



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE NITRATOS Y FOSFATOS CON
MICROALGA, ESPECIE “*CHLORELLA VULGARIS*” EN AGUA RESIDUAL
PROCEDENTE DEL RÍO MACHÁNGARA DEL SECTOR CHIMBACALLE,
CANTÓN QUITO, PROVINCIA PICHINCHA 2022-2023**

Trabajo de Titulación previo a la obtención del
Título de Ingenieras Ambientales

AUTORES: JESSICA PAOLA MOROCHO PAREDES
SILVANA KARINA GORDILLO ORDOÑEZ

TUTOR: XIMENA DEL ROCÍO BORJA VELA

Quito - Ecuador
2023

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotras, Jessica Paola Morocho Paredes con documento de identificación N° 1725591604 y Silvana Karina Gordillo Ordoñez con documento de identificación N° 1726623745 manifestamos que:

Somos autoras y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Quito, 24 de febrero del año 2023

Atentamente,



Jessica Paola Morocho Paredes
1725591604



Silvana Karina Gordillo Ordoñez
1726623745

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotras, Jessica Paola Morocho Paredes con documento de identificación N° 1725591604 y Silvana Karina Gordillo Ordoñez documento de identificación No.1726623745, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autoras del Trabajo Experimental: “Evaluación de la remoción de nitratos y fosfatos con microalga, especie “*Chorella Vulgaris* ”en agua residual procedente del río Machángara del sector Chimbacalle, Cantón Quito, Provincia Pichincha 2022-2023”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de Ingenieras Ambientales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega final del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 24 de febrero del año 2023

Atentamente,



Jessica Paola Morocho Paredes
1725591604



Silvana Karina Gordillo Ordoñez
1726623745

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo Ximena del Rocío Borja Vela con documento de identificación No 1711223584, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE NITRATOS Y FOSFATOS CON MICROALGA, ESPECIE “CHLORELLA VULGARIS” EN AGUA RESIDUAL PROCEDENTE DEL RÍO MACHÁNGARA DEL SECTOR CHIMBACALLE, CANTÓN QUITO, PROVINCIA PICHINCHA 2022-2023, realizado por Jessica Paola Morocho Paredes con documento de identificación N° 1725591604 y Silvana Karina Gordillo Ordoñez documento de identificación No.1726623745, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 24 de febrero del año 2023

Atentamente,



Ing. Ximena del Rocío Borja Vela M.Sc.

1711223584

DEDICATORIA

El presente trabajo de experimentación lo dedico a mi Padre Celestial por la sabiduría y los dones concedidos durante todos estos años, a mis padres Alejandro y Susana por su apoyo, amor, ejemplo y su dedicación por ser buenos padres a mis hermanos Pilar y Ronny que, con su cariño, y apoyo me brindaron la fuerza para no rendirme, son lo más importante para mí y este logro es por ustedes.

Todo lo que fui, soy y seré, es gracias a ustedes familia, Los amo.

A mí mejor amiga y compañera de tesis Silvana por su dedicación y esfuerzo para culminar el proyecto.

Jessica Paola Morocho Paredes

Este trabajo está dedicado a Dios mi padre amado, Él que me mantuvo de pie ante las adversidades presentadas en mis estudios, a mis padres que han sido el pilar fundamental en este proceso que he recorrido, que con sus enseñanzas y ejemplo me hicieron una mujer de valores ejemplares y ser constante en lo que me propongo y se la dedico a mi Daniel por el apoyo brindado en todo este proceso, resolviendo mis dudas.

Amiga mía, gemela de mi alma Jessica te la dedico a ti que fuiste la mejor compañía que nadie pudo tener.

Silvana Karina Gordillo Ordoñez

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por la sabiduría brindada durante estos cinco años de preparación como profesionales, a nuestros padres por el apoyo, guía y sacrificio.

A los docentes de la Universidad Politécnica Salesiana involucrados en nuestra educación durante toda la carrera, de manera especial a la Ing. Ximena del Rocio Borja Vela quién supo ser un apoyo como tutora en el trabajo experimental, brindándonos sus conocimientos profesionales y confiando en nuestro potencial.

A nuestros compañeros(as) de la Carrera que compartieron esta experiencia con nosotras y contribuyeron a nuestro crecimiento profesional.

De igual forma agradecemos a la universidad Politécnica Salesiana por abrirnos las puertas y formarnos como buenos cristianos y honrados ciudadanos.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Problema.....	3
1.2. Delimitación	6
1.2.1. Geográfica.....	6
1.2.2. Temporal.....	6
1.2.3. Sectorial	6
1.2.4. Institucional.....	6
1.3. Pregunta de investigación.....	7
1.4. Objetivos.....	7
1.4.1. General.....	7
1.4.2. Específicos	7
1.5. Hipótesis	7
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	8
2.1. Tratamientos de aguas residuales.....	9
2.1.1. Tipos de tratamiento.....	9
2.1.2. Clasificación del tratamiento	10
2.2. Microalgas	11
2.2.1. Chlorella vulgaris	12
2.2.2. Medios de cultivo	14
2.2.3. Tratamiento de aguas residuales con el uso de Chlorella Vulgaris.....	17
2.3. Método de conteo en cámara de Neubauer.....	18
2.4. Absorbancia por espectrofotometría	18
2.5. Eficiencia de remoción.....	18
2.6. Fundamentación legal	19
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1. Materiales	20
3.2. Métodos y alcance de la investigación.....	21
3.2.1. Tipo de investigación	21
3.2.2. Método de investigación.....	21
3.2.3. Técnicas o Instrumentos	21
3.2.4. Diseño.....	23
3.2.5. Población y muestra	23
3.2.6. Muestra	23
3.2.7. Variables	23
3.3. Procedimiento técnico.....	25

3.3.1.	Etapa 1 (acondicionamiento y crecimiento de microalga)	25
3.3.2.	Etapa 2 (tratamiento de agua residual con microalga <i>Chlorella vulgaris</i>).....	32
3.3.3.	Etapa 3 (análisis de parámetros)	34
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1.	Resultados.....	39
4.1.1.	Curva de crecimiento.....	39
4.1.2.	Caracterización luego de aplicar las <i>Chlorella Vulgaris</i> en el agua residual.....	43
4.1.3.	Prueba de hipótesis	59
4.2.	Discusión	65
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
5.1.	Conclusiones.....	67
5.2.	Recomendaciones	68
6.	BIBLIOGRAFÍA	69
7.	ANEXOS.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Objetivo de los procesos de pretratamiento	10
Tabla 2 Taxonomía de la microalga <i>Chlorella Vulgaris</i>	13
Tabla 3 Equipos, materiales y reactivos usados en el proyecto experimental	20
Tabla 4 Métodos de toma de muestra usados para la fase de campo	22
Tabla 5 Métodos usados para medir los parámetros en la fase de laboratorio.....	22
Tabla 6 Biorremediación de agua residual con <i>Chlorella Vulgaris</i>	24
Tabla 7 Variables de respuesta para analizar en el proyecto	24
Tabla 8 Dosis colocadas para medio de cultivo de <i>Chlorella Vulgaris</i>	29
Tabla 9 Análisis de varianza del crecimiento de la microalga <i>Chlorella Vulgaris</i> por el método de absorbancia	41
Tabla 10 Prueba de Tuckey para análisis de crecimiento de la microalga por el método de absorbancia	41
Tabla 11 Análisis de varianza del crecimiento de la microalga <i>Chlorella Vulgaris</i> por conteo en la cámara de Neubauer.....	43
Tabla 12 Prueba de Tuckey para análisis de crecimiento de la microalga por conteo en la cámara e Neubauer	43
Tabla 13 Resultados obtenidos del seguimiento de parámetros analizados durante todo el trabajo experimental.....	44
Tabla 14 Concentración de nitratos antes y después del tratamiento	60
Tabla 15 Promedio y varianza de los tratamientos	60
Tabla 16 Análisis de varianza de los nitratos.....	61
Tabla 17 Concentración de nitratos antes y después del tratamiento	63
Tabla 18 Promedio y varianza de los tratamientos	63
Tabla 19 Análisis de varianza de fosfatos.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Crecimiento celular de la microalga <i>Chlorella Vulgaris</i>	13
Figura 2 Etapas del ciclo del nitrógeno concernientes a la descarga y tratamiento de agua residual	17
Figura 3 Fotobiorreactor	26
Figura 4 Toma muestra de microalga	26
Figura 5 Evidencia de microalga <i>Chlorella Vulgaris</i> en la muestra de agua	27
Figura 6 Proceso de aislamiento de la microalga <i>Chlorella Vulgaris</i>	28
Figura 7 Preparación de medio de cultivo	29
Figura 8 Siembra de cultivo aislado de microalga	30
Figura 9 Conteo en la cámara de Neubauer	31
Figura 10 Medición de la absorbancia	31
Figura 11 Toma de muestra del agua residual	32
Figura 12 Oxidación del agua residual	33
Figura 13 Tratamiento del agua residual con microalga <i>Chlorella Vulgaris</i>	34
Figura 14 Medición de la concentración de fósforo	35
Figura 15 Medición de la concentración de nitratos	36
Figura 16 Medición de la turbidez	36
Figura 17 Medición del pH y conductividad	37
Figura 18 Medición de temperatura ambiente en el fotobiorreactor	38
Figura 19 Proceso de medición de DQO	39
Figura 20 Curva de crecimiento mediante la medición de absorbancia	40
Figura 21 Curva de crecimiento por cámara de Neubauer	45
Figura 22 Resultados de la medición de pH del tratamiento 1	46
Figura 23 Resultados de la medición de pH del tratamiento 2	47
Figura 24 Resultados de la medición de pH del tratamiento 3	48
Figura 25 Resultados de la medición de conductividad del tratamiento 1	49
Figura 26 Resultados de la medición de conductividad del tratamiento 2	50
Figura 27 Resultados de la medición de conductividad del tratamiento 3	51
Figura 28 Resultados de la medición de turbidez del tratamiento 1	52
Figura 29 Resultados de la medición de turbidez del tratamiento 2	53
Figura 30 Resultados de la medición de turbidez del tratamiento 3	53
Figura 31 Resultados de reducción de nitratos	54
Figura 32 Resultados de reducción de fosfatos	55
Figura 33 Resultados de la medición de DQO del tratamiento 1	56
Figura 34 Resultados de la medición de DQO del tratamiento 2	57
Figura 35 Resultados de la medición de DQO del tratamiento 3	58
Figura 36 Porcentaje de remoción de DQO	59
Figura 37 Porcentaje de reducción de nitratos	62
Figura 38 Porcentaje de reducción de fosfatos	65

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Datos obtenidos por el método de absorbancia	74
Anexo 2 Datos obtenidos por camara de Neubauer.....	74
Anexo 3 Datos obtenidos de las mediciones de nitratos	75
Anexo 4 Promedio de los tratamientos de la medición inicial y final	76
Anexo 5 Porcentaje de reducción de nitratos	76
Anexo 6 Datos obtenidos de las mediciones de fosfatos.....	76
Anexo 7 Promedio de los tratamientos de la medición inicial y final	77
Anexo 8 Porcentaje de reducción de fosfatos.....	77
Anexo 9 pH.....	78
Anexo 10 Conductividad.....	79
Anexo 11 Turbidez.....	80
Anexo 12 Valores de DQO tratamiento 1	81
Anexo 13 Porcentaje de remoción del tratamiento 1 DQO.....	81
Anexo 14 Valores de DQO tratamiento 2	81
Anexo 15 Porcentaje de remoción del tratamiento 2	82
Anexo 16 Valores de DQO tratamiento 3	82
Anexo 17 Porcentaje de remoción del tratamiento 3	82

ABREVIATURAS

$^{\circ}\text{C}$	Grado centígrado
<i>cel</i>	células
CH_4	metano
CO_2	dióxido de carbono
<i>DBO</i>	demanda bioquímica de oxígeno
<i>DQO</i>	demanda química de Oxígeno
<i>L</i>	litros
<i>mg</i>	miligramos
<i>mL</i>	mililitro
NO_3^-	nitratos
O_2	oxígeno
<i>ONU</i>	organización Naciones Unidas
PO_4^{3-}	fosfatos
<i>R1</i>	repetición 1
<i>R2</i>	repetición 2
<i>R3</i>	repetición 3
<i>T1</i>	tratamiento 1
<i>T2</i>	tratamiento 2
<i>T3</i>	tratamiento 3
μm	micrómetros
<i>USFQ</i>	Universidad San Francisco de Quito

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el porcentaje de remoción de NO_3^- y PO_4^{3-} en el agua residual recolectada en una desembocadura del río Machángara por medio del uso de la microalga *Chlorella vulgaris*. La experimentación contó con tres etapas, la primera, duró un mes y consistió en adaptar las condiciones para el crecimiento y desarrollo de la microalga; esta se aisló en cajas petri para evitar contaminación, el medio de cultivo se preparó con nitrofoska foliar y agar nutritivo, una vez aislada la microalga se preparó tres dosis de cultivo para determinar la curva de crecimiento mediante la cámara de Neubauer y espectrofotómetro; la segunda etapa, fue un periodo de tres semanas tiempo en el que se aplicó tres tratamientos con diferentes concentraciones de 100, 80 y 60 mL de inóculo de microalga y 400 mL de agua residual, estos tuvieron tres repeticiones, el desarrollo ocurrió en condiciones controladas en un fotobiorreactor con burbujeo; en la última etapa se analizaron los parámetros físicos, químicos y microbiológicos mediante los cuales se determinó al tratamiento dos como el mejor, con un porcentaje de remoción de 51.97% NO_3^- y 50.48% PO_4^{3-} , tratamiento que se desarrolló en un rango de temperatura de 19°C a 21.4°C y un pH inicial de 9.71 y final de 7.29, ambiente ideal para la microalga. Para los parámetros nitrato, fosfato y crecimiento celular se aplicó el análisis estadístico de varianza para determinar el mejor tratamiento. Durante la segunda etapa se realizó un seguimiento dos veces por semana de turbidez, conductividad, pH, temperatura, DQO, nitratos y fosfatos. De acuerdo con los resultados obtenidos se logró evidenciar la capacidad de las microalgas de adsorber nitrato y fosfato del agua residual, lo que las convierte en una posibilidad viable, económica en la disminución de contaminantes en el agua residual.

Palabras Clave: microalga, *Chlorella vulgaris*, tratamiento, nitrato, fosfato, agua residual.

ABSTRACT

The objective of this research is to evaluate the percentage of removal with NO_3^- and PO_4^{3-} in the wastewater we collected of mouth in Machángara river, for that we were using the *Chlorella vulgaris* microalgae. The experimental work had three stages, the first stage refers about lasted, it is the period of 1 month that consisted of adapting the conditions for the growth and development of the microalga in which it isolated in petri dishes to avoid contamination, the culture medium was prepared with foliar nitrofoska and nutrient agar, once the microalgae was isolated, 3 culture doses were prepared to determine the growth curve, it is using the Neubauer chamber and spectrophotometer to obtain the absorbance.; The second stage lasted a period of three weeks in which 3 treatments were applied with different concentrations of 100, 80 and 60 mL of microalgae inoculum and 400 mL of residual water, which had three repetitions, which were in suitable conditions. controlled in a sparging photobioreactor; In the last stage, the physical, chemical and microbiological parameters were analyzed through which treatment 2 was determined as the best, with a removal percentage of 51.97% NO_3^- and 50.48% PO_4^{3-} , a treatment that was developed in a range of temperatures from 19°C to 21.4°C and an initial pH of 9.71 and a final pH of 7.29, an ideal environment for microalgae. For the parameters nitrate, phosphate and cell growth, the statistical analysis of variance was applied to more accurately determine the best treatment. During the second stage, turbidity, conductivity, pH, temperature, COD, nitrates and phosphates were monitored twice a week. According to the results obtained, it was possible to demonstrate the ability of microalgae to adsorb nitrate and phosphate from wastewater, which makes them a viable, economical possibility in reducing pollutants.

Keywords: microalgae, *Chlorella vulgaris*, treatment, nitrate, phosphate, wastewater.

1. INTRODUCCIÓN

1.1.Problema

La contaminación del agua a nivel mundial es un problema medioambientales que causa preocupación a la sociedad, dado que es uno de los recursos necesarios para el desarrollo de la vida y se ha considerado vulnerable Según Winterhalter “de acuerdo con la ONU más del 80% de las aguas residuales resultantes de actividades humanas se vierten en los ríos o el mar sin ningún tratamiento previo, lo que ha desencadenado una acumulación de compuestos dañinos”(Winterhalter, 2021). El agua desechada contiene con sustancias nocivas que provienen de distintos usos como el doméstico (grasas, detergentes, aceites), industrial (metales pesados, sustancias radioactivas, ácidos) y comercial (productos químicos, pesticidas y fertilizantes).

Las fuentes de agua (ríos, mar, lagos, acuíferos) con una alta concentración de, contaminantes son deficientes en auto depurar el agua debido al aumento progresivo de contaminación; por ello, estas fuentes de agua han perdido con el pasar de los años su capacidad de albergar vida acuática, ya que se alterado las condiciones naturales, lo que ha provocado una alteración en el equilibrio ecológico al poner en peligro la preservación de los cuerpos de agua (Valensuela, 2019).

Un estudio de calidad de agua se aplicó en los ríos de la Costa, Sierra y Amazonia por observadores de la USFQ determinaron que “todos los ríos analizados tienen niveles de *Escherichia coli* y coliformes (bacterias de heces humanas y animales) por encima del límite máximo permitido, además de químicos y metales como cobre, zinc, aluminio, hierro y manganeso”(PRIMICIAS, 2020).

El agua residual previo a su descarga a las fuentes hídricas debe someterse a un tratamiento previo ya que existe la necesidad de eliminar y reducir los compuestos orgánicos que

causan gases malolientes, compuestos tóxicos, microorganismos patógenos, entre otros que afectan el desarrollo de los seres vivos (Reinoso & Carrillo, 2022). Es preciso tener en cuenta que el exceso de materia orgánica vertida en el cuerpo de agua llegará a consumir el oxígeno disuelto Según Reinoso & Carrillo sucede para “para satisfacer la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), por lo tanto, agotará el oxígeno disuelto y provocará la muerte de peces y demás organismos vivos. Así como la presencia de nutrientes indeseables que pueden estimular el crecimiento de algas lo que causa una eutrofización”(Reinoso & Carrillo, 2022).

Se recomienda a la especie *Chlorella Vulgaris* como una propuesta de remediación para aguas contaminadas. Según Chambi “La capacidad de las algas de adsorber nitrógeno y fósforo del agua, las convierte en una posibilidad real para la eliminación de nutrientes del agua residual”(Chambi, 2019). Estos microorganismos son autótrofos y tienen la capacidad de transformar la energía solar en biomasa, de esta forma se usa eficientemente los nutrientes inorgánicos.

Esta alternativa de depuración para aguas residuales inicia a finales de los años 50, y se extiende a Estados Unidos y diversos países de Asia en los años 70. Para los autores Hernández&Labbé “Las microalgas poseen una capacidad Fitorremediadora que consiste en la eliminación o biotransformación de los agentes dañinos de un medio líquido o gaseoso”(Chambi, 2019). Este proceso tiene dos propósitos, reducir la carga contaminante y la producción de biomasa algal.

Investigaciones realizadas años atrás acerca de tratamientos terciarios en aguas residuales, optaron por utilizar la microalga como un depurador natural. Según Ávila “Se evaluó la capacidad de remoción de nitrato (NO_3^-) y fosfato (PO_4^{3-}) durante 10 días, se trabajó con las cepas de *Chlorella* sp y *Chlamydomonas* sp, donde se reportaron valores altos de remoción, entre

56% a 67% para NO_3^- y 78% a 81% para PO_4^{3-} ”(Ávila, 2015). Se considera este método altamente eficiente en un tiempo corto de aplicación.

Un tratamiento biológico que use microalgas se considera un método natural, el cual es productivo y eficiente, constituyéndose una opción factible para mejorar la calidad de las vertientes hídricas.

Según Ávila “Los métodos químicos y físicos son los más utilizados a nivel mundial, son costosos, no tan efectivos, al ser no naturales, tienen un impacto considerable en el ecosistema”(Ávila et al., 2018).

Este trabajo surge como una alternativa de depuración para agua residual, mediante la producción de biomasa algal en un sistema de reactores, el que se realizó a escala de laboratorio. Estos microorganismos son capaces de disminuir significativamente las concentraciones de DQO, DBO, carga orgánica, nitratos, fosfatos, entre otros.

Para el cumplimiento de este proyecto se llevó a cabo un seguimiento de la microalga “*Chlorella Vulgaris*” el cual consistió en aislar y aumentar la biomasa algal para su posterior aplicación en la reducción de nitratos y fosfatos; se contó con el respaldo de la Universidad Politécnica Salesiana en cuanto al uso del “Laboratorio del Agua Residual”. Se dispone de los equipos necesarios para el muestreo, la recolección del agua residual y microalga. Lo que permitió que el proyecto se desarrolle en condiciones favorables. De este modo el estudio contribuirá para analizar la factibilidad de utilizar la microalga como una alternativa natural para reducir los contaminantes presentes en el agua que de forma diaria aumentan, enfocado a mejores resultados a largo plazo al aplicar este proceso de depuración con el fin de mitigar el gran impacto que causa la generación de aguas residuales en las vertientes hídricas.

