



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE GIRÓN  
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

**BIORREMEDIACIÓN DE NITRATOS Y AMONÍACO DE LAS AGUAS DEL RÍO SAN  
PEDRO MEDIANTE EL USO DE UN CONSORCIO MICROALGAL A ESCALA DE  
LABORATORIO**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:  
INGENIERAS EN BIOTECNOLOGÍA.**

**AUTOR: YADY SOLEDAD CAIZA SUNTAXI**

**MERCY JOHANNA MONGE ROCHE**

**TUTOR: DANIEL ALBERTO FREIRE BALSECA**

**Quito-Ecuador**

**2023**

## CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, Caiza Suntaxi Yady Soledad con documento de identificación N° 1727528398 y Monge Roche Mercy Johanna con documento de identificación N° 0106305196; manifestamos que: Somos los autores 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, 12 de Septiembre del año 2023

Atentamente,



---

Caiza Suntaxi Yady Soledad  
1727528398



---

Monge Roche Mercy Johanna  
0106305196

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

Nosotros, Caiza Suntaxi Yady Soledad con documento de identificación No. 1727528398 y Monge Roche Mercy Johanna con documento de identificación No. 0106305196, 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 autores del Trabajo experimental: “Biorremediación de nitratos y amoníaco de las aguas del río San Pedro mediante el uso de un consorcio microalgal a escala de laboratorio.”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingenieras en Biotecnología, 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 del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 12 de septiembre del 2023

Atentamente,

-----  
Caiza Suntaxi Yady Soledad  
1727528398

-----  
Monge Roche Mercy Johanna  
0106305196

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Freire Balseca Daniel Alberto con documento de identificación N° 1720534468 docente de la Universidad Politécnica salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **BIORREMEDIACIÓN DE NITRATOS Y AMONÍACO DE LAS AGUAS DEL RÍO SAN PEDRO MEDIANTE EL USO DE UN CONSORCIO MICROALGAL A ESCALA DE LABORATORIO**, realizado por Caiza Suntaxi Yady Caiza con documento de identificación N° 1727528398 y por Monge Roche Mercy Johanna con documento de identificación N° 0106305196, 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, 12 de septiembre del 2023

Atentamente,



-----  
Ing. Daniel Alberto Freire Balseca, Msc

1720534468

## **DEDICATORIA**

Con gran satisfacción dedicó este trabajo a mi padre Edison por brindarme su cariño, apoyo, motivación y confianza.

A mi mamá Gloria por enseñarme a no darme por vencida y seguir adelante hasta conseguir mis sueños y metas.

A mis abuelitos maternos y paternos que de una u otra manera me han apoyado, siempre de la mano de Dios.

A mi hermano Santiago, a mi cuñada Alejandra, por su apoyo incondicional.

A mis sobrinas: Kamila, Milena y Mia quienes son motivo para ser una mejor persona y un ejemplo para ellas, de igual manera que siempre luchen por conseguir sus sueños y nunca se rindan.

**Yady Caiza**

A Dios por brindarme sabiduría, salud y determinación para culminar este proyecto.

A mis padres Mariana Roche y Manuel Monge por apoyarme incondicionalmente en toda mi carrera universitaria y orientar en momentos difíciles.

A mis hermanos Pablo Monge, Claudia Monge y Fabiola Monge quienes a pesar de la distancia me motivaron para continuar en la carrera.

A mi novio por su paciencia y amor me ha sabido entender y acompañar en mis decisiones.

**Mercy Monge**

## AGRADECIMIENTOS

En primera instancia, agradezco a Dios por guiarme y darme sabiduría en toda mi vida, a la Universidad Politécnica Salesiana y sus autoridades por permitirme realizar este trabajo en sus instalaciones, de igual manera a mi tutor y profesor Daniel Freire por el tiempo y esfuerzo dedicado a este proyecto, también por ser la persona que nos ayudó a crecer profesionalmente.

Agradezco a mis padres y abuelitos: paternos y maternos por brindarme su apoyo emocional y económico para culminar mis estudios.

A Mercy, Mikey, Henry, Wagner y Pamela por brindarme su amistad y de los cuales me llevo bonitas experiencias, así como su apoyo durante este trabajo de titulación.

A Mercy por ser mi amiga y compañera de tesis, porque sin su dedicación y esfuerzo no hubiéramos podido terminar este trabajo.

**Yady Caiza**

Es muy reconfortante contar con el respaldo incondicional de personas que vieron el esfuerzo y sobre todo los que han compartido su conocimiento, su consejo y su amor, por ello agradezco a Dios por rodearme de personas que de una manera u otra me han apoyado

A la Universidad Politécnica Salesiana, a los docentes de la carrera de Biotecnología, al tutor y guía de tesis Ing. Daniel Freire, por su conocimiento y experiencias compartidas.

A mis amigos en especial a mi amiga y compañera de tesis Yady Caiza, quien supo compartir sus grandes ideas en este proyecto.

Mi gratitud a todos ustedes

**Mercy Johanna Monge Roche**

## Resumen

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la capacidad de biorremediación a escala laboratorio de nitratos y amoníaco de las aguas del río San Pedro, mediante un consorcio microalgal que fue aislado de las muestras de agua de río, el cual está conformado por *Chlorella* sp y *Diatomeas* sp. nativas del mismo, de igual manera se realizó pruebas microbiológicas en que se identificó coliformes totales. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, el cual consistió de un testigo (agua de río) y 4 tratamientos, con tres repeticiones cada uno; T1: 920 mL agua de río + 80 mL de consorcio microalgal + fotoperiodo, T2: 920 mL agua sintética + 80 mL consorcio microalgal + fotoperiodo, T3: 920 mL agua de río +80 mL consorcio microalgal + oscuridad y T4: 920 mL agua sintética + 80 mL consorcio microalgal + oscuridad, con condiciones físicas de: pH un rango entre 6.5 y 7.5, temperatura 15 °C a 28 °C, aireación constante y fotoperiodo de 2000 lux. El tiempo de evaluación de los tratamientos fue de 4 semanas; el conteo celular se realizó dos veces por semana, para el análisis de nitratos se realizó cada semana y para el análisis de amoníaco se realizó en la segunda y cuarta semana.

Los resultados al finalizar la investigación fueron: el cultivo del consorcio alcanzó una densidad celular de  $9.26 \times 10^4$  Cel/mL, el mejor tratamiento para remover nitratos fue el T1, el cual alcanzó un porcentaje de remoción de 97.59 % y el mejor tratamiento para amoníaco fue el T3 con valores de 0.53 mg/L inicialmente y terminando con 0.55 mg/L.

Mediante esta investigación, se ha demostrado que la microalga *Chlorella* sp posee una gran capacidad para absorber y eliminar contaminantes presentes en las aguas residuales.

Palabras claves: *Ficorremediación, Chlorella* sp, *Tratamientos, Densidad celular*

## Abstract

The objective of this research was to evaluate the bioremediation capacity at laboratory scale of nitrates and ammonia in the waters of the San Pedro river, by means of a microalgal consortium that was isolated from the river water samples, which is composed of *Chlorella* sp and *Diatomeas* sp. native to the river, as well as microbiological tests in which total coliforms were identified. A completely randomized experimental design was applied, which consisted of a control (river water) and 4 treatments, with three replicates each; T1: 920 mL river water + 80 mL of microalgal consortium + photoperiod, T2: 920 mL synthetic water + 80 mL microalgal consortium + photoperiod, T3: 920 mL river water +80 mL microalgal consortium + darkness and T4: 920 mL synthetic water + 80 mL microalgal consortium + darkness, with physical conditions of: pH a range between 6.5 to 7.5, temperature 15 °C to 28 °C, constant aeration and photoperiod of 2000 lux.

The evaluation time of the treatments was 4 weeks; the cell count was performed twice a week, for the nitrate analysis it was performed every week and for the ammonia analysis it was performed in the second and fourth week. The results at the end of the investigation were: the consortium culture reached a cell density of  $9.26 \times 10^4$  cells/mL, the best treatment for nitrate removal was T1, which reached a removal percentage of 97.59 % and the best treatment for ammonia was T3 with values of 0.53 mg/L initially and ending with 0.55 mg/L.

Through this research, it has been demonstrated that the microalgae *Chlorella* sp has a great capacity to absorb and eliminate pollutants present in wastewater.

Key words: *Phycoremediation*, *Chlorella* sp, *Treatments*, *Cell density*



## Índice de contenidos

### Contenido

1	Introducción .....	1
2	Fundamentación teórica.....	4
2.1	Contaminación Ambiental.....	4
2.2	Contaminación Hídrica.....	4
2.3	Contaminación por Metales Pesados.....	5
2.4	Aguas Residuales .....	6
2.4.1	Nitratos.....	7
2.4.2	Amoníaco.....	7
2.4.3	Criterios de calidad admisibles para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces. ....	8
2.5	Consecuencias provocadas por las aguas residuales. ....	8
2.6	Biorremediación .....	9
2.6.1	Biorremediación de aguas contaminadas.....	9
2.7	Tipos de biorremediación.....	10
2.7.1	Bioaumentación .....	10
2.7.2	Bioestimulación .....	10
2.7.3	Ficorremediación .....	11
2.8	Microalgas .....	12
2.8.1	Tipos de microalgas .....	13
2.8.2	Microalgas más usadas para biorremediación de aguas contaminadas.....	13
2.8.3	<i>Diatomeas</i> sp.....	17
2.9	Fases de crecimiento celular de las microalgas.....	18
2.10	Consortio microalgal .....	19
2.11	Condiciones de cultivo .....	19
2.11.1	Luz o fotoperiodo.....	20
2.11.2	Temperatura .....	20
2.11.3	pH.....	20
2.11.4	Aireación.....	21
2.11.5	Nutrientes .....	21
3	Metodología.....	22
3.1	Localización del río San Pedro.....	22
3.2	Recolección de las muestras de Agua del Rio San Pedro .....	23
3.3	Preparación de los medios.....	24
3.3.1	Medio de cultivo BG-11 Sólido.....	24
3.3.2	Medio de cultivo BG-11 Líquido.....	25

3.3.3	Medio Chromocult agar .....	25
3.3.4	Agua sintética.....	26
3.4	Siembra y adaptación al medio de cultivo.....	27
3.5	Identificación de las microalgas y microorganismos. ....	28
3.5.1	Identificación de microorganismos .....	29
3.6	Caracterización de nitratos y amoníaco de las muestras del rio San Pedro .....	30
3.6.1	Nitratos.....	30
3.6.2	Amoníaco .....	32
3.7	Escalamiento de las microalgas.....	33
3.8	Cinética de crecimiento .....	35
3.9	Diseño experimental.....	37
4	Resultados esperados y discusión.....	39
4.1	Caracterización y evaluación físico y químico del agua del río San Pedro. ....	39
4.2	Caracterización microscópica.....	40
4.3	Análisis de Conteo celular mediante cámara de Neubauer .....	41
4.3.1	Cálculo de análisis de varianza (ANOVA).....	45
4.4	Medición de nitratos y amoníaco .....	46
4.4.1	Determinación de Nitratos .....	46
4.4.2	Determinación de la remoción de amoníaco.....	50
5	CONCLUSIONES.....	53
6	Bibliografía.....	55
7	Anexos .....	60

## Índice de figuras

Figura 1. <i>Scenedesmus</i> sp.....	13
Figura 2. <i>Spirulina plantensis</i> .....	14
Figura 3. <i>Chlorella</i> sp .....	16
Figura 4. Crecimiento celular.....	18
Figura 5. Zona del río San Pedro .....	22
Figura 6. Ubicación del río San pedro. ....	23
Figura 7. Ubicación de la zona del muestreo.....	24
Figura 8. Filtración de las muestras de agua.....	30
Figura 9. Equipo HACH .....	31
Figura 10. Curva de calibración.....	32
Figura 11. Proceso de escalado .....	33
Figura 12. Proceso de trasvasado. ....	34
Figura 13. Escalamiento microalgal.....	34
Figura 14. Recuento en Cámara de Neubauer.....	35
Figura 15. Recuento <i>Chlorella</i> sp. ....	37
Figura 16. Diseño experimental.....	38
Figura 17. Agua de río + Fotoperiodo .....	42
Figura 18. Agua sintética + Fotoperiodo .....	42
Figura 19. Tratamiento de Agua de río + oscuridad .....	43
Figura 20. Tratamiento de agua de río +oscuridad .....	43
Figura 21. Agua de río + Fotoperiodo .....	47
Figura 22. Agua sintética + Fotoperiodo .....	47
Figura 23. Agua de río + Oscuridad.....	48
Figura 24. Agua sintética + Oscuridad.....	49
Figura 25. Agua de río + fotoperiodo .....	50
Figura 26. Agua sintética + Fotoperiodo .....	50
Figura 27. Agua de río + Oscuridad.....	51
Figura 28. Agua sintética + Oscuridad.....	52

## Índice de tablas

Tabla 1. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce. ....	8
Tabla 2. Taxonomía de <i>Scenedesmus</i> sp. ....	14
Tabla 3. Taxonomía <i>Spirulina plantensis</i> ....	15
Tabla 4. Taxonomía de la <i>Chlorella</i> sp. ....	17
Tabla 5. Localización del río San Pedro ....	22
Tabla 6. Composición del medio de cultivo sólido BG-11. ....	24
Tabla 7. Composición del medio de cultivo BG-11 líquido ....	25
Tabla 8. Composición del agua sintética ....	26
Tabla 9. Siembra y Resiembra microalgal. ....	28
Tabla 10. identificación de las microalgas. ....	28
Tabla 11. Identificación de microorganismos. ....	29
Tabla 12. Absorbancias. ....	32
Tabla 13. Descripción de la muestra. ....	39
Tabla 14. Identificación de la <i>Chlorella</i> sp. ....	40
Tabla 15. Identificación microscópica de <i>Diatomeas</i> sp. ....	41
Tabla 16. Densidad celular inicial. ....	41
Tabla 17. Análisis de varianza de un factor ....	45
Tabla 18. Cálculo inicial de Nitratos ....	46
Tabla 19. Medición inicial de amoníaco ....	50

## Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Factor de dilución.....	31
Ecuación 2. Porcentaje de remoción .....	31
Ecuación 3. Fórmula de densidad celular original.....	36
Ecuación 4. Fórmula sin dilución .....	36
Ecuación 5. Fórmula con dilución .....	36
Ecuación 6. Densidad Celular.....	36

**Índice de anexo**

Anexo 1: Fase de campo .....60  
Anexo 2: Reactivos para análisis .....61  
Anexo 3: Investigación a nivel de laboratorio .....62  
Anexo 4: Análisis estadístico.....63

## **1 Introducción**

Las características geológicas, así como su ubicación geográfica hace que Ecuador cuente con una abundante distribución natural de recursos hídricos en todo su territorio. Uno de los afluentes que conforman este recurso es el río San Pedro, dado que es uno de los más importantes de Quito, nace principalmente en las faldas orientales de las montañas occidentales principalmente en los deshielos del volcán Illinizas, cubre un área de 432.0 km. Atravesando zonas de Machachi, Cumbayá, Valle de los Chillos y Sangolquí. Además, que conecta con los ríos Pita, Chiche y Pedregal y Guambi por ende se puede comprender que es un ciclo hidrológico importante en todo su trayecto (Pilalumbo, 2020).

Sin embargo y como menciona (Quilumbaqui, 2017), el crecimiento demográfico debido al desarrollo de las actividades industriales y agrícolas, y las altas concentraciones de materia orgánica liberadas por las aguas residuales domésticas, urbanas e industriales derivadas de las zonas que atraviesa el río llegan a la superficies del mismo, los cuales han ocasionado su alteración, principalmente en los sistemas de alimentación y riego de los sistemas agrícolas produciendo efectos de eutrofización. Además, por falta de tratamiento provoca el aumento dramático de amoníaco y nitrato, que pueden ser contaminantes de alto riesgo, también reduce el contenido de oxígeno del agua, ocasionando cambios en la vida acuática y la vida silvestre en estas aguas dulces, así como también afecta la salud humana y socioeconómica de la población (Baldiris et al., 2019).

En la actualidad, uno de los problemas es el manejo inadecuado de los vertidos industriales tanto de los sectores domésticos y el alcantarillado. Según EPMAPS, Empresa Metropolitana de Agua Potable y Saneamiento, la ciudad de Quito descarga aguas residuales sin tratar a quebradas y ríos circundantes aproximadamente un caudal de 128 Densidad de Caudal Másica

(MGD). FONAG, empresa Fondo para la protección del agua describe el río San Pedro “cómo altamente contaminado, con base en análisis químicos y biológicos” de esta manera se observa cómo impacta de manera negativa las aguas naturales de los ríos, principalmente en el riego de los sistemas de cultivo desencadenando efectos eutrofizados. Además, reduce el oxígeno en el agua provocando alteraciones tanto de la vida terrestre como la acuática (Baldiris et al., 2019).

Acurio-Arciniegas, 2017 afirman que las tecnologías utilizadas hoy en día en el proceso de remediar aguas residuales por medio de tratamientos físicos, químicos y biológicos, incluyendo otros como lixiviación, filtración de membrana, extracción de solventes para su aplicación depende de la carga orgánica de los componentes presentes en el agua y los costos son necesariamente altos. Aplicando el proceso de biorremediación con el uso de microalgas y como describe (Cipriano, 2021), los procedimientos implicados son considerados efectivos, por su bajo costo y por ser accesible con el medio ambiente. De la misma manera (H. Hernández, 2020) explica que los tratamientos aplicados con microalgas facilitan el control de parámetros o condiciones que requiere el proceso.

