se utilizan estos microorganismos de forma inmovilizada, aún no están muy bien definidas. La inmovilización de microalgas por entrapamiento celular es una de las técnicas más usadas para encapsular células dentro de las matrices de alginato, demostraron ser eficientes y muy prácticos de aplicar, por lo tanto en la presente investigación se inmovilizó células de *Chlorella* sp con alginato de sodio al 3 % de concentración, obteniendo como resultados esferas de entre  $4,5 \pm 5,3$  mm de diámetro, resultados que difieren con lo obtenido por Ávila *et al.*, (8), los cuales tuvieron como resultados un diámetro promedio de entre  $2,60 \pm 0,07$  cm, utilizando para su medición placas petri para inmovilizar células de *Chlorella* sp condición que determino los tamaños de las cápsulas, pero los resultados fueron similares con lo reportado por Gonzáles *et al.*, (10), quien logró elaborar cápsulas con diámetros promedios entre  $5,3 \pm 0,43$  mm con respecto a la investigación realizada.

El crecimiento celular microalgal se ve influenciado por los nutrientes existentes en el medio de cultivo y las condiciones físicas a la que frecuentemente son expuestos, en condiciones normales muchos estudios indican que existe un mayor crecimiento con respecto a cultivos que han sido previamente intervenidos con técnicas de inmovilización celular, en esta investigación, el perfil de crecimiento de la microalga inmovilizada con alginato de sodio, mostró un crecimiento exponencial logrando crecimientos entre  $4,5 \times 10^7 \pm 8,5 \times 10^7$ /esf para los tratamientos establecidos en los ensayos el cual concuerda con lo obtenido por Forero *et al.*, en el 2015 (12), quienes obtuvieron niveles de crecimiento muy similares entre  $6,58 \times 10^6 \pm 1,31 \times 10^6$  células/mL para la microalga *Chlorella vulgaris* cuando esta fue inmovilizada con alginato de calcio al 10% y 20% de concentración v/v siendo esta especie quien mostró un

mayor crecimiento y adaptabilidad al proceso de encapsulamiento. Además concuerda con lo obtenido con De-Bashan *et al.*, (18), quienes alcanzaron un crecimiento celular entre  $3 \times 10^6 \pm 4 \times 10^6$  células/esf de *Chlorella vulgaris* después de 6 días de ensayo cuando estos fueron inmovilizados en alginato de calcio demostrando tener una eficiencia en la remoción de amoníaco y fosfatos en el tratamiento de las aguas residuales domésticas, pero difiere con lo obtenido por Ávila *et al.*, (8), el cual alcanzó niveles entre  $1,67 \pm 2,81 \times 10^6$  cel/esf, al finalizar los 10 días de cultivo y remoción de  $\text{NH}_4 -\text{N}$  en el tratamiento de aguas residuales municipales.

La remoción de la concentración de amoníaco que se logró con la microalga *Chlorella* sp inmovilizada, fue de entre un 19,37 y 78,59 %, a partir del día 7 has el día 14 de la evaluación. Estos resultados son similares a los obtenidos por Jung y col *et al.*, (22), quienes encontraron que *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus* utilizados en estanques con tilapias mostraron una reducción del 82 % del intercambio de agua en comparación del grupo control, el cual no contenía microalgas. Asimismo, se evaluó el potencial uso de las microalgas para cultivos intensivos de camarón blanco mediante cosecha semi continua de microalgas, demostrando que los estanque con microalgas tuvieron una tasa mayor de ganancia de peso y supervivencia (23).

Finalmente, basándonos en los resultados obtenidos en la presente investigación, se concluye que las microalgas inmovilizadas empleadas tienen la capacidad de remover amoníaco durante el transporte de peces para la piscicultura y muy bien pueden ser utilizadas en la industria del cultivo de peces ornamentales.

## CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1. Conclusiones

- Se logró la inmovilización de la microalga *Chlorella* sp utilizando alginato de sodio a una concentración del 3 %.
- El crecimiento microalgal fue a partir del día 8, con valores entre  $4,5 \times 10^7$ ,  $8,5 \times 10^7$  Cell/esf., con un porcentaje de remoción de 76,1 % y 78,59 % para los tratamientos  $t_1$  y  $t_2$ .
- El porcentaje de supervivencia de los peces en el  $t_2$  fue en un 95 % con respecto al grupo control.