1.2.Delimitación

1.2.1. Geográfica

El presente estudio se ubicó en el distrito Chimbacalle, cantón Quito, provincia de Pichincha. Se delimitó:

- Norte: distrito Centro Histórico
- Sur: Argelia
- Oriente: Puengasí
- Occidente: Magdalena.

1.2.2. Temporal

El proyecto de investigación se realizó en los meses de octubre a diciembre, la toma de muestra de la microalga *Chlorella Vulgaris* fue en el mes de octubre y la muestra del agua residual en la última semana de noviembre.

1.2.3. Sectorial

El área de actuación del proyecto experimental se enmarca en el Sector Chimbacalle en una de las desembocaduras del río Machángara con una latitud de 0°14'20.29"S y una longitud de 78°31'6.34'O

1.2.4. Institucional

El proyecto experimental se realizó en los laboratorios de microbiología y aguas residuales de la Universidad Politécnica Salesiana pertenecientes a la carrera de Ingeniería ambiental.

1.3.Pregunta de investigación

¿La microalga *Chlorella Vulgaris* reduce la concentración de nitratos y fosfatos del agua residual?

1.4.Objetivos

1.4.1. General

Evaluar la remoción de nitratos y fosfatos en el agua residual del río Machángara, utilizando la microalga *Chlorella vulgaris*, con el fin de determinar su efectividad en el tratamiento de aguas contaminadas.

1.4.2. Específicos

Determinar la curva de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* mediante la obtención de la absorbancia en el espectrofotómetro y conteo celular por cámara de Neubauer, para definir la población adecuada en el tratamiento del agua residual.

Caracterizar cuantitativa y cualitativamente parámetros físico -químicos de agua residual del Rio Machángara, a través de equipos de laboratorio, para conocer las condiciones en las que se desenvuelve la microalga.

Medir las concentraciones de nitratos y fosfatos en el agua residual, antes y después del tratamiento, a través de instrumentos de medición de calidad de agua, para comparar los resultados y determinar la efectividad de la microalga.

1.5.Hipótesis

Hipótesis nula: La microalga *Chlorella Vulgaris* reduce nitratos y fosfatos del agua residual.

Hipótesis alterna: La microalga *Chlorella Vulgaris* no reduce nitratos y fosfatos del agua residual.

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

La calidad del agua de los ríos queda comprometida por la presencia de agentes contaminantes que la desequilibran, convirtiéndose en agua no apta para el uso que normalmente hubiera sido asignada. Los ríos ecuatorianos no son la excepción ya que son el destino final de las aguas residuales domesticas sin tratar lo que trae consigo importantes impactos en los ecosistemas. Investigadores de la USFQ analizaron la calidad del agua de los ríos ecuatorianos, según el estudio realizado “los ríos más contaminados son el Guayas y el Machángara, los mismos que mostraron los niveles más altos de parámetros fisicoquímicos y concentraciones de metales”(PRIMICIAS, 2020). Lo que trae una gran preocupación a las personas que residen cerca a esos ríos.

En este contexto es importante desarrollar tecnologías enfocadas en la generación de energías limpias a un bajo costo orientadas al cuidado ambiental. Entre las alternativas, el uso de cultivos de microalgas es considerado eco-amigables, ya que tiene la habilidad de reciclar contaminantes que se encuentran en medios gaseosos y líquidos, incorporándolos a su metabolismo para la generación de biomasa. Según Cajamar describe a las microalgas como “organismos unicelulares fotosintéticos, que pueden crecer de modo autotrófico. Son altamente eficientes en la fijación del CO₂ y utilización de la energía solar para producir biomasa, con una eficiencia superior a la de las plantas”(CajamarADNagro, 2015). Estos microorganismos son sustentables con el medio ambiente, pueden crecer en diferentes espacios acuosos como agua dulce, lagunas salinas y sistemas marinos (Yachay, 2017).

Los cultivos de microalgas son una alternativa de complejidad media comparado con otros sistemas usados para tratar aguas residuales. Para el desarrollo de los cultivos de microalga es importante llevar un seguimiento de medición de parámetros, lo que permitirá monitorear las condiciones en las que se están desarrollando para su aumento. Los parámetros por considerar en un cultivo de la microalga son: pH, luz, temperatura, especie, nutrientes, oxígeno, entre otros. Según Hernández & Labbé “Los cultivos presentan una gran variedad de diseños, los cuales se clasifican en dos grandes grupos: sistemas abiertos y cerrados; cada uno con una variedad importante que influye en su desarrollo”(Hernández & Labbé, 2014). Hay que mencionar que el cultivo y la especie influirán en la cantidad de remoción de los diferentes parámetros.

2.1.Tratamientos de aguas residuales

El agua residual es sometida a un proceso de selección para determinar el mejor tratamiento de acuerdo con el uso que se le dará, su naturaleza, nivel de contaminación, la compatibilidad de las diferentes operaciones y procesos (García & Pérez, 2020).

2.1.1. Tipos de tratamiento

Tratamiento físico. Existen tres tipos de tratamientos en el agua residual. El tratamiento físico cuenta con procesos de precipitación, tamizado, filtración y separación de sólidos que transfieren los contaminantes existentes del agua a una segunda fase a tratar; estos procesos dependerán de las diferentes propiedades físicas que poseen los contaminantes (Murillo, 2018).

Tratamiento químico. Este tratamiento dependerá de las propiedades químicas que se encuentran en el agua residual. Según Rodríguez (García & Pérez, 2020)“Los tratamientos químicos tales como la oxidación húmeda, la ozonización, la radiación UV, o el empleo de agentes químicos oxidantes (cloro, permanganato potásico, peróxido de hidrógeno, entre otros

etc.) actúan sobre aquellas moléculas susceptibles de oxidación”(Rodríguez, 2017). Por lo tanto, es considerado un proceso selectivo, lo que provoca un elevado costo de implantación.

Tratamiento biológico. Este tratamiento actúa de forma directa en la materia en suspensión convirtiéndose en sólidos sedimentables, son procesos anaeróbicos o aeróbicos, entre los cuales están los lodos activos, lagunas aireadas, filtro percolador, aplicación de microalgas, la biodigestión anaerobia, entre otras. Según Rodríguez “Los tratamientos biológicos tienen mayores rendimientos con menores costes económicos de explotación y mantenimiento, y destruyen completamente los contaminantes, transformándolos en sustancias inocuas como el dióxido de carbono, el metano, el nitrógeno molecular, y el agua”(Rodríguez, 2017). Es por tanto un proceso efectivo en la mineralización de compuestos contaminantes.

2.1.2. Clasificación del tratamiento

Pretratamiento. Se enfoca en preparar o acondicionar el agua residual con el objetivo de eliminar sólidos (gran tamaño), arena y grasa. El filtrado es usado para la eliminación de estos compuestos. En la tabla 1 se detalla los objetivos de los procesos que intervienen en el pretratamiento.

Tabla 1

Objetivo de los procesos de pretratamiento

Proceso	Objetivo
Rejas o tamices	Eliminación de sólidos gruesos
Trituradores	Desmenuzamiento de sólidos
Desarenadores	Eliminación de arenas y gravilla
Desengrasadores	Eliminación de aceites y grasas
Preaeración	Control de olor y mejoramiento del comportamiento hidráulico

Nota. Esta tabla muestra el objetivo de usar cada uno de los procesos para un pretratamiento de agua residual. Tomado de Arnáiz, C., Lsac, L., & Lebrato, J. (2000).

Tratamiento primario. Su objetivo se basa en la remoción de material sedimentable o flotante por medios físicos o mecánicos. “El tratamiento primario es capaz de remover una fracción importante de la carga orgánica y que puede representar entre el 25% y el 40% de la DBO y entre el 50% y el 65% de los sólidos suspendidos”(Malusin, 2019). Los métodos más utilizados son sedimentación gravitatoria, tratamientos químicos (coagulante y floculante) y separación de partículas en suspensión mediante burbujas.

Tratamiento secundario. Se aplica dos procesos: aerobios que se desarrolla en presencia de oxígeno, el cual es inyectado a los tanques mediante burbujeo lo que permite el crecimiento de la biomasa, a diferencia del proceso anaerobio que se desarrolla en ausencia de O_2 y transforma la materia orgánica en una mezcla de gases (CO_2 , CH_4). Los filtros percoladores y lodos activados son los más utilizados en procesos biológicos (Borja, 2021).

Tratamiento terciario. Son procesos especiales (físicos y químicos) que permiten reducir con mayor eficiencia la carga contaminante (nitrógeno, compuestos orgánicos, metales pesados, nitrógeno, fósforo) de las aguas residuales. Belzon afirma que “Es un tipo de tratamiento más caro que los anteriores y se usa en casos más especiales como por ejemplo para purificar desechos de algunas industrias”(Belzona, 2010). Normalmente este tratamiento es usado como un proceso adicional para eliminar remanentes que están suspendidos.

2.2. Microalgas

Las microalgas son microorganismos unicelulares fotosintéticos, necesarias para la producción primaria en la cadena trófica, estas poseen un tamaño de 5 a 50 μm , lo que les permite ser de fácil digestión para muchos organismos que se alimentan de fitoplancton (Condori, 2018). Las microalgas poseen clorofila lo que les da un aspecto verdoso similar al de las plantas, por lo cual necesitan de la luz para desarrollarse y crear materia orgánica (Candela,

2016). Además, son utilizadas para la fabricación de fertilizantes, proveen a las plantas de aminoácidos libres y minerales.

La especie *Chlorella vulgaris* es considerada una de las más fuertes ya que puede vivir en condiciones extremas, ideal para obtener una alta tasa de crecimiento por su buena capacidad para formar agregados y alta tolerancia a las variaciones estacionales. Para que una especie predomine en un sistema abierto dependerá de los parámetros biológicos y factores operaciones y ambientales. En un sistema cerrado se pueden lograr cultivos monoespecíficos aislados del medioambiente (Hernández & Labbé, 2014). La gran resistencia en los distintos sistemas las hace excelentes depuradoras.

Las microalgas pueden llegar a subsistir en condiciones aisladas así también como en colonias encontrándose aproximadamente treinta mil especies. Contribuyen de manera activa con el balance del oxígeno en el planeta que representa casi el 50% de la fotosíntesis del mundo y suponen la base de la cadena alimentaria global, con alrededor del 70% de la producción total de materia orgánica (Candela, 2016).

2.2.1. *Chlorella vulgaris*

Es un tipo de microalga elegida para distintos procesos de biorremediación por su capacidad para eliminar una gran variedad de contaminantes como fertilizantes, productos farmacéuticos, metales pesados, detergentes, pesticidas, nitrato, fosfato, amonio, nitrito, y otros contaminantes emergentes de los efluentes. Además, es un microorganismo con una alta tasa de crecimiento alta y requisito de cultivo simples (Gil & Soto, 2012).

Tabla 2

Taxonomía de la microalga Chlorella Vulgaris

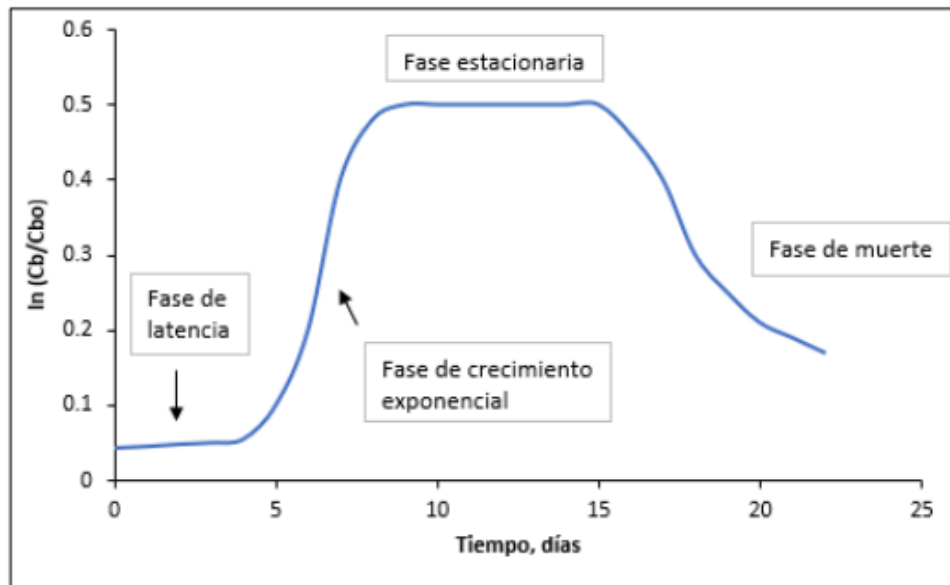
	Taxonomía
Reino:	Plantae (Primoplantae)
División:	Chlorophyta
Clase:	Trebouxiophyceae
Orden:	Chlorellales
Familia:	Chlorellaceae
Género:	Chlorella

Nota. En la siguiente tabla se presenta la clasificación de la microalga *Chlorella Vulgaris*, la información se tomó de *Hernández, A., & Labbé, J. (2014)*.

El desarrollo y crecimiento de la *Chlorella Vulgaris* se puede evidenciar en cuatro fases:

Figura 1

Crecimiento celular de la microalga Chlorella Vulgaris



Nota. El gráfico representa las fases de crecimiento y desarrollo de la microalga *Chlorella Vulgaris*, se evidencia que la microalga llega a una fase estacionaria al noveno día, fase en la que es apta para ser usada para el tratamiento. La figura fue extraída de *Álvarez, J. (2012)*.

- Fase de latencia: se presenta después de realizar la inoculación; es una etapa de adaptación al nuevo medio de cultivo en el cual no existe replica de ADN (no hay reproducción celular).
- Fase de crecimiento exponencial: comienza el proceso de crecimiento celular en el cual se reproducen de forma acelerada, lo cual dependerá de las condiciones ambientales al considerar que en esta etapa hay una gran concentración de nutrientes.
- Fase estacionaria: existe un agotamiento de alimento que frena el crecimiento lo que provoca que la población celular permanezca estacionaria en donde la muerte de células viejas compensará la generación de nuevas células.
- Fase de muerte: se agota su fuente de alimentación lo que causa un descenso poblacional producto de la muerte celular. Su tasa de generación de nuevas células es inferior a la tasa de mortalidad (Jácome, 2019).

2.2.2. Medios de cultivo

Para la producción de biomasa algal se debe tomar en cuenta factores que pueden limitar su desarrollo como la intensidad de luz, pH, temperatura, oxígeno disuelto y nutrientes. Entre ellos se puede destacar:

Luz. La intensidad de la luz en el crecimiento de la microalga proporciona la energía necesaria para generar reacciones fotosintéticas, lo que les permite convertir los nutrientes inorgánicos a biomasa orgánica. A valores superiores de intensidad lumínica, las microalgas reciben más energía de la necesaria para la fotosíntesis, por lo que comienzan a disipar energía en forma de calor, lo que conlleva un descenso de la eficiencia(Álvarez, 2012).Es importante colocar un sistema de mezcla eficaz que permita el ingreso de luz a todas las células, ya que la intensidad lumínica va a disminuir al aumentar la turbidez. La cantidad recomendada para una microalga es de 75.000 lux, al sobrepasar el límite máximo conlleva a un estrés lumínico , lo que

podría ocasionar un blanqueamiento, el aumento de la luz hará que disminuya el cultivo (Grow, 2022).

Temperatura. En el proceso de crecimiento de la microalga la temperatura óptima permite una producción eficiente. El intervalo de temperatura Según (Márquez, 2020) es de “18 a 30 °C para un crecimiento óptimo de la *Chlorella Vulgaris*, temperaturas por debajo de 16°C retardan el desarrollo de las especies. mientras que temperaturas superiores a 35°C pueden ser letales”. Este factor influye en la capacidad de remover los nutrientes del agua residual, ya que son organismos altamente sensibles a la variación de temperaturas.

pH. Se altera por varios factores (productividad algal, alcalinidad, respiración) en el medio de cultivo, ya que es el causante de influir de forma directa o indirecta en su metabolismo, ya que define la solubilidad del CO₂ y los minerales que se encuentran en los cultivos. El pH de un cultivo varía con su desarrollo, los valores óptimos de esta variable están entre 7,5 y 8,5 para la especie *Chlorella Vulgaris*; valores inferiores afectan a la producción de metabolitos y la absorción de contaminantes. Se debe considerar que cada especie se rige a un pH apto para alcanzar el crecimiento óptimo (Gómez et al., 2021).

Nutrientes. Para una buena producción de biomasa algal es necesario disponer de una variedad de nutrientes para su desarrollo. La estructura de la célula está formada por macronutrientes que contienen un porcentaje de nitrógeno, fósforo, carbono, hidrógeno y azufre. El nitrógeno es el nutriente más importante para las microalgas (después del carbono) y se incorpora como nitrato (NO₃⁻) o como amonio (NH₄⁺) (Hernández & Labbé, 2014) Por otra parte, el fósforo es importante para la formación de ácidos nucleicos y transferencia de energía. “Aunque el contenido en fósforo de las microalgas es menor al 1%, su deficiencia en el medio de

cultivo es una de las mayores limitaciones al crecimiento” (Hernández & Labbé, 2014). En los medios de cultivo suele incorporarse en forma de fosfato (PO_4^{3-}).

Actualmente se ha utilizado fertilizantes foliares para cultivar diferentes especies de microalgas debido a que los nutrientes que pueden aportar son rápidamente asimilados por las microalgas, Nitrofoska Foliar tiene mayor solubilidad que otros fertilizantes foliares, este aporta nutrientes a los vegetales para un desarrollo óptimo. Los nutrientes en ese fertilizante están en forma quelatizado lo que permite que sean absorbidos de forma rápida y directa (Brito et al., 2016).

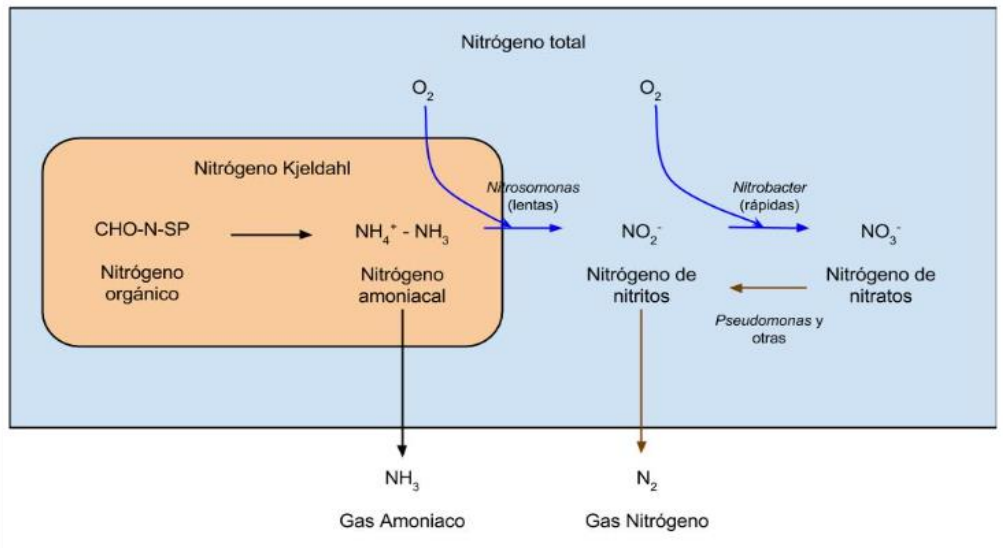
Oxígeno disuelto. La intensa fotosíntesis puede generar un aumento de los niveles de oxígeno disuelto lo que causa una saturación mayor 200% la productividad de las microalgas es afectado por una elevada saturación, con un valor de 200% disminuye un porcentaje del 17%, mientras que a 300% se reduce en un 25%. Se debe considerar un adecuado sistema de oxigenación para garantizar que el oxígeno disuelto sea menor al de 250% de saturación (Márquez, 2020).

Nitrato. El nitrógeno es considerado un elemento vital para las formas de vida del planeta. Este compuesto reacciona con el oxígeno y como resultado dan una variedad de compuestos orgánicos (MicroLab, 2017).

En el ciclo del nitrógeno inicia con el nitrógeno orgánico el cual cambia su comportamiento de acuerdo al pH. A un pH ácido el nitrógeno permanece disuelto en agua, a diferencia de un pH alcalino que se logra transformar en gas amonio el cual tiene la facilidad de volatilizarse a la atmósfera; al oxidar el nitrógeno amoniacal cambia a nitrito por un proceso de nitrificación que es tratado por un grupo de bacterias llamadas nitrosomas; al oxidar el nitrito obtiene nitrato que es la forma más oxidada del nitrógeno el cual es considerado menos tóxico lo que le permite descargarse y acumularse en las fuentes de agua sin alterar los ecosistemas.

Figura 2

Etapas del ciclo del nitrógeno concernientes a la descarga y tratamiento de agua residual



Nota. El gráfico representa las etapas del ciclo del nitrógeno en un tratamiento de aguas residuales, el nitrógeno es oxidado de nitrógeno orgánico hasta llegar a nitratos, esta forma del nitrógeno es la que puede ser tratada con la microalga *Chlorella Vulgaris*. La figura fue extraída de Li, Y., Chen, P., & Martinez, B. (2011).