Las microalgas son microorganismos tanto procariotas como eucariotas fotosintéticas, que por su estructura multicelular les permite desarrollarse rápidamente, también tienen capacidad para aprovechar los nutrientes inorgánicos, por ende, estas tienen una alta tolerancia a los metales pesados, de la misma manera tienen la capacidad de crecer de manera autotrófica y heterotrófica (Vela et al., 2019).

Estudios realizados por (Jácome et al., 2021) dan a conocer que la biorremediación con microalgas del género *Chlorella* y *Pseudomonas* fueron una alternativa efectiva al momento de remover nitratos y amoníaco puesto que alcanzaron una remoción de un 65 %. Mientras que estudios realizados por (Vela et al., 2020) dan a conocer que un consorcio microalgal de



*Chlorella* sp alcanzaron una remoción de amoníaco de un 82.5 % valores viables para una biorremediación.

Las microalgas además de remover nitratos y amoníaco en el agua, tiene la capacidad de mejorar ciertos parámetros como: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), Oxígeno disuelto, Demanda Química de Oxígeno (DQO), pH entre otros beneficios, ya que tienen la capacidad mejorar la calidad físico-química del agua residual, convirtiéndose en una excelente alternativa para el ambiente, así como de bajo costo para el tratamiento de efluentes (Bolaños et al., 2017).

Por lo siguiente el objetivo planteado es evaluar la capacidad de las microalgas para biorremediar nitratos y amoníaco a escala de laboratorio, para lo cual se medirá los contaminantes tanto físicos, químicos y microbiológicos presentes en las muestras de agua del río San Pedro, posteriormente se realizará técnicas de siembra y aislamiento para el desarrollo de la especie *Chlorella* sp y por medio de un consorcio microalgal remover los contaminantes (M. Ortiz et al., 2018).

Por lo tanto, la hipótesis que se planteó es que las microalgas pueden eliminar altas concentraciones de nitratos y amoníaco de las muestras de agua del río San Pedro. Mientras que la hipótesis alternativa es que las microalgas nativas no pueden eliminar altas concentraciones de nitratos y amoníaco de las muestras de agua del río San Pedro.

## **2 Fundamentación teórica**

### **2.1 Contaminación Ambiental**

La contaminación ha producido grandes alteraciones en el medio ambiente provocando daños graves en el ecosistema, en la actualidad es uno de los problemas a nivel global afectando tanto a la naturaleza como a la salud humana, por lo que hoy en día, se siente el cambio climático como las olas de frío y calor, tormentas externas, pérdida de bosques, etc. Se entiende por contaminación cuando existe presencia de sustancias en el aire, agua o suelo provenientes de origen antrópico (Borras, 2020).

La contaminación difusa proveniente de la agricultura es una de las grandes preocupaciones en el país, debido a la elevada aplicación de fertilizantes y plaguicidas, dando como resultado graves problemas de contaminación tanto en los lagos o embalses, así como también en aguas subterráneas.

### **2.2 Contaminación Hídrica.**

La contaminación del agua es la presencia de componentes químicos artificiales que hacen que el agua no sea segura para el consumo humano, estas fuentes de contaminación pueden ser naturales también llamadas geoquímicas o artificiales. Sin embargo, y como lo menciona (Encinas, 2011) las fuentes naturales no provocan altas concentraciones, mientras que la contaminación antropogénica se concentra en zonas concretas tales como industrias, sectores agrícolas - ganaderas, etc. (Pilalumbo, 2020).

De este modo el río San Pedro se encuentra contaminado tanto por, la explotación minera de la región, así como los desechos domésticos e industriales, además es uno de los ríos más importantes, ya que cruza por: Machachi, Los Chillos, Cumbayá, Tumbaco y otras zonas, lugares que descargan grandes cantidades de aguas contaminadas incluso de basura provocando malos olores. Todos estos focos de contaminación modifican las propiedades físicas, químicas

y biológicas del agua. Estas propiedades alteradas por los contaminantes son en realidad parámetros que tienden a medir el agua para verificar la calidad de la misma (Encinas, 2011). Como consecuencia de la contaminación hídrica se ha encontrado desequilibrios biológicos, matando especies a gran escala, de la misma manera afecta a la flora y fauna causando daños ecológicos severos, por último, los cambios en la temperatura y pH alterando la composición natural del río (Ordóñez Ramirez, 2017).

### 2.3 Contaminación por Metales Pesados.

Hoy en día los metales pesados hay incrementado su contaminación debido al desarrollo industrial, así como también el aumento de elementos tóxicos en los suelos y el agua. La contaminación por metales pesados puede ocurrir naturalmente como por ejemplo: la actividad volcánica, procesos de erosión, descarga espontánea de sedimentos profundos, también se puede dar de manera antropológica por ejemplo; la minería, metalurgia, agricultura, es decir las actividades humanas y su uso excesivo de elementos químicos que han provocado un desequilibrio en la cadena trófica (Chávez, 2011).

Al no recibir tratamientos antes de desecharlo, el metal puede llegar a varios sustratos incluidos el suelo, aire y el agua; su presencia en el medio ambiente puede afectar a animales y plantas, dificultando el funcionamiento de los procesos biológicos, los cuales aseguran la autoconservación. Estos contaminantes pueden entrar en contacto con las personas al incorporarse a los alimentos después de usar el agua contaminada mediante los sistemas de riego (Mancilla et al., 2017).

En América Latina, la contaminación está asociada a la extracción de recursos no renovables. Afectando a la tierra, el agua y el aire. Los principales contaminantes son el mercurio y el plomo usados en la minería, que se ha convertido en un problema por la falta de regulación. En Ecuador, las altas concentraciones de cadmio y plomo fueron 10 a 20 veces más en Estero

Salado superiores al especificado. La minería también es un foco de contaminación, por plomo en los ríos afectando a la Provincia de El Oro. En Cuenca, la presencia de metales como el cromo, zinc, hierro, níquel, manganeso y cobre en aire que superan los límites permisibles (Moscoso et al., 2019).

#### 2.4 Aguas Residuales

Las aguas residuales son aquellas que han sido usados por las actividades humanas (Díaz et al., 2012) estas representan un peligro, ya que contiene una gran variedad de contaminantes y microorganismos, estas pueden ser:

- Aguas residuales domésticas o aguas negras: Son las aguas provenientes de las actividades diarias como usos de la cocina, higiene personal, desechos orgánicos, etc. Estas aguas contaminadas contienen microorganismos patógenos.
- Aguas blancas: Estas aguas provienen de la atmósfera (lluvia o hielo), así mismo provienen de la limpieza de calles y lugares públicos. Estas aguas no son sometidas a algún tratamiento, sin embargo, por la precipitación atmosférica abundante puede tener una mínima contaminación.
- Aguas residuales industriales: Son aguas contaminadas que provienen de establecimientos industriales, las cuales tienen en una amplia variedad de residuos químicos tales como: grasas, ácidos, detergentes, entre otros, representando un riesgo para la salud humana y medio ambiente.
- Aguas residuales agrícolas: Son aguas provenientes del sector agrícola de las zonas rurales, que de igual manera pueden afectar al ecosistema debido al uso excesivo de los fertilizantes químicos los cuales dañan la capa superficial del suelo, así como también a la salud humana, ya que al acumularse herbicidas en la misma puede ser tóxico para ser humano (Espigares & Pérez, s.f.).

#### 2.4.1 Nitratos

Los nitratos es una sustancia inorgánica compuesta por un átomo de nitrógeno (N) y tres átomos de oxígeno, lo que resulta en la formación de un anión denominado ( $\text{NO}_3$ ). Los nitratos están presentes en la mayoría de los fertilizantes químicos, estiércol y residuos líquidos y al poseer una alta solubilidad tienen la capacidad de ser fácilmente transportados, cuando estas sustancias entran en contacto con el agua pueden desplazarse a largas distancias y afectar tanto cuerpos de agua superficiales como aguas subterráneas.

La presencia de nitratos es un problema no sólo en los países en vías de desarrollo, sino también en los países desarrollados. Los efectos asociados a este deterioro pueden repercutir sobre la salud a corto, mediano o largo plazo de la población, por lo que se requiere tomar medidas con el fin de reducir la contaminación ambiental (Ortiz, 2018).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), indica un límite máximo a la cantidad de 50 mg/L de “ion nitrato” en el agua de potable y según el libro VI (TULSMA) anexo 1 el límite permisible de nitratos expresado como nitrógeno (N) para la descarga a un cuerpo de agua dulce es de 10,0 mg/L.

#### 2.4.2 Amoníaco.

El amoníaco es un compuesto químico, su fórmula química es  $\text{NH}_3$  en su estado sin ionizar y  $\text{NH}_4^+$  en la forma ionizada. La suma de  $\text{NH}_3$  y  $\text{NH}_4^+$  constituye el amoníaco que se mide analíticamente en el agua.

La toxicidad del amoníaco es crítica para los valores de pH y temperatura. La forma ( $\text{NH}_3$ ) sin ionizar es más tóxica que la forma ( $\text{NH}_4^+$ ) ionizada. Es de importancia comparar los valores del amoníaco adecuadamente, ya que esto puede afectar a la vida acuática por lo que son más sensibles al amoníaco.

A nivel industrial los focos de contaminación tienen lugar en la producción de plásticos, fibras, además, están presentes en los procesos de fabricación y tratamientos de los textiles. También se encuentran presentes en otros compuestos orgánicos de nitrógeno que sirven de productos intermediarios en la fabricación de tintes y productos farmacéuticos.

#### 2.4.3 Criterios de calidad admisibles para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces.

Según el Texto VI (TULSMA) las regulaciones locales para las descargas se establecerán teniendo en cuenta los estándares de calidad definidos para el uso específico o los usos asignados al agua. Estas regulaciones estarán en consonancia con la normativa técnica nacional actual, pudiendo ser igual o incluso más estrictas, y deberán respaldarse con estudios técnicos y económicos que las respalden.

Tabla 1. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce.

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Arsénico total	As	mg/L	0,1
Bario	Ba	mg/L	2
Cadmio	Cd	mg/L	0,02
Cobre	Cu	mg/L	1
Amoníaco	NH <sub>3</sub>	mg/L	0,02
Coliformes Fecales	Nmp/100		Remoción al 99.9%
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg/L	0,1
Nitritos + Nitratos	Expresado como Nitrógeno (N)	mg/L	10

Fuente: (Ministerio del ambiente, 2015)

Es importante mencionar que los valores de amoníaco registrados en la tabla 1 son admisibles para la conservación de flora y fauna en aguas dulces.

#### 2.5 Consecuencias provocadas por las aguas residuales.

Según las Naciones Unidas y en la conferencia realizada en el 2023, la mayor cantidad de países cuentan con políticas y planes nacionales de saneamiento, pero pocos cuentan

con suficientes recursos humanos y financieros para implementarlos. Solo el 3 % de los países que participaron en el ciclo GLAAS 2021/22 tienen recursos suficientes para implementar políticas y planes de salud rural, y solo el 7 % tiene recursos suficientes para implementar planes de salubridad urbanos (ONU, 2022).

De esta manera se puede mencionar las consecuencias que provocan las aguas residuales.

- Reducción del oxígeno presentes en la columna de agua.
- Elevada tasa de mortalidad de fauna acuática en general, incluso en la población de especies cercana a los ríos.
- El agua no es apta para riego agrícola por la gran cantidad de sustancias nocivas.
- Pérdida de viabilidad del recurso hídrico tanto en la bioseguridad ambiental y humana.

## 2.6 Biorremediación

La biorremediación es una tecnología sustentable, amigable con el medio ambiente, en su proceso utiliza especies de microorganismos para remover o descomponer sustancias contaminantes, peligrosas o tóxicas que pueden alterar el medio ambiente, esta técnica es empleada eficientemente puesto que al eliminar nutrientes y metales radica en la remoción o biotransformación de los contaminantes. Además, Este método es relativamente verde, causa menos daño a los ecosistemas, su aplicación es barato y no requiere de gran cantidad de equipos (Mamani, 2023).

### 2.6.1 Biorremediación de aguas contaminadas

Las aguas que están contaminadas con distintas sustancias hacen que el agua cambie completamente su composición natural, altera su estructura química, pueden bloquear la penetración de la luz, la densidad podría verse alterada como consecuencia perdida de toda

biodiversidad acuática y finalmente afectando todo un ciclo de vida en la naturaleza. Es por ello que es necesario la biorremediación de aguas contaminadas (Pabón et al., 2020).

Por lo que, la biorremediación de aguas contaminadas es el proceso o un tratamiento en el cual se usa organismos vivos capaces de absorber, descomponer y transformar los contaminantes para eliminar o reducir el impacto negativo que trae las descargas de aguas residuales. Todos estos procesos y actividades tienen como objetivo aumentar la tasa de descomposición natural mediante la adición de microorganismos exógenos (Mamani, 2023).

## 2.7 Tipos de biorremediación

### 2.7.1 Bioaugmentación

Es una técnica biológica que consiste en la utilización de microorganismos para mejorar actividades específicas, esto se realiza para reducir la inestabilidad del proceso, reducir los efectos inhibidores, aumentar la eficiencia del mismo y degradar un material o sustancia determinado (Ochoa, 2021).

Aplicando en las aguas residuales la bioaugmentación o también llamado aumento de biomasa se refiere a la incorporación de cultivos de microorganismos empleando a un sistema de tratamientos de agua residual con la finalidad de incrementar su biomasa para luego dar paso al objetivo principal que es degradar dando como resultado la protección de las aguas especialmente de agua dulce (Ochoa, 2021).

### 2.7.2 Bioestimulación

En muchas situaciones se presentan ciertas condiciones ambientales donde se puede modificar para mejorar el proceso de biodegradación. Al emplear el proceso de bioestimulación se está agregando nutrientes u otras sustancias que mejoran el crecimiento y desarrollo de los degradadores en ciertos casos la bioestimulación tiene mejores ventajas que la bioaugmentación



dado que los nutrientes son elementos fundamentales en la biodegradación efectiva de los contaminantes. Es decir, el proceso involucra una mezcla de poblaciones de microorganismos interrelacionadas y donde también es necesario identificar y seleccionar los mejores organismos por su gran capacidad de purificar y degradar aguas residuales (Sayed et al., 2021).

### 2.7.3 Fitorremediación

La fitorremediación implica el uso de procesos biológicos para eliminar o biotransformar los desechos contaminantes de las aguas residuales, mediante el uso específico de consorcios de microorganismos fotosintéticos (Dominguez et al., 2020).

De acuerdo con (Molina, 2016). La fitorremediación con microalgas aprovecha la cinética de consumo de nutrientes de estos microorganismos para eliminar contaminantes como el nitrato, amoníaco también pueden eliminar metales pesados. Además, el beneficio de utilizar microalgas en procesos de fitorremediación no solo se manifiesta en bajas concentraciones de N y P y otros contaminantes en el efluente, sino que también tendrá una alta concentración de oxígeno. Finalmente, la utilización de esta tecnología determina una alternativa sustentable y de bajo costo para mejorar el ecosistema afectado por contaminantes, ya sean naturales y antropogénicas (Mendarte et al., 2021).

#### Ventajas de fitorremediación

- Sostenibilidad ambiental: es una buena solución ambientalmente sostenible por lo que utiliza microorganismos naturales para descomponer o absorber contaminantes sin generar residuos tóxicos enfocándose en el bienestar del ambiente y del ser humano.
- Adaptabilidad: las microalgas tienen la capacidad de adaptarse a diferentes tipos de contaminantes y condiciones ambientales, lo que hace que esta técnica sea ampliamente utilizada en diferentes escenarios.

- Combinación con otras técnicas: la ficorremediación es compatible con otros métodos de remediación, lo que permite enfoques integrados y una mayor eficiencia del tratamiento en áreas muy contaminadas.
- No produce emisiones adicionales: el uso de microalgas en la ficorremediación no genera emisiones adicionales de gases invernadero, lo que contribuye a un menor impacto ambiental (Mendarte et al., 2021).

## 2.8 Microalgas

Las microalgas son organismos fotosintéticos que se diferencian por su tamaño, ya que oscilan entre 2 y 20  $\mu$ , suelen producirse en el agua, su crecimiento es mucho más rápido o más elevado que las plantas, estas tienen la capacidad de almacenar nutrientes, así como convertir fuentes orgánicas o energía solar como CO<sub>2</sub> biomasa (Guzmán et al., 2021).

Las microalgas pertenecen al grupo de los organismos fotosintéticos, es decir, utilizan la energía solar para producir compuestos orgánicos. Específicamente, tienen la capacidad de convertir la energía solar y de carbono en biomasa. Además de la luz solar, el desarrollo de las microalgas requieren de nutrientes, como el fósforo, el carbono y el nitrógeno (Guzmán et al., 2021).

Un gran número de especies han sido identificadas para este propósito algunas de ellas se denominan hiperacumuladoras debido a su gran capacidad para acumular metales pesados.