### 4.2. Recomendaciones

- Evaluar diferentes concentraciones de alginato para obtener una mejor inmovilización celular.
- Desarrollar evaluaciones de crecimiento microalgal durante diferentes periodos de tiempo.
- Estudiar el porcentaje de supervivencia de los peces, utilizando diferentes especies microalgas.
- Utilizar diferentes compuestos orgánicos o matrices poliméricas para inmovilizar células microalgales.
- Realizar experimentos con dos o más especies de microalgas y peces ornamentales.

## CAPÍTULO V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. TUESTA, Abner Junior Araujo and CHÁVEZ, Karin Cristina Bances. ACTUALIZACIÓN DE PROAMAZONIA. . P. 24.
2. VIENA DE LIMA, JEAN PAUL. Evaluación de la actividad acuícola y su efecto sobre el medio físico en la carretera Iquitos-Nauta, región Loreto. 2015. Iquitos-Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.
3. MIRANDA-CHUMACERO, Guido. La tasa de mortalidad en la extracción de peces ornamentales en la TCO Tacana: Un factor más al elegir las especies a cosechar. . P. 12.
4. BOTERO, Valentín Rodríguez. Contenedor para la protección, preservación y manipulación durante el tiempo de transporte del pez en estado alevino, para su comercialización por parte del gremio de piscicultores en el departamento de Risaralda. P. 97.
5. LI, Ming, ZHANG, Muzi, QIAN, Yunxia, SHI, Ge and WANG, Rixin. Ammonia toxicity in the yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*): The mechanistic insight from physiological detoxification to poisoning. *Fish & Shellfish Immunology*. July 2020. Vol. 102, p. 195–202. DOI 10.1016/j.fsi.2020.04.042. Beneficious. *Revista de biología marina y oceanografía*. August 2014. Vol. 49, no. 2, p. 157–173. DOI 10.4067/S0718-19572014000200001.
7. JENIFER JAZMÍN ARAUJO SOLIS, Sefora Mishell Vargas del Castillo. “Evaluación del efecto de tres concentraciones de microalgas *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en la densidad poblacional del cladóceros: *Ceriodaphnia* sp. en condiciones de laboratorio.” IQUITOS - PERÚ: UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA, 2017.
8. ÁVILA PELTROCHE, José Giovanni Jesús. Remoción de nitratos y fosfatos por cepas nativas de *Chlorella* sp. (Chlorellaceae) y *Chlamydomonas* sp. (Chlamydomonadaceae) libres e inmovilizadas en aguas residuales municipales. *Arnaldoa*. 31 August 2018. Vol. 25, no. 2. DOI 10.22497/arnaldoa.252.25210.
9. SERGIO ABRAHAM HERNÁNDEZ COVARRUBIAS. Inmovilización de microorganismos en esferas de alginato como protección contra condiciones adversas en un tratamiento de agua residual. La paz, Baja California, Mexico: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., Febrero del 2011.
10. GONZÁLEZ-MOYA, María, MARTÍN, M Laura, BAENA-NOGUERAS, R M, LARA-MARTÍN, P A and BARTUAL, Ana. Crecimiento de *Coelastrum pseudomicroporum* inmovilizada en esferas de alginato y su potencial uso como

biosorbente de caféina. Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal. Vol. 10, no. 2, p. 18.

11. LIZ KATERINE LÓPEZ SULLA. Efecto de tres medios de cultivo en el perfil de ácidos grasos de tres especies de microalgas oleaginosas amazónicas. Iquitos - Perú: Universidad Científica del Perú, 2016.

12. FORERO-CUJIÑO, Mario Andrés, MONTENGRO RUIZ, Luis Carlos, PINILLA-AGUDELO, Gabriel Antonio and MELGAREJO-MUÑOZ, Luz Marina. Inmovilización de las microalgas *Scenedesmus ovalternus* (scenedesmaceae) y *Chlorella vulgaris* (chlorellaceae) en esferas de alginato de calcio. Acta Biológica Colombiana. 5 April 2016. Vol. 21, no. 2, p. 437–442. DOI 10.15446/abc.v21n2.51253.