2.2.3. Tratamiento de aguas residuales con el uso de *Chlorella Vulgaris*

Las microalgas son microorganismo conocidos por reducir de manera eficiente el fósforo y nitrógeno de las aguas residuales, cuentan con un papel importante en la remediación en el tratamiento secundario. Su capacidad fotosintética para convertir energía en biomasa podría aportar en la biotecnología solar, la especie *Chlorella Vulgaris* es tolerable a diferentes condiciones ya que puede crecer de manera exitosa en aguas residuales asumiendo que es su medio de cultivo. Según (Martínez, 2018) “Un estudio con *Chlorella vulgaris* demostró absorción de 45 a 97% de nitrógeno, 28 a 96% de fósforo y una reducción de la demanda química de oxígeno de 61 a 86% de diferentes tipos de aguas residuales como textiles, aguas

residuales, municipales, agrícolas y recalcitrantes”. Considerado así una buena alternativa de biorremediación.

2.3.Método de conteo en cámara de Neubauer

Dispositivo de precisión hecho de vidrio óptico especial y es usado para contar partículas suspendidas y células bajo el microscopio. Para determinar la cantidad total de células se usa la ecuación 1.

Ecuación 1

Determina la cantidad de células en la cámara de Neubauer

$$\text{Concentración (cel/ml)} = \frac{\text{número de células}}{\text{superficie contadas mm}^2 \times \text{profundidad de la cámara mm}}$$

Nota. Esta ecuación determina la concentración celular de la microalga *Chlorella Vulgaris* en las diferentes dosis, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

2.4.Absorbancia por espectrofotometría

El espectrofotómetro es un equipo utilizado para determinar las curvas de crecimiento de los diferentes microorganismos, la técnica que se emplea consiste en usar una muestra de cultivo, la cual actúa como una suspensión coloidal que bloquea y refleja la luz; La luz es absorbida directamente proporcional a la concentración de células que se encuentran en el cultivo(Acebo & Hernández, 2012). Además, estos microorganismos pueden absorber la energía luminosa y de esa forma almacenarla en forma de energía.

2.5. Eficiencia de remoción

La eficiencia de remoción de una carga contaminante en un tratamiento de aguas residuales se expresa mediante ecuación 2 :

Ecuación 2

Porcentaje de remoción

$$\% \text{ de Remoción} = \frac{C1 - C2}{C1} * 100$$

Nota. Esta ecuación determina el porcentaje de remoción ,donde C1 es la concentración del compuesto sin tratar y C2 es la concentración del compuesto luego del tratamiento, fue obtenido de (Ávila et al., 2018)

2.6.Fundamentación legal

En la Constitución de la república del Ecuador, en el capítulo segundo, Derechos del Buen Vivir, Sección segunda, Art 14 dispone: “Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, Sumak Kawsay” (Cepal, 2018). Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados. En el Capítulo segundo, Derechos del Buen Vivir, Sección segunda, Art 15 dispone: “El Estado promoverá, en el sector público y privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto” (Cepal, 2018). La soberanía energética no se alcanzará en detrimento de la soberanía alimentaria, ni afectará el derecho al agua

Según el Código Orgánico del Ambiente, en el Capítulo Quinto calidad de los componentes abióticos y estado de los componentes bióticos, Art. 196 dispone: Tratamiento de aguas residuales urbanas y rurales. “Los Gobiernos Autónomos Descentralizados Municipales deberán contar con la infraestructura técnica para la instalación de 16 sistemas de alcantarillado y tratamiento de aguas residuales urbanas y rurales, de conformidad con la ley y la normativa técnica expedida para el efecto” (CodigoOrgánicoDelAmbiente, 2017). “Asimismo, deberán

fomentar el tratamiento de aguas residuales con fines de reutilización, siempre que estas recuperen los niveles cualitativos y cuantitativos que exija la autoridad competente y no se afecte la salubridad pública” (CodigoOrgánico del Ambiente, 2017). Para el caso que las aguas residuales no puedan descargarse en el sistema de alcantarillado, se deberá realizar un tratamiento que no afecte a la vida silvestre, suelos y fuentes receptoras. Las obras deberán ser previamente aprobadas a través de las autorizaciones respectivas emitidas por las autoridades competentes en la materia.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

En la tabla 3 se enlistan los equipos, materiales y reactivos que se utilizó durante el proceso de experimentación.

Tabla 3

Equipos, materiales y reactivos usados en el proyecto experimental

Equipos	Materiales	Reactivos
Cámara de neubauer	Focos fluorescentes blancos	Nitrofoska foliar
Bomba de aire 110w	fotobiorreactor	Agua destilada
Balanza	Botella PET de 3 litros	Agar universal
Microscopio	Pipeta y micropipeta	
Medidor portátil LACUA act	Porta y cubre objeto	
Turbidímetro	Frascos auto lavables	
Digestor	Vasos de precipitación	
Espectrofotómetro	Asa bacteriológica	
Estufa	Cajas petri	
Termohigrómetro digital	Tubos de ensayo	

Nota. Esta tabla fue elaborada por Gordillo S. & Morocho J. (2023).

3.2. Métodos y alcance de la investigación

3.2.1. Tipo de investigación

La presente investigación para la reducción de nitratos y fosfatos en agua residual se realizó en dos fases, la primera en campo que consistió en la toma de muestras en el parque Las Cuadras y en un cauce del sector Chimbacalle que desemboca al río Machángara. La segunda fase se realizó en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana – Campus Sur en condiciones controladas.

3.2.2. Método de investigación

El método de investigación principal que se desarrolló en el trabajo de titulación dio un enfoque cuantitativo. Los parámetros evaluados adoptaron valores numéricos los cuales determinaron la eficiencia de la remoción de fosfatos y nitratos en la muestra de agua residual. La investigación partió desde el crecimiento de la microalga hasta la remoción de nitratos y fosfatos del agua residual. En la fase inicial se realizó un muestreo basado en una técnica de muestreo simple. El muestreo siempre se realiza en un punto específico durante un tiempo de minutos a segundos y representa la composición del agua en un tiempo y un punto determinado en el espacio de la zona de muestreo (GCFGlobal, 2019). De este modo se conservó las condiciones de origen de la muestra.

3.2.3. Técnicas o Instrumentos

Se inició el proceso de recolección del agua residual en el sector Chimbacalle con el uso de la técnica de muestreo simple, el cual se realizó a partir de muestras recogidas en un momento y lugar determinado., las que fueron sometidas a un análisis físicos-químicos y microbiológicos.

El proceso de monitoreo en la fase de laboratorio se registró de forma sistemática en un documento excel, de esta forma se logró llevar un control de los cambios ocurridos en el proceso de experimentación. A continuación, se detallan los parámetros que se utilizaron en cada fase de la investigación en conjunto con el método que permitió obtener los resultados.

Fase de campo

Tabla 4

Métodos de toma de muestra usados para la fase de campo

Parámetro	Método
Toma de muestra microalga <i>Chlorella Vulgaris</i>	Muestra simple
Toma de muestra del agua residual	Muestra simple

Nota. Esta tabla muestra el método que fue usado en la toma de muestras en el trabajo experimental, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Fase de laboratorio

Tabla 5

Métodos usados para medir los parámetros en la fase de laboratorio

Parámetro	Método
Identificación de microalga <i>Chlorella Vulgaris</i>	Cualitativo
Curva de crecimiento <i>Chlorella Vulgaris</i>	Cámara de Neubauer Absorbancia
Concentración de microalga a usar para el proceso de purificación del agua residual.	Volumétrico
Determinación temperatura, color, turbidez, conductividad.	Cuantitativo Cualitativo
Determinación pH	Potenciómetro
Determinación de nitratos	Colorimetría
Determinación de fosfatos	Colorimetría
Determinación del DQO	Colorimetría

Nota. Esta tabla muestra los métodos que fueron usado para medir los diferentes parámetros y dar un seguimiento al crecimiento de la microalga *Chlorella Vulgaris* y a la reducción de nitratos, fosfatos en el trabajo experimental, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

3.2.4. Diseño

Para determinar el número de tratamientos y repeticiones se utilizó el diseño experimental (DCA), fue la mejor opción ya que se trabajó a escala de laboratorio con condiciones controladas.

3.2.5. Población y muestra

Población. En el trabajo de investigación se trabajó con dos poblaciones, la primera se localizó en una conexión del río Machángara a las orillas del conjunto Portal de Chimbacalle donde se tomó las muestras de agua residual, la segunda se localizó en la laguna del parque Las Cuadra donde se tomó las muestras de microalga *Chlorella vulgaris*.

3.2.6. Muestra

En esta investigación para la selección de las muestras (agua residual y microalga) se utilizó el método no probabilístico, el cual predominó la muestra de aquellos individuos que cumplieron con diferentes características que beneficiaron a la investigación.

3.2.7. Variables

Variables independientes. El diseño experimental que se usó para el análisis del agua residual contó con dos variables (concentración de nitratos y fosfatos) , en el cual se aplicó tres tratamientos con diferentes dosis de inóculo de *Chlorella vulgaris* y tres repeticiones por cada tratamiento como se observa en la tabla 6

Tabla 6*Biorremediación de agua residual con Chlorella Vulgaris*

No. de tratamiento	Relación agua residual + inóculo de Chlorella vulgaris
1	400 mL agua residual + 100 mL inóculo de Chlorella vulgaris
2	400 mL agua residual + 80 mL inóculo de Chlorella vulgaris
3	400 mL agua residual + 60 mL inóculo de Chlorella vulgaris

Nota. Esta tabla muestra el número de tratamientos que se va aplicar en el trabajo experimental, además, describe las cantidades de inóculo de *Chlorella Vulgaris* y agua residual a tratar. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Variable de respuesta

En el trabajo experimental se llevó un control de las variables respuestas como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7*Variables de respuesta para analizar en el proyecto*

Variabes	Equipo	Número de evaluaciones	Periodicidad de evaluación	Unidades de medida
Crecimiento Chlorella vulgaris	Cámara de neubauer	15	Tres semanas seguidas	cel/mL
Fosfatos	Fotómetro	5	Dos veces por semana	mg/mL
Nitratos	Fotómetro	5	Dos veces por semana	mg/mL
Conductividad	Medidor portátil LACUA act	5	Dos veces por semana	mS/cm
Temperatura	Termohigrómetro digital	5	Dos veces por semana	°C
pH	Medidor portátil LACUA act	5	Dos veces por semana	Unidades de pH
Turbidez	Turbidímetro	5	Dos veces por semana	NTU
DQO	Espectrofotómetro	4	Dos veces por semana	mg/mL

Nota. Esta tabla muestra los parámetros que serán analizados durante todo el trabajo experimental, la cantidad de mediciones por semana y los equipos que se usarán. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

3.3.Procedimiento técnico

El trabajo experimental se desarrolló a escala de laboratorio el cual contó con tres etapas las cuales sirvieron para cumplir con los objetivos planteados. La etapa 1 consistió en adaptar las condiciones para el crecimiento y desarrollo de la microalga *Chlorella Vulgaris* en un sistema de fotobiorreactor con burbujeo. En la etapa 2 se trató el agua residual con un tratamiento primario, seguidamente se aplicó diferentes concentraciones de microalga en el agua residual tratada la cual fue recolectada en el río Machángara, sector Chimbacalle. En la etapa final se analiza los parámetros físicos, químicos y microbiológicos lo que nos permitió comparar la capacidad de remoción de nitratos y fosfatos en la muestra inicial y final del agua residual.

3.3.1. Etapa 1 (acondicionamiento y crecimiento de microalga)

Revisión de bibliografía. Por medio de artículos y documento científicos se recopiló y revisó bibliografía relacionada al tratamiento del agua residual con *Chlorella vulgaris* para la reducción de nitratos y fosfatos.

Elaboración del fotobiorreactor. La caja se elaboró con tableros de fibras de densidad media (MDF) con unas dimensiones de 63 cm largo, 55 profundidad, 65 alto; forrado en su interior con papel aluminio para reflejar la luz y conservar el calor, adicional se colocó 6 lámparas de luz blanca LED marca ECOLED de 9 Watts de potencia con un flujo luminoso de 800 lm y se cubrió con un plástico transparente para evitar la contaminación de las muestras con el exterior.

Figura 3

Fotobiorreactor



Nota. En la fotografía se aprecia el fotobiorreactor usado para mantener las condiciones ideales para el desarrollo de la microalga. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Toma de muestra de microalga. Se recolecto la muestra de microalga *Chlorella vulgaris* en una botella PET de 1.5 L con el método de muestreo simple en la laguna del parque las cuabras ubicado en el sector Quitumbe, al sur de Quito, con las siguientes coordenadas latitud: 0°17'10.36"S y longitud:78°32'56.74"O, una vez tomada la muestra se dejó reposar por un lapso de 5 días en el mismo envase a condiciones climáticas naturales, el cual recibe luz y aire natural.

Figura 4

Toma de muestra de microalga



Nota. En la fotografía se aprecia la toma de muestra de microalga *Chlorella Vulgaris* en el parque Las Cuabras. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Observación de *Chlorella vulgaris* al microscopio. Para observar la microalga *Chlorella vulgaris* se tomó con una micropipeta 10 μ L de la muestra y se colocó en un portaobjetos el cual se cubrió, posteriormente, se observó en el microscopio marca VELAB con una amplificación de imagen a 20x y 40x.

Figura 5

Evidencia de microalga Chlorella Vulgaris en la muestra de agua



Nota. En la fotografía se evidencia la microalga *Chlorella Vulgaris* en la muestra recolectada en el parque Las Cuadras. La fotografía fue tomada por Gordillo S. & Morocho J. (2023).

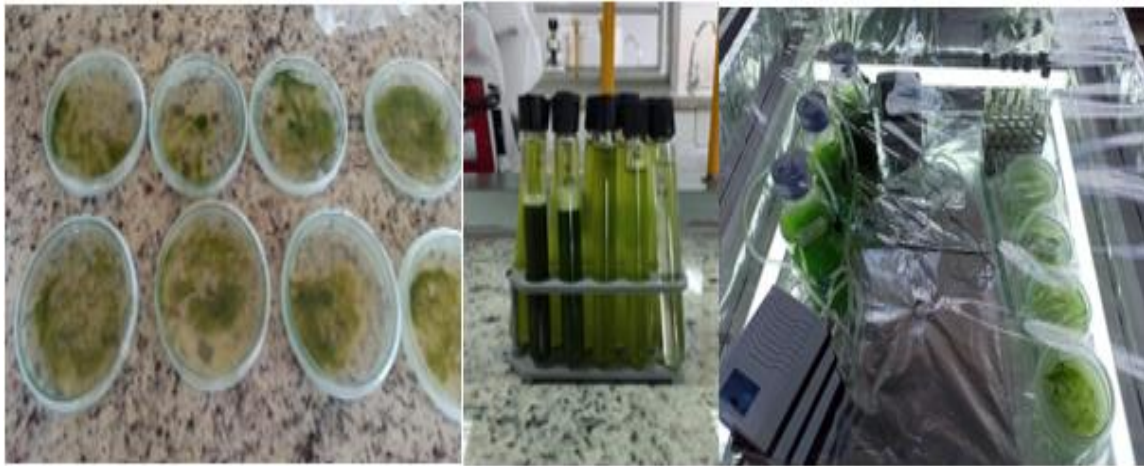
Aislamiento de microalga *Chlorella vulgaris*. Para aislar la microalga *Chlorella vulgaris* de otros microorganismos se preparó un medio de cultivo con un gramo de agar nutritivo, 100 mL de agua destilada y 0.1 gramos de nitrofosca foliar (30-10-10) y se procedió a dispensar en 20 cajas petri; una vez solidificado el medio se tomó 0,1 mL de la muestra recolectada con una micro pipeta graduada, luego se extendió con una asa de digralsky que sigue la técnica de estriado continuo; Sé colocó en el fotobiorreactor por un lapso de siete días a una temperatura de 20°C.

Transcurrido los siete días se observó en el microscopio el aislamiento de la muestra de otros microorganismos, posteriormente se pasó la microalga con una asa del medio sólido (caja petri) a uno líquido (tubo de ensayo), medio que fue preparado con 100 mL de agua destilada y

0,1 gr de nitrofoska del cual se tomó 10 mL y se colocó en 10 tubos de ensayo los cuales se ubicó en el fotobiorreactor por un lapso de siete días a una temperatura de 20°C.

Figura 6

Proceso de aislamiento de la microalga Chlorella Vulgaris



Nota. En la fotografía se evidencia el proceso de aislamiento de la microalga *Chlorella Vulgaris*, se realizó la siembra del cultivo en cajas petri, tubos de ensayo y vasos autoclavables. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Preparación del medio de cultivo en forma masiva. Se inicio con la esterilización de 3 frascos autoclavables con una capacidad de 1000 mL. las tapas de estos previamente fueron perforadas para suministrar oxígeno por medio de mangueras para acuario.

Se preparo tres medios de cultivo cada uno con 1000 ml de agua destilada y 3,75 gr de nitrofoska foliar, luego se colocó en una plancha de calentamiento con agitación marca AREC VELP por un periodo de 20 minutos para una disolución homogénea como se muestra en la figura 7.

Figura 7

Preparación de medio de cultivo



Nota. En la fotografía se evidencia el proceso de preparación del medio de cultivo que se usó para sembrar el cultivo aislado. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

La microalga aislada en los tubos de ensayo fue colocada en diferentes dosis en los tres medios de cultivo preparados anteriormente como se muestra en la tabla 8

Tabla 8

Dosis colocadas para medio de cultivo de Chlorella Vulgaris

# Frascos	Dosis
1	900 mL de medio de cultivo + 20 ml <i>Chlorella vulgaris</i> aislada
2	900 mL de medio de cultivo + 15 ml <i>Chlorella vulgaris</i> aislada
3	900 mL de medio de cultivo + 10 ml <i>Chlorella vulgaris</i> aislada

Nota. Esta tabla muestra las dosis que se colocaron en los tres frascos en donde se realizó el medio de cultivo que será analizado para la reducción de nitratos y fosfatos en el agua residual. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Las muestras fueron colocadas en el fotobiorreactor a una temperatura de 20°C, mediante mangueras se inyectó oxígeno generado por motores marca JAD SC-7500 con una fuerza de 3.5 W por un periodo de 15 días.

Figura 8

Siembra de cultivo aislada de microalga



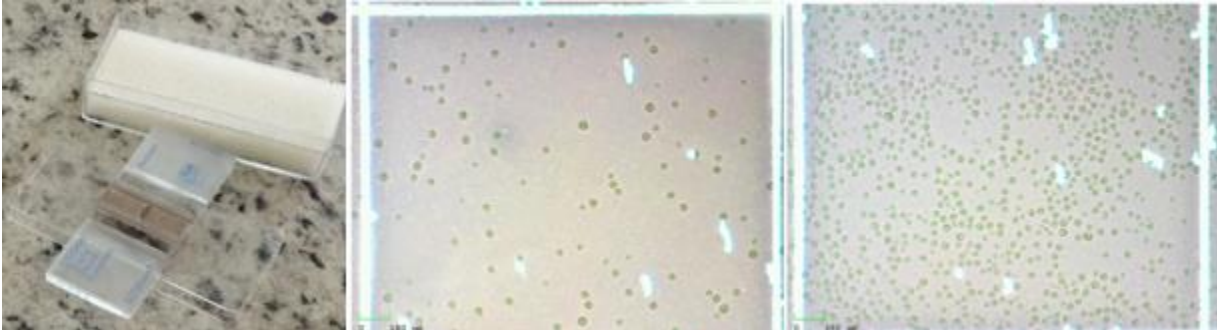
Nota. En la fotografía se evidencia la siembra del cultivo aislado en tres frascos con distintas dosis de inóculo de microalga. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Monitoreo del crecimiento celular de *Chlorella vulgaris*. Para realizar la curva de crecimiento celular se monitoreo 15 días consecutivos a través de dos métodos, absorbancia en el espectrofotómetro y conteo celular por cámara de Neubauer, para así definir la población adecuada en el tratamiento del agua residual.

Conteo en cámara de Neubauer. Para evaluar el crecimiento de la microalga se tomó 10 μL de la muestra a analizar con la ayuda de una micropipeta, posteriormente se colocó en la cámara de Neubauer marca MARIENFELD la cual se ubicó en el microscopio con el lente de 40 x y al empezar a contar se utilizó un contador digital marca Tasbeeh para una mayor precisión; este proceso se realizó para las tres muestras contenidas en los frascos. Los datos obtenidos se pueden observar en el anexo 2.

Figura 9

Conteo en la cámara de Neubauer



Nota. En la fotografía se evidencia el aumento de la microalga en la cámara de Neubauer. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Espectrofotómetro. Para la obtención de la absorbancia se programó el espectrofotómetro marca DDR 2700 -Hacha a una longitud de onda única de 680 nm, para las mediciones se tomó 10 ml de cada muestra y se colocó en una celda de vidrio, los datos obtenidos se pueden observar en el anexo 1

Figura 10

Medición de la absorbancia



Nota. En la fotografía se aprecia un espectrofotómetro que fue utilizado para determinar la curva de crecimiento por medio de la absorbancia. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

3.3.2. Etapa 2 (tratamiento de agua residual con microalga *Chlorella vulgaris*)

Toma de muestra de agua residual. Se recolectó la muestra de agua residual en una botella PET de 6 litros con el método de muestreo simple en el cauce del río Machangara del sector Chimbacalle, al Centro de Quito, con las siguientes coordenadas latitud: 0°14'20.36"S y longitud: 78°31'6.41"O.