Algunas especies de microalgas pueden reproducirse tanto sexual como asexualmente, y otras especies combinan las dos reproducciones, lo que les otorga una adaptabilidad única para enfrentar diferentes condiciones ambientales. El ciclo de reproducción de las microalgas es intrínsecamente influenciado por factores ambientales que afectan su desarrollo y comportamiento. cambios en la disponibilidad de nutrientes, temperatura del agua, la intensidad

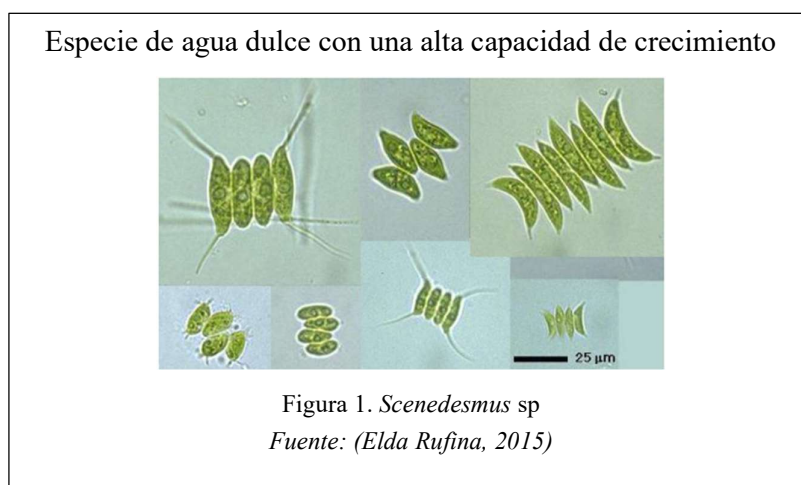
de la luz solar, y otros aspectos del medio ambiente que pueden influir significativamente en los ritmos reproductivos de estos microorganismos (Acurio & Arciniegas, 2015).

### 2.8.1 Tipos de microalgas

Se han identificado varias especies que se emplea para la biorremediación, muchas de ellas tienen la capacidad para acumular metales pesados. Según (Jácome et al., 2021) las especies más utilizadas en los procesos de biorremediación de aguas residuales son: *Scenedesmus* sp, *Espirulina* sp, *Chlorella* sp, y *Pseudochlorella* sp. (*P. pringsheimii*) por lo que tienen alta eficiencia en la remoción y tolerancia de metales pesados como el cromo especialmente de forma trivalente, que se usa en el curtido de cuero en forma de sulfato de cromo básico (BCS) el cual es un potente contaminante del suelo y el agua. Estas microalgas tiene la capacidad retener componentes químicos (p. ej., sulfato, cloruro), lo que da como resultado niveles elevados de sólidos disueltos totales (TDS), demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO) (Ortiz et al., 2018).

### 2.8.2 Microalgas más usadas para biorremediación de aguas contaminadas

#### 2.8.2.1 *Scenedesmus* sp



La microalga *Scenedesmus* sp muestra su rápido crecimiento en agua dulce, estudios muestran que tiene una fuerte adaptabilidad en las aguas residuales domésticas. El cultivo de la microalga *Scenedesmus* sp en aguas residuales domésticas tiene una alta tasa de eliminación de nitrógeno amoniacal, nitratos y fosfatos por lo que, es teóricamente aplicable como un biotratamiento de aguas residuales (Acevedo et al., 2017).

Tabla 2. Taxonomía de *Scenedesmus* sp.

<b>División</b>	<b>Taxonomía</b>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Chlorophyta.
<b>Clase</b>	Chlorophyceae.
<b>Orden</b>	Sphaeropleales.
<b>Familia</b>	Scenedesmaceae.
<b>Género</b>	<i>Scenedesmus</i> .

Fuente: (NaturalisEc, 2021)

#### 2.8.2.2 *Spirulina plantensis*

Especie que proporciona un método de eliminación de metales

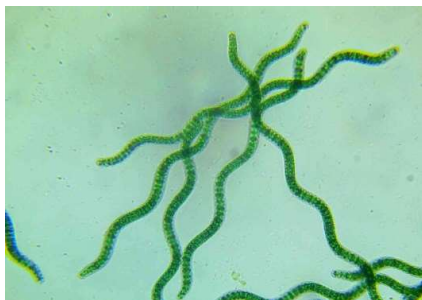


Figura 2. *Spirulina plantensis*

Fuente: (Nurul Maftuhah, 2022)

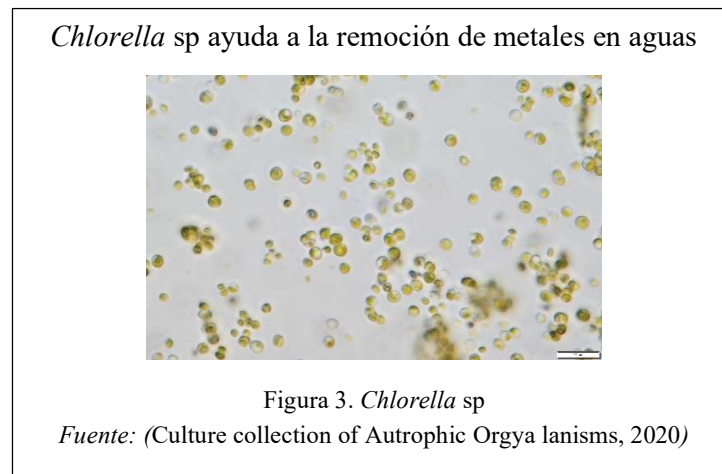
Debido a su fácil bioabsorción y biotransformación, esta especie proporciona un método alternativo de eliminación de contaminantes y es ampliamente utilizada para la remoción de metales pesados como plomo, cadmio, cobre, níquel y zinc. Esta microalga es un excelente biosorbente porque crece rápidamente y su estructura funcional contiene grupos como grupo carboxilo, grupo hidroxilo, sulfato, entre otros grupos cargados los cuales son encargados de unir metales pesados (Chulle et al., 2022). De igual manera y como lo menciona (Maldonado, 2019) esta especie de microalga es una indicadora importante para evaluar la toxicidad del ambiente acuático, se ha observado que al momento que cambia su morfología, los niveles de clorofila, actividad enzimática y metabolismo están en presencia de metales pesados.

Tabla 3. Taxonomía *Spirulina plantensis*

<b>División</b>	<b>Taxonomía</b>
<b>Reino</b>	Bacteria
<b>División</b>	Cyanophyta
<b>Clase</b>	Cyanophyceae
<b>Orden</b>	Spirulinales
<b>Familia</b>	Spirulinaceae
<b>Género</b>	<i>Spirulina.</i>

Fuente: (Naturalista, 2020)

### 2.8.2.3 *Chlorella* sp



*Chlorella* sp es una microalga unicelular, se desarrolla tanto en condiciones autótrofas como heterótrofas, esta microalga es elegida para distintos procesos de biorremediación debido a que su pared celular está constituida de una mezcla compleja de azúcares, glucosamina, proteínas y ácido úrico, así mismo es capaz de eliminar altas concentraciones de contaminantes como fertilizantes, detergentes, pesticidas, metales como el cadmio, cromo, zinc, mercurio, hierro de esta manera la toxicología que generan estos metales se disminuye evitando la contaminación.

Estudios realizados por (Jácome et al., 2021) la especie *Chlorella* sp ayuda a la remoción de cromo hexavalente y total (Cr), también contribuye a la remoción de nitritos y nitratos y del mismo modo ayuda a la biodegradación de sulfatos, fosfatos contribuyendo a la mejora en la DQO, la cantidad de sólidos disueltos y totales.

Tabla 4. Taxonomía de la *Chlorella* sp.

<b>División</b>	<b>Taxonomía</b>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Chlorophyta
<b>Clase</b>	Trebouxiophyceae
<b>Orden</b>	Chlorellales
<b>Familia</b>	Chlorellaceae
<b>Género</b>	<i>Chlorella</i>

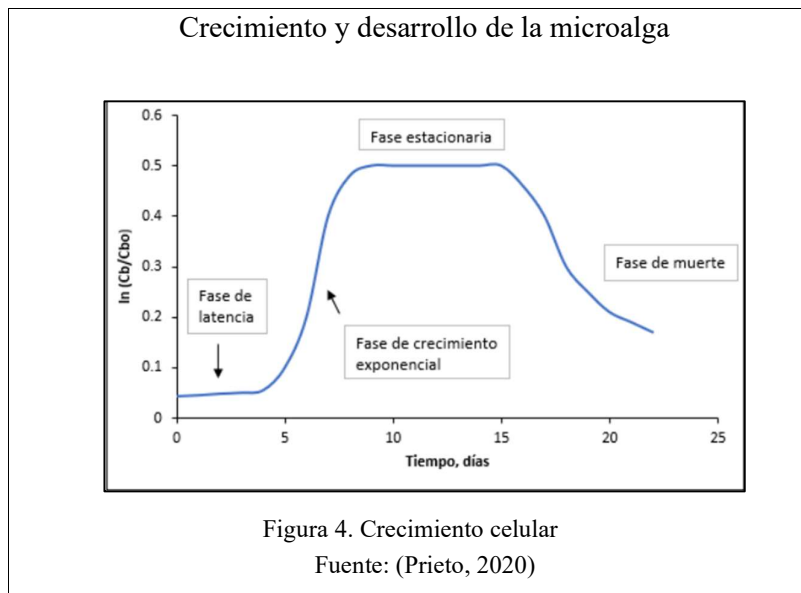
Fuente: (Pachay, 2017)

### 2.8.3 *Diatomeas*

Bacillariophyta conocidas comúnmente como diatomeas, son organismos fotosintéticos muy abundantes junto con los dinoflagelados. Estos pueden hallarse tanto en ambientes marinos como de agua dulce, en formas plactónicas y ventónicas. Las diatomeas forman un grupo numeroso dentro de los protistas y su actividad fotosintética libera más oxígeno que todas las selvas tropicales combinadas (Casa, 2020).

La reproducción de las diatomeas se lleva a cabo mediante división celular simple. durante este proceso, las valvas de la célula madre se transforman en las epitecas de las células hijas, y cada célula hija produce una nueva hipoteca. como resultado de esa división celular una de las células hijas tiene el mismo tamaño que la célula madre, mientras que la otra es más pequeña (Mercado & Álvarez, 2022).

## 2.9 Fases de crecimiento celular de las microalgas



Las Fases de crecimiento de un cultivo de microalgas se definen por el número de células presentes en un tiempo determinado y por las condiciones del medio de cultivo.

- Fase de adaptación o latencia: Durante la etapa inicial el aumento de la densidad celular es limitado, ya que se trata de un período en el que las células se están adaptando a las nuevas condiciones del entorno. Muchas enzimas metabólicas pueden volverse inactivas, y las concentraciones de componentes celulares disminuyen a niveles que afectan la división celular. por lo tanto, las microalgas requieren de un breve periodo para aclimatarse al ambiente acuático
- Fase de crecimiento exponencial: En esta fase la tasa de división celular aumenta progresivamente con el tiempo, el incremento de microalgas se debe a que las células están aprovechando los nutrientes presentes en el medio y su reproducción asexual se encuentra en un estado activo. Esta fase exponencial puede manifestarse entre el segundo y tercer día después de haber inoculado el medio con las microalgas.



- Fase estacionaria: En esta fase hay un equilibrio entre el factor limitante y la tasa de crecimiento, lo que significa que las densidades celulares se mantienen de manera relativamente constante durante un periodo prolongado. esta fase puede ser de corta duración en cultivos donde los nutrientes son consumidos y no se reemplazan. durante este periodo las microalgas logran mantener una población estable a pesar de la escasez de nutrientes, ya que la velocidad de crecimiento se iguala con la limitación de recursos, lo que resulta en una estabilidad temporal de la densidad celular.
- Fase de declinación o muerte: En esta fase las células experimentan una restricción total debido a la escasez de nutrientes, lo que provoca una rápida disminución en la densidad celular. durante este periodo, las microalgas liberan azúcares, proteínas y lípidos, los cuales pueden ser aprovechados en ciertos casos por bacterias oportunistas que se alimentan de ellos, desplazando así a la población de microalgas que siga viva, pero eventualmente colapsa rápidamente (García et al., 2017).

#### 2.10 Consorcio microalgal

Un consorcio microalgal mezcla de diferentes especies de microalgas que coexisten en un mismo ambiente o sistema. Es similar al concepto de consorcio microbiano, pero se enfoca específicamente en las comunidades de microalgas, las microalgas pueden ser eucariotas y también se puede agrupar a las cianobacterias procariotas, que para su crecimiento y desarrollo requieren de luz y compuestos inorgánicos que contienen fósforo y nitrógeno (Lobos, 2019).

#### 2.11 Condiciones de cultivo

La elección de las especies de microalgas para el cultivo depende directamente del destino o propósitos que desee asignar a la biomasa cosechada (p. ej., alimento, pigmento) y/o si el cultivo se utilizará en biorremediación.

Para que las microalgas realicen funciones de biorremediación en cultivo, se deben cumplir tres condiciones: Elevada tasa de crecimiento; adaptación a los cambios estacionales, así como los diurnos cuando los sistemas están abiertos; para establecer una simple cosecha de acuerdo a su capacidad de formar agregados. Además, elevados niveles de componentes celulares valiosos, como los lípidos para la producción de biodiesel, de la misma manera, un sistema cerrado puede lograr cultivos mono específicos aislados del medioambiente (Hernández & Labbé, 2014).

#### 2.11.1 Luz o fotoperiodo

La intensidad de la luz es uno de los parámetros más importantes a considerar para las plantas, si no hay restricción de alimentos, la fotosíntesis aumenta con el aumento de la intensidad de la luz para alcanzar una tasa específica de crecimiento de cada tipo en el lugar de la luz. La fotoinhibición es causada por efectos negativos en las células individuales e incluso por la muerte, lo que significa pérdida de la eficiencia de la fotosíntesis y del rendimiento del cultivo. (Santos, 2017).

#### 2.11.2 Temperatura

La temperatura adecuada para un excelente desarrollo microalgal por lo general se encuentra entre 28 y 35 °C, por lo que, Al aumentar la temperatura aumenta proporcionalmente la biomasa algal hasta alcanzar la temperatura óptima de cada especie. Por encima de esta, aumenta la respiración y la fotorrespiración reduce la productividad global (Hernández & Labbé, 2014).

#### 2.11.3 pH

Factores como la productividad de las algas, la respiración, la alcalinidad media, la composición iónica, la actividad microbiana autótrofa y heterótrofa y la eficiencia del sistema de adición de CO<sub>2</sub> se ven influenciados directamente por el pH del cultivo. Al igual que con otros parámetros, cada especie requiere un rango de pH específico para un crecimiento óptimo. Agregado en un

medio de cultivo su rango óptimo está entre 6.5 y 7.5 para que se desarrolle adecuadamente (Hernández & Labbé, 2014).

#### 2.11.4 Aireación

Garantiza una distribución uniforme de las células y los nutrientes en el cultivo, permitiendo un mejor aprovechamiento de los recursos. Mejora la distribución de la luz entre las células para asegurar que permanezcan activas en la fotosíntesis, evitando que se sedimenten y previniendo la estratificación térmica.

#### 2.11.5 Nutrientes

“El nitrógeno es el nutriente más importante para las microalgas (después del carbono) y se incorpora como nitrito o nitrato de potasio ( $\text{NO}_3$ ) o como amonio ( $\text{NH}_4^+$ ).

El fósforo es esencial para muchos procesos celulares, tales como la formación de ácidos nucleicos y la transferencia de energía. Aunque el contenido de fósforo de las microalgas es inferior al 1 %, su carencia en las condiciones de cultivo es una de las principales limitaciones de crecimiento. En los medios de cultivo suele incorporarse en forma de fosfato dipotásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )” (Hernández & Labbé, 2014).

Otros componentes que favorecen al medio de cultivo son: Sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4$ ) el cual intensifica el proceso de fotosíntesis y sulfato de hierro ( $\text{FeSO}_4$ ) aporta hierro en buenas cantidades.

### 3 Metodología

#### 3.1 Localización del río San Pedro

A continuación, se muestra la ubicación del lugar de la toma de muestras del río San Pedro, es necesario recalcar que todas las muestras se tomaron del mismo lugar.