13. SEWIWAT, Narunat, KEENER, Tim C and RATPUKDI, Thunyalux. Stability of alginate encapsulation beads for microalgae cultivation. . P. 3.

14. KUBE, Matthew, MOHSENI, Arash, FAN, Linhua and RODDICK, Felicity. Impact of alginate selection for wastewater treatment by immobilised *Chlorella vulgaris*. *Chemical Engineering Journal*. February 2019. Vol. 358, p. 1601–1609. DOI 10.1016/j.cej.2018.10.065.

15. LEE, Hyunkuk, JEONG, Dawoon, IM, SungJu and JANG, Am. Optimization of alginate bead size immobilized with *Chlorella vulgaris* and *Chlamydomonas reinhardtii* for nutrient removal. *Bioresource Technology*. April 2020. Vol. 302, p. 122891. DOI 10.1016/j.biortech.2020.122891.

16. BANERJEE, Shantanu, TIWADE, Palas Balakdas, SAMBHAV, Kumar, BANERJEE, Chiranjib and BHAUMIK, Soubhik Kumar. Effect of alginate concentration in wastewater nutrient removal using alginate-immobilized microalgae beads: Uptake kinetics and adsorption studies. *Biochemical Engineering Journal*. September 2019. Vol. 149, p. 107241. DOI 10.1016/j.bej.2019.107241.

17. FERNÁNDEZ, Jesús. Uso de microalgas inmovilizadas en biofilm para tratamiento de aguas residuales. p. 16.

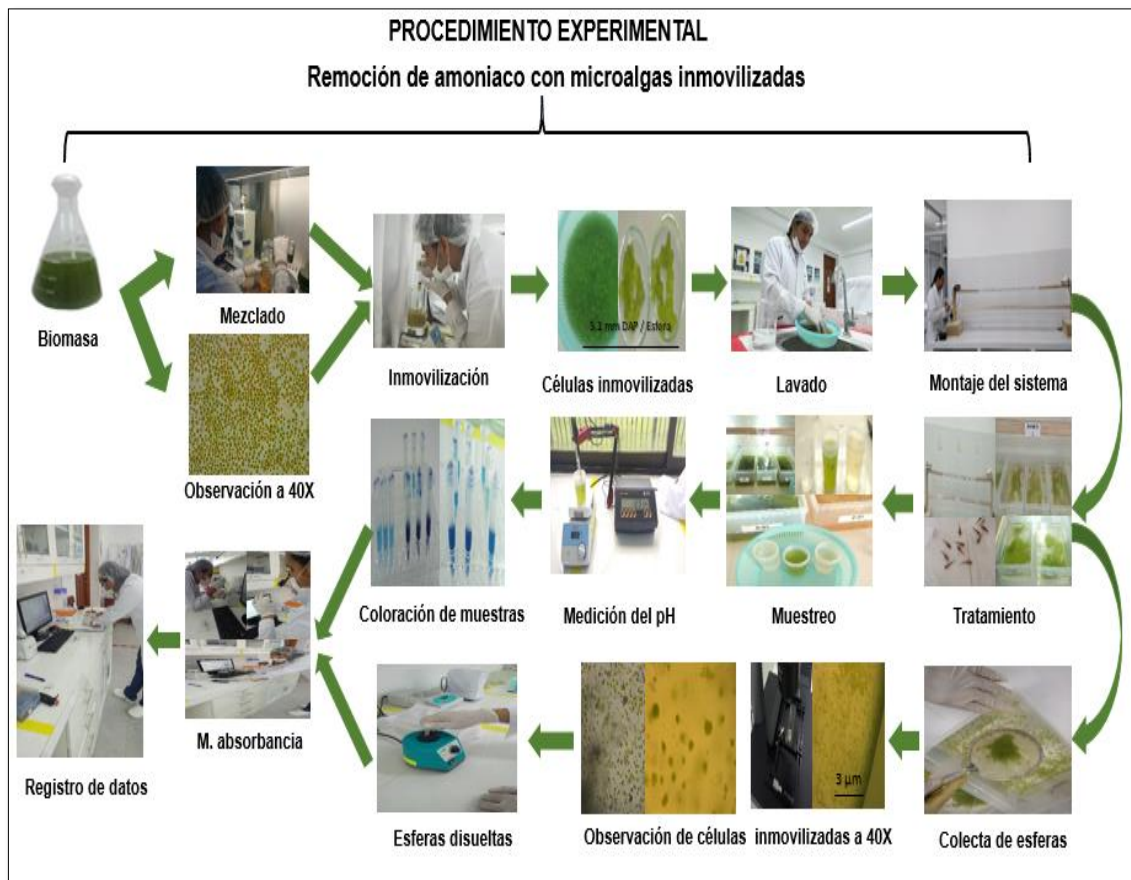
18. DE-BASHAN, Luz E., TREJO, Adan, HUSS, Volker A.R., HERNANDEZ, Juan-Pablo and BASHAN, Yoav. *Chlorella sorokiniana* UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater. *Bioresource Technology*. July 2008. Vol. 99, no. 11, p. 4980–4989. DOI 10.1016/j.biortech.2007.09.065.