Figura 11

Toma de muestra del agua residual



Nota. En la fotografía se evidencia la toma de muestra del agua residual que fue recolectada en una de las desembocaduras del río Machángara. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Tratamiento de oxidación al agua residual. Una vez tomada la muestra se colocó en un embudo de separación, se aplicó el tratamiento de sedimentación por gravedad el cual permitió separar las partículas sólidas del líquido; se dejó reposar por un lapso de cuatro días en presencia de luz y aire natural. Al transcurrir los cuatro días se separó los sólidos sedimentados del agua residual la cual fue colocada en el fotobiorreactor con luz blanca LED marca ECOLED de 9 Watts de potencia con un flujo luminoso de 800 lm (lúmenes) y aireación constante por el lapso de 15 días. Posteriormente se mandó analizar nitratos y fosfatos del agua residual tratada al laboratorio LABOLAB el 29 de noviembre del 2022.

Figura 12

Oxidación del agua residual



Nota. En la fotografía se evidencia la separación de sedimentos, seguidamente se expone el agua residual por dos semanas en oxigenación constante para disminuir la carga de nitrógeno. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Tratamiento del agua residual con microalga *Chlorella vulgaris*. Se inició con la esterilización de nueve frascos autoclavables con una capacidad de 500 mL, las tapas previamente fueron perforadas para suministrar oxígeno por medio de mangueras para acuario. Para la aplicación de los tratamientos y repeticiones establecidas en la tabla 6 se seleccionó la dosis uno de inóculo de *Chlorella vulgaris* la cual presentó los mejores resultados de crecimiento como se evidencia en la tabla 12.

Las muestras fueron colocadas en el fotobiorreactor a una temperatura de 20°C, mediante mangueras se inyectó oxígeno generado por motores marca JAD SC-7500 con una fuerza de 3.5 W por un periodo de tres semanas.

Figura 13

Tratamiento del agua residual con microalga Chlorella Vulgaris



Nota. En la fotografía se observa cómo se dispensa el agua residual con el inóculo de *Chlorella Vulgaris*, cada tratamiento cuenta con su respectiva repetición. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

3.3.3. Etapa 3 (análisis de parámetros)

Pasados siete días de la aplicación de los tratamientos en el agua residual se analizó los parámetros: fosfatos, nitratos, turbidez, pH, temperatura, conductividad, DQO de acuerdo con la tabla 13.

Fosfatos. Para medir fosfatos se realizó una dilución de 10 ml de muestra en 90 mL de agua destilada, luego se tomó con una pipeta 5 mL de dilución para colocar en un vial de 16mm y se tapó. El vial fue colocado en el fotómetro HI 83314 marca HANNA instruments para encerrar; seguidamente retiramos el vial y se añadió un paquete del reactivo fosfato HI93713 -01, se procedió a tapar, agitar durante un minuto. A continuación, el vial se introdujo en el fotómetro dando clic en temporizador (durante tres minutos), transcurrido este tiempo se leyó el resultado registrado en la tabla 13; procedimiento aplicado para las 9 muestras, 2 veces por semana.

Figura 14

Medición de la concentración de fosfato



Nota. En la fotografía se observa un fotómetro el cual fue usado para la medición de la concentración de fosfatos. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Nitratos. Para medir nitratos se realizó una dilución de 10 ml de muestra en 90 mL de agua destilada, luego se tomó con una pipeta 5 mL de dilución para colocar en un vial de 16mm y se tapó. El vial fue colocado en el fotómetro HI 83314 marca HANNA instruments para encerrar; seguidamente retiramos el vial y se añadió un paquete del reactivo nitrato HI93708 -01, se procedió a tapar, agitar durante un minuto. A continuación, el vial se introdujo en el fotómetro dando clic en temporizador (durante cinco minutos), transcurrido este tiempo se leyó el resultado registrado en la tabla 13; procedimiento aplicado para las 9 muestras, 2 veces por semana.

Figura 15

Medición de la concentración de nitratos



Nota. En la fotografía se observa un fotómetro el cual fue usado para la medición de la concentración de nitratos. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Turbidez. Para medir la turbidez se añadió 10 mL de muestra en la celda de vidrio y se tapó; se colocó en el turbidímetro 860040 marca Sper Scientific, y con la opción TEST /CAL se leyó los resultados que se muestran en la tabla 13. Este procedimiento se realizó para las 9 muestras, 2 veces por semana.

Figura 16

Medición de la turbidez



Nota. En la fotografía se observa un turbidímetro el cual fue usado para la medición de la turbidez. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

pH y conductividad. Para medir el pH y la conductividad se usó un medidor portátil marca LAQUA, se introdujo el electrodo en cada una de las 9 muestras, se presionó la tecla MEAN-pH y se esperó hasta que el resultado sea fijo, a diferencia de la conductividad que se introdujo el electrodo y se presionó la tecla MEAN-cond el resultado se observó después que el valor se estabilizó; los resultados obtenidos se muestran en la tabla 13, procedimiento que se realizó para las 9 muestras, 2 veces por semana.

Figura 17

Medición del pH y conductividad



Nota. En la fotografía se observa un medidor portátil LACUA act el cual fue usado para la medición del pH y la conductividad. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Temperatura. Para medir y controlar la temperatura exterior se usó un Thermo-Hygrometer digital marca fisherbrand, el cual se mantuvo encendido durante toda la experimentación.

La temperatura de la muestra se midió para las 9 muestras, 2 veces por semana con un medidor portátil PC 110 marca LAQUAact.

Figura 18

Medición de temperatura ambiente en el fotobiorreactor



Nota. En la fotografía se observa un termohigrómetro digital el cual fue usado para la medición de temperatura ambiente en el fotobiorreactor. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

DQO. Para medir la DQO se utilizó viales de alto rango HI93754C-0 marca HANNA instruments en los que se añadió 0.2ml de muestra y se cerraron, se los llevó a un digestor marca SCP SCIENCE por 2 horas, pasado el tiempo establecido las muestras se enfriaron por 30 minutos en una gradilla; se programó al espectrofotómetro SP600 marca ORBECO HELLIGE con la opción DQO HR TT (0-15 g/L) O₂. Para encerrar se colocó el blanco con la opción ZERO, a continuación se añadió la muestra al equipo y se presionó la opción TEST, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 13.

Figura 19

Proceso de medición de DQO



Nota. En la fotografía se observa un digestor que fue usado para calentar las muestras y realizar la medición de DQO en un espectrofotómetro. La fotografía fue tomada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Análisis estadístico ANOVA Para analizar los datos que se obtuvieron en los tratamientos del proyecto y el crecimiento celular de la microalga *Chlorella Vulgaris* se aplicó el análisis estadístico ANOVA y la tabla de Tuckey, lo que permitió identificar si los resultados fueron estadísticamente diferentes, de esta forma se permitió aceptar o rechazar la hipótesis planteada.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.Resultados

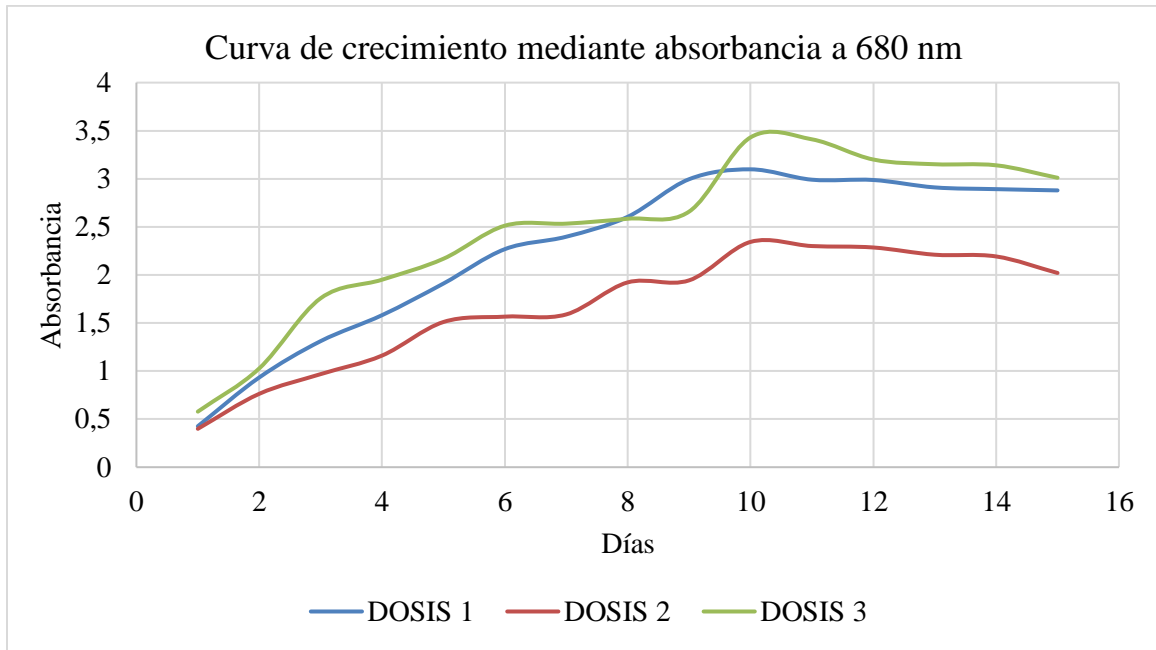
4.1.1. Curva de crecimiento

Mediante absorbancia. Los resultados obtenidos en la figura 20 muestran que los niveles de absorbancia son muy similares en la dosis 1 y 3 a comparación de la dosis 2 la cual presenta valores inferiores, se descarta su aplicación debido a su baja productividad de

concentración de microalga *Chlorella Vulgaris*. El crecimiento celular en la dosis 1 y 2 se estabilizó a partir del día 10, en la dosis 3 a partir del día 12.

Figura 20

Curva de crecimiento mediante la medición de absorbancia



Nota. En el gráfico se observa la curva de crecimiento de microalga *Chlorella Vulgaris* de las tres dosis sembradas, por medio del método de la absorbancia se recolectaron los resultados. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Mediante un análisis estadístico se determinó los cambios significativos de cada dosis, se realizó una Tabla ANOVA de un factor, en el cual se evidenció que existe una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las 3 dosis, como se evidencia en la tabla 9.

Tabla 9

Análisis de varianza del crecimiento de la microalga Chlorella Vulgaris por el método de absorbancia

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	5,160875511	2	2,580437756	4,22325999	0,02131963	3,219942293
Dentro de los grupos	25,6622576	42	0,611006133			
Total	30,82313311	44				

Nota. Esta tabla muestra los datos que serán comparados para determinar si existe significancia entre los resultados obtenidos del crecimiento de la microalga en tres dosis diferentes, los datos para el análisis se obtuvieron por el método de absorbancia. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Para determinar la mejor dosis se realizó una prueba Tuckey que identificó que la dosis 1 es la mejor opción para ser utilizada en el tratamiento del agua residual, como se muestra en la tabla 10.

Tabla 10

Prueba de Tuckey para análisis de crecimiento de la microalga por el método de absorbancia

HSD	DOSIS 1	DOSIS 2	DOSIS 3
0,68620847	DOSIS 1		0,600666667
	DOSIS 2		-0,7958
	DOSIS 3		

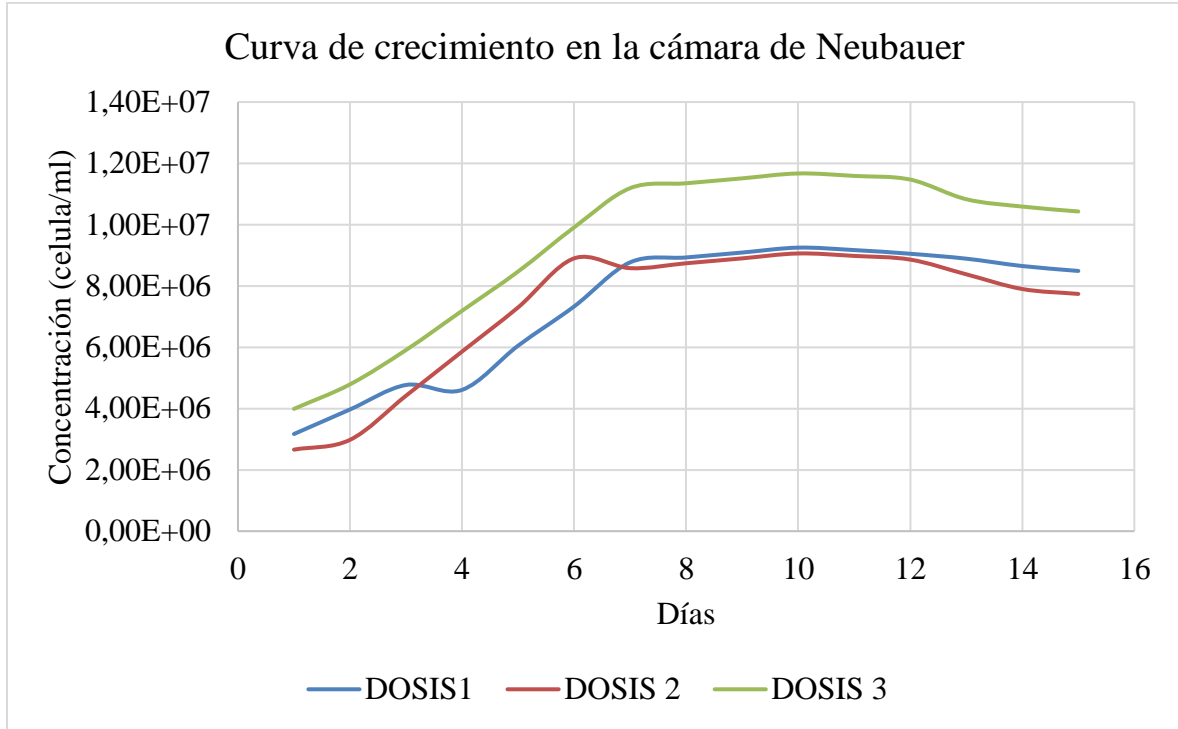
Nota. Esta tabla muestra los resultados de la prueba de Tuckey, se muestra la dosis con el mejor crecimiento de microalga *Chlorella Vulgaris*. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Mediante Cámara de Neubauer. Los resultados obtenidos en la figura 21 muestran los valores de concentración celular que son muy similares en la dosis 1 y 2, a comparación de la 3 la cual presenta valores superiores, se descarta su aplicación debido a su alto crecimiento que esta fuera del rango de similitud entre las dosis. El crecimiento celular en la dosis 1 y 2, fue gradual,

lográndose identificar las fases de inicio y crecimiento máximo en el décimo día con $9,25E+06$ células mL^{-1} y $9,06E+06$ células mL^{-1} para la dosis 1 y 2 respectivamente.

Figura 21

Curva de crecimiento por cámara de Neubauer



Nota. En el gráfico se observa la curva de crecimiento de microalga *Chlorella Vulgaris* de las tres dosis sembradas, por medio de la cámara de Neubauer se recolectaron los resultados. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Mediante un análisis estadístico se determinó los cambios significativos de cada dosis, se realizó una Tabla ANOVA de un factor, en el cual se evidenció que existe una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las 3 dosis, como se evidencia en la tabla 11.

Tabla 11

Análisis de varianza del crecimiento de la microalga Chlorella Vulgaris por conteo en la cámara de Neubauer

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4,31958E+13	2	2,15979E+13	3,84614327	0,02925274	3,219942293
Dentro de los grupos	2,3585E+14	42	5,61547E+12			
Total	2,79046E+14	44				

Nota. Esta tabla muestra los datos que serán comparados para determinar si existe significancia entre los resultados obtenidos del crecimiento de la microalga en tres dosis diferentes, los datos usados para este análisis fueron obtenidos por conteo en la cámara de Neubauer. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Para determinar la mejor dosis se realizó una prueba Tuckey que identificó a la dosis 1 la mejor opción para utilizar en el tratamiento del agua residual, como se muestra en la tabla 12.

Tabla 12

Prueba de Tuckey para análisis de crecimiento de la microalga por conteo en la cámara de Neubauer

HSD:	DOSIS 1	DOSIS 2	DOSIS 3
2,08E+06	DOSIS 1		6,20E+04
	DOSIS 2		-2,11E+06
	DOSIS 3		

Nota. Esta tabla muestra los resultados de la prueba de Tuckey, se muestra la dosis con el mejor crecimiento de microalga *Chlorella Vulgaris*. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

4.1.2. Caracterización luego de aplicar las *Chlorella Vulgaris* en el agua residual

Las muestras fueron analizadas durante tres semanas que duró el tratamiento del agua residual con las microalgas *Chlorella Vulgaris*. Los resultados obtenidos en los parámetros evaluados muestran una disminución gradual con el transcurso de los días. En la tabla 13 se detallan las variables analizadas con sus respectivos resultados que están tabulados por día en relación con las repeticiones de su respectivo tratamiento.

Tabla 13

Resultados obtenidos del seguimiento de parámetros analizados durante todo el trabajo experimental

Tratamiento 1												
Parámetro	Día 1			Día 2			Día 3			Día 4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
pH	9,54	9,51	9,36	7,04	6,69	7,18	6,88	6,55	6,69	6,88	6,59	6,55
Conductividad	1,450	1,200	1,126	0,857	0,831	0,866	0,942	0,927	0,891	0,972	0,955	1,123
Temperatura(°C)	19,2	19,4	19,5	21,4	21,5	20,7	22,4	22,5	21,9	22,4	22,3	20,2
Turbidez (NTU)	115	269	245	392	402	432	881	715	719	933	825	963
DQO (mg/L)	3477	3239	3710	2730	2950	2520	1780	1810	1540	1073	1121	993
Nitratos (mg/L)	75,3	78,8	77,2	51,4	66,3	59,5	42,1	53,7	46,9	42,0	50,4	40,4
Fosfatos(mg/L)	13,8	10,8	11,2	10,5	9,2	10,1	9,2	8,6	9,42	8,3	8,02	8,1

Tratamiento 2												
Parámetro	Día 1			Día 2			Día 3			Día 4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
pH	9,30	9,71	9,37	7,33	7,36	7,21	7,20	7,31	7,05	7,54	7,56	7,29
Conductividad	0,905	1,050	1,238	0,811	0,782	1,136	0,894	0,846	0,885	0,952	0,892	1,853
Temperatura(°C)	20	19,7	19,4	20	19,3	19,4	20,4	19,7	19,0	21,4	20,9	19,1
Turbidez (NTU)	121	99	100	356	489	396	848	845	780	809	839	573
DQO (mg/L)	3170	3620	3420	1650	1270	1175	1020	997	936	622	550	505
Nitratos (mg/L)	68,6	70,5	65,9	57,3	56,4	52,9	46,2	47,4	42,1	38,6	39,4	37,8
Fosfatos(mg/L)	14,2	13,9	14,5	11,4	12,1	10,0	10,3	11,8	9,6	7,4	8,3	7,7

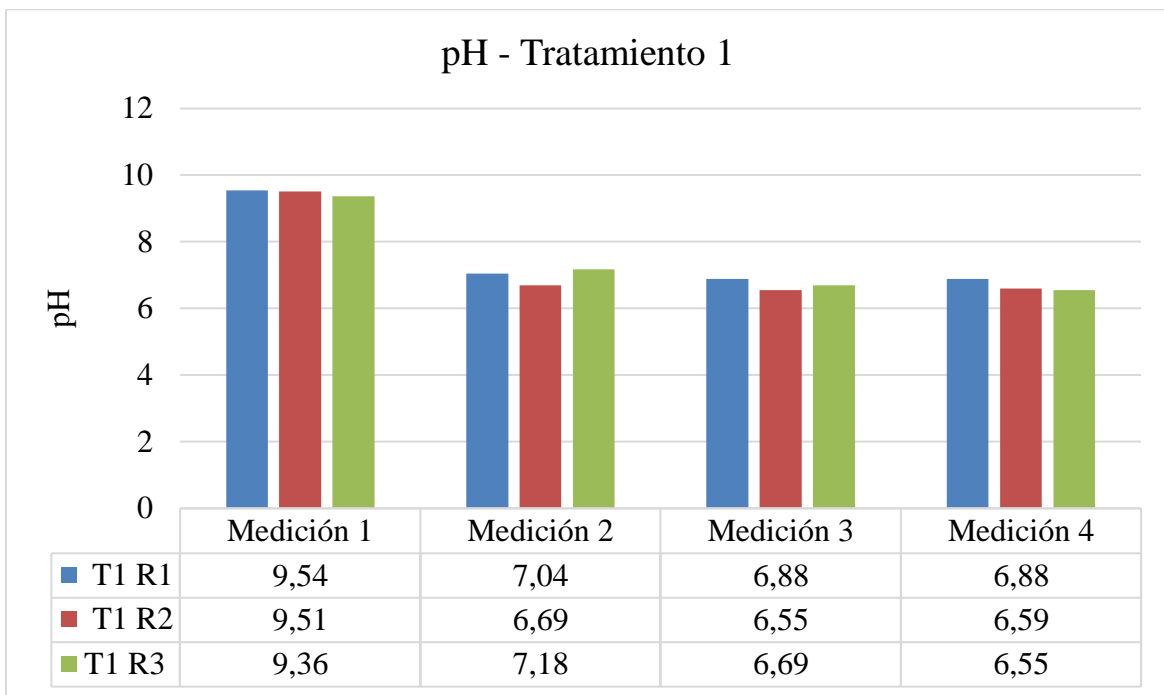
Tratamiento 3												
Parámetro	Día 1			Día 2			Día 3			Día 4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
pH	8,32	9,27	9,32	7,69	7,83	7,81	7,54	7,73	8,04	7,83	8,23	8,06
Conductividad	0,993	0,799	0,78	1,126	0,731	0,925	0,756	0,767	0,687	1,858	0,811	1,701
Temperatura(°C)	18,4	19,5	20,7	18,9	20	19,3	19,4	20,8	19,5	18,5	20,4	18,2
Turbidez (NTU)	139	325	265	572	421	360	849	745	873	949	923	873
DQO (mg/L)	3747	3890	3640	1845	1920	1634	1134	1130	1043	805	734	643
Nitratos (mg/L)	73,5	68,9	76,4	71,8	66,3	74,7	69,1	63,1	70,5	63,2	59,9	60,3
Fosfatos(mg/L)	13,4	12,6	14,8	12,90	11,3	13,6	11,2	10,1	12,5	9,9	8,60	10,3

Nota. Esta tabla muestra los resultados obtenidos del seguimiento de los tres tratamientos durante tres semanas, donde se evidencia la disminución de nitratos y fosfatos, esto ocurre en todas las repeticiones que se realizó. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023).*

pH: En el tratamiento 1 se observa que la medición pH inicia con un rango de 9.36 - 9.54 considerado un pH alcalino, con el transcurso de los días se nota una disminución considerable de estos valores en la medición 4 con un rango de 6.55 – 6.88, lo que indica que la microalga *Chlorella Vulgaris* tiene la capacidad de neutralizar pH para la descarga de agua, como se puede observar en la figura 22.