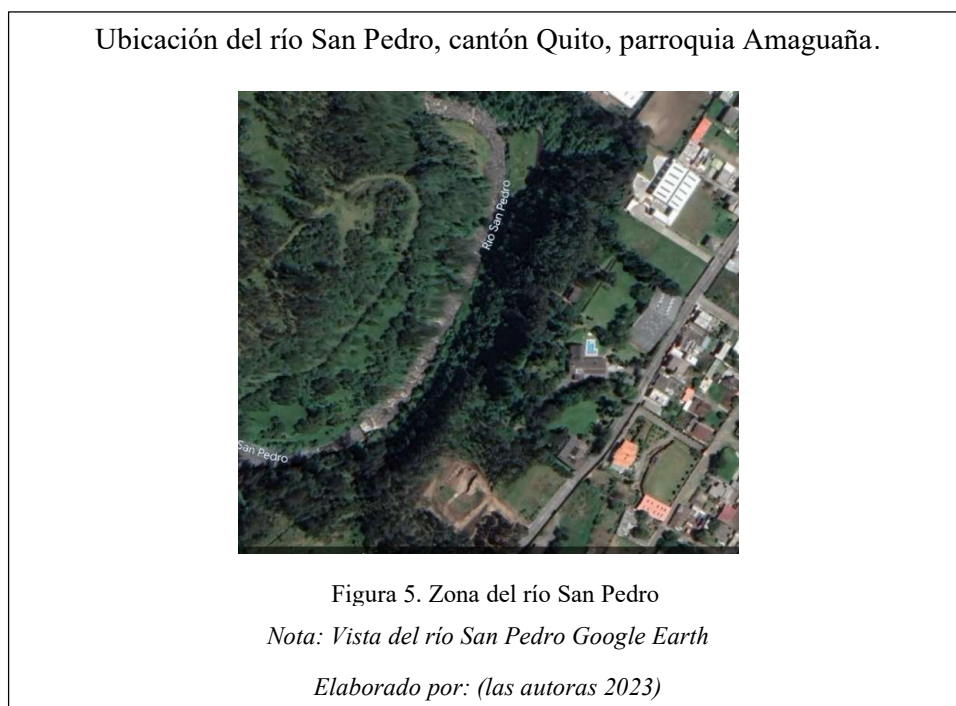


Tabla 5. Localización del río San Pedro

<b>Provincia</b>	<b>Pichincha</b>
Cantón	Quito
Parroquia	Amaguaña
Sector de la toma de muestra	Parque de Cachaco
Coordenadas	0°22'37,2" S 78°30'39.5" W
Latitud	0°22'0"S
Longitud	78°27'0"w
Altitud	2626 msnm

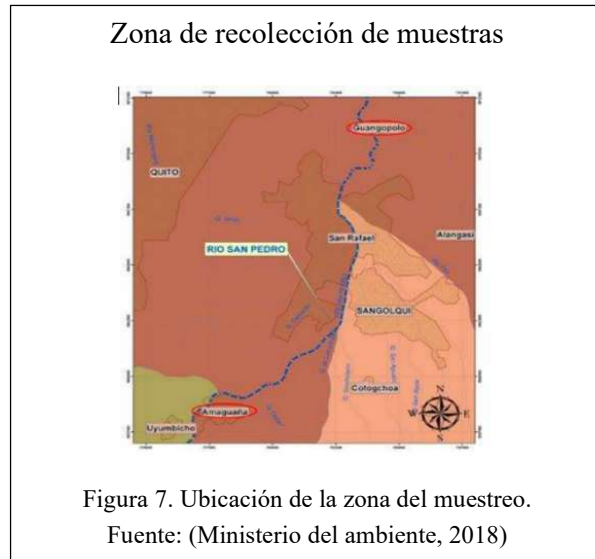
Elaborado por: (Las autoras, 2023)

### 3.2 Recolección de las muestras de Agua del río San Pedro

Se realizó tres muestreos de acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:98. Agua. Calidad Del Agua. Muestreo. Manejo Y Conservación De Muestras. (INEN, 2013). En el cual se tomaron muestras de agua del rio San Pedro en tres diferentes fechas la primera 13 de febrero, la segunda el 17 de Abril y la tercera el 2 de Mayo del 2023, la cantidad utilizada fue de 10 L aproximadamente, en el que se usó botellas las cuales se trasportaron a los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, que posteriormente se realizó análisis (Vela et al., 2019).

Para la evaluación de las muestras se obtuvo específicamente de la zona de Amaguaña sector Cachaco.





### 3.3 Preparación de los medios

#### 3.3.1 Medio de cultivo BG-11 Sólido

El medio BG-11 es específico para el cultivo de microalgas, el suministro de este medio y las concentraciones de los nutrientes inorgánicos deben estar acoplados con la producción de biomasa de forma que la aplicación suficiente de estos macronutrientes, como se menciona (Solano, 2017). Procedimiento:

1. Pesaje de los materiales (tabla 6).
2. Se mezcló 1 L de agua destilada con los materiales previamente pesados.
3. Se autoclavó la mezcla.

Tabla 6. Composición del medio de cultivo sólido BG-11.

<b>REACTIVO</b>	<b>CANTIDAD</b>
KNO <sub>3</sub>	2.10 g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g/L
(NH <sub>4</sub> ) (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ) <sup>-3</sup>	0.02 g/L
C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	0.02 g/L
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.04 g/L
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.02 g/L
C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	0.02 g/L

*Elaborado por: (las autoras, 2023)*

Condiciones de cultivo: el medio de cultivo se adecuó a una temperatura de 25 °C a 35 °C, la presencia de luz fue muy importante, ya que es el nutriente que da energía a las microalgas, la luminosidad aplicada fue de 2000 lux, lo que permite incrementar su biomasa. Finalmente se controló el pH el cual pudo estar en un rango de 6.5 y 7.5 (Sánchez et al., 2018).

### 3.3.2 Medio de cultivo BG-11 Líquido

Se preparó el medio BG-11 líquido para el cultivo de microalgas controladas de laboratorio.

Preparación:

1. Pesaje de los materiales (tabla 7).
2. Se mezcló 1 L de agua destilada con los materiales previamente pesados.
3. Se envió a autoclavar y posteriormente se usó para el incremento de biomasa de las microalgas.

Tabla 7. Composición del medio de cultivo BG-11 líquido

<b>REACTIVO</b>	<b>CANTIDAD</b>
KNO <sub>3</sub>	1g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5g/L
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2g/L
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01/L
C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	0,01g/L

Elaborado por: (las autoras,2023)

Condiciones de cultivo: Las condiciones de fotoperiodo y temperatura fueron las mismas de 2000 lux y de 25 °C a 35 °C.

### 3.3.3 Medio Chromocult agar

Para la identificación de microorganismos se utilizó Agar Chromocult, al ser un medio cromogénico diferencial combinó sus ingredientes que promovieron el crecimiento de microorganismos específicos y suprimieron el crecimiento de otros. De esta manera, posibilitó

la identificación y el recuento de colonias de microorganismos de interés (Merck Millipore, 2014).

### 3.3.3.1 Procedimiento de su preparación

- Se mezcló 13 g de Chromocult Agar y 450 mL de agua destilada estéril.
- Se dispensó el medio de cultivo en cajas Petri (para evitar contaminación se trabajó en la cabina de flujo laminar).
- Se inoculó 1000  $\mu$ L de agua de río en las cajas e incubar 24 horas a 35-37 °C.

### 3.3.4 Agua sintética

Para llevar a cabo investigaciones a escala de laboratorio existe variaciones que presenta el agua residual sintética en sus características esto debido a que contiene sustratos sintéticos. Sin embargo, para la aplicación de los tratamientos deben presentar una composición fisicoquímica igual a la del agua sintética residual y que genere los mismos procesos para cada tratamiento realizado.

Tabla 8. Composición del agua sintética.

<b>ELEMENTOS</b>	<b>CANTIDAD</b>
NH <sub>4</sub> CL	0.06 g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.05 g/L
MgSO <sub>4</sub>	0.040 g/L
CaCl <sub>2</sub>	0.030 g/L
Sal en grano sustitutivo de elementos traza	0.8 g/L

Elaborado por: (las autoras, 2023)

### Preparación del agua sintética

1. Se pesó los materiales de la tabla 8.
2. Se mezcló 1L de agua destilada con los materiales previamente pesados.
3. Se homogenizó en un frasco boeco y se ajustó el pH.



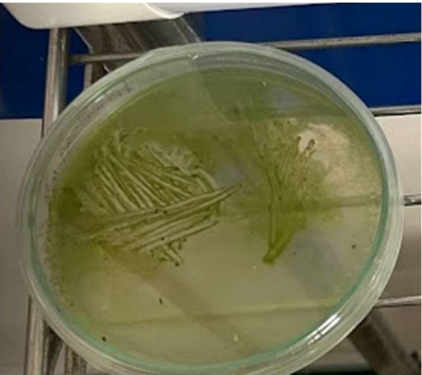
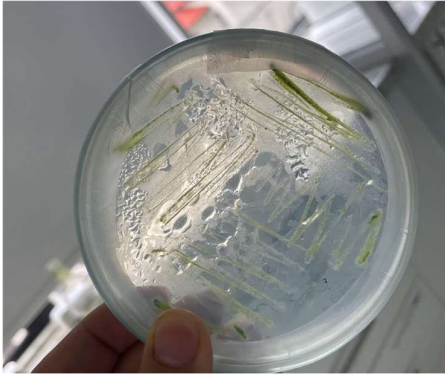
Se tomó en cuenta la condición de pH similar al del agua residual, ya que debe permanecer en un rango de 6.5 – 7.5 para el desarrollo de las microalgas y la viabilidad del mismo. Como se muestra en la tabla 8 los componentes utilizados se tomaron como referencia propuestos por (Martinez & Pascichaná, 2019).

#### 3.4 Siembra y adaptación al medio de cultivo.

Una vez preparados los medios de cultivos, se dispensó en 8 cajas con 25 mL de medio cada una, luego de su gelificación se procedió a sembrar con una micropipeta se tomó 1000  $\mu$ L de la muestra (agua residual) y se inoculó en la caja Petri, con la ayuda de un asa de vidrio se dispersó la muestra en toda la caja finalmente se etiquetó y se ubicó en un área con iluminación de 2000 lux. Tanto en la dispensación del medio de cultivo como la siembra en el medio sólido se trabajó en condiciones estériles utilizando la cámara de flujo laminar, adicionalmente se utilizó dos mecheros para evitar contaminación.

Tras un periodo de 15 días se pudo evidenciar un crecimiento de las microalgas en el medio sólido luego, se procedió a incrementar su biomasa a través de resiembras (15 resiembras). Y con la ayuda de un asa de siembra se realizó la resiembra utilizando la técnica de estriado. Una semana más tarde se evidenció nuevamente un crecimiento lo que permitió incrementar su biomasa en volumen y se traspasó al medio líquido todo este procedimiento se realizó en la cabina de flujo, con esta metodología permitió realizar los escalamientos posteriores.

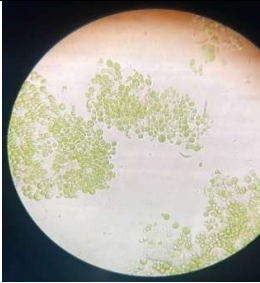
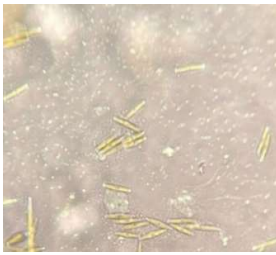
Tabla 9. Siembra y Resiembra microalgal.

Obtención de las microalgas	Resiembras microalgal
	
Elaborado por: (las autoras, 2023)	

### 3.5 Identificación de las microalgas y microorganismos.

Para identificar las microalgas se usó un microscopio de marca “Nikon”, y con la ayuda con de un asa de siembra, se tomó una cantidad aceptable y se colocó en el portaobjetos, posteriormente se observó con una amplificación de 100X, finalmente se determinó dos especies.

Tabla 10. identificación de las microalgas.

Descripción microscópica	
	
<p>Color: verde Forma: redonda Organización: forma de Colonias. Tamaño: 2-6 <math>\mu\text{m}</math></p> <p>Microalga: <i>Chlorella</i> sp observada al 100x</p>	<p>Color: café Forma: alargada Organización: dispersas Tamaño: 3-6 <math>\mu\text{m}</math></p> <p>Microalga: <i>Diatomeas</i> sp, observada a100x</p>

Elaborado por: (las autoras,2023)

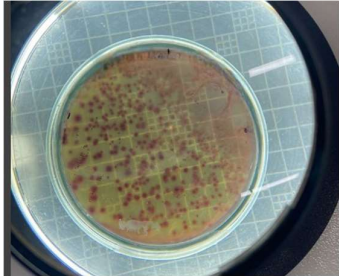
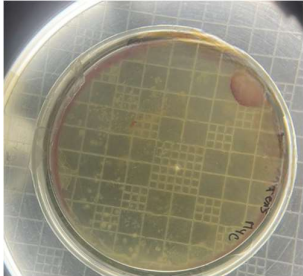
Una vez identificadas las microalgas existentes en el río, se escogió la *Chrollera* sp. Por su elevada densidad celular capaz de absorber y acumular contaminantes del agua.

### 3.5.1 Identificación de microorganismos

Se realizó el análisis microbiológico con el testigo (muestra del agua de río San Pedro) para identificar qué tipo de microorganismos se encuentra presente en las muestras del agua.

Para la identificación de microorganismos se usó un contador de colonias, en el cual se identificó coliformes totales.

Tabla 11. Identificación de microorganismos.

Descripción macroscópica	
Coliformes totales	Bacterias heterótrofas
	

Elaborado por: (las autoras,2023)

Para el segundo análisis, se empleó la técnica ISO 9308-1 como guía para evaluar la descarga en cada placa y determinar hasta qué fase está contaminada (Plúas et al., 2020).

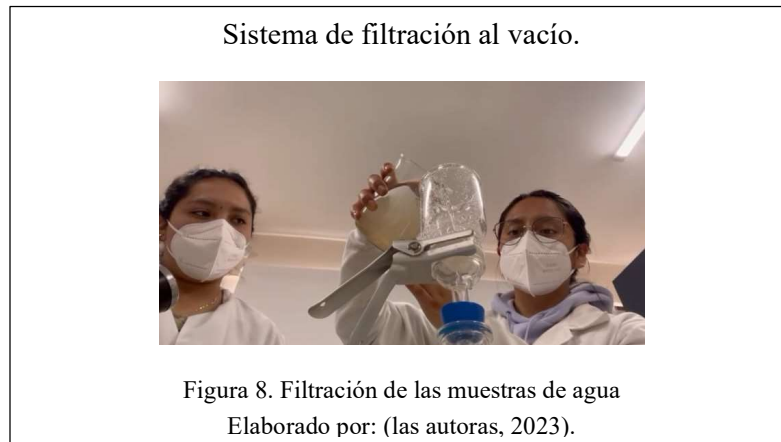
- Se preparó 36 tubos con 9 mL de agua destilada rotulados con  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ .
- Se vortexió para homogenizar el agua y asegurar una dispersión uniforme.
- Se tomó 1  $\mu\text{L}$  de la muestra con una micropipeta.
- Se vertió el contenido en el primer tubo, posteriormente se vortexió por 30 segundos y con otra punta se tomó 1  $\mu\text{L}$  del mismo tubo para pasar al siguiente, de esta manera se llegó a una dilución de  $10^{-3}$ .

- Cada tubo de ensayo tuvo que estar diez veces más diluido, comenzando por el tubo sin diluir. El primer tubo inició con una dilución de 1:10, el segundo de 1:100, el tercero de 1:1000 (Merck Millipore, 2014).

### 3.6 Caracterización de nitratos y amoníaco de las muestras del rio San Pedro

#### 3.6.1 Nitratos

Para realizar las mediciones de nitratos, se analizó cada semana las concentraciones de nitratos en los tratamientos.



Se inició filtrando las muestras del agua del río, en el que se midió la concentración total de nitratos presentes en las aguas residuales.

Primero se tomó 10 mL del agua filtrada del río más la prueba rápida de nitratos (anexo), la cual se agitó por 1 minuto y se dejó reposar por 5 min para que los nitratos se concentren con el agua filtrada. Es importante mencionar que la concentración inicial fue muy alta por lo que se aplicó una dilución disminuyendo 20 veces su concentración.

$$\frac{10 \text{ mL}}{0.5 \text{ mL}} = 20$$

$$\frac{5.2NO_3 - N}{L} * 20 = \frac{104mg NO_3 - N}{L}$$

Ecuación 1. Factor de dilución  
Elaborado por: (las autoras, 2023)

Donde

5.2NO<sub>3</sub>-N= absorbancia de nitratos.

20= número de veces diluido.

Al obtener los cálculos se aplicó 9.5 mL de agua destilada más 500 µL de la muestra microalgal filtrada, por último, se ubicó en el equipo HACH.

Equipo HACH 900



Figura 9. Equipo HACH  
Elaborado por: (las autoras, 2023)

Para obtener el porcentaje de remoción se aplicó la siguiente fórmula puesto que los valores obtenidos por el equipo HACH fueron en absorbancias:

$$\text{Para sacar el porcentaje } R = \left( \frac{CO - CF}{CO} \right) * 100\%$$

Donde:

Co=concentración inicial

Cf=concentración final

R=Remoción

Ecuación 2. Porcentaje de remoción

Elaborado por: (las autoras, 2023)

### 3.6.2 Amoníaco

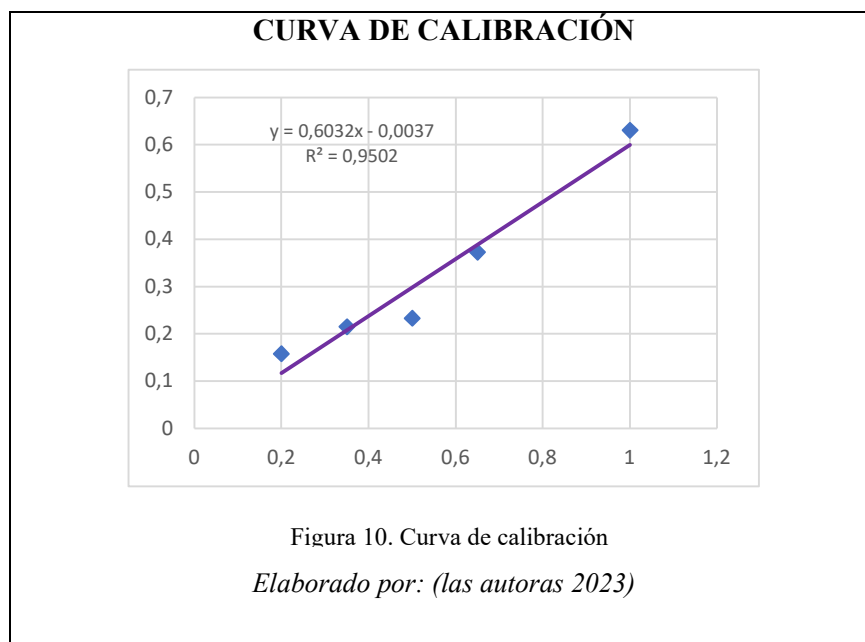
Se utilizó la técnica de Nessler (Anexo 2) para determinar la concentración de las microalgas en las muestras obtenidas del río, es fundamental utilizar la curva de calibración para establecer un rango de referencia y de validez de esa manera analizar el comportamiento en los siguientes controles.