19. COBOS RUÍZ Marianela; CASTRO GÓMEZ Juan Carlos and VARGAS ARANA Gabriel. Protocolos para el Aislamiento y Caracterización Bioquímica

Molecular de Microalgas Oleaginosas. Universidad Científica del Perú, 2016. ISBN 978-612-47253-1-9.

20. AMANDINE Galès, SÉBASTIEN Triplet, THIBAUT Geoffroy, CÉCILE Roques, CLAIRE Carré, LE FLOC'H Emilie, LANFRANCHI, Mélissa, SIMIER Monique, D'ORBCASTEL Emmanuelle Roque, PRZYBYLA, Cyrille, FOUILLAND Eric. Control of the pH for marine microalgae polycultures: A key point for CO<sub>2</sub> fixation improvement in intensive cultures. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*. 2020. Vol. 38, p. 187-193, ISSN 2212-9820. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2020.01.019>.
21. BHATTACHARYA, Munna and GOSWAMI, Saswata. Microalgae – A green multi-product biorefinery for future industrial prospects. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. May 2020. Vol. 25, p. 101580. DOI 10.1016/j.bcab.2020.101580.
22. YOUNG JUNG, Joo; HYACINTH DAMUSARU, Jim; YOUNGJIN PARK, Kyochan Kim; SEONG Minji; HYEONG-WOO Je; KIM, Soohwan; SUNGCHUL C. Bai. Autotrophic biofloc technology system (ABFT) using *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* positively affects performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Algal Research*, 2017. Vol. 27, p. 259-264, ISSN 2211-9264, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.09.021>.
23. GE, Hongxing; LI, Jian; CHANG, Zhiqiang; CHEN, Ping; SHEN, Mingming; ZHAO, Fazhen. Effect of microalgae with semicontinuous harvesting on water quality and zootechnical performance of white shrimp reared in the zero water exchange system. *Aquacultural Engineering*, 2016. Vol. 72–73, p. 70-76, ISSN 0144-8609, <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.04.006>.

## CAPÍTULO VI. ANEXOS



**Figura 04:** Flujo de trabajo del proceso de remoción de amoníaco por microalgas inmovilizadas, en aguas para el transporte de peces ornamentales.