Figura 22

Resultados de la medición del pH del tratamiento 1

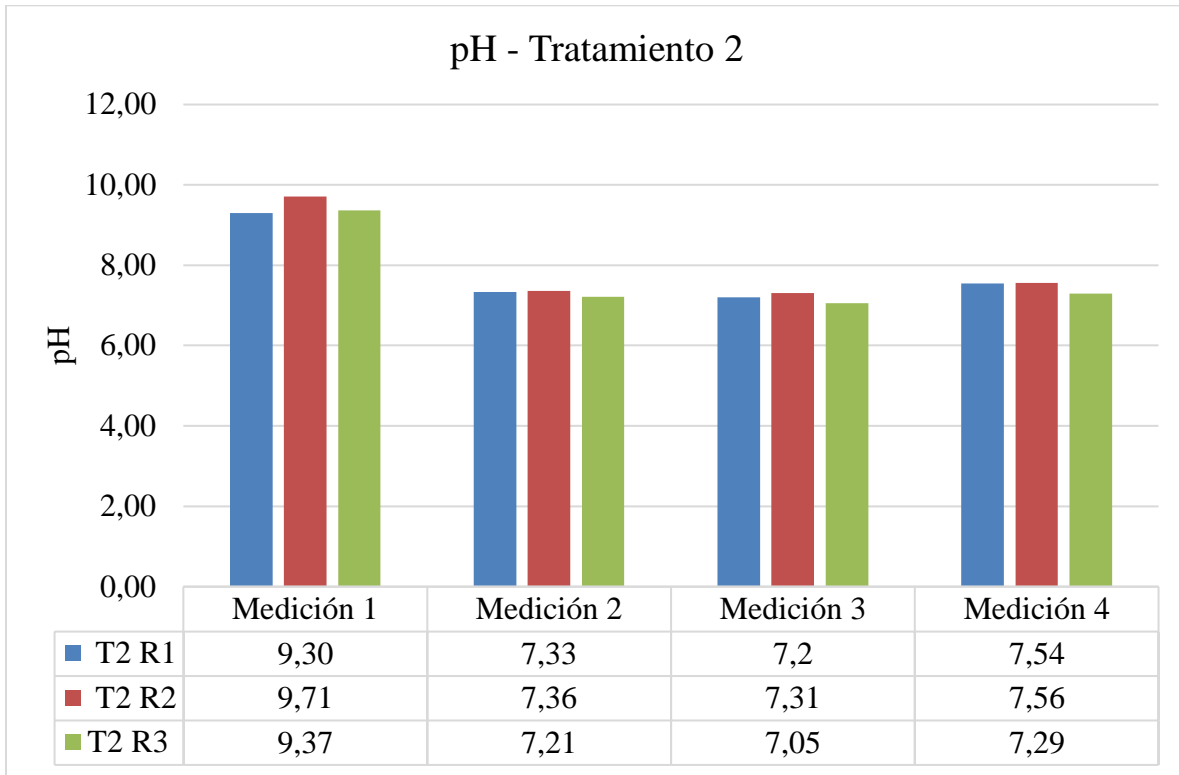


Nota. En el gráfico se observa la variación del pH durante las 4 mediciones en el tratamiento 1, tienden a disminuir y llegar a un pH básico. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

En el tratamiento 2 se observó que en la repetición 3 existió una mayor disminución del pH llegando a 7.29 en su última medición a diferencia de la repetición 2 que llegó a un valor de 7.56, como se puede observar en la figura 23.

Figura 23

Resultados de la medición del pH del tratamiento 2

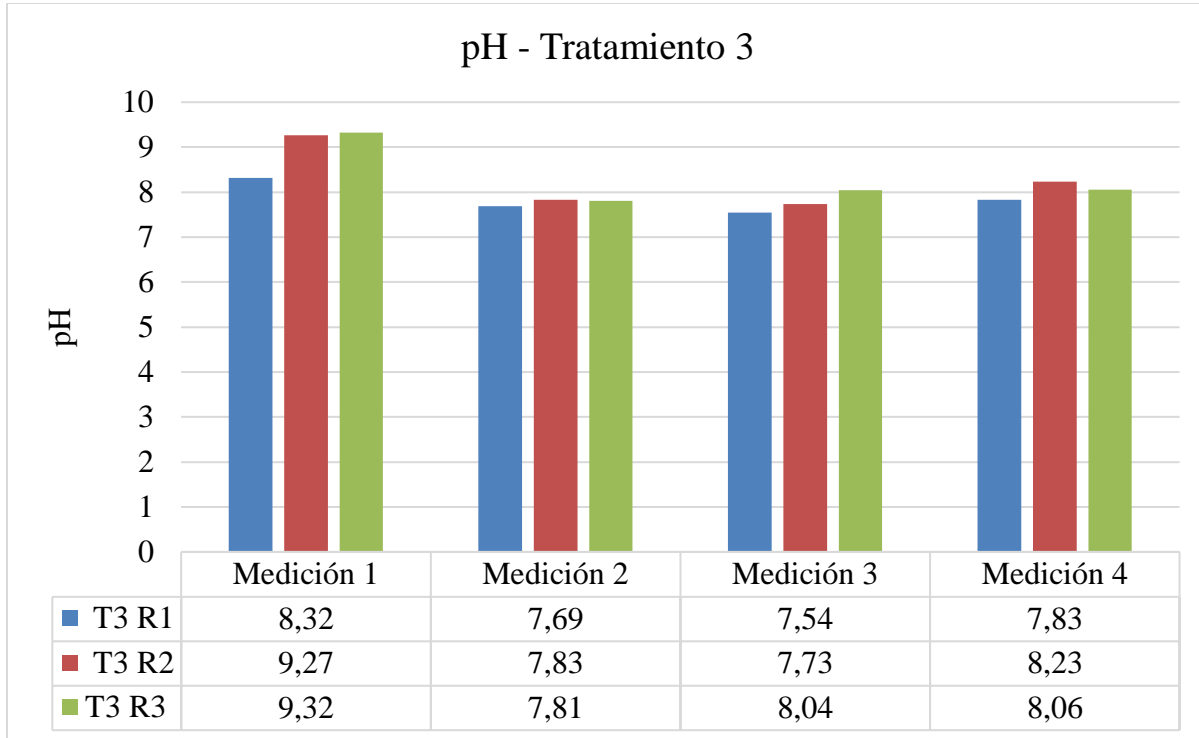


Nota. En el gráfico se observa la variación del pH durante las 4 mediciones en el tratamiento 2, tienden a disminuir y llegar a un pH básico. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

En el tratamiento 3 se observa una disminución en las mediciones 1, 2 y 3 a diferencia de medición 4 que presenta un ligero aumento del pH, valores que indican que existe un descenso de la población microalga *Chorella Vulgaris*, los resultados se pueden observar en la figura 24.

Figura 24

Resultados de la medición del pH del tratamiento 3

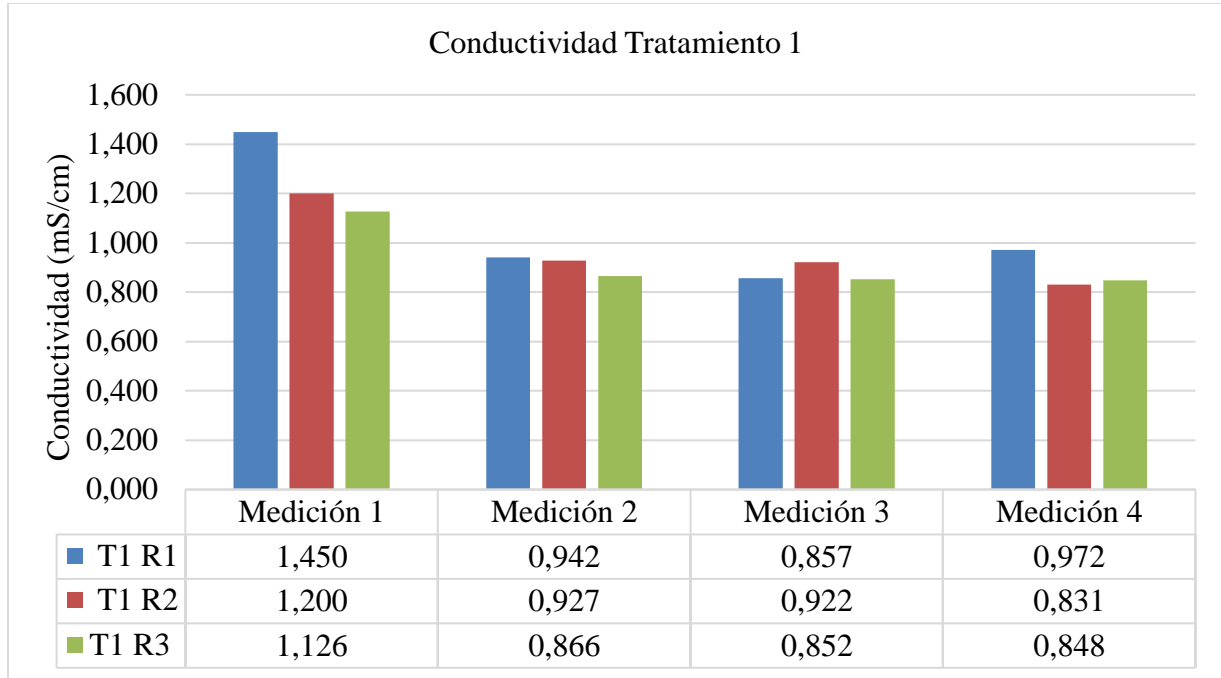


Nota. En el gráfico se observa la variación del pH durante las 4 mediciones en el tratamiento 3, tienden a disminuir y llegar a un pH básico. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Conductividad: El parámetro conductividad en el T1R1, inició con un valor de 1.450 mS/cm el cual disminuyó en las mediciones 2 y 3 al llegar a la medición 4 se observa un ligero incremento; la conductividad en T1R2, empezó con 1.200 mS/cm y con el transcurso de los días descendió de forma gradual; el T1R3 se inició con una conductividad de 1.126 mS/cm la cual disminuyó de forma progresiva, como se observa en la figura 25. Se debe considerar que una baja conductividad es un indicador de disminución de concentraciones de detergentes o sales.

Figura 25

Resultados de la medición de conductividad del tratamiento 1

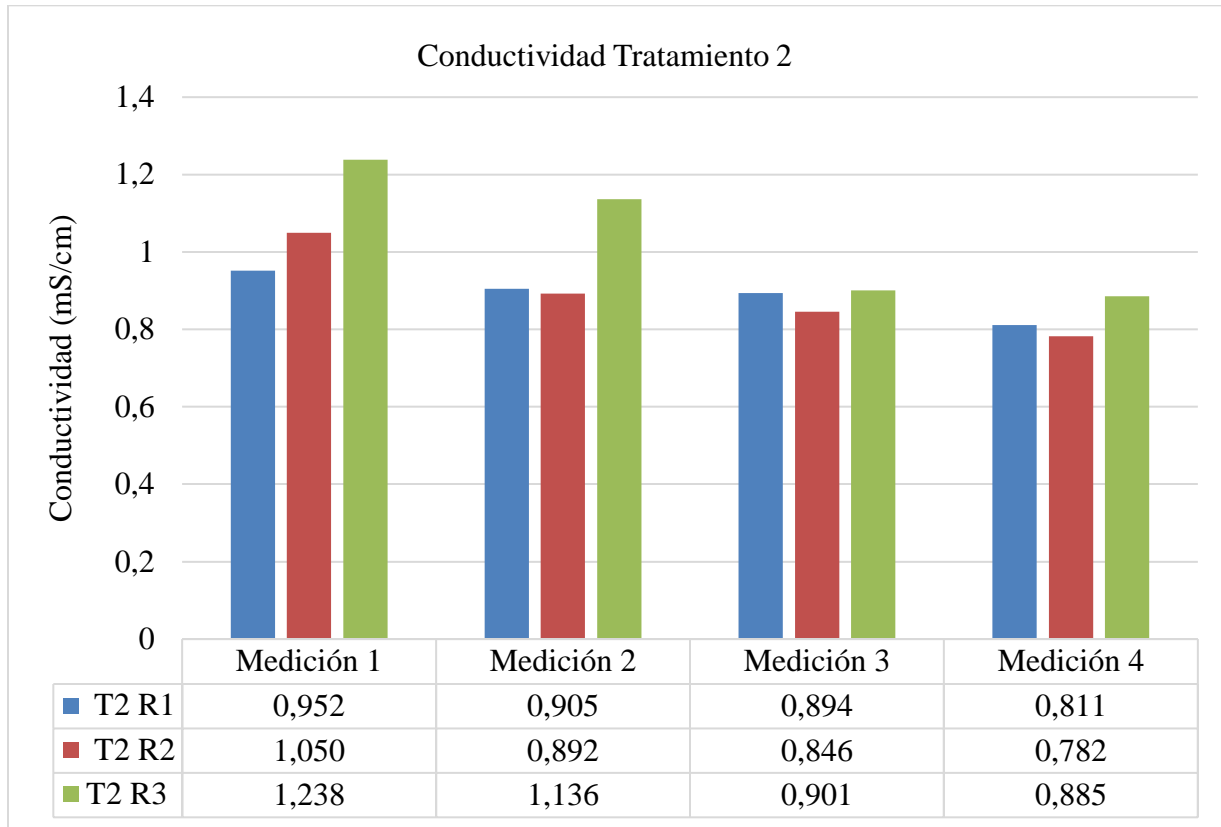


Nota. En el gráfico se observa la disminución de la conductividad durante las 4 mediciones en el tratamiento 1 y sus repeticiones. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

La conductividad con el transcurso de los días descendió de forma gradual. El T2R2 mostró una mayor disminución con respecto a las repeticiones 1 y 3 en la medición 4, inició con un valor de 1.050 mS/cm el cual fue disminuyo hasta llegar a un valor de 0.782 mS/cm; como se puede observar en la figura 26.

Figura 26

Resultados de la medición de conductividad del tratamiento 2

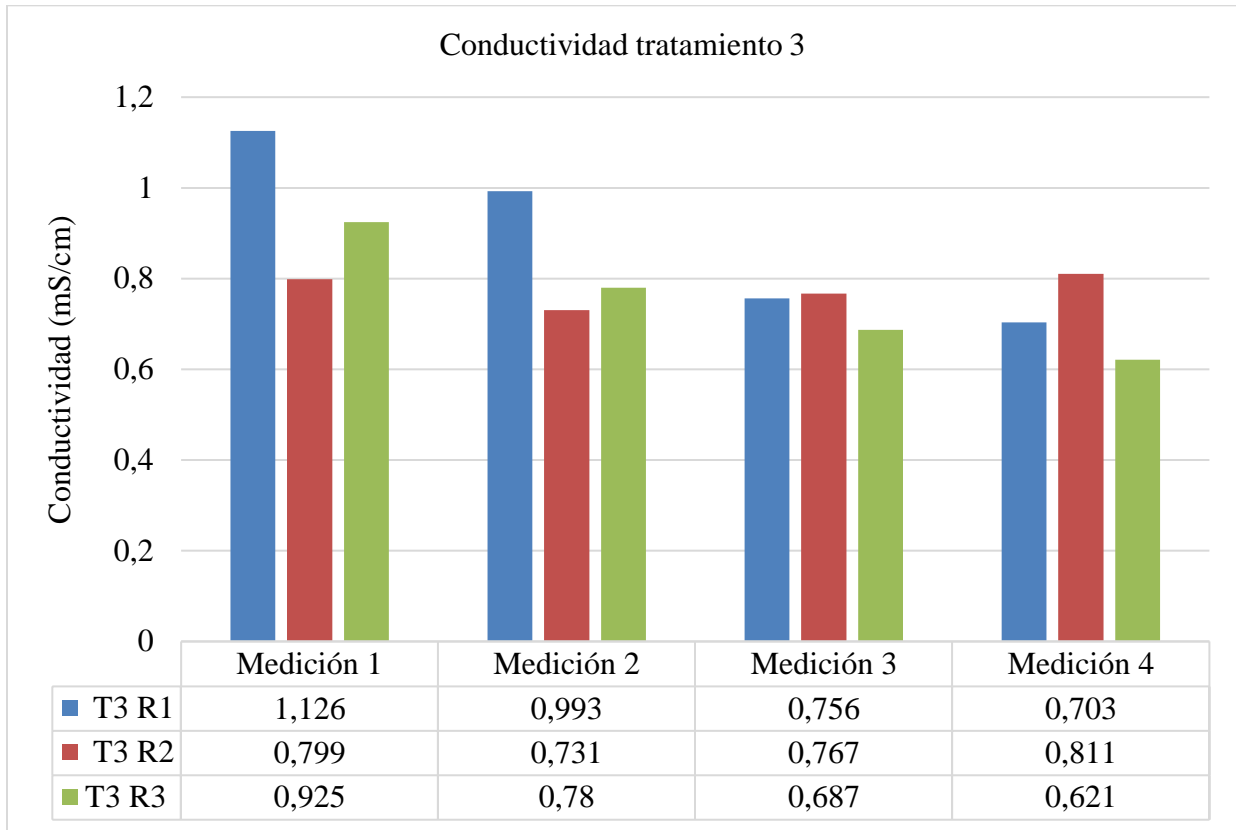


Nota. En el gráfico se observa la disminución de la conductividad durante las 4 mediciones en el tratamiento 2 y sus repeticiones. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

El parámetro conductividad en el T3R1, inició con un valor de 1.126 mS/cm el cual fue disminuyó hasta llegar a un valor de 0.703 mS/cm; la conductividad en T3R2, empezó con 0.799 mS/cm y con el transcurso de los días descendió de forma gradual; el T3R3 se inició con una conductividad de 0.925 mS/cm la cual disminuyó de forma progresiva, como se puede observar en la figura 27.

Figura 27

Resultados de la medición de conductividad del tratamiento 3



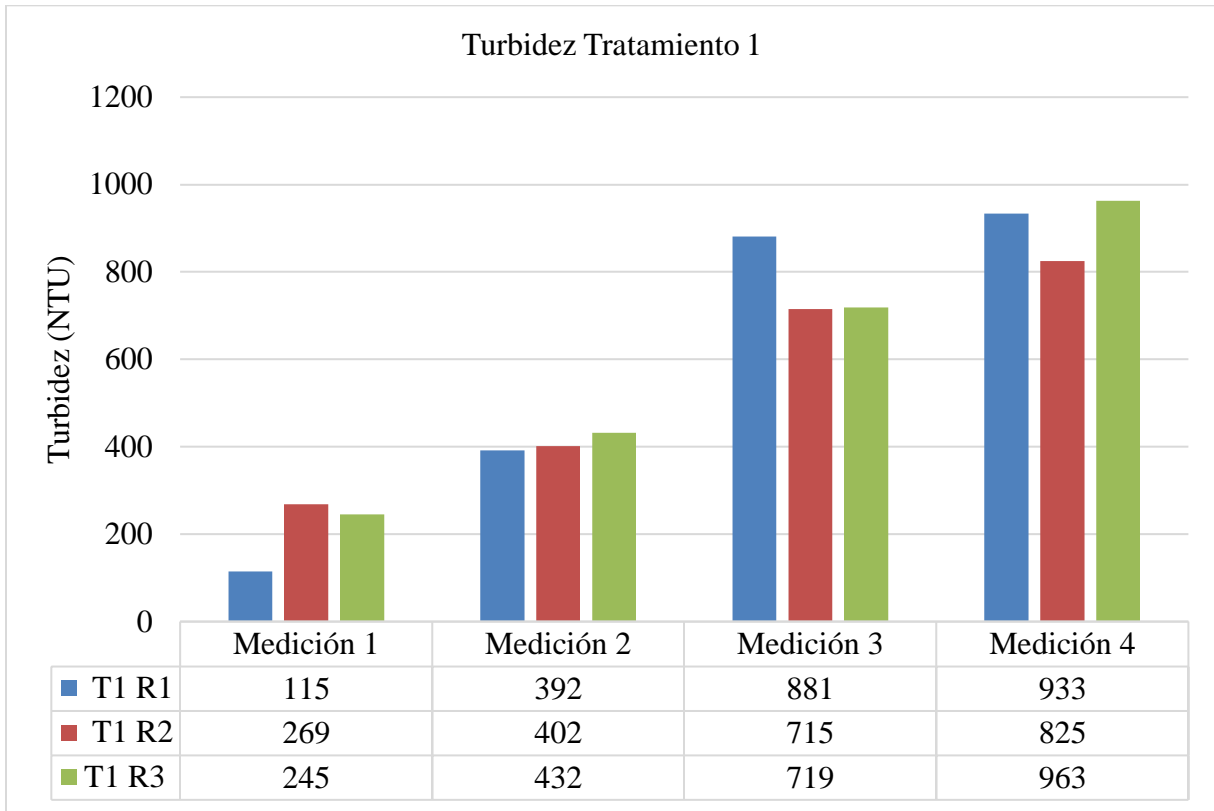
Nota. En el gráfico se observa la disminución de la conductividad durante las 4 mediciones en el tratamiento 3 y sus repeticiones.