Para elaborar una curva de calibración se divide en dos etapas: la primera preparación de las diluciones de la muestra microalgal y preparación de la muestra blanco obteniendo, así una recta de calibración. Valores de concentración mediante el equipo HACH 900 las cuales permitieron tener un rango específico para los siguientes resultados (Perdomo, 2017).

Tabla 12. Absorbancias

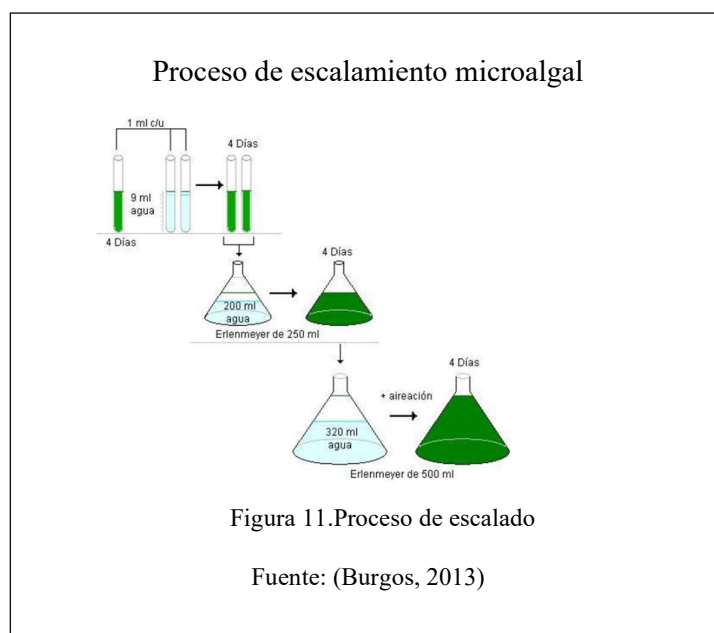
<b>N</b>	<b>Amoníaco NH<sub>3</sub>-N</b>	<b>ABSORBANCIA</b>
1	1	0,58
2	0,85	0,45
3	0,65	0,27
4	0,5	0,133
5	0,35	0,185
6	0,2	0,13

Elaborado por: (las autoras, 2023)



### 3.7 Escalamiento de las microalgas

Luego de que las microalgas se adaptaron al medio líquido de los tubos (10 mL), se procedió a escalar a volúmenes más altos y para el primer escalamiento se utilizó Erlenmeyer estéril de 250 mL, en el cual se vertió el cultivo líquido de los 7 tubos, todo el proceso de escalado se trabajó en una cámara de flujo laminar y se ubicó una gasa estéril para evitar su contaminación.



Luego de una semana se realizó el segundo escalamiento para ello se utilizó un Erlenmeyer estéril de 500 mL, en el cual se colocó el inóculo anterior o inicio de 250 mL más 250 mL de medio de cultivo BG-11 preparado con anterioridad, adicionalmente se aplicó aireación para mayor homogeneidad y para que no presente sedimentación.

### Escalamiento secundario a 500 mL



Figura 12. Proceso de trasvasado.

Elaborado por: (las autoras 2023)

Para el tercer escalamiento a un volumen de 1000 mL, se lo realizó después de 10 días, para lo cual se utilizó un Erlenmeyer de 1000mL en el cual se vertió 500 mL de la muestra microalgal obtenido en el escalamiento secundario más 500 mL de medio líquido BG-11, posteriormente se dejó 20 días para que se desarrollaran e incrementaran su biomasa, de igual manera se aplicó aireación constante las 24 hrs.

### Escalamiento final del proceso de escalamiento



Figura13. Escalamiento microalgal

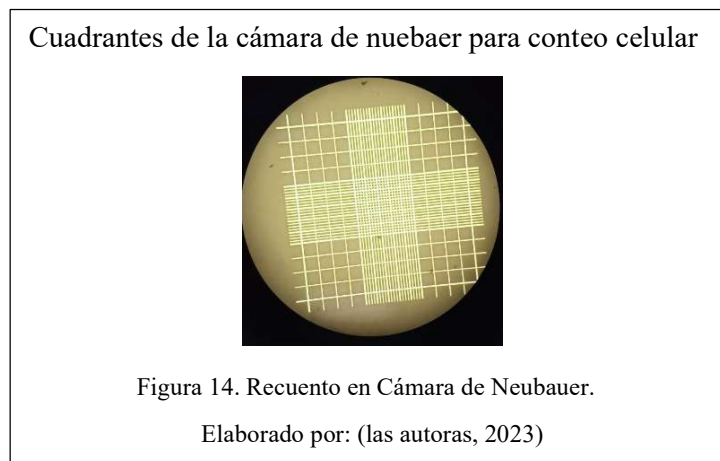
Elaborado por: (las autoras,2023)



### 3.8 Cinética de crecimiento.

Para evaluar el crecimiento microalgal se implementó la cámara de Neubauer para el recuento de microalgas, en la cual se tomó 10  $\mu\text{L}$  de la muestra a analizar y con la ayuda de una micropipeta se colocó en los cuadrantes de la cámara, la cual se ubicó en el microscopio con el lente de 40X y se contó los 4 cuadrantes de dicha cámara, estos cuadrantes constan de 16 cuadrados con aristas de 0,25 mm. El cuadrado central grande está dividido en 25 cuadrados medianos con aristas de 0,2 mm, en el cual cada cuadrado mediano está dividido en 16 cuadros centrales con lados de 0,2 mm, cada orificio central se divide en 16 cuadrados con bordes de 0,05 mm y 42 áreas con un área de 0,0025  $\text{mm}^2$ .

El recuento se realizó en el cuadrado más grande del medio, que se usó para las células más pequeñas, en este caso las microalgas, mientras que en los otros cuadrantes para células grandes (Cartagena & Malo, 2017).



#### Procedimiento sin dilución

- Se usó cada muestra, previamente homogenizada de cada tratamiento.
- Con una micropipeta se tomó 10  $\mu\text{L}$  para depositar dos gotas y llenar la cámara de Neubauer.

- Se observó al microscopio iniciando con el lente de 100X de esa manera hasta llegar al lente de 40X con el que se procedió a contar.
- El registro se lleva contando las células que se encuentran dentro de cada cuadrícula marcadas como A, B, C Y D.
- Se obtuvo su promedio aplicando la ecuación sin dilución.

Procedimiento con dilución:

- Si la concentración de las muestras era elevada y no se podía contar, se realizó el proceso de dilución, el cual consistía en tomar 9 mL de agua destilada y 1000 µL de la muestra del tratamiento aplicando el factor de dilución de 10 veces.
- Si la concentración de las muestras es elevada y es imposible contar, se realiza el proceso de dilución el cual consiste en tomar 9 mL de agua destilada y 1000 µL de la muestra del tratamiento aplicando el factor de dilución de 10 veces.
- Para el conteo se sigue el mismo procedimiento planteado anteriormente.
- Y para obtener su promedio se utilizaron las fórmulas de dilución.

Fórmulas de la Cámara de Neubauer

$$DC = (N \text{ microalgas contadas}) * 10^4 * (\text{factor de dilución})$$

Ecuación 3. Fórmula de densidad celular original

$$Fd = \frac{Vf}{Vmuestra}$$

Ecuación 4. Fórmula con dilución

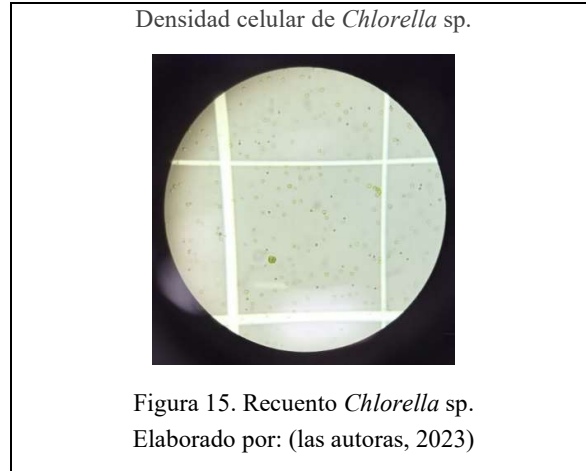
$$N = \frac{A+B+C+D}{4} * 1$$

Ecuación 5. Fórmula sin dilución

$$DC = \frac{N}{4} \times 10^4 \times Fd$$

Ecuación 6. Densidad Celular

Elaborado por: (las autoras, 2023)



Se realizó el conteo celular usando la ecuación 3, se observó que la mayor densidad celular fue de *Chlorella* sp, mientras que las *Diatomeas* sp. No presentaron desarrollo ni concentración en el medio, por lo que finalmente se trabajó con la biomasa microalgal de *Chlorella* sp la cual alcanzo una concentración de  $9.26 \times 10^4$ .

### 3.9 Diseño experimental

Mediante la aplicación del diseño experimental completamente al azar, en el cual se realizó 4 tratamientos, con 3 repeticiones y 12 unidades experimentales.

Para implementar los tratamientos se utilizó botellas de un mismo volumen, cada tapa de las botellas tenía un orificio por donde se colocaron las mangueras, dándoles aireación constante, así como una temperatura que variaba entre 19-21 °C, luz artificial de 2000 Lux y con un pH de 8.5, y para los tratamientos en oscuridad se usó un cartón para darle apariencia de oscuridad con las demás condiciones mencionadas anteriormente.

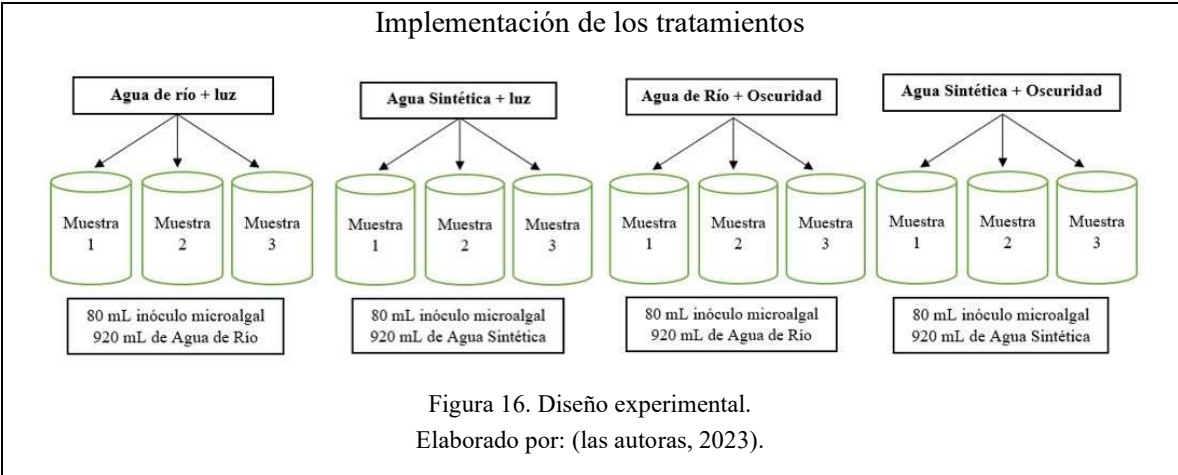



Figura 16. Diseño experimental.  
Elaborado por: (las autoras, 2023).

#### 4 Resultados esperados y discusión

##### 4.1 Caracterización y evaluación físico y químico del agua del río San Pedro.

Tabla 13. Descripción de la muestra.

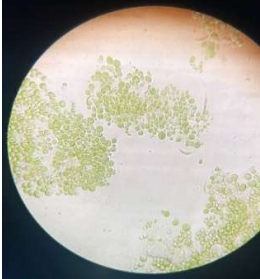
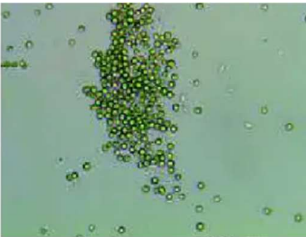
Características	Muestra del río
Color: café Apariencia: ligeramente turbia Olor: característico a maloliente. pH: 8.36 Temperatura: 18.5 °C	 <p>Imagen tomada en el laboratorio.</p>

Elaborado por: (las autoras, 2023)

La características descritas en la tabla 12 al momento de su obtención, se permitió evidenciar un suspendido a la parte inferior de forma agrupada y como describe (Acurio & Arciniegas, 2015) este agrupamiento que forman un conglomerado es donde existe la presencia de diferentes microalgas para su especificación es necesario su identificación microscópica.

## 4.2 Caracterización microscópica



Tabla 14. Identificación de la *Chlorella* sp.

Descripción microscópica	
 <p>Color: verde Forma: redonda Organización: forma de Colonias. Tamaño: 2-6 <math>\mu\text{m}</math></p>	 <p>Color: verde Forma: alargada Organización: forma de colonias. Tamaño: 8 <math>\mu\text{m}</math></p>
<p>Microalgas: <i>Chlorella</i> sp observada al 100x a nivel de laboratorio. Elaborado por: (las autoras, 2023)</p>	<p>Microalga: <i>Chlorella</i> sp, vista al 100x Fuente: (Mercado &amp; Álvarez, 2022)</p>

Como se observa la imagen tomada en el laboratorio, estas algas presentaron una organización celular amplia con pigmentos verdes fotosintetizadores con forma esféricas u ovoides y midiendo un diámetro de aproximadamente de 8  $\mu\text{m}$ .

Además, y citando a (Guamán & Gonzáles, 2016). La *Chlorella* sp suele tener un diámetro de 2 a 12  $\mu\text{m}$ , pueden presentarse de manera unicelular, colonial o filamentosa, y se encuentran ampliamente distribuidas en diferentes tipos de agua, tanto en dulce como salada, así como en el suelo y en hábitats subaéreos. Estas microalgas pueden encontrarse en forma de plancton en cuerpos de agua, en el suelo. También pueden vivir en simbiosis con otros organismos de esta manera trabajan como un consorcio para remediar aguas contaminadas.

Tabla 15. Identificación microscópica de *Diatomeas* sp.

Descripción microscópica	
 <p>Color: café Forma: alargada Organización: dispersas Tamaño: 8-12 <math>\mu\text{m}</math></p>	 <p>Color: verde Forma: alargada Organización: unicelulares Tamaño: 20 <math>\mu\text{m}</math></p>
<p>Microalgas: <i>Diatomeas</i> sp observada al 100x a nivel de laboratorio. Elaborado por: (las autoras, 2023)</p>	<p>Microalga: <i>Diatomeas</i> sp, vista al 100x Fuente: (Pilco &amp; Santander, 2022)</p>

Como se observa en la imagen tomada en el laboratorio las Diatomeas presentaron una organización dispersa con forma alargada, características similares descritas por (Pilco & Santander, 2022). Las diatomeas son seres unicelulares de tipo eucarionte, también conocidas como diatomeas pardas, que suelen tener un tamaño que oscila entre 10 y 200  $\mu\text{m}$  (0.01 a 0.2 mm). Debido a su naturaleza acuática y su capacidad fotosintética, son comúnmente clasificadas como algas.

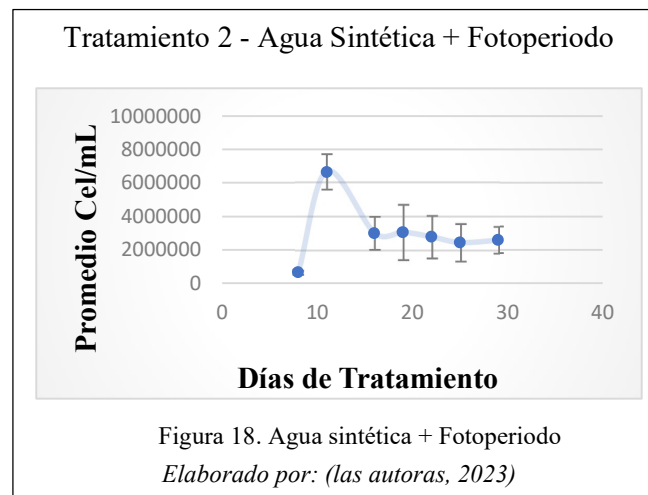
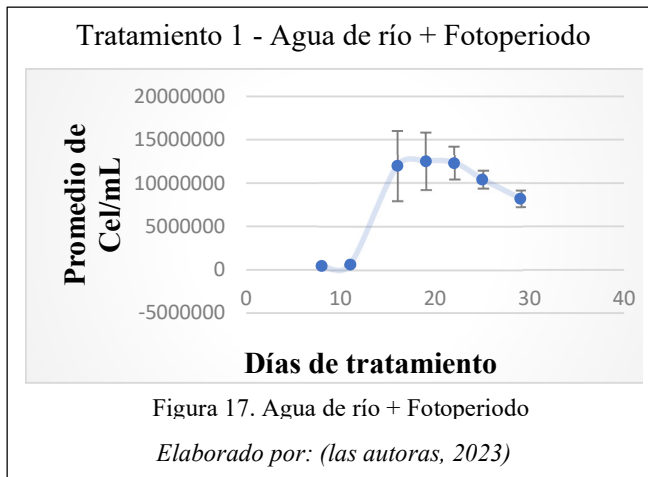
#### 4.3 Análisis de Conteo celular mediante cámara de Neubauer

Tabla 16. Densidad celular inicial

CONSORCIO MICROALGAL ALCANZADO	Cuadrantes				Densidad Celular
	A	460	C	382	
	B	480	D	530	$9.26 \times 10^4$

Elaborado por: (las autoras 2023.)

Cada semana se llevó a cabo dos recuentos semanales de microalga las para analizar su crecimiento.