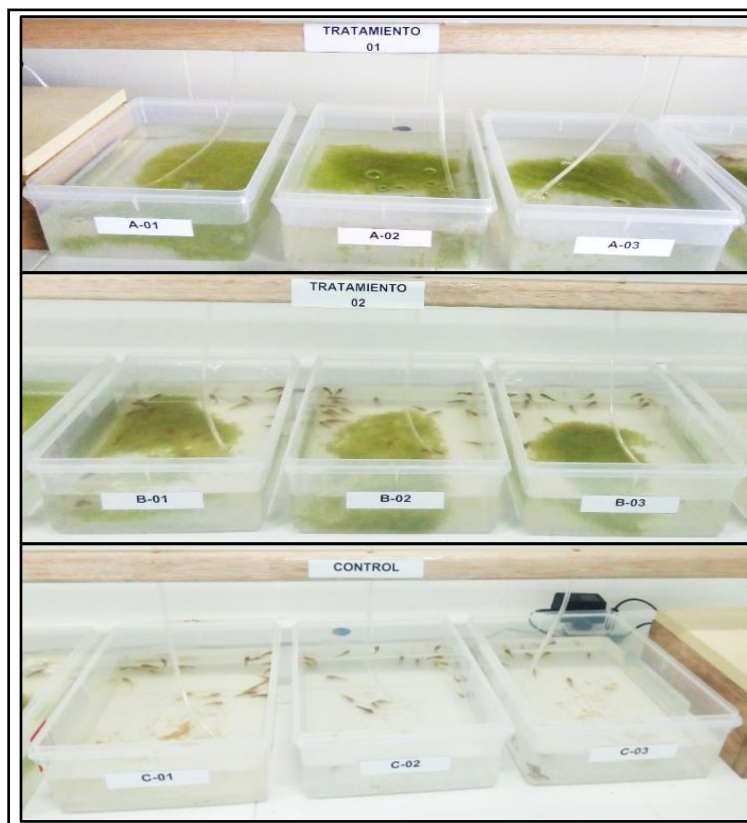


Figura 5. Sistema experimental utilizado durante la ejecución de la tesis

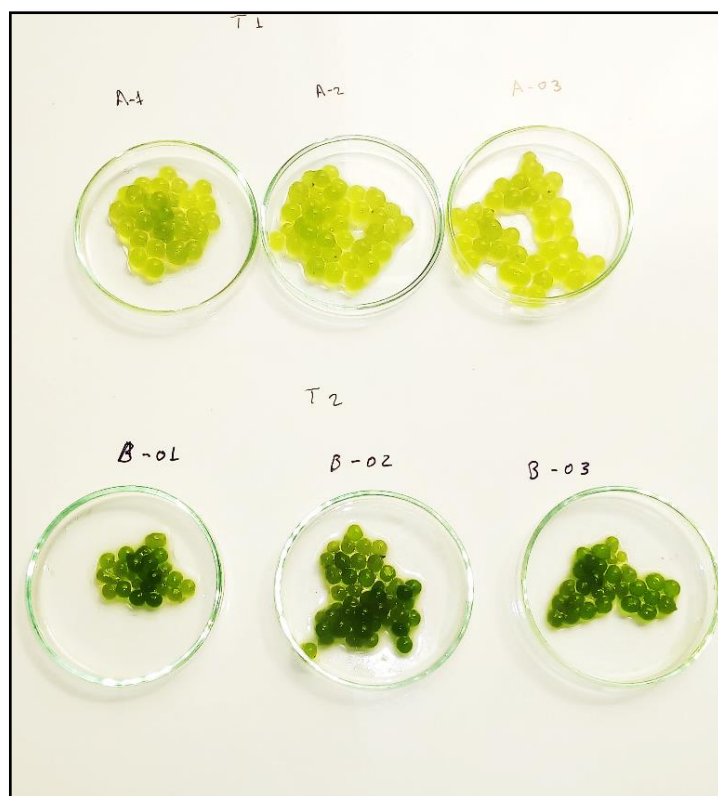
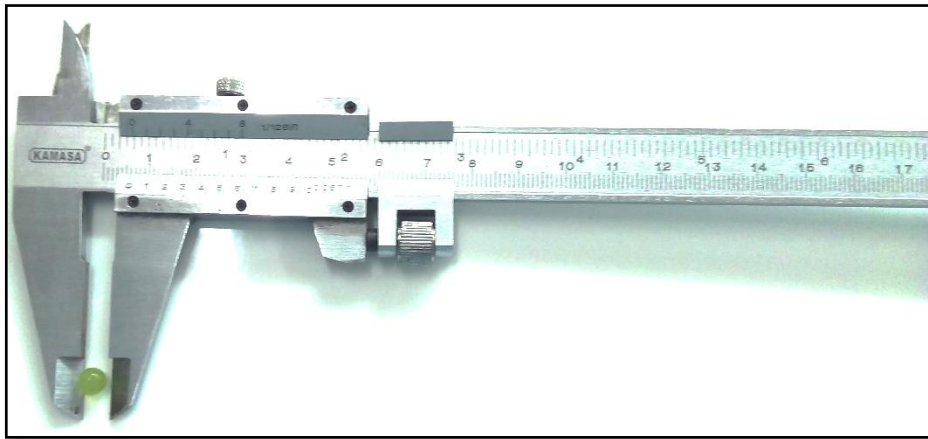