El gráfico fue elaborado por Gordillo S. & Morocho J. (2023).

Turbidez: En la figura 28 se evidencia un aumento de turbidez en el tratamiento y sus repeticiones debido a la presencia de partículas suspendidas de *Chlorella Vulgaris* que va en aumento por su crecimiento. En la medición 1 se inició con un rango de 115 – 269 NTU el cual se incrementó gradualmente como se aprecia en la medición 4 su rango de 825 – 963 NTU.

Figura 28

Resultados de la medición de turbidez del tratamiento 1

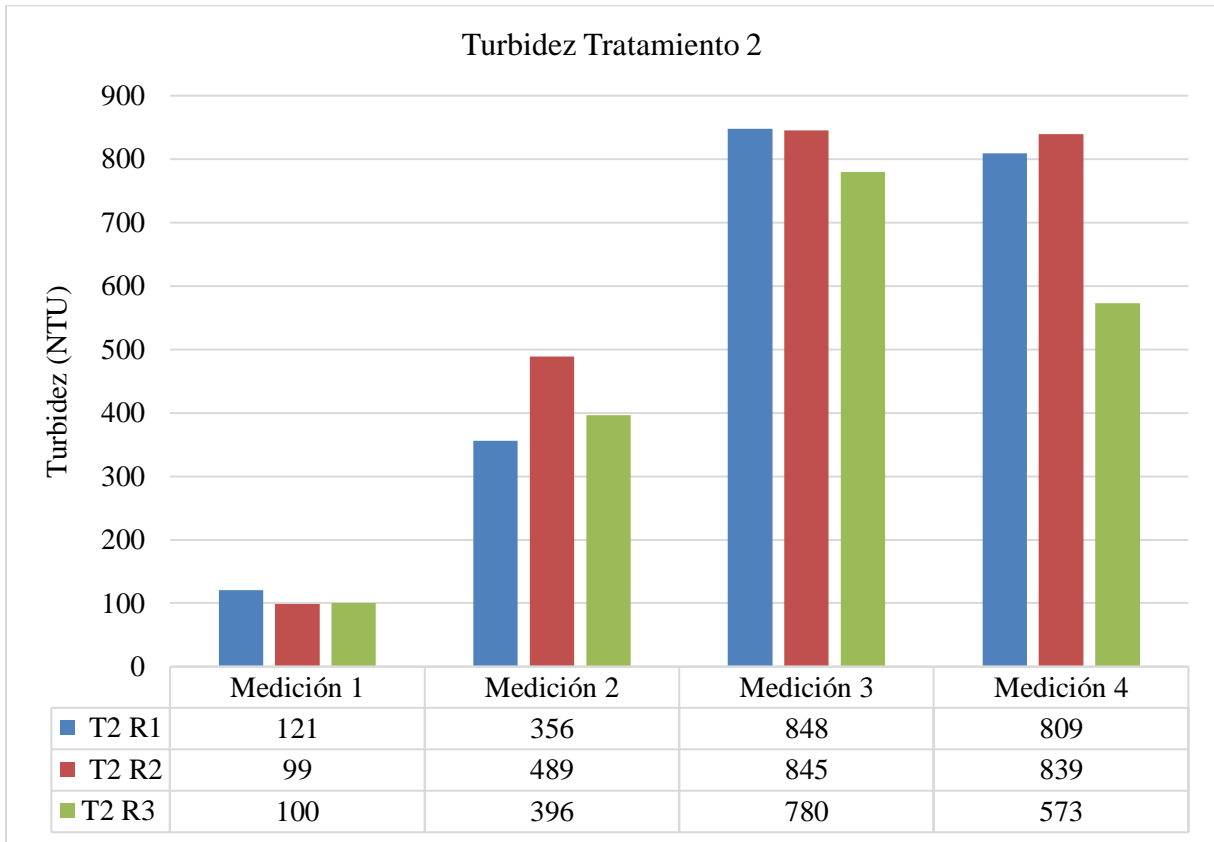


Nota. En el gráfico se observa el aumento de la turbidez durante las 4 mediciones en el tratamiento 1 y sus repeticiones. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

En la figura 29 se evidencia un aumento de turbidez en las mediciones 2 y 3, por otro lado, existió una disminución de la turbidez en la medición 4, provocada por un exceso de partículas sólidas suspendidas de *Chlorella Vulgaris* que bloquean el ingreso de luz solar lo que evita que la microalga realice la fotosíntesis.

Figura 29

Resultados de la medición de turbidez del tratamiento 2

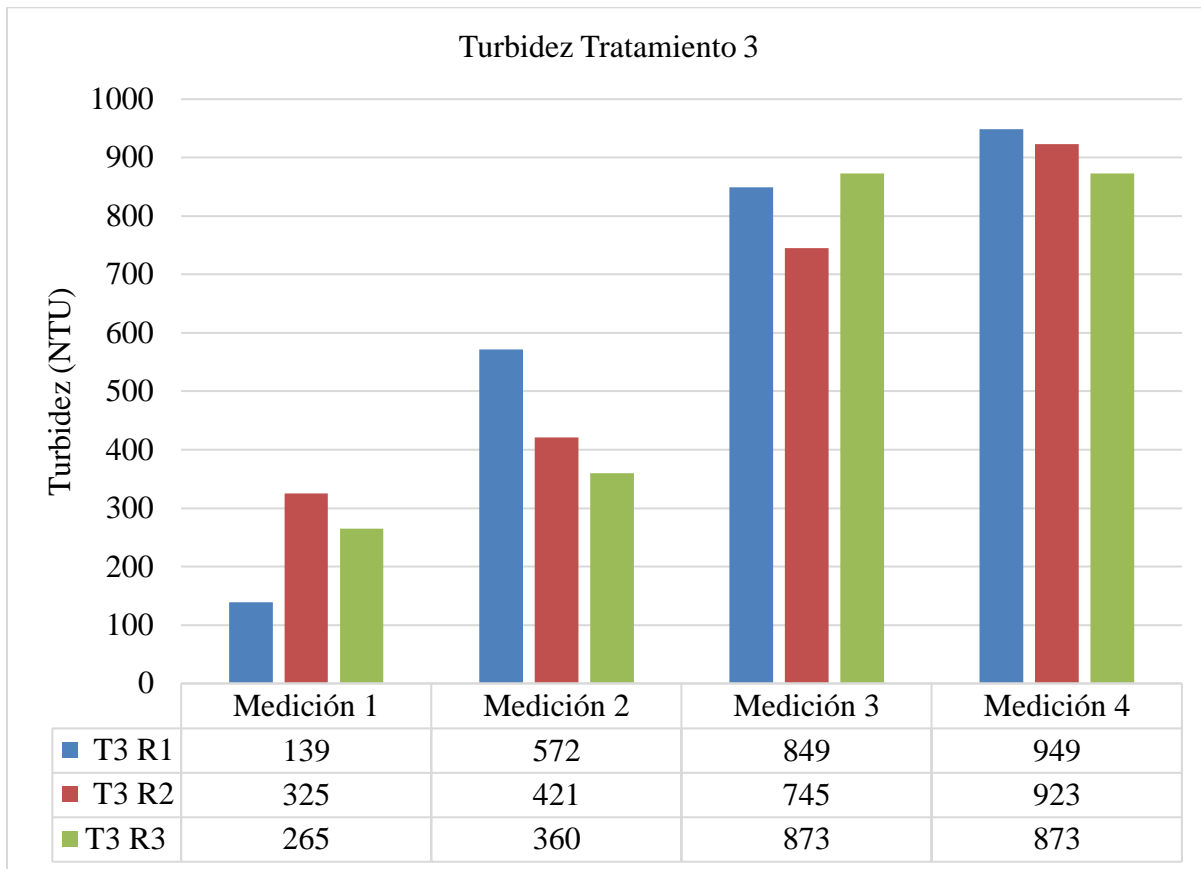


Nota. En el gráfico se observa el aumento de la turbidez durante las 4 mediciones en el tratamiento 2 y sus repeticiones. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

En la figura 30 se evidenció un aumento gradual en todas las repeticiones del tratamiento 3, siendo R3 mayor con respecto a la R1 y R2 en la última medición, el aumento de turbidez se debe a la presencia de partículas suspendidas de *Chlorella Vulgaris* que va en aumento debido a su crecimiento.

Figura 30

Resultados de la medición de turbidez del tratamiento 3

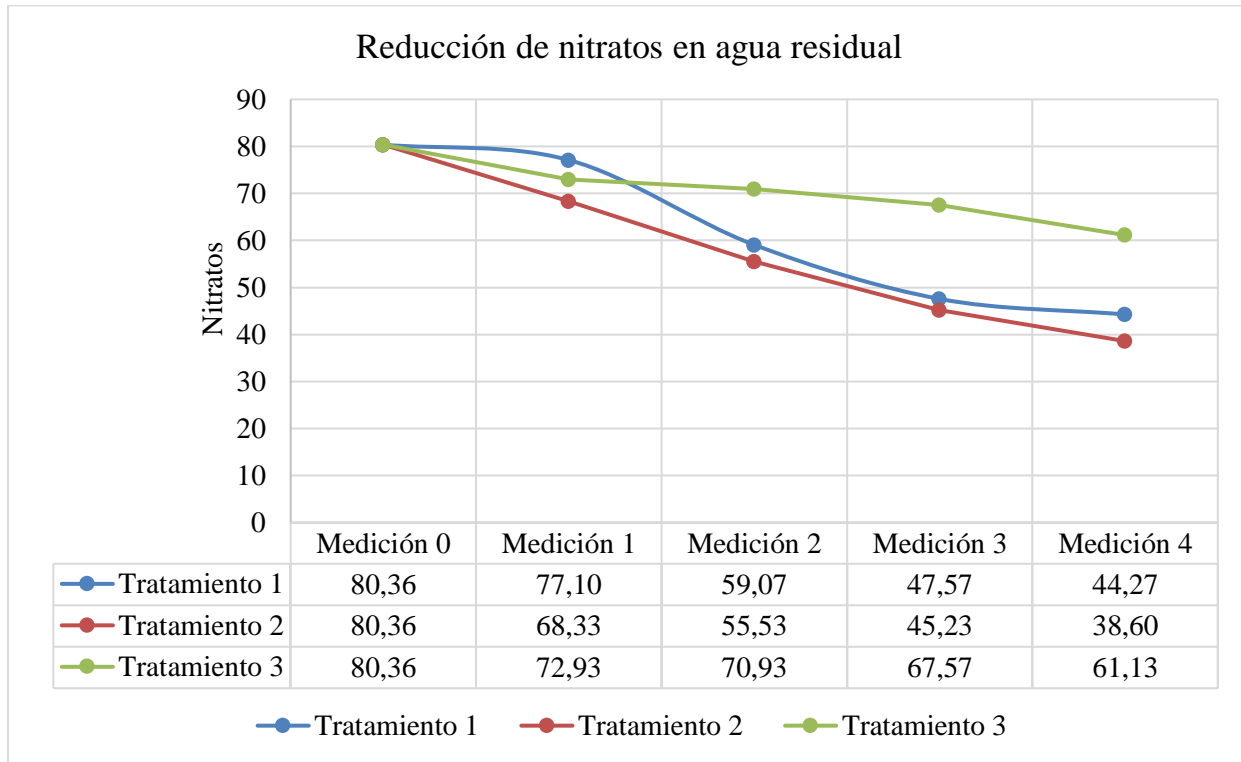


Nota. En el gráfico se observa el aumento de la turbidez durante las 4 mediciones en el tratamiento 3 y sus repeticiones. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Nitrato. En la figura 31 se observa que la medición cero empieza con un valor de 80.36 mg/L, la cual disminuyó con el transcurso de los días. El tratamiento 2 presentó una mayor disminución de nitratos con un valor de 38,60 mg/L; a diferencia del tratamiento 3 que fue el menos efectivo con 61.13 mg/L.

Figura 31

Resultados de reducción de nitratos

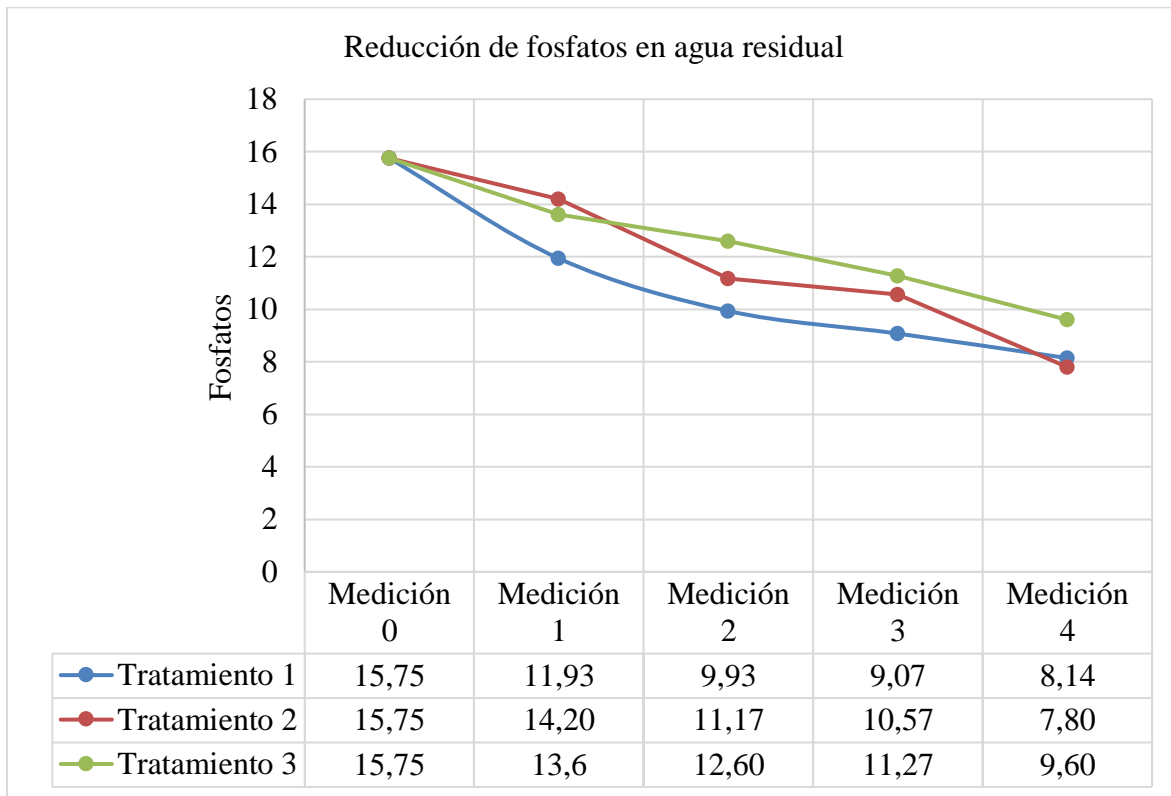


Nota. En el gráfico se observa la reducción de la concentración de nitratos del agua residual, el tratamiento 2 tiene una alta disminución. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Fosfatos. En la figura 32 se observa que la medición cero empieza con un valor de 15,75 mg/L, valor que disminuyó con el transcurso de los días. El tratamiento 2 presentó una mayor disminución de nitratos con un valor de 7.80 mg/L; a diferencia del tratamiento 3 que fue el menos efectivo con 9.60 mg/L.

Figura 32

Resultados de reducción de fosfatos

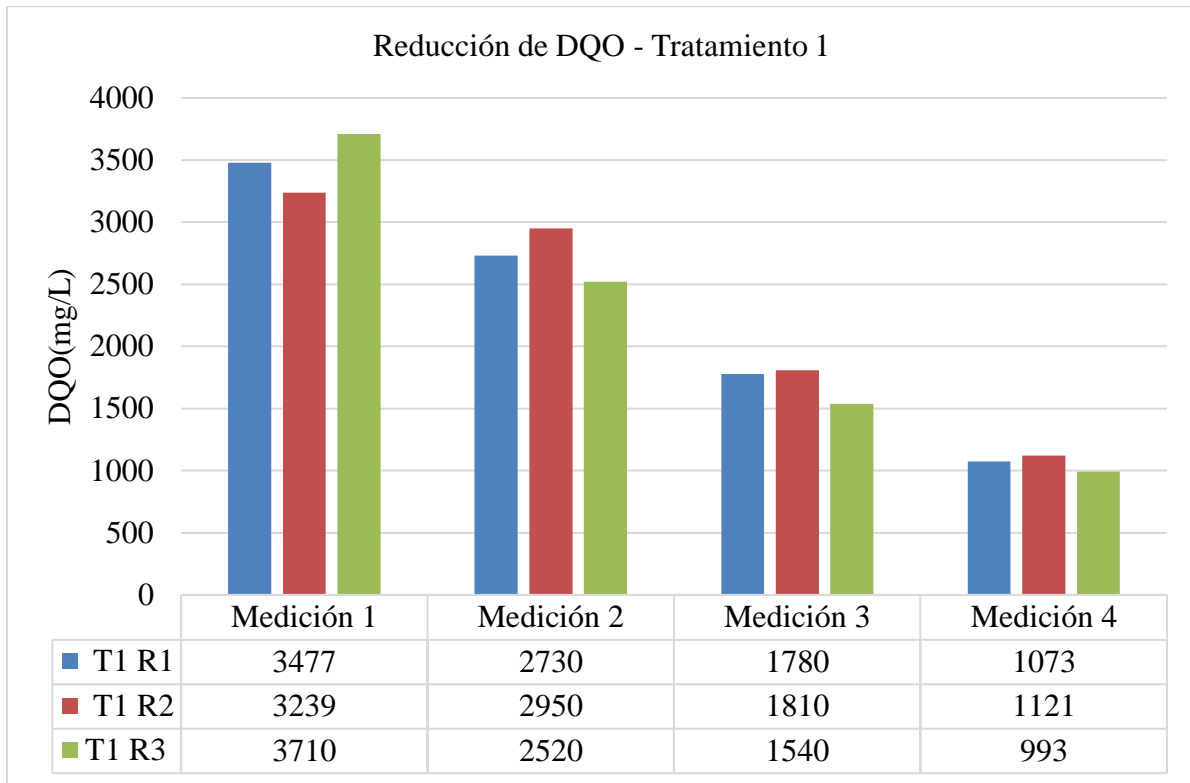


Nota. En el gráfico se observa la reducción de la concentración de fosfatos del agua residual, el tratamiento 2 tiene una alta disminución. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

DQO. Los valores reportados de DQO durante todo el tratamiento han sido favorables, ya que se ha visto una disminución considerable. La medición 1 inicio con un rango de 3239 - 3710 mg/L y finalizó con un rango de 993 - 1121 mg/L en la medición 4; se debe considerar que a menor DQO existe menor contaminación en el agua. Como se puede observar en la figura 33.