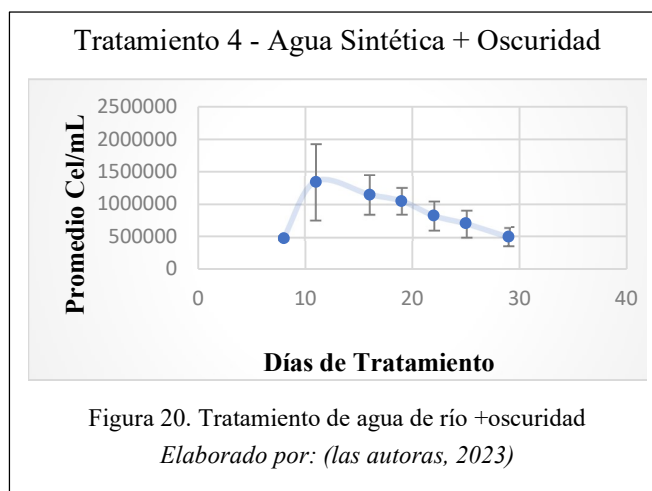
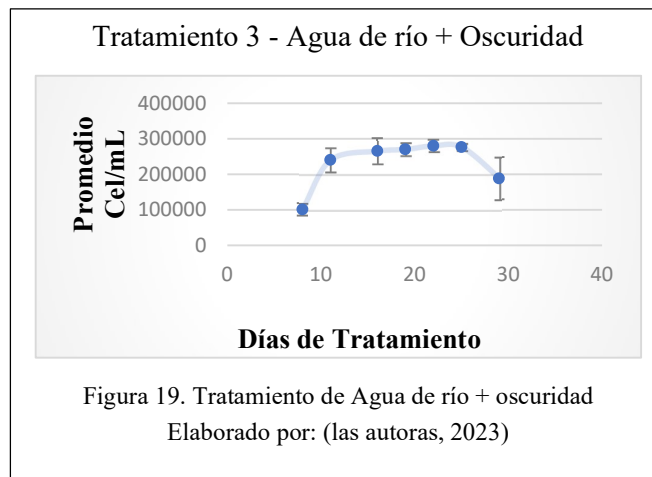


Se observa en la figura 17, el T1 (agua de río + fotoperiodo) que pasó por todas las fases de la curva de crecimiento, ya que este tratamiento tuvo que adaptarse a los diferentes contaminantes presentes en el mismo, mientras que, el T2 (agua sintética + fotoperiodo) no pasó por todas sus fases debido a que aprovechó al máximo las condiciones del medio. Se puede decir que la fase de adaptación en el T1 finalizó en 3 días, mientras que en la figura 18, el T2, no necesitó de la fase adaptativa para su crecimiento y paso directamente a la fase exponencial en el que hubo un incremento de densidad celular, el cual se presentó en un periodo de 5 días para el T1. La fase estacionaria se caracterizó por evidenciar cambios físicos (color; verde limón a café) y químicos (pH; 6.5-8 y temperatura; 18-22 °C) en el medio, solo para el T1. En cambio, la fase de muerte para el T1, expresada en la figura 17 empezó en el día 22, considerando factores como; su ciclo de vida y los más determinantes fueron; el agotamiento de nutrientes, la



inadecuada fuente de fotoperiodo y pH para su subsistencia, mientras que en el T2 la fase de muerte celular ocurrió de manera inmediata y drástica después de su fase exponencial, esta interrupción de ciclo de vida fue causado por un cambio de pH drástico y falta de nutrientes esenciales.

Analizando las curvas de densidad celular, se observó que el tratamiento con un mejor resultado fue el T1, puesto que se implementó las condiciones del medio para un desarrollo óptimo y como factor determinante fue la procedencia de las microalgas, ya que estas fueron nativas de agua de río.



Los tratamientos que fueron sometidos a oscuridad no cumplieron sus fases de crecimiento exponencial con normalidad, como se observa en las figuras 19 y 20, los dos tratamientos presentan la fase exponencial en el mismo tiempo (día 8 al 11), pasando por un proceso de adaptabilidad inmediato, ya que en esta etapa la ausencia de fotoperiodo fue un factor importante, puesto que las microalgas necesitaban de fotoperiodo para degradar los contaminantes y transformarlos en energía, según el trabajo investigativo de (Sánchez 2018) la adaptación de *Chlorella* sp al medio fue muy rápido con una duración de 24 horas a partir de la cual comienza a observarse la fase de aceleración. A partir del segundo día se incrementa la biomasa celular de manera exponencial y es ahí donde se presenta la fase de crecimiento logarítmico en el cual alcanza la velocidad máxima de crecimiento. En nuestros resultados se puede inferir que la composición del agua sintética no fue viable a largo plazo para su crecimiento.

### 4.3.1 Cálculo de análisis de varianza (ANOVA)

Para calcular el análisis de varianza, se obtuvo un promedio de la cinética de crecimiento.

Tabla 17. Análisis de varianza de un factor

RESUMEN							
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>			
Tratamiento1	3	551107500	183702500	1,7233E+15			
Tratamiento2	3	208565000	69521666,7	3,6615E+14			
Tratamiento3	3	15518750	5172916,67	5,1744E+10			
Tratamiento4	3	55817500	18605833,3	1,1035E+13			
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	5,931E+16	3	1,977E+16	37,6485709	4,5844E-05	4,06618055	
Dentro de los grupos	4,201E+15	8	5,2512E+14				
Total	6,3511E+16	11					

Se realizó el análisis de varianza de un solo factor en ANOVA, en el cual se evidenció una diferencia significativa entre los 4 tratamientos ( $p < 0.05$ ), así como en el crecimiento de su biomasa o la composición de las microalgas, según (Morocho & Gordillo, 2023) 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. En que se evidenció que existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las 3 dosis.

Según Matamoros 2022, este análisis nos permitió establecer la diferencia significativa de la viabilidad celular, la tasa de crecimientos o la producción de toxinas. Con esta herramienta de análisis se obtuvo un valor crítico de  $4,06618 < 37,6485$ , es decir, que en entre nuestros

tratamientos si se acepta la hipótesis alternativa, deduciendo que las microalgas fueron capaces de remover los contaminantes presentes en las muestras de los tratamientos.

Finalmente, con los resultados obtenidos de las gráficas (grafico) y sus respectivas barras de error nos mostró una alta variabilidad de datos al final de la fase exponencial en la figura (17) del T1, y también en la Figura (18) del T2 al igual que en la Figura (19) del T3 mientras que en la figura (20) del T4 existió una variación en la fase de muerte.

ANOVA demuestran que los tratamientos tienen diferencias entre ellos del mismo modo que el crecimiento va tener cambios significativos a la hora de observar la densidad celular

#### 4.4 Medición de nitratos y amoníaco

##### 4.4.1 Determinación de Nitratos

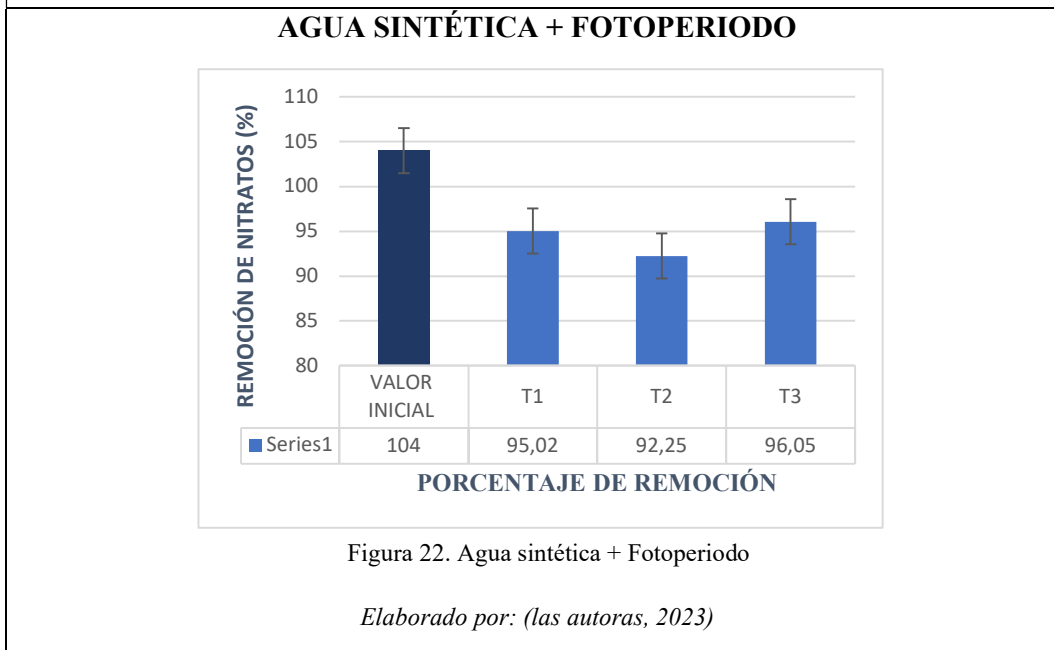
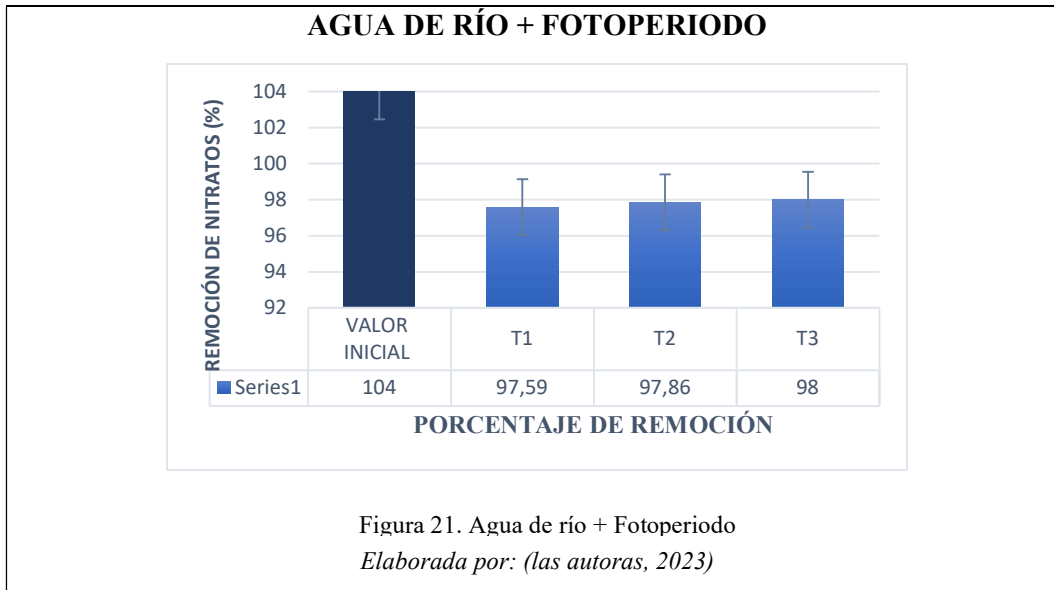
El valor inicial arrojado por el equipo HACH fue de 5,2 mg/L NO<sub>3</sub>-N en el cual al aplicar la fórmula de dilución la concentración disminuyó 20 veces y como se muestra en la tabla 18 el valor referencial fue de 104 mg/L NO<sub>3</sub>-N para los demás resultados realizados en las siguientes semanas.

Tabla 18. Cálculo inicial de Nitratos

NITRATOS INICIAL EN EL AGUA DEL RÍO	Total 104 mg/L NO <sub>3</sub> -N
--	--------------------------------------

Elaborado por: (las autoras 2023)

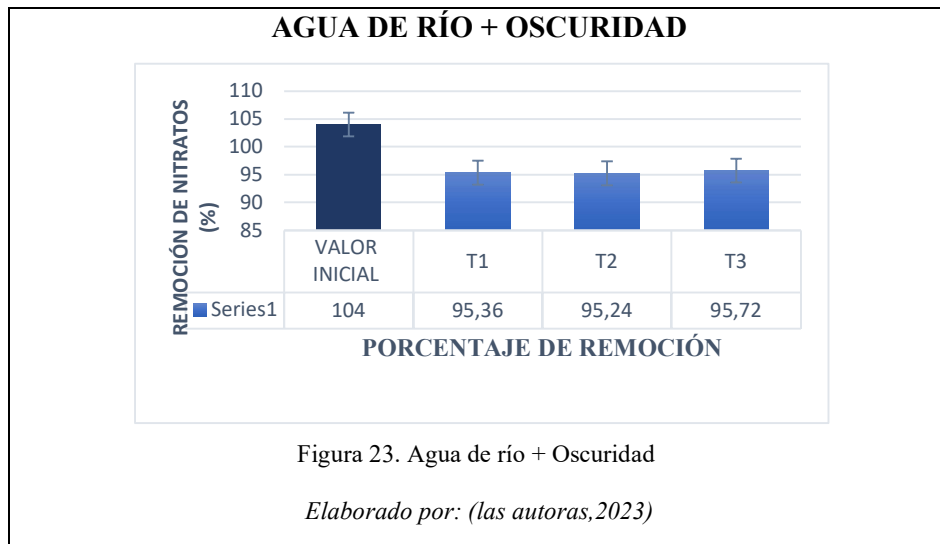
Cumpliendo con la ecuación 6 para determinar el porcentaje de remoción se estableció que: a mayor concentración de nitratos en la muestra, menor fue el porcentaje de remoción, mientras que, a menor concentración de nitratos en la muestra, mayor fue el porcentaje de remoción de nitratos y mayor viabilidad del tratamiento.

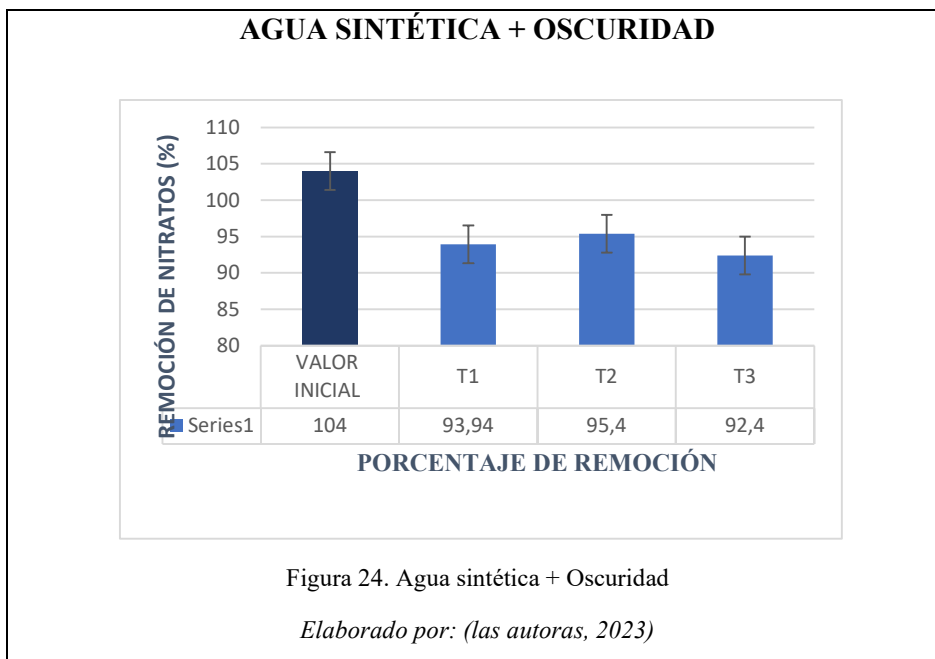


En la figura 21 se pudo interpretar que el T1 fue el más viable puesto que el porcentaje de remoción y el consumo de nitratos al finalizar el experimento fue de 97,59 % y comparando con el valor inicial tuvo un porcentaje adecuado, a su vez se observó que no hubo una gran diferencia entre los tratamientos debido a que los nitratos fueron fuente de oxígeno para las microalgas, así como lo menciona (Acurio & Arciniegas, 2015). Tanto las microalgas como los

nitrosos se relacionan, ya que estas utilizan al nitrito como fuente de nitrógeno para su crecimiento, dando así la remoción de los contaminantes. Además, cabe recalcar que las microalgas utilizaron un mecanismo más eficiente para absorber nitrógeno, en primera instancia degradaron nitritos y luego por nitratos, considerando que la conversión a la forma reducida está asociada con el consumo de energía.

En la figura 22, los 3T mostraron una remoción similar, sin embargo, el T2 tuvo un mejor porcentaje frente a los otros T, en este tratamiento no hubo una gran diferencia de remoción, ya que en la figura 20, se expresó una muerte microalgal de gran magnitud, por lo que se dedujo que el agua sintética no fue un medio eficiente utilizado en tratamientos para remover nitratos.





En la figura 24, el medio (agua sintética + oscuridad), fue el T2 aquel que tuvo el mejor porcentaje de remoción, ya que se obtuvo 95,24%, sin embargo, entre los 3T no hubo una gran variación de remoción, ya que las microalgas son fotosintéticas, mientras que en la figura 23, el medio (agua de río + oscuridad) no hubo una gran diferencia de remoción, considerando que hubo una muerte celular de la densidad microalgal. Según (God, 2020), la luz es un factor importante en los tratamientos de esta manera se analizó si este factor altera o no la remoción demostrando que en agua sintética y oscuridad si cumplen la función de remover en bajas concentraciones. Según Ortiz et al., 2021 las microalgas pueden crecer en un medio heterótrofo usando carbono orgánico de esta manera cubren la necesidad de presencia de luz. Esto tiene relación puesto que los componentes del medio sintético ayudaron; uno a que se mantenga en crecimiento la biomasa microalgal y dos realizó la función en menor porcentaje de absorber por lo tanto de remover nitratos.