Figura 6. Encapsulamiento de microalgas en esferas de alginato





**Figura 7.** Medición de las esferas



**Figura 8.** Evaluación diaria de los niveles de absorbancia del amoníaco en el nanoespectrofotómetro



**Figura 9.** Evaluación microscópica de las microalgas

**Tabla N° 01.** Datos obtenidos de absorvancias medidos a 640 nm de NH<sub>3</sub>

<b>PROCESAMIENTO DE DATOS</b>						
	t <sub>1</sub>	Desvi	t <sub>2</sub>	Desv	Control	Desv
Dias	NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>	desv	NH <sub>3</sub>	desv
0	800,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	682,76	10,72	70,31	3,91	81,64	4,44
2	650,09	19,91	100,31	8,15	108,09	7,31
3	623,64	20,89	73,64	13,00	114,53	15,62
4	587,64	6,68	71,42	7,19	138,98	21,50
5	561,64	21,73	130,98	30,47	217,20	13,53
6	536,31	28,17	144,76	15,00	224,53	21,46
7	535,42	40,04	190,53	42,77	236,31	30,87
8	494,09	50,01	178,09	13,36	258,98	9,20
9	454,31	35,21	174,31	7,90	271,87	7,06
10	402,09	18,29	177,42	20,59	298,76	42,47
11	345,64	39,56	166,76	29,25	318,31	24,46
12	317,87	35,82	137,87	50,89	342,53	32,83
13	308,53	27,30	115,87	29,67	363,87	35,00
14	191,20	54,93	60,31	37,93	281,64	20,36

**Tabla N° 02.** Peso y tamaño de las esferas de alginato

	<b>Tamaño inicial</b>	<b>Peso inicial</b>	<b>T-01</b>		<b>T-02</b>	
N°/Esferas	DAP -i (mm)	W-i(g)	DAP-f(mm)	W-f(g)	DAP-f(mm)	W-f(g)
1	5,0	0,075	7	0,143	5,0	0,076
2	5,6	0,046	6	0,212	4,8	0,143
3	4,5	0,170	7	0,142	5,0	0,061
4	5,0	0,079	5,3	0,146	5,0	0,016
5	5,2	0,090	6,1	0,122	4,2	0,057
6	5,1	0,060	6,1	0,206	5,9	0,065
7	4,8	0,072	6,8	0,104	4,3	0,065
8	5,0	0,143	6,1	0,108	4,9	0,068
9	5,2	0,064	6,3	0,146	5,0	0,063
10	5,3	0,066	6,9	0,123	4,3	0,061
Promedio	5,1	0,087	6,36	0,145	4,8	0,068