Figura 33

Resultados de la medición del DQO

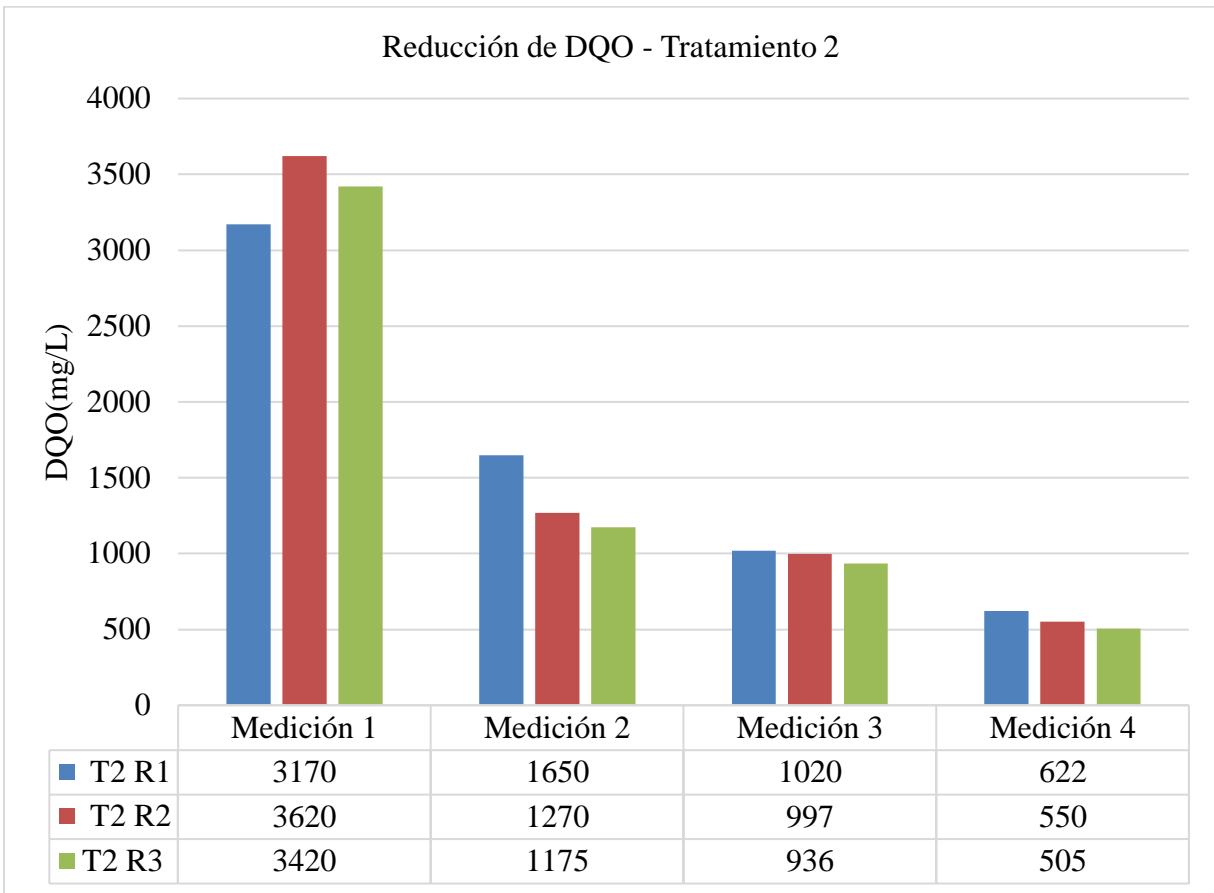


Nota. En el gráfico se observa la reducción de la concentración del DQO en el agua residual, los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento 1, repetición 1. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Los valores reportados en la figura 34, el DQO disminuyó gradualmente en un rango inicial de 3170 a 3620 mg/L y final entre 505 a 622 mg/L en la medición 4.

Figura 34

Resultados de la medición del DQO tratamiento 2

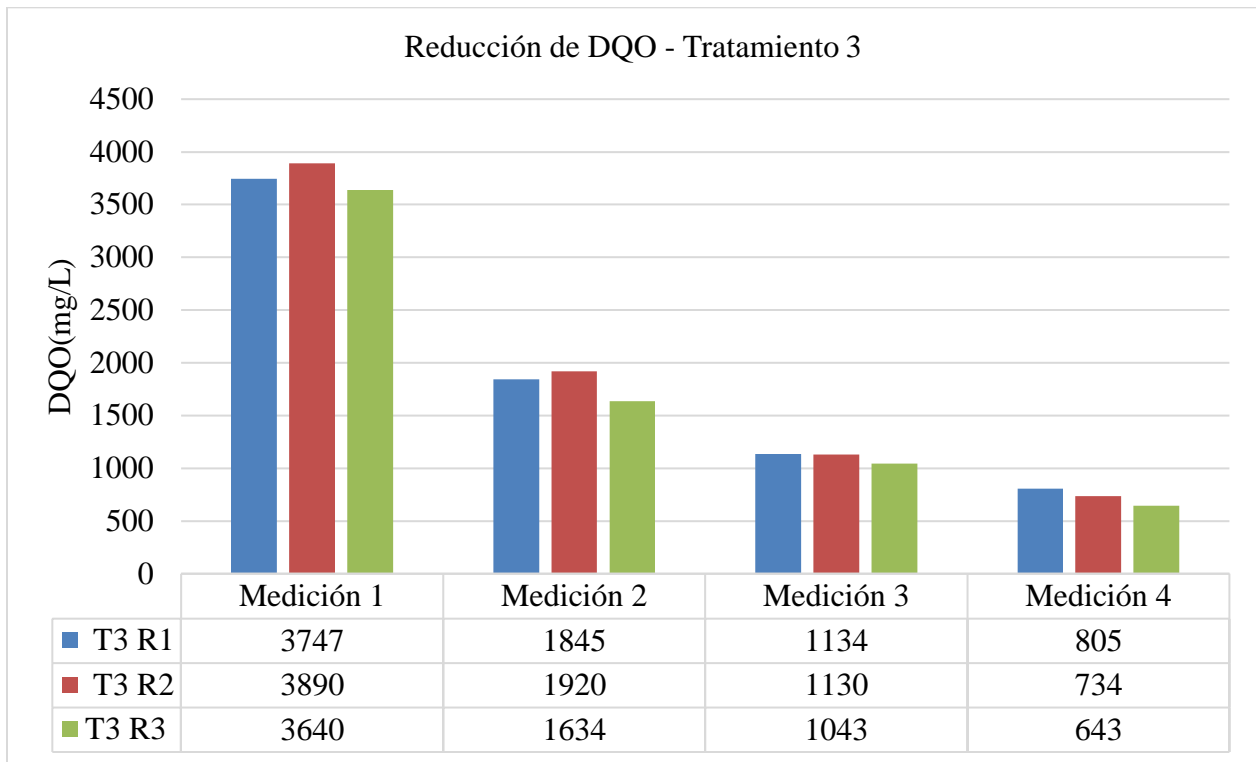


Nota. En el gráfico se observa la reducción de la concentración del DQO en el agua residual, los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento 2, repetición 3. El gráfico fue elaborado por Gordillo S. & Morocho J. (2023).

En la figura 35 se reportan los valores de DQO durante el trabajo experimental, el cual presenta una disminución en las 3 repeticiones del tratamiento 3. La repetición 3 obtuvo mayor disminución en comparación con la repetición 1 y 2.

Figura 35

Resultados de la medición del DQO tratamiento 3

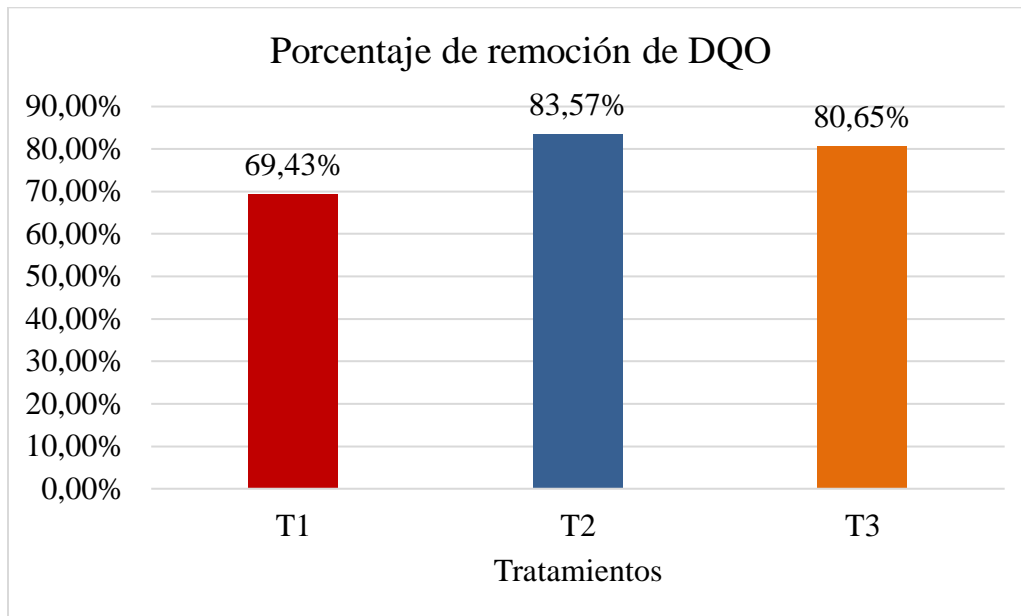


Nota. En el gráfico se observa la reducción de la concentración del DQO en el agua residual, los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento 3, repetición 3. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

En la figura 36 se observa los porcentajes de reducción del DQO para los tres tratamientos, en el cual se determinó que el mejor tratamiento es el 2 con un porcentaje de 83,57 % ;se debe considerar que el tratamiento 1 y 2 tienen un alto porcentaje de remoción.

Figura 36

Porcentaje de remoción de DQO



Nota. En el gráfico se observa el porcentaje de reducción del DQO en el agua residual. El gráfico fue elaborado por Gordillo S. & Morocho J. (2023).

4.1.3. Prueba de hipótesis

Nitratos

Ho: no existe diferencia en la reducción de nitratos en los tres tratamientos.

Hi: existe diferencia en la reducción de nitratos en los tres tratamientos.

SIGNIFICANCIA: error tipo 1 = α = 0.05

En la tabla 14, se muestra la concentración de nitratos antes y después del tratamiento de agua residual con microalga *Chlorella Vulgaris*, los cuales se utilizaron en el análisis estadístico de prueba para determinar el mejor tratamiento en la reducción de nitratos.

Tabla 14*Concentración de nitratos antes y después del tratamiento*

	Medición antes (mg/L)	Medición después (mg/L)	Remoción (mg/L)
Tratamiento 1	80,36	44,27	36,09
Tratamiento 2	80,36	38,6	41,76
Tratamiento 3	80,36	61,13	19,23

Nota. Esta tabla muestra los valores de la reducción de nitratos con respecto a los valores iniciales y finales, donde se evidencia la disminución de nitratos en los tres tratamientos. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Estadístico de prueba

a) Análisis de varianza de un factor

Para determinar la variabilidad de las mediciones de nitrato de los tres tratamientos, como se muestra en la tabla 15, se realizó un conjunto de operaciones de la serie de datos establecidos en la tabla 14.

Tabla 15*Promedio y varianza de los tratamientos*

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Tratamiento 1	2	124,63	62,32	651,24
Tratamiento 2	2	118,96	59,48	871,95
Tratamiento 3	2	141,49	70,75	184,90

Nota. Esta tabla muestra un resumen de los cálculos para determinar el promedio y la varianza. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

En la reducción de nitratos con *Chlorella Vulgaris*, en los tres tratamientos, no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) como se observa en la tabla 16, debido a que los tres tratamientos presentaron valores similares; por lo que se puede considerar a los 3 tratamientos

aptos para remover nitratos, se optó por calcular el porcentaje de remoción para determinar el grado de diferencia.

Tabla 16

Análisis de varianza de los nitratos

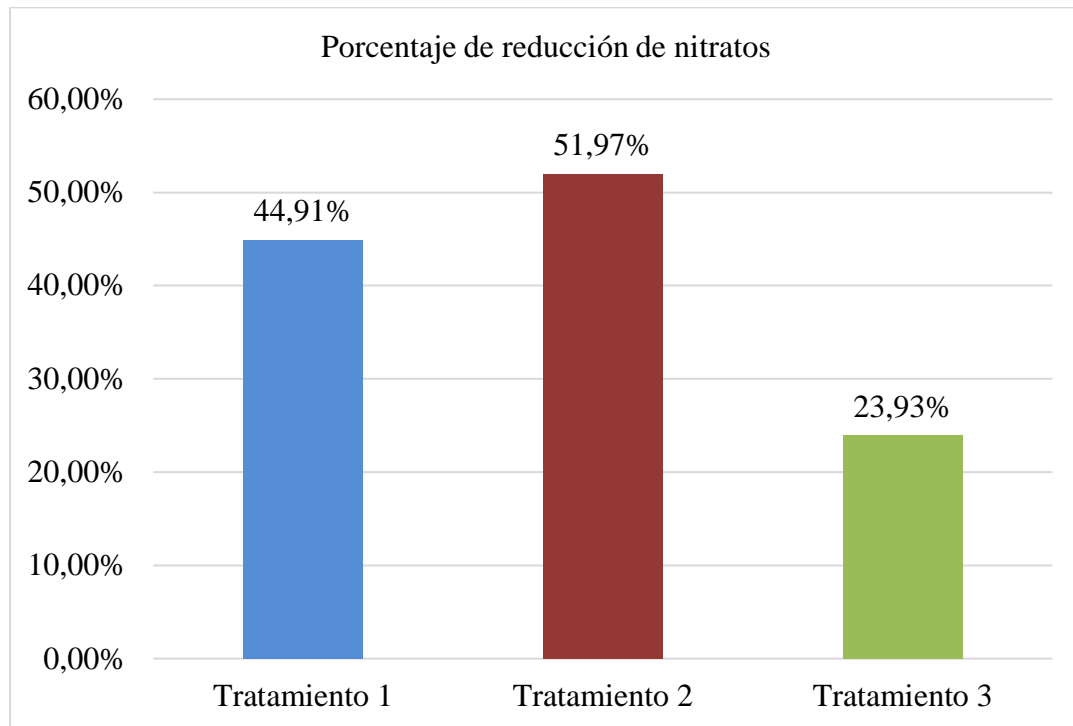
ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	137,33	2	68,67	0,12	0,89	9,55
Dentro de los grupos	1708,09	3	569,36			
Total	1845,42	5				

Nota. Esta tabla muestra los datos que serán comparados para determinar si existe significancia entre los resultados obtenidos de la reducción del nitrato. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

b) Porcentaje de reducción de nitratos. La figura 36 muestran los porcentajes de reducción de nitrato aplicado a cada tratamiento, en el cual, se evidencia que el tratamiento 2 fue el más efectivo con 51.97% de remoción a diferencia del tratamiento 3 que redujo el 23.93%.

Figura 37

Porcentaje de reducción de nitratos



Nota. En el gráfico de barras se observa el porcentaje de reducción de nitratos de los tres tratamientos, siendo el tratamiento 2 eficaz con más del 50% de remoción. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Fosfatos

Ho: no existe diferencia en la reducción de fosfatos en los tres tratamientos.

Hi: existe diferencia en la reducción de fosfatos en los tres tratamientos.

SIGNIFICANCIA: error tipo 1 = α = 0.05

En la tabla 17, se muestra la concentración de fosfatos antes y después del tratamiento de agua residual con microalga *Chlorella Vulgaris*, los cuales se utilizaron en el análisis estadístico para determinar el mejor tratamiento en la reducción de fosfatos.

Tabla 17*Concentración de nitratos antes y después del tratamiento*

	Medición inicial(mg/L)	Medición final (mg/L)	Remoción (mg/L)
Tratamiento 1	15,75	8,14	7,61
Tratamiento 2	15,75	7,8	7,95
Tratamiento 3	15,75	9,6	6,15

Nota. Esta tabla muestra los valores de la reducción de fosfatos con respecto a los valores iniciales y finales, donde se evidencia la disminución de fosfatos en los tres tratamientos. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Estadístico de prueba

a) Análisis de varianza de un factor

Para determinar la variabilidad de las mediciones de nitrato de los tres tratamientos, como se muestra en la tabla 18 se realizó un conjunto de operaciones de la serie de datos establecidos en la tabla 17.

Tabla 18*Promedio y varianza de los tratamientos*

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	2	23,89	11,95	28,96
Columna 2	2	23,55	11,78	31,60
Columna 3	2	25,35	12,68	18,91

Nota. Esta tabla muestra un resumen de los cálculos para determinar el promedio y la varianza. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

En la reducción de fosfatos con *Chlorella Vulgaris*, en los tres tratamientos, no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) como se observa en la tabla 19, debido a que los tres tratamientos presentaron valores similares; por lo que se puede considerar a los 3 tratamientos

aptos para remover fosfatos, se calculó el porcentaje de remoción para determinar el mejor tratamiento.

Tabla 19

Análisis de varianza de los fosfatos

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,91	2,00	0,46	0,02	0,98	9,55
Dentro de los grupos	79,47	3,00	26,49			
Total	80,38	5,00				

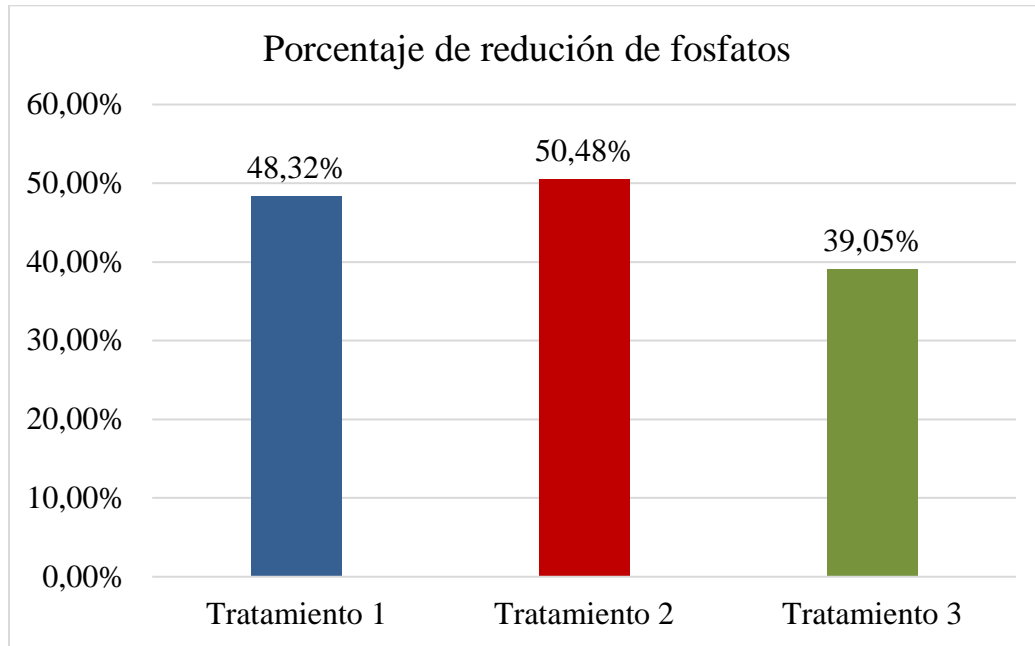
Nota. Esta tabla muestra los datos que serán comparados para determinar si existe significancia entre los resultados obtenidos de la reducción del fosfato. La tabla fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

b) Porcentaje de reducción de fosfatos

La figura 37 muestran los porcentajes de reducción de fosfatos aplicado a cada tratamiento, en el cual, se evidencia que el tratamiento 2 fue el más efectivo con 51.97% de remoción a diferencia del tratamiento 3 que redujo el 23.93%.

Figura 38

Porcentaje de reducción de fosfatos



Nota. En el gráfico de barras se observa el porcentaje de reducción de fosfatos de los tres tratamientos, siendo el tratamiento 2 eficaz con más del 50% de remoción. El gráfico fue elaborado por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

4.2.Discusión

El crecimiento de la microalga en el fotobiorreactor permitió controlar las condiciones de desarrollo de la microalga *Chlorella Vulgaris*, la temperatura en la fase de crecimiento fue de $19.9^{\circ}\text{C} \pm 20.5^{\circ}\text{C}$ valor que estuvo dentro del rango óptimo establecido para el aumento progresivo de la tasa de crecimiento. En investigaciones realizadas establecen un rango óptimo de temperatura entre los 18° y 25°C (Gómez et al., 2021).

Un exceso de temperatura ocasiona la disminución de fotorrespiración lo que provoca una reducción en el crecimiento celular; otro factor que influye en el desarrollo es el pH ya que las microalgas dependen de este, el aumento de su población según Barrantes & Pittman Indica que el pH óptimo para su cultivo está en un rango 7 y 8 (Barrantes & Pittman, 2018); en la presente

investigación los datos obtenidos se encontraron dentro del rango óptimo, lo que favoreció un crecimiento celular gradual. Las condiciones generadas en el fotobiorreactor permitieron un desarrollo controlado en el crecimiento de la microalga *Chlorella Vulgaris* en las diferentes dosis, que al aplicar el método estadístico ANOVA la dosis 1 obtuvo el mayor crecimiento con $9,25E+06$ células/mL valor similar a la investigación realiza por Iparragi que presentó un crecimiento máximo de $1,29E+07$ células/mL y la mínima fue de $6,98E+06$ células/mL en el Fotobiorreactor (Iparraguirre, 2020).