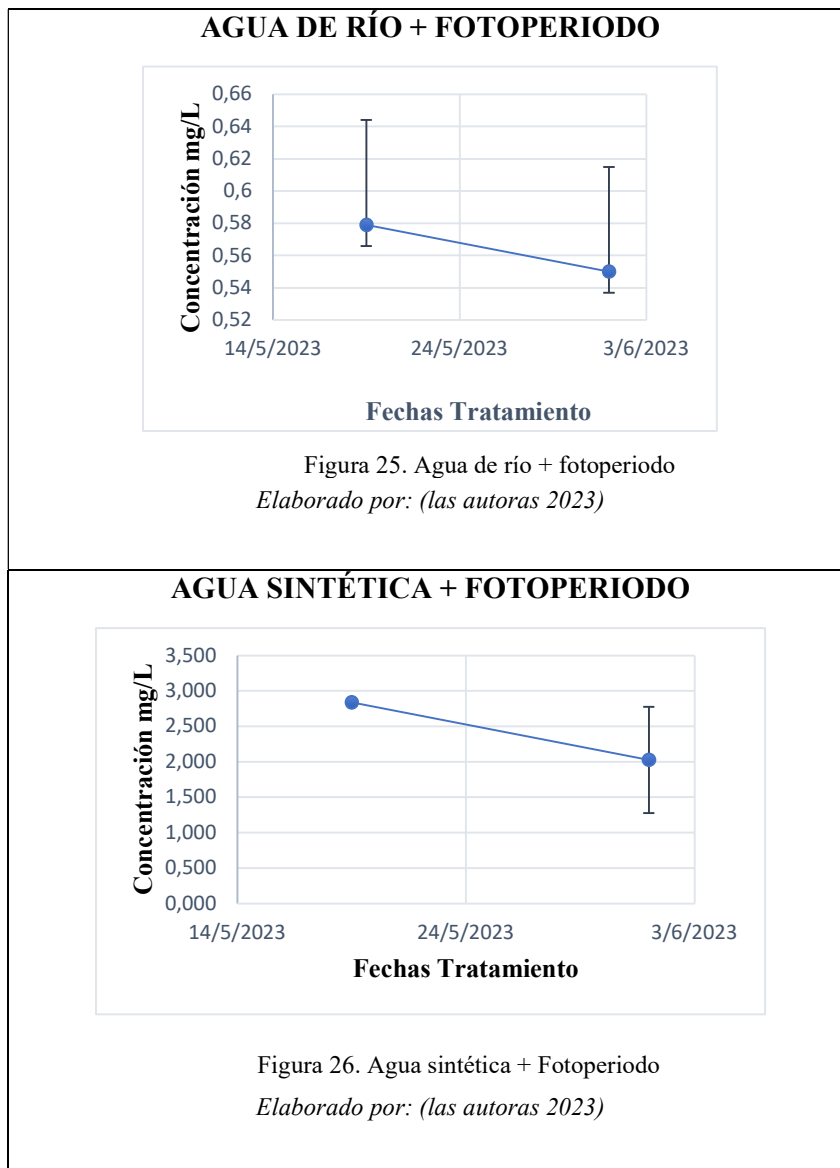
#### 4.4.2 Determinación de la remoción de amoníaco

##### 4.4.2.1 Cálculo inicial de amoníaco

Tabla 19. Medición inicial de amoníaco

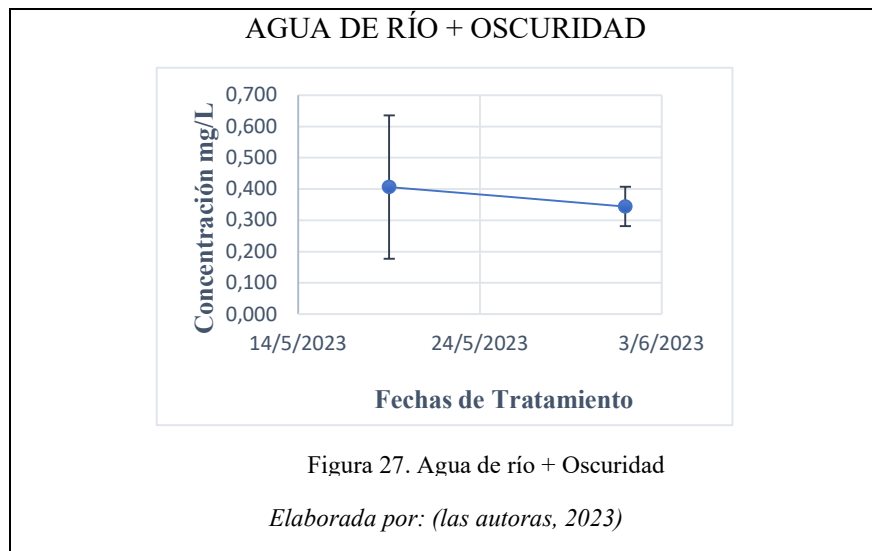
Concentración inicial en las muestras de agua de río	ABSORBANCIA
	0,338 NH <sub>3</sub> -N

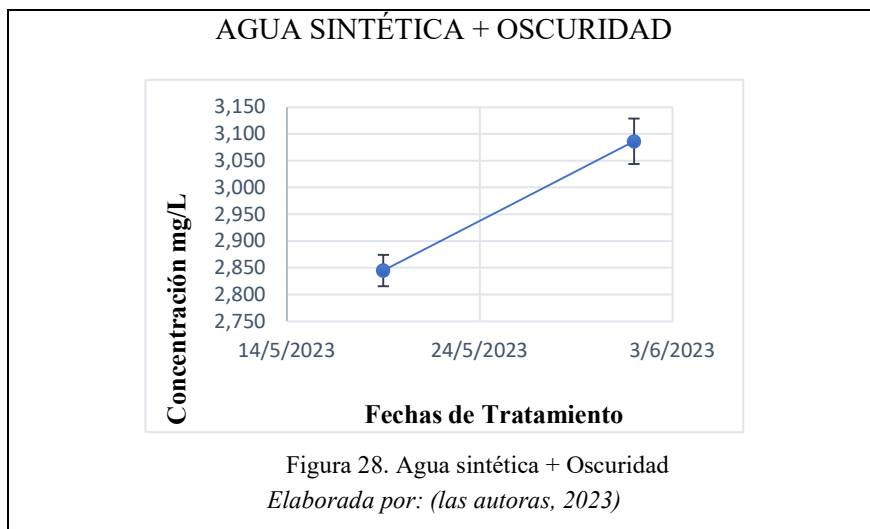
Elaborado por: (las autoras 2023)





Según (Candela, 2016) la *Chlorella* sp tiene una alta tolerancia a altas concentraciones de CO<sub>2</sub> en aguas residuales, por lo que las microalgas tienen la capacidad de absorber el amoníaco. De esta manera cumple que el T1 de figura 25 fue el mejor en remover el amoníaco, dado que, en la primera semana que se obtuvo valores de 0,58 y en la última semana arrojó valores de 0,55 mg/L, se esta manera se infiere que las microalgas cumplieron el objetivo de remover amoníaco. Mientras que en el T2 de la figura 26, en la primera semana se obtuvo valores altos de 2,8 mg/L, y en la última semana valores de 2,02 mg/L, ya que un factor importante para la remoción del amoníaco es el fotoperiodo, por lo que no cumplió totalmente función de remover el amoníaco.





En la figura 27, se muestra una alta remoción de amoníaco ya que en la primera semana arrojó valores de 0,40 mg/L, terminando con una concentración de 0.35 mg/L. mientras que en la figura 28 hubo un incremento de amoníaco debido a que la densidad celular disminuyó drásticamente, liberando toxinas, como nitrógeno, dióxido de carbono, al momento que liberó estos componentes hubo u incremento de amoníaco, llegando a alterar también pH del medio. Según (Beltrán et al., 2017) es importante asumir que la eliminación de metales por medio de las microalgas ya que fueron controladas por recepción celular, al aumentar el pH, afecta la disponibilidad de nutrientes, así como el aumento dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

## 5 Conclusiones

- El consorcio microalgal nativa de las muestras de agua del río San Pedro cultivado alcanzó una gran densidad celular de  $9,26 \times 10^4$  Cel/mL fue viable para la ampliación en los tratamientos determinando alta tasa de crecimiento, tolerancia a la variabilidad de los medios y capacidad de remediar contaminantes de agua residuales.
- Los tratamientos más viables para la biorremediación de aguas residuales fueron los tratamientos: T1 (agua de río más fotoperiodo) para nitratos con valores de 97.59 mg/L y para amoníaco fue el T1 (agua de río más fotoperiodo) con concentración final de 0.55 mg/L.
- Las microalgas fueron extremadamente versátiles y se adaptaron a diferentes condiciones del medio pueden crecer en agua dulce o salada, y en diferentes niveles de pH y temperaturas. Esto las convierte en candidatas ideales para la biorremediación en una amplia variedad de entornos contaminados.
- La investigación presente arrojó resultados favorables en presencia de fotoperiodo ya que, si hubo cambios significativos en la remoción de los contaminantes, mientras que ausencia de fotoperiodo no hubo una variabilidad significativa, por lo tanto, no se presentó una alta remoción de nitratos y amoníaco.
- Finalmente, la aplicación de *Chlorella* sp ofrece una doble funcionalidad, puede ser empleada tanto en el tratamiento de aguas residuales como en la eliminación de nutrientes. Además, posibilita la producción de biomasa algal, que posteriormente puede ser utilizada para diversos fines biotecnológicos, tales como la generación de biocombustibles, biofertilizantes, suplementos alimenticios, entre otras posibilidades.

## Recomendaciones

- Analizar otros contaminantes que pueden estar presentes en las aguas residuales puesto que se observó viabilidad en los tratamientos las microalgas pueden remover otros contaminantes que causen daño al medio ambiente y a la salud del ser humano.
- Para futuras investigaciones de biorremediación con el uso de microalgas para aguas residuales, se recomienda aumentar la cantidad del inculo microalgal a las muestras para la descomposición de los metales tales como: nitratos y amoníaco en los tratamientos realizados.
- Para la recolección de las muestras, se buscará puntos más accesibles que facilite el ingreso del técnico a las zonas de muestreo, además se debe tomar muestras de distintos puntos del río de esa manera se analizaría en que ubicación se encuentra con mayor contaminación debido a las actividades antropogénicas causadas por el hombre.
- Realizar un monitoreo regular por lo que los análisis microbiológicos son esenciales en los sistemas de tratamiento de aguas residuales para controlar y mantener bajos los niveles de bacterias coliformes y otros microorganismos patógenos de esta manera se garantiza la seguridad y la calidad del agua.

## 6 Bibliografía

- Acevedo, S., Pino, N., & Peñuela, G. (2017). Remoción de nitrógeno, fósforo y producción de biomasa de *Scenedesmus* sp en agua residual domestica. *Ingeniería y Competitividad*, 19(1), 185–193.  
[https://www.researchgate.net/publication/320502930\\_Biomass\\_production\\_of\\_Scenedesmus\\_sp\\_and\\_removal\\_of\\_nitrogen\\_and\\_phosphorus\\_in\\_domestic\\_wastewater](https://www.researchgate.net/publication/320502930_Biomass_production_of_Scenedesmus_sp_and_removal_of_nitrogen_and_phosphorus_in_domestic_wastewater)
- Acurio, S., & Arciniegas, K. (2015). Evaluación de la remoción de nitritos y nitratos en muestras de agua del río San Pedro cantón Rumiñahui por microalgas clorofitas. *INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES*, 1–100.  
<https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.39079>
- Alarcón, L. A. (2018). Efecto de la microalga (*Chlorella vulgaris*) en el tratamiento de efluentes provenientes de la explotación bovina y porcina ubicados en la granja experimental de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia. *UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA*.  
<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/12170/91541023.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Artica, N. (2022). Remoción Bacteriana de aguas residuales domiciliarias con Microalgas *Chlorella* sp. en el Distrito de Oxapampa – Pasco. *UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ*.  
[https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/8341/T010\\_19863257\\_D\\_removed.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/8341/T010_19863257_D_removed.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Baldiris, I., Torres, M., & Sanchez, J. (2019). Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* como biorremediadora de vertimientos de la industria Acuícola en el Caribe Colombiano. *Los, Unidad Metodología D E Conocimiento D E*, 10–15.  
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7444774>
- Beltrán, J. C., Guajardo, C., Barceló, I. D., & López, U. J. (2017). Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO<sub>2</sub>. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(3), 417–427.  
<https://doi.org/10.4067/s0718-19572017000300001>
- Bolaños, J. D., Cordero, G., & Segura, G. (2017). Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). *Revista Tecnología En Marcha*, 30(4), 15. <https://doi.org/10.18845/tm.v30i4.3408>
- Borras, C. (2020). *Contaminación del Medio Ambiente*.  
[https://edomex.gob.mx/medio\\_ambiente\\_2021](https://edomex.gob.mx/medio_ambiente_2021)
- Candela, R. (2016). Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones. Una revisión bibliográfica. *Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y Del Medio Ambiente*, 147(March), 11–40.  
<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/12170/91541023.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cartagena, J., & Malo, B. (2017). Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en la

- remoción de materia orgánica de las aguas residuales de la PTAR EL SALITRE a nivel laboratorio. *FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA*, 87(1,2), 149–200.
- Casa, V. (2020). Diatomeas de turberas de Terra del Fuego: diversidad, ecología y evaluación de su uso como indicadores ambientales. *PhD Thesis, FCEyN-UBA*.  
[https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n6775\\_Casa.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n6775_Casa.pdf)
- Chávez, C. (2011). Detección de metales pesados en agua. *INSTITUTO NACIONAL DE ASTROFÍSICA, ÓPTICA Y ELECTRÓNICA*.  
<https://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1009/671/1/ChavezVC.pdf>
- Chulle, L., Chico, J., & León, L. (2022). *Evaluación del potencial de biorremoción de plomo en fotobiorreactor por Spirulina platensis y Pseudomonas aeruginosa*. 29(2), 267–276.  
[http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/2188/1/Chulle\\_et-al\\_2022\\_biorremocion\\_fotobiorreactor.pdf](http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/2188/1/Chulle_et-al_2022_biorremocion_fotobiorreactor.pdf)
- Cipriano, F. (2021). Biorremediación de cromo hexavalente presente en aguas residuales de la industria de la curtiembre por microalgas de la división Chlorophyta. *Ucss*, 26.
- Díaz, E., Granados, A. R., & Calzada, K. E. (2012). El tratamiento de agua residual doméstica para el desarrollo local sostenible: el caso de la técnica del sistema unitario de tratamiento de aguas, nutrientes y energía (SUTRANE) en San Miguel Almaya, México. *Universidad Autónoma Del Estado de México México*, 1–21.  
<https://www.redalyc.org/pdf/401/40123894005.pdf>
- Dominguez, M., Ruiz, J., Garrido, C., & Vargas, J. A. (2020). *Ficorremediación de Aguas Residuales Urbanas de Pequeños Municipios con Microalgas*. *Revista Científica Ecociencia*. <https://revistas.ecotec.edu.ec/index.php/ecociencia/article/view/347/262>
- Espigares, M., & Pérez, J. A. (n.d.). *Aguas residuales. composición*.  
[https://cidta.usal.es/cursos/edar/modulos/edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas\\_Residuales\\_composicion.pdf](https://cidta.usal.es/cursos/edar/modulos/edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf)
- García, J., Pavía, M., García, T., Chirivella, J., & Serrano, A. (2017). Principios de biotecnología y bioingeniería en el cultivo de microalgas: importancia, problemas tecnológicos, tipos y sistema de cultivos, crecimiento, factores limitantes, selección, aislamiento, escalado y caracterización bioquímica. *Nereis*, 9, 115–130.  
<file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Dialnet-PrincipiosDeBiotecnologiaYBioingenieriaEnElCultivo-6041049.pdf>
- God, J. (2020). Aplicación de microalgas para la remoción de nutrientes en efluentes agrícolas. *Escuela Agrícola Panamericana*, 38.  
<https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6747/1/IAD-2020-T020.pdf>
- Guamán, M. C., & Gonzáles, N. (2016). *Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador* (p. 84).
- Guzmán, J. L., Ación, F., & Berenguel, M. (2021). *Modelado y control de la producción de microalgas en fotobiorreactores industriales*. *Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial*.  
<https://polipapers.upv.es/index.php/RIAI/article/view/13604/12866>
- Hernández, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología*

*Marina y Oceanografía*, 49(2), 157–173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>