**Tabla Nº 03.** Peso y tamaño de los peces ornamentales

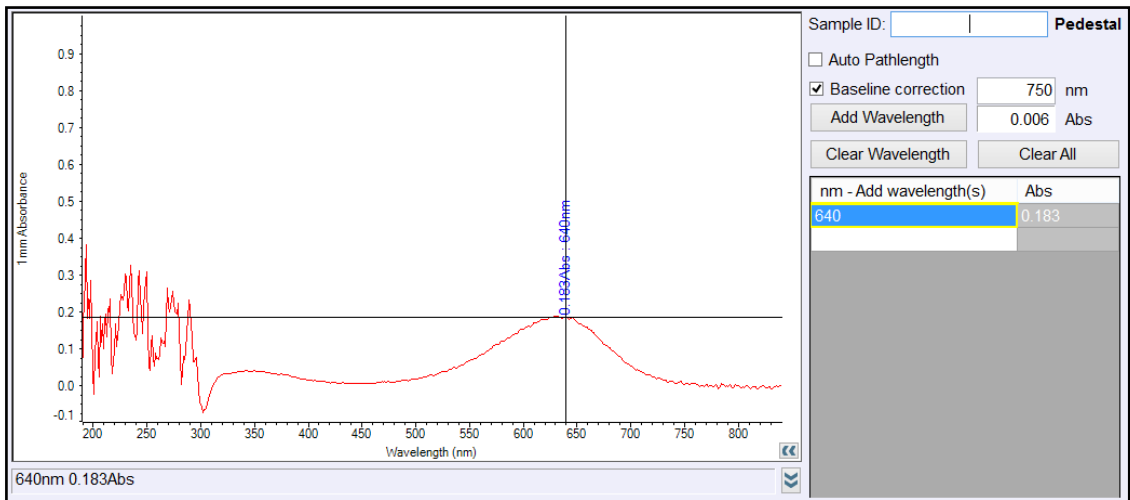
Nº/peces	Antes del tratamiento			Después del tratamiento		
	Peso (g)	Tamaño (mm)		Peso (g)	Tamaño (mm)	
		L (mm)	A (mm)		L (mm)	A (mm)
1	1,1	33	11	1,3	32	12
2	0,8	25	9	0,9	33	10
3	0,9	30	10	1,3	35	12
4	1,2	33	12	0,8	34	9
5	1,1	35	11	1,1	35	11
6	0,9	32	12	1,6	39	13
7	1,0	31	11	0,9	32	11
8	1,2	35	12	1,1	33	10
9	1,0	30	12	1,5	38	13
10	0,9	27	11	0,7	32	11
Promedio	1,01	31,1	11,1	1,12	34,3	11,2

**Tabla Nº 04.** Registro diario de temperatura de los ensayos

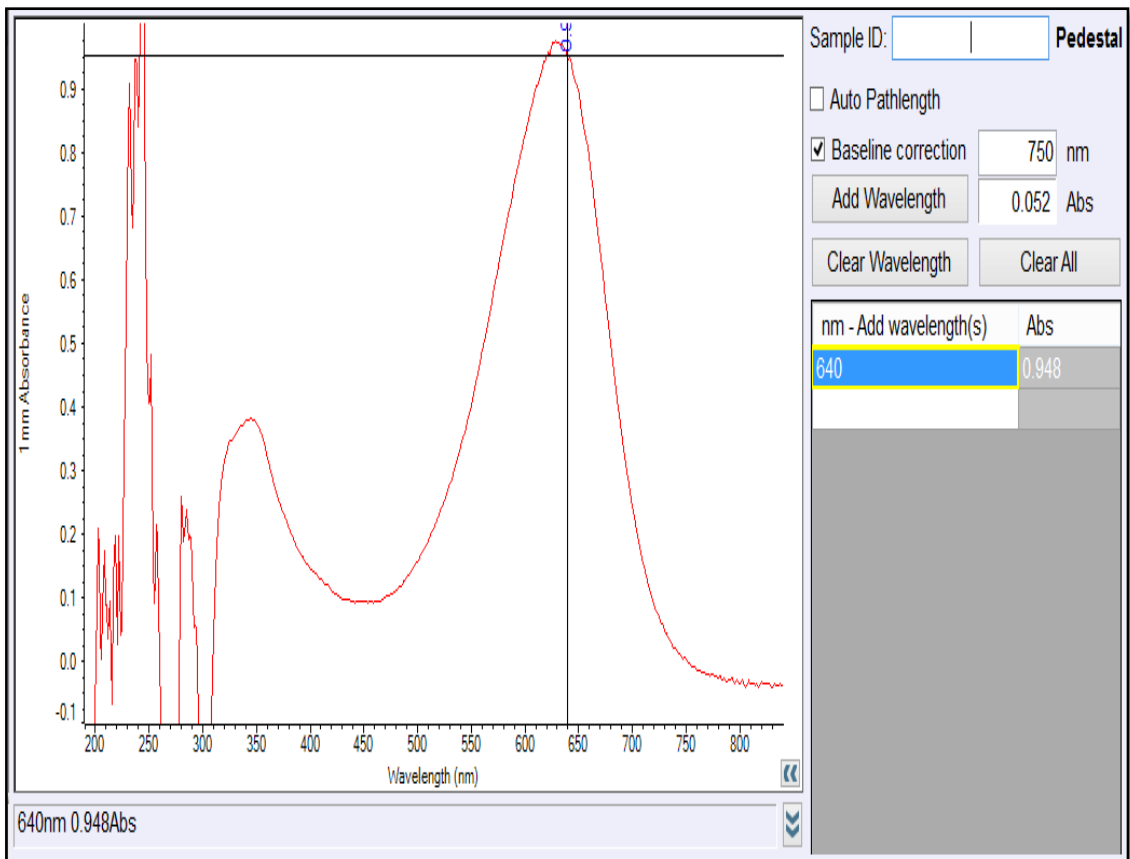
Día	T-01	T-02	Control
0	24,6	24,6	24,6
1	24,6	24,6	24,6
2	23,4	23,4	23,4
3	21,5	21,5	21,5
4	23,6	23,6	23,6
5	23,3	23,3	23,3
6	24,4	24,4	24,4
7	24,5	24,5	24,5
8	23,5	23,5	23,5
9	25,4	25,4	25,4
10	25,2	25,2	25,2
11	22,3	22,3	22,3
12	24,5	24,5	24,5
13	25,2	24,9	25,1
14	24,3	24,4	24,5