En el proceso de remoción de NO_3^- del agua residual, la microalga *Chlorella Vulgaris* presentó mayor porcentaje de remoción en el tratamiento 2 con 51.97 % en un período de 15 días, valor que se asemeja a la investigación de Avila & Ayala que obtuvieron un rango de remoción para el nitrato de 56% a 75% en un período de 12 días. Al mismo tiempo, en la remoción de PO_4^{3-} la microalga *Chlorella Vulgaris* presentó mayor porcentaje de remoción en el tratamiento 2 con 50.48% en un período de 15 días, resultado similar al de la investigación de Avila & Ayala que obtuvieron un rango de remoción para el nitrato de 78% a 84% en un período de 12 días. en 20 días de cultivo en la condición experimental indoor, la remoción de fosfato por *Ch. vulgaris* alcanzó un valor final de 24% (Avila & Ayala, 2018). En el agua residual tratada el DQO presentó un mayor porcentaje de reducción en el tratamiento 2 con 83.57% en un tiempo de 15 días, resultado similar a las investigaciones de Martínez Blanca que obtuvo una remoción en un rango entre 80.9 % a 93.9 %, en 14 días de tratamiento.(Avila & Ayala, 2018). Hammouda que registró para *Chlorella vulgaris* una remoción de 91,7% (A & O, 1995) ,por otro lado Abdel establece una remoción menor de 67,2% (A & O, 1995).

El pH en el agua residual es un parámetro indispensable en la adaptación *Chlorella Vulgaris* para un crecimiento óptimo. Se inició en la medición 1 con un pH de 9.71 el cual descendió en el

trascuro de los días hasta llegar a un pH 7.29 en la medición 4. Valores cercanos a la investigación de Grajales & Gómez que iniciaron con un pH de 8.6 el cual descendió hasta llegar a pH de 7.0, resultados favorables para la microalga, puesto que, se desarrolla con un pH que oscila entre 7 y 9 (Gutiérrez, 2014).

La temperatura para el tratamiento 2 considerado el mejor por su alto porcentaje de remoción de nitratos y fosfatos se mantuvo entre 19° C - 21.4°C durante un período de tres semanas en el tratamiento del agua residual con *Chlorella Vulgaris*, datos similares a la investigación de Prieto que mantuvo un intervalo de temperatura de 18°C - 30 °C, puesto que, temperaturas inferiores a 16°C retardan el crecimiento de la microalga y temperaturas mayores a 35°C pueden ser letales (Márquez, 2020).

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Los datos obtenidos en el conteo celular realizado en la cámara de Neubauer, fueron evaluados mediante un análisis estadístico de varianza y prueba Tuckey en el cual se determinó que la dosis 1 fue la mejor con un crecimiento de 9.25×10^6 células/mL en el décimo día, se aplicó el mismo método estadístico para analizar el crecimiento mediante la absorbancia a 680 nm, el que dio como mejor resultados a la dosis 1 para ser aplicada en el tratamiento del proyecto de experimentación.

Se caracterizó cuantitativa y cualitativamente los parámetros pH el cual fue disminuyendo de un pH alcalino entre 9.71 a 6.55, conductividad inicial de 1450 mS/cm descendiendo su concentración de detergentes y sales hasta 0,621 mS/cm, temperatura en un

rango entre 18 a 22°C, turbidez aumenta de 99NTU a 963 NTU, el DQO con un porcentaje de reducción en el T1 de 69,43%, T2 de 83,57%, T3 de 80,65%.

Las concentraciones de reducción de nitratos en el tratamiento 1 fue de 36,09 mg/L , en el tratamiento 2 de 41,76 mg/L y el tratamiento 3 de 19,23 mg/L ,lo que nos permitió determinar los porcentajes de remoción 44,91%, 51,97% y 23 ,93% respectivamente.Las concentraciones de reducción de fosfatos en el tratamiento 1 fue de 7,61 mg/L , en el tratamiento 2 de 7,95 mg/L y el tratamiento 3 de 6,15 mg/L ,lo que nos permitió determinar los porcentajes de remoción 48,32% , 50,48% y 39,05% respectivamente.

En la investigación se evidenció que la microalga *Chorella Vulgaris* puede ser usada como un tratamiento secundario, por su metabolismo reduce la concentración de contaminantes presentes en el agua residual, este tratamiento permitirá mitigar el impacto ambiental causado en el río Machángara.

5.2.Recomendaciones

Aplicar este trabajo experimental a gran escala ya que los datos obtenidos fueron a escala de laboratorio, de esta forma comparar los porcentajes de reducción de nitratos y fosfatos para determinar si existe diferencia.

Realizar el seguimiento del crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* por diferentes métodos ya que nos dará una mejor perspectiva de los parámetros que pueden alterar su desarrollo.

Es importante conocer las condiciones óptimas y los límites de tolerancia de la especie de microalga que se va a cultivar para mantener controladas las variables ambientales como luz, pH, nutrientes y temperatura.

6. BIBLIOGRAFÍA

- A, G., & O, H. (1995). *Microalgae and Wastewater Treatment*. 31(3), 5.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651385710640>
- Acebo, D., & Hernández, A. (2012). *Los métodos Turbidimétricos y sus aplicaciones en las ciencias de la vida*. 5. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181226886003.pdf>
- Álvarez, J. (2012). *Cultivo de microalgas (Chlorella sorokiniana) con iluminación mediante LEDs (Light Emitting Diodes)*. https://oa.upm.es/22523/1/TFC_Juan_Plasencia.pdf
- Ávila, J. (2015). *Evaluación de la remoción de nitratos y fosfatos a nivel laboratorio por microalgas libres e inmovilizadas para el Tratamiento Terciario de Aguas Residuales Municipales*.
https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/899/Avila_JGJ.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Avila, J., & Ayala, A. (2018). *Remoción de nitratos y fosfatos por cepas nativas de Chlorella sp. (Chlorellaceae) y Chlamydomonas sp. (Chlamydomonadaceae) libres e inmovilizadas en aguas residuales municipales*. 4.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992018000200010#:~:text=libre reportó el máximo porcentaje,removidos durante el primer día
- Ávila, J., Ayala, A., & Verano, R. (2018). *Remoción de nitratos y fosfatos por cepas nativas de Chlorella sp. (Chlorellaceae) y Chlamydomonas sp. (Chlamydomonadaceae) libres e inmovilizadas en aguas residuales municipales*. 25, 2.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992018000200010
- Barrantes, E., & Pittman, R. (2018). *Efecto de la microalga Botryococcus sp. en la remoción de*

nitrate y fosfato en aguas residuales, en la empresa municipal de agua y alcantarillado de Coronel Portillo - Ucayali, marzo 2018.

https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUNU_0e4a315c86ce7cdc16cb97f255f7ec24/Details

Belzona. (2010). *Tratamientos de aguas residuales.*

https://www.belzona.com/es/solution_maps/wastewater/money_map.pdf

Borja, A. (2021). *Influencia de la concentración de oxidante y del tiempo de tratamiento en la regeneración de carbón activo saturado mediante la aplicación de procesos tipo Fenton.*

<https://riunet.upv.es/handle/10251/172497>

Brito, D., Pereira, G., & Morán, R. (2016). *Crecimiento de microalgas de agua dulce, en dos medios de cultivo Guillard y un fertilizante comercial Nitrofoska. 7.*

<https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9505/9492>

CajamarADNagro. (2015). *¿QUÉ SON LAS MICROALGAS? INTERÉS Y USO.*

<https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>

Candela, R. (2016). *Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones. Una revisión bibliográfica.*

<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/12170/91541023.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Cepal. (2018). *Constitución del Ecuador.*

<https://observatoriop10.cepal.org/es/instrumentos/constitucion-ecuador#:~:text=Derecho a un ambiente sano,el buen vivir%2C sumak kawsay.>

Chambi, R. (2019). *Eficiencia del uso de microalgas del río Torococha en la remoción de nitratos y fosfatos para el tratamiento terciario de aguas residuales en un fotobiorreactor a*

escala laboratorio, Juliaca.

[http://repositorio.unaj.edu.pe/bitstream/handle/UNAJ/112/Informe Semilleros de Investigaci%3Fn.pdf?isAllowed=y&sequence=1](http://repositorio.unaj.edu.pe/bitstream/handle/UNAJ/112/Informe_Semilleros_de_Investigaci%3Fn.pdf?isAllowed=y&sequence=1)

CodigoOrgánico del Ambiente. (2017). *De los derechos, deberes y principios ambientales.*

https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/01/CODIGO_ORGANICO_AMBIENTE.pdf

Condori, L. (2018). *Determinación de la productividad de la microalga Chaetoceros gracilis Cultivada con fertilizantes inorgánicos y el medio F/2.*

https://repositorio.unam.edu.pe/bitstream/handle/UNAM/80/T095_43344608_T.pdf?isAllowed=y&sequence=1

García, E., & Pérez, L. (2020). *AGUAS RESIDUALES. COMPOSICIÓN.*

https://cidta.usal.es/cursos/edar/modulos/edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf

GCFGlobal. (2019). *Tipos de Muestreo.* <https://edu.gcfglobal.org/es/estadistica-basica/tipos-de-muestreo/1/>

Gil, M., & Soto, A. (2012). *Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos.*

3. <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v7n2/v7n2a05.pdf>

Gómez, L., Ortega, Y., & Tormos, L. (2021). *Efecto del pH sobre el crecimiento y viabilidad celular de una cepa local de Chlorella vulgaris Beijerinck.* 5.

<http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v41n2/2224-6185-rtq-41-02-252.pdf>

Grow. (2022). *¿Cuál es la cantidad de lúmenes que se necesita para el cultivo interior de*

cannabis? <https://www.growbarato.net/blog/cantidad-lumenes-cultivo-interior/>

Gutiérrez, T. (2014). *PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y LÍPIDOS DE Chlorella vulgaris*

- USANDO MEDIOS DE CULTIVO SINTÉTICOS Y UN FERTILIZANTE COMERCIAL*. 61.
<http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/764/48907.pdf?sequence=1&isAllowed=y>).
- Hernández, A., & Labbé, J. (2014). *Microalgas, cultivo y beneficios*. 49, N°2, 2,4.
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>
- Iparraguirre, K. (2020). *Disminución de nitratos y fosfatos con chlorellas sp. en las aguas residuales de la poza de oxidación del distrito de Huayucachi – 2020*.
https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/8775/4/IV_FIN_107_TI_Iparraguirre_Justo_2020.pdf
- Jácome, M. (2019). *Reproducción y crecimiento microbiano*.
http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_6_crecimiento.pdf
- Malusin, L. (2019). *ANÁLISIS DE LA ARENA VOLCÁNICA COMO FILTRO EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA LAVADORA RAM JEANS DEL CANTÓN PELILEO PROVINCIA DE TUNGURAHU*.
<https://1library.co/document/yekwl00y-portada-autor-lucia-anabel-malusin-ramos-tutor.html>
- Márquez, I. (2020). *ESTUDIO DEL CRECIMIENTO DE LA MICROALGA Chlorella vulgaris Y SU CAPACIDAD DE DEPURACIÓN DE AGUA RESIDUAL*.
[http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/9896/PRIETO MARQUEZ%20INMACULADA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/9896/PRIETO%20MARQUEZ%20INMACULADA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Martínez, C. (2018). *Aplicación de Chlorella vulgaris en agua residual para su reuso*.
<https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/7379/576918T.pdf?i>

sAllowed=y&sequence=1

- MicroLab. (2017). *Las formas múltiples del Nitrógeno (amónio-nitrito-nitrato-nitrificación-desnitrificación)*. <https://www.aguasresiduales.info/revista/blog/las-formas-multiples-del-nitrogeno>
- Murillo, D. (2018). *Eficiencia del uso de microorganismos eficientes en el tratamiento de aguas residuales de las queserías artesanales de Quimiag*.
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/10156>
- PRIMICIAS. (2020). *Los ríos Guayas y Machángara son los más contaminados del país*.
<https://www.primicias.ec/noticias/tecnologia/rios-guayas-machangara-contaminados-pais/>
- Reinoso, N., & Carrillo, S. (2022). *BIORREMEDIACIÓN DE AGUAS RESIDUALES URBANAS PROVENIENTES DE LAS DESCARGAS HACIA EL RÍO YASNÁN-PULAMARÍN DEL CANTÓN CAYAMBE ECUADOR MEDIANTE EL USO DE CHLORELLA SP*.
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/23231/1/TTQ909.pdf>
- Rodríguez, A. (2017). *DISEÑO DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL PARA EL MUNICIPIO ARCOS DE LAS SALINAS (TERUEL)*. <https://riunet.upv.es/handle/10251/89917>
- Valensuela, N. (2019). *Evaluación de la eficiencia de remoción de contaminantes de la planta tratadora de aguas residuales de pueblo Yaqui, Cajem, Sonora*.
http://biblioteca.itson.mx/dac_new/tesis/2000.pdf
- Winterhalter. (2021). *Detergentes ecológicos para lavavajillas: una opción sostenible para el lavado profesional*. <https://www.winterhalter.com/cl-es/blog-winterhalter/detergentes-ecologicos-para-lavavajillas-una-opcion-sostenible-para-el-lavado-profesional/>
- Yachay. (2017). *Las microalgas*. <https://www.yachaytech.edu.ec/noticia/las-microalgas/>

7. ANEXOS

Anexo 1

Datos obtenidos por el método de absorbancia

DOSIS 1		DOSIS 2		DOSIS 3	
Días	Absorbancia	Días	Absorbancia	Días	Absorbancia
1	0,426	1	0,399	1	0,578
2	0,933	2	0,763	2	1,027
3	1,311	3	0,968	3	1,757
4	1,581	4	1,161	4	1,950
5	1,910	5	1,510	5	2,168
6	2,268	6	1,566	6	2,512
7	2,397	7	1,589	7	2,533
8	2,604	8	1,922	8	2,584
9	2,995	9	1,943	9	2,658
10	3,098	10	2,343	10	3,430
11	2,990	11	2,300	11	3,410
12	2,987	12	2,285	12	3,200
13	2,91	13	2,210	13	3,151
14	2,892	14	2,192	14	3,140
15	2,879	15	2,020	15	3,010

Nota. Este anexo contiene los valores obtenidos durante todo el crecimiento y desarrollo de la microalga con diferentes dosis de inoculo aislado, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 2

Datos obtenidos por cámara de neubauer

DOSIS1		DOSIS 2		DOSIS 3	
Días	Concentración	Días	Concentración	Días	Concentración
	(cel/ml)		(cel/ml)		(cel/ml)
1	3,17E+06	1	2,66E+06	1	3,99E+06
2	3,97E+06	2	2,98E+06	2	4,79E+06

3	4,77E+06	3	4,42E+06	3	5,91E+06
4	4,61E+06	4	5,86E+06	4	7,19E+06
5	6,05E+06	5	7,30E+06	5	8,47E+06
6	7,33E+06	6	8,90E+06	6	9,91E+06
7	8,77E+06	7	8,58E+06	7	1,12E+07
8	8,93E+06	8	8,74E+06	8	1,14E+07
9	9,09E+06	9	8,90E+06	9	1,15E+07
10	9,25E+06	10	9,06E+06	10	1,17E+07
11	9,17E+06	11	8,98E+06	11	1,16E+07
12	9,05E+06	12	8,86E+06	12	1,15E+07
13	8,89E+06	13	8,38E+06	13	1,08E+07
14	8,65E+06	14	7,90E+06	14	1,06E+07
15	8,49E+06	15	7,74E+06	15	1,04E+07

Nota. Este anexo contiene los valores obtenidos de crecimiento de la microalga *Chlorella Vulgaris* durante 15 días en la cámara de Neubauer todo, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 3

Datos obtenidos de las mediciones de nitratos

NITRATOS			
Días	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Medición 0	80,36	80,36	80,36
Medición 1	77,10	68,33	72,93
Medición 2	59,07	55,53	70,93
Medición 3	47,57	45,23	67,57
Medición 4	44,27	38,60	61,13

Nota. Este anexo contiene los valores obtenidos del seguimiento de nitratos en los diferentes tratamientos con *Chlorella Vulgaris*, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 4

Promedios de los tratamientos de la medición inicial y final

	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Medición inicial	80,36	80,36	80,36
Medición final	44,27	38,6	61,13
Promedio	62,315	59,48	70,745

Nota. Este anexo contiene los valores obtenidos antes y después del seguimiento de la reducción de nitratos, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 5

Porcentaje de reducción de nitratos

	Medición inicial	Medición final	% de reducción
Tratamiento 1	80,36	44,27	44,91%
Tratamiento 2	80,36	38,6	51,97%
Tratamiento 3	80,36	61,13	23,93%

Nota. Este anexo contiene los valores obtenidos en porcentaje de la reducción de nitratos en los tratamientos, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 6

Datos obtenidos de las mediciones de fosfatos

FOSFATOS			
Días	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Medición 0	15,75	15,75	15,75
Medición 1	11,93	14,20	13,6
Medición 2	9,93	11,17	12,60
Medición 3	9,07	10,57	11,27
Medición 4	8,14	7,80	9,60

Nota. Este anexo contiene los valores obtenidos del seguimiento de fosfato en los diferentes tratamientos con *Chlorella Vulgaris*, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 7

Promedios de los tratamientos de la medición inicial y final

	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Medición inicial	15,75	15,75	15,75
Medición final	8,14	7,8	9,6
Promedio	11,945	11,775	12,675

Nota. Este anexo contiene los valores obtenidos antes y después del seguimiento de la reducción de fosfatos, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 8 Porcentaje de reducción de fosfatos

	Medición inicial	Medición final	Reducción
Tratamiento 1	15,75	8,14	48,32%
Tratamiento 2	15,75	7,8	50,48%
Tratamiento 3	15,75	9,6	39,05%

Nota. Este anexo contiene los valores obtenidos en porcentaje de la reducción de fosfatos en los tratamientos , fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 9

pH

pH - Tratamiento 1				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T1 R1	9,54	7,04	6,88	6,88
T1 R2	9,51	6,69	6,55	6,59
T1 R3	9,36	7,18	6,69	6,55

pH - Tratamiento 2				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T2 R1	9,30	7,33	7,2	7,54
T2 R2	9,71	7,36	7,31	7,56
T2 R3	9,37	7,21	7,05	7,29

pH - Tratamiento 3				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T3 R1	8,32	7,69	7,54	7,83
T3 R2	9,27	7,83	7,73	8,23
T3 R3	9,32	7,81	8,04	8,06

Nota. Este anexo contiene los valores de pH obtenidos en los tratamientos durante todo el trabajo experimental de reducción de nitratos y fosfatos, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 10

Conductividad

Conductividad (mS/cm) - Tratamiento 1				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T1 R1	1,450	0,942	0,857	0,972
T1 R2	1,200	0,927	0,922	0,831
T1 R3	1,126	0,866	0,852	0,848

Conductividad (mS/cm) - Tratamiento 2				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T2 R1	0,952	0,905	0,894	0,811
T2 R2	1,050	0,892	0,846	0,782
T2 R3	1,238	1,136	0,901	0,885

Conductividad (mS/cm) - Tratamiento 3				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T3 R1	1,126	0,993	0,756	0,703
T3 R2	0,799	0,731	0,767	0,811
T3 R3	0,925	0,78	0,687	0,621

Nota. Este anexo contiene los valores de conductividad obtenidos en los tratamientos durante todo el trabajo experimental de reducción de nitratos y fosfatos, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 11

Turbidez

Turbidez (NTU) - Tratamiento 1				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T1 R1	115	392	881	933
T1 R2	269	402	715	825
T1 R3	245	432	719	963

Turbidez (NTU) - Tratamiento 2				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T2 R1	121	356	848	809
T2 R2	99	489	845	839
T2 R3	100	396	780	573

Turbidez (NTU) - Tratamiento 3				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T3 R1	139	572	849	949
T3 R2	325	421	745	923
T3 R3	265	360	873	873

Nota. Este anexo contiene los valores de turbidez obtenidos en los tratamientos durante todo el trabajo experimental de reducción de nitratos y fosfatos, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 12

Valores de DQO (mg/L) tratamiento 1

DQO (mg/L) - Tratamiento 1				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T1 R1	3477	2730	1780	1073
T1 R2	3239	2950	1810	1121
T1 R3	3710	2520	1540	993

Nota. Este anexo contiene los valores de DQO obtenidos en el tratamiento 1 durante todo el trabajo experimental de reducción de nitratos y fosfatos, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 13

Porcentaje de remoción del tratamiento 1 DQO (mg/L)

Inicial	Final	% de remoción
3475	1062,33	69,43%

Nota. Este anexo contiene los de remoción de DQO obtenidos en el tratamiento 1, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 14

Valores de DQO (mg/L) tratamiento 2

DQO (mg/L) - Tratamiento 2				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T2 R1	3170	1650	1020	622
T2 R2	3620	1270	997	550
T2 R3	3420	1175	936	505

Nota. Este anexo contiene los valores de DQO obtenidos en el tratamiento 2 durante todo el trabajo experimental de reducción de nitratos y fosfatos, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 15

Porcentaje de remoción del tiramiento 1 DQO (mg/L)

Inicial	Final	% de remoción
3403	559	83,57%

Nota. Este anexo contiene los de remoción de DQO obtenidos en el tratamiento 2, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 16

Valores de DQO (mg/L) tratamiento 3

DQO (mg/L) - Tratamiento 3				
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4
T3 R1	3747	1845	1134	805
T3 R2	3890	1920	1130	734
T3 R3	3640	1634	1043	643

Nota. Este anexo contiene los valores de DQO obtenidos en el tratamiento 3 durante todo el trabajo experimental de reducción de nitratos y fosfatos, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.

Anexo 17

Porcentaje de remoción del tiramiento 3 DQO (mg/L)

Inicial	Final	% de remoción
3759	727,33	80,65%

Nota. Este anexo contiene los de remoción de DQO obtenidos en el tratamiento 3, fue elaborada por *Gordillo S. & Morocho J. (2023)*.