- Hernández, H. (2020). *Evaluación de la aplicación de microalgas para el tratamiento de lixiviados de rellenos sanitarios: Revisión de Literatura*. 2–33. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/f80b7950-4ca7-4c72-8d19-ad1c19d22efe/content>
- INEN. (2013). Agua. Calidad Del Agua. Muestreo. Manejo Y Conservación De Muestras. *Norma Técnica Ecuatoriana*, 26. [https://www.insistec.ec/images/insistec/02-cliente/07-descargas/NTE INEN 2169 - AGUA. CALIDAD DEL AGUA. MUESTREO. MANEJO Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS.pdf](https://www.insistec.ec/images/insistec/02-cliente/07-descargas/NTE%20INEN%202169%20-%20AGUA.%20CALIDAD%20DEL%20AGUA.%20MUESTREO.%20MANEJO%20Y%20CONSERVACION%20DE%20MUESTRAS.pdf)
- Jácome, C., Ballesteros, C., Rea, E., & Rea Cayambe, L. M. (2021). Microalgas en el tratamiento de aguas residuales generadas en industrias de curtiembres. *Ciencia y Tecnología*, 14(2), 47–55. <https://doi.org/10.18779/cyt.v14i2.502>
- Lobos, P. (2019). Uso de un Consorcio Microalgal para la Remoción de nutrientes desde planta de tratamiento de Aguas Servidas. *Universidad de Concepción*, 1–140. [http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/9688/1/TESIS USO DE UN CONSORCIO MICROALGAL PARA LA REMOCIÓN .Image.Marked.pdf](http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/9688/1/TESIS%20USO%20DE%20UN%20CONSORCIO%20MICROALGAL%20PARA%20LA%20REMOCION%20.Image.Marked.pdf)
- Maldonado, I. (2019). Evaluación de la respuesta fisiológica de la microalga *Chlorella* sp. a la presencia de metal Cadmio en aguas sintéticas. *INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES*, 80. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17405/1/UPS-QT13951.pdf>
- Mamani, A. (2023). Análisis de Técnicas de Remediación de Aguas Contaminadas por Hidrocarburos, Revisión Sistemática. In *Universidad Andina del Cusco*. [http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/47102/Gutierrez\\_RS-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/47102/Gutierrez_RS-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Mancilla, Ó., Ortega, H., Ramírez, C., Uscanga, E., Ramos, R., & Reyes, A. (2017). METALES PESADOS TOTALES. *Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias*, 29(3), 217–225. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37023172004>
- Martinez, G., & Pascichaná, C. (2019). Desarrollo de un sustrato sintético que simula agua residual doméstica para fines de investigación. *Universidad Del Valle*, 1–23. <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/handle/10893/17802/CB-0592161.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mendarte, C., Alarcón, A., & Ferrera, R. (2021). Fitorremediación: alternativa biotecnológica para recuperar suelos contaminados con DDT. Una revisión. *TIP. Revista Especializada En Ciencias Químico- Biológicas*, 24, 1–17. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-888X2021000100204&lng=es&nrm=iso&tlng=es](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2021000100204&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Mercado, I., & Álvarez, X. (2022). *Catálogo de Microalgas y Cianobacterias de las Reservas Buenaventura y Jorupe, Jocotoco, Ecuador*. (Issue January 2023). [https://www.researchgate.net/profile/Ingrid-Mercado-Reyes/publication/367389377\\_Catalogo\\_de\\_Microalgas\\_y\\_Cianobacterias\\_de\\_las\\_Rese](https://www.researchgate.net/profile/Ingrid-Mercado-Reyes/publication/367389377_Catalogo_de_Microalgas_y_Cianobacterias_de_las_Rese)

rvas\_Buenaventura\_y\_Jorupe\_Jocotoco\_Ecuador/links/63d0a074e922c50e99bd6d23/Cat  
alogo-de-Microalgas-y-Cianobacterias-de-las-Re

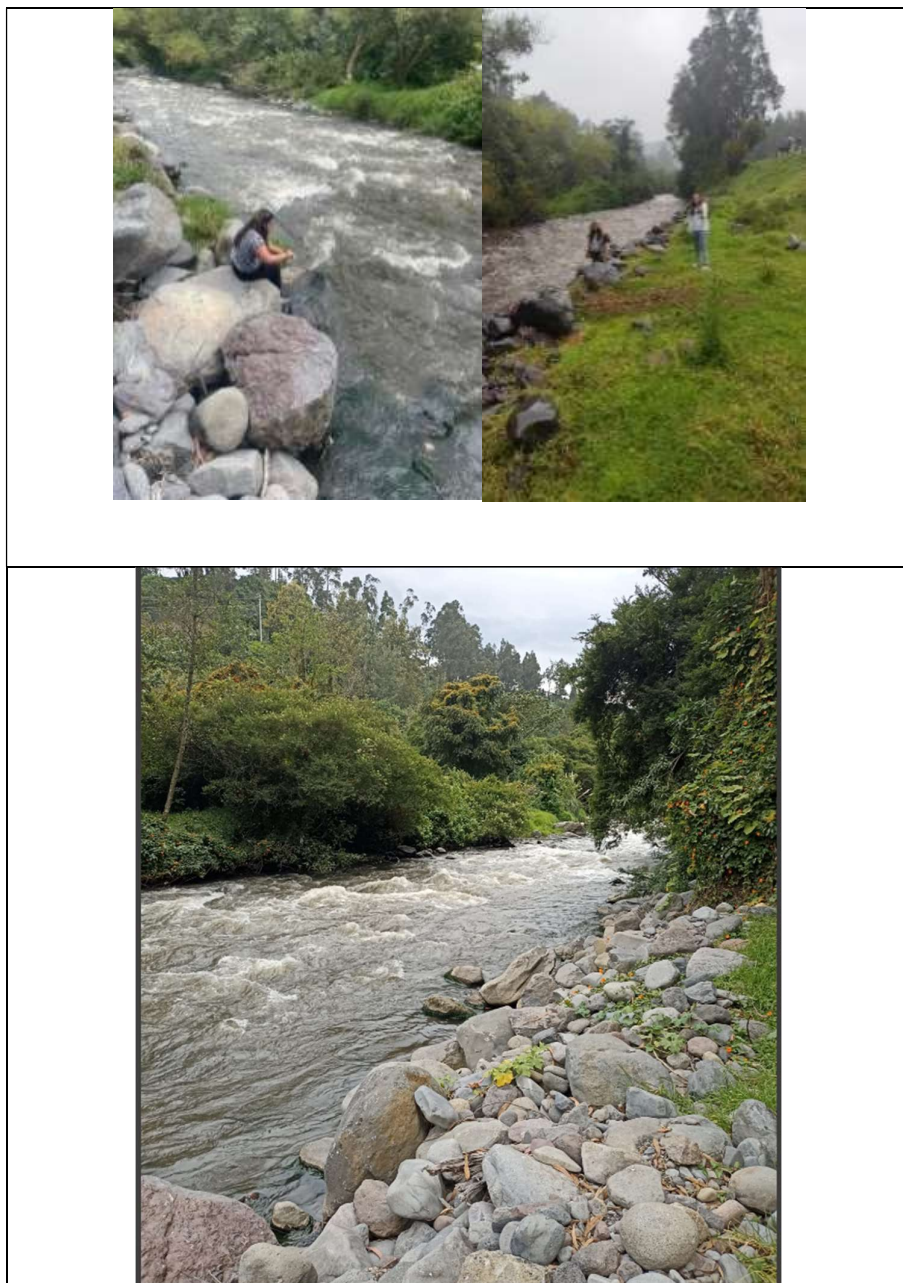
- Merck Millipore. (2014). Chromocult® Agar para coliformes. Detección simultánea de bacterias coliformes y E.coli en el agua. *Darmstadt*, 1–4.  
[http://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Chromocult-Coliform-Agar,MM\\_NF-C164546?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F](http://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Chromocult-Coliform-Agar,MM_NF-C164546?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F)
- Ministerio del ambiente, R. (2015). Libro-VI-Calidad-Ambiental. *Acuerdo Ministerial*.
- Molina, Y. (2016). Tratamiento biológico de aguas residuales del laboratorio de investigación, análisis y monitoreo iam-q de la secretaría del ambiente del DMQ. *INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES*, 1–63.  
<http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Moscoso, C., Rojas, J. M., & Rodas, C. (2019). *Metales pesados*. 4, 73–75.
- Ochoa, D. (2021). Bioaumentación en Digestión Anaerobia: Revisión Literaria Sistemática con Meta-Análisis. *Meta-Análisis, Sistemática Química, Ingeniería Meta-Análisis, Sistemática Química, Ingeniería*.
- ONU. (2022). Paz, dignidad e igualdad en un planeta sano. *Naciones Unidas*, 1–11.  
<https://www.un.org/es/global-issues/migration>
- Ordóñez Ramirez, V. (2017). Contaminación del agua. *Ingenius*, 1, 1–5.  
<https://doi.org/10.17163/ings.n1.2007.04>
- Ortiz, L. (2018). Contaminación del agua por nitratos: significación sanitaria. *Revista Archivo Medico*, 13(2), 32.
- Ortiz, M., Romero, M. A., & Meza, L. D. (2018). La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. *Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación*, 9(1), 163–176. <https://doi.org/10.19053/20278306.v9.n1.2018.8153>
- Pabón, S., Benítez, R., Sarria, R., & Gallo, J. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27), 9–18.
- Perdomo, M. (2017). Artículo técnico: Análisis químico, medir es comparar. *Área Salud y Seguridad*, 0(0), 1–6. <https://agqlabs.cl/wp-content/uploads/Analisis-quimico-medir-es-comparar.pdf>
- Pilalumbo, J. (2020). “Estudio de la calidad de agua del río san pedro, ubicado portada dentro del distrito metropolitano de quito en el período 2013-2019.” In *Universidad Técnica De Cotopaxi*. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4501/1/PI-000727.pdf>
- Pilco, V., & Santander, L. (2022). *Escuela Superior Politécnica De Chimborazo*.  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17624/1/236T0623.pdf>
- Plúas, A. L., Pozo, M., Lajones, C., Carreño, H., & Arévalo, O. (2020). Determinación de Coliformes Totales y Escherichia Coli en el Estuario Chulluype del Cantón Santa Elena Provincia de Santa Elena. *Investigation*, 14, 61–70.  
<https://doi.org/10.31095/investigatio.2020.14.6>



- Quilumbaqui, C. (2017). Determinación de la concentración de elementos mayores en dieciocho ríos de la provincia de Pichincha. *Universidad San Francisco de Quito*, 21. <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/123456789/30330/NR12770.pdf?sequence=1>
- Sánchez, Y., Tobío, I., Romero, T., Díaz, Y., Ahmed, E., & Piloto, R. (2018). *Evaluación de las condiciones experimentales básicas para la producción de biomasa a partir de la microalga Chlorella Vulgaris*.
- Santos, C. (2017). Biorremediación De Aguas Contaminadas Con Nutrientes Y Fármacos Mediante Microalgas. *DEPARTAMENTO DE QUÍMICA Y FÍSICA APLICADAS*, 1(6), 1–182.
- Sayed, K., Baloo, L., & Sharma, N. K. (2021). Bioremediation of total petroleum hydrocarbons (Tph) by bioaugmentation and biostimulation in water with floating oil spill containment booms as bioreactor basin. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 1–27. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052226>
- Solano, J. (2017). Evaluación del Potencial Antibacteriano en Extractos Lipofílicos de Cianobacterias y Microalgas Cultivadas a Partir de Muestras de Agua Recolectadas en el sector el Cajas. *Universidad de Cuenca*, 1–74. <https://bit.ly/2FOL57w>
- Vela, N., Guamán, M. C., & González, N. P. (2019). Efficient bioremediation from metallurgical effluents through the use of microalgae isolated from the amazonic and highlands of Ecuador. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 35(4), 917–929. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.04.11>

## 7 Anexos

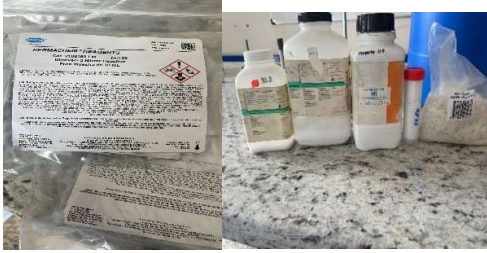
### Anexo 1: Fase de campo



Elaborado por: (las autoras, 2023)

## Anexo 2: Reactivos para análisis

Nitraver5 (Nitratos)



Técnica Nessler



Medios BG-11



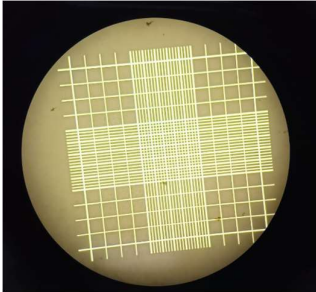

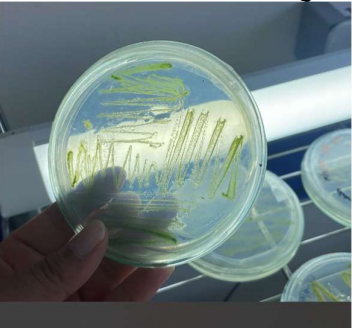
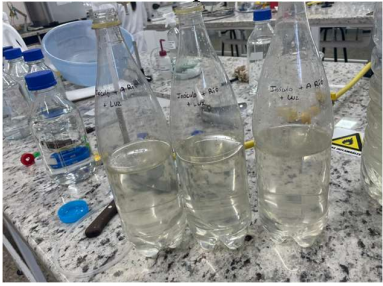


Componentes Agua sintética



Elaborado por: (las autoras, 2023)

### Anexo 3: Investigación a nivel de laboratorio

<p>Escalamiento</p>  A photograph showing several Erlenmeyer flasks on a laboratory bench. The flasks contain a bright green liquid, likely a microalgal culture. The flasks are arranged in a row, and the liquid level is visible in each.	<p>Implementación de los tratamientos</p>  A photograph of a biosafety cabinet. Inside, several Erlenmeyer flasks containing green liquid are placed on a metal grid. A digital scale is visible in the foreground, and the cabinet's interior is illuminated.
<p>Cámara de Neubauer</p>  A photograph of a Neubauer chamber, a circular counting tool used for quantifying cells. It features a grid of squares on a circular surface, used for counting microorganisms under a microscope.	<p>Control físico, químico y microbiológico</p>  A photograph showing a digital pH meter on the left, displaying a reading of 8.42. To the right is a petri dish containing a petri dish with a grid pattern, likely used for microbiological control or counting.
<p>Siembras de la microalga</p>  A photograph of a hand holding a petri dish. The dish contains several streaks of a green substance, likely a microalgal culture, spread across the surface. Other petri dishes are visible in the background.	<p>Diseño experimental</p>  A photograph of a laboratory bench with several glass bottles and plastic containers. The bottles contain clear or slightly cloudy liquids, and the setup appears to be for an experimental design involving microorganisms.

Elaborado por: (las autoras, 2023)

Anexo 4: Análisis estadístico  
 Datos de la curva de calibración

N.º	Concentración	Absorbancia
1	0,2	0,158
2	0,35	0,215
3	0,5	0,233
4	0,65	0,273
5	0,85	0,373
6	1	0,631

Elaborado por: (las autoras 2023)

Datos de densidad celular

Fecha/Tratamiento	AGUA DE RÍO + LUZ			AGUA SINTÉTICA + LUZ			AGUA DE RÍO + OSCURIDAD			AGUA SINTÉTICA + OSCURIDAD		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
8/5/2023	285000	607500	387500	830000	565000	590000	117500	105000	82500	505000	467500	450000
11/5/2023	512500	675000	550000	7875000	5900000	6175000	240000	275000	207500	825000	1225000	1975000
16/5/2023	16475000	10800000	8625000	2375000	2525000	4125000	245000	307500	245000	1225000	812500	1395000
19/5/2023	16075000	11875000	9550000	2650000	1675000	4850000	282500	280000	250000	1162500	815000	1162500
22/5/2023	13625000	13125000	10125000	2750000	1550000	4050000	275000	267500	300000	1075000	675000	725000
25/5/2023	11250000	10625000	9250000	2550000	1300000	3500000	265000	282500	282500	937500	600000	575000
29/5/2023	9250000	7450000	7825000	2825000	1725000	3250000	200000	125000	242500	662500	457500	375000
1/6/2023	6825000	6275000	6375000	2700000	1775000	2450000	160000	140000	272500	420000	252500	390000

Elaborado por: (las autoras,2023)

Datos de Amoníaco

AGUA DE RÍO + LUZ						AGUA DE RÍO + OSCURIDAD				
Fecha/Tratamientos	T1	T2	T3	Promedio	Desviación	T1	T2	T3	Promedio	Desviación
19/5/2023	0,654	0,540	0,543	0,579	0,065	0,622	0,432	0,166	0,407	0,065
1/6/2023	0,556	0,559	0,535	0,55	0,013	0,365	0,395	0,274	0,345	0,013
AGUA SINTÉTICA +LUZ						AGUA SINTÉTICA + OSCURIDAD				
Fecha/Tratamientos	T1	T2	T3	Promedio	Desviación	T1	T2	T3	Promedio	Desviación
19/5/2023	2,819	2,872	2,829	2,84	0,028	2,819	2,872	2,829	2,84	0,028
1/6/2023	1,474	1,725	2,881	2,027	0,75	1,474	1,725	2,881	2,027	0,75

Elaborado por: (las autoras,2023)

Datos de Nitratos

Fecha/ Tratamiento	AGUA DE RÍO + LUZ			AGUA SINTÉTICA + LUZ			AGUA DE RÍO + OSCURIDAD			AGUA SINTÉTICA + OSCURIDAD			Unidad
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	
12/5/2023	2,1	2,5	2,1	5,3	4,9	3,4	5	7	4	9	5,3	4,5	mg/L NO <sub>3</sub> -N
19/5/2023	1,5	1,3	1,9	5,2	17	4,8	5,4	5	4,9	6	4,9	4,2	mg/L NO <sub>3</sub> -N
23/5/2023	1,9	2,1	2	5,3	4,3	4,2	4,3	3,8	4,2	5,2	4,3	5,9	mg/L NO <sub>3</sub> -N
1/6/2023	4,5	3	2,3	4,9	6	4	4,7	4	4,7	5	4,6	17	mg/L NO <sub>3</sub> -N

Elaborado por: (las autoras,2023)