**Tabla Nº 05.** Soluciones que conforman el medio BG11

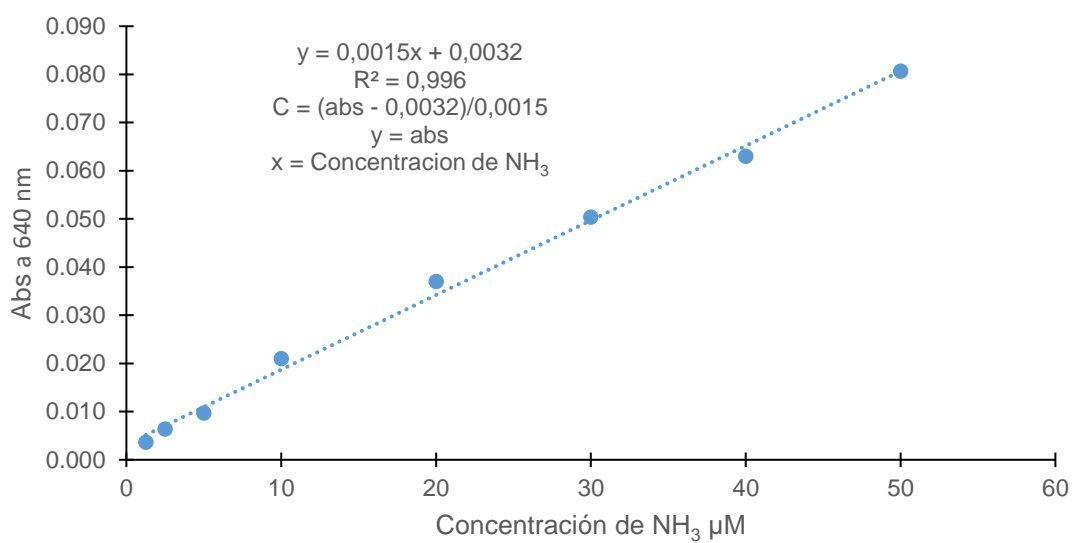
<b>Reactivo</b>	<b>Concentración g/L</b>
<b>Solución 01</b>	
Na <sub>2</sub> EDTA*2H <sub>2</sub> O	0,1
Citrato de Aluminio Férrico	0,6
CaCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O	3,6
<b>Solución 2</b>	
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	7,5
<b>Solución 3</b>	
KaHO <sub>4</sub>	3,05
<b>Solución 4</b>	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86
MnCl <sub>2</sub> *4 H <sub>2</sub> O	1,81
ZnSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0,22
CuSO <sub>4</sub> *5H <sub>2</sub> O	0,08
CoCl <sub>2</sub> *6H <sub>2</sub> O	0,05
NaMoO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	0,39



**Figura 10.** Evaluación de los niveles de absorbancia del amoniaco, leídas en el nanoespectrofotómetro



**Figura 11.** Rangos de absorbancias de la remoción de amoniaco en los tratamientos



**Figura 12:** Curva de regresión lineal para el cálculo de la ecuación de las concentraciones de amoniaco