



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**“EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO BIOLÓGICO DEL AZUL INDIGO
MEDIANTE MICROALGAS CHLORELLA SP A NIVEL DE LABORATORIO”**

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Ingeniero Ambiental

AUTOR: BRYAM PATRICIO SARI PLAZA

TUTOR: DR. MANUEL ERNESTO DELGADO FERNÁNDEZ, Ph.D.

Cuenca - Ecuador
2024

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Bryam Patricio Sari Plaza con documento de identificación N° 0105214126, manifiesto que:

Soy el autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo 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.

Cuenca, 5 de marzo del 2024

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, featuring a stylized treble clef on the left, followed by the name 'ari B.' and a horizontal line extending to the right.

Bryam Patricio Sari Plaza

0105214126

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

Yo, Bryam Patricio Sari Plaza con documento de identificación N° 0105214126, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del Trabajo experimental: “Evaluación del tratamiento biológico del azul indigo mediante microalgas *Chlorella* sp a nivel de laboratorio”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero Ambiental, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

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

Cuenca, 5 de marzo del 2024

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized initial 'B' followed by the name 'ari B.' and a horizontal line extending to the right.

Bryam Patricio Sari Plaza

0105214126

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Manuel Ernesto Delgado Fernández con documento de identificación N° 0102073780, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO BIOLÓGICO DEL AZUL INDIGO MEDIANTE MICROALGAS CHLORELLA SP A NIVEL DE LABORATORIO”, realizado por Bryam Patricio Sari Plaza con documento de identificación N° 0105214126, 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.

Cuenca, 5 de marzo del 2024

Atentamente,



Dr. Manuel Ernesto Delgado Fernández, PhD.

0102073780

ÍNDICE GENERAL

Índice de tablas	7
1. Introducción	9
1.1. Problema.....	10
1.2. Delimitación	11
1.3. Pregunta de investigación	12
1.4. Objetivo general.....	12
1.4.1. Objetivos específicos	12
1.5. Hipótesis	12
4. Fundamentación teórica	12
4.1. La industria textil	12
4.2. Contaminación de la industria textil.....	13
4.3. Azul índigo	13
4.4. Biorremediación.....	14
4.5. Microalgas	14
4.6. Rutas Metabólicas de <i>Chlorella</i>	15
4.6.1. Respiración	15
4.6.2. Vía mixotrófica	15
4.7. Ciclo de crecimiento	16
4.7.1. Fase de latencia	16
4.7.2. Fase estacionaria	16
4.8. Las microalgas y la biorremediación	17
4.8.1. Microalga <i>Chlorella sp</i>	17

4.8.2.	Microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	18
4.8.3.	Microalga <i>Cosmarium sp</i>	18
4.8.4.	Microalga <i>Scenedesmus spp</i>	19
4.9.	Cultivo de microalgas	19
4.10.	Fotobiorreactores	19
4.10.1.	Tipos de biorreactores.....	19
4.10.1.1.	Sistema de cultivo abierto	19
4.10.1.2.	Sistemas de fotobiorreactores a escala de laboratorio.....	23
4.11.	Factores que influyen en el crecimiento	27
4.11.1.	La luz	27
4.11.2.	La temperatura.....	27
4.11.3.	El pH.....	28
4.11.4.	El oxígeno y anhídrido carbónico	28
4.11.5.	Los nutrientes	28
4.12.	Determinación de concentración y biomasa	29
4.12.1.	Espectrofotometría	29
4.12.2.	Curva de calibración del equipo	29
5.	Materiales y métodos	29
5.1.	Materiales	29
5.1.1.	Equipos	30
5.2.	Métodos	30
5.2.1.	Cultivo de microalgas	30
5.2.2.	Tolerancia al azul índigo.....	31
5.2.3.	Recogida de datos.....	31
6.	Resultados y discusión	32
6.1.	Resultados	32
6.1.1.	Siembra de microalgas y desarrollo algal	32

6.1.2. Tolerancia al azul índigo.....	35
6.2. Discusión.....	37
7. Conclusiones y recomendaciones	38
7.1. Conclusiones.....	38
7.2. Recomendaciones.....	39
8. Bibliografía.....	40
9. Anexos.....	52

Índice de Figuras

Figura 1. Laguna Toreadora.....	11
Figura 3. Fases de crecimiento microalgas	17
Figura 4. Piscinas inclinadas	20
Figura 5. Estanques circulares.....	20
Figura 6. Raceway	21
Figura 7. Fotobiorreactor tubular	22
Figura 8. Fotobiorreactores de panel plano	22
Figura 9. Fotobiorreactor de microfluido	23
Figura 10. Fotobiorreactores agitados	24
Figura 11. Fotobiorreactor de columna de burbujas.....	25
Figura 12. Fotobiorreactor de tanque agitado	26
Figura 13. Resultados del desarrollo de biomasa algal en las 2 especies en 500 ml de solución y 1 ml del inóculo (Primer Inóculo).....	32
Figura 14. Resultados del desarrollo de biomasa algal en las 2 especies en 20 ml de solución y 5 ml del inóculo. (Tercera inoculación)	33
Figura 15. Desarrollo de biomasa algal (Cuarta inoculación).....	34

Índice de tablas

Tabla 1. Cantidad de nutrientes.....	30
Tabla 2. Datos experimentales inóculo	31
Tabla 5. ANOVA Tolerancia <i>Chlorella</i> sp.....	35
Tabla 6. ANOVA Tolerancia <i>Chlorella vulgaris</i>	35
Tabla 7. Prueba de Tukey concentraciones azul índigo	35

Índice de Anexos

Anexo 1. Primera inoculación (<i>Chorella vulgaris</i> y <i>Chorella sp</i>)	52
Anexo 2. Segunda Inoculación - <i>Chorella vulgaris</i> ; <i>Chorella sp</i> (con nitrógeno y sin nitrógeno).....	52
Anexo 3. Tercera Inoculación (<i>Chorella sp</i> y <i>Chorella vulgaris</i>).....	53
Anexo 4. Cuarta y Quinta inoculación (<i>Chorella sp</i> y <i>Chorella vulgaris</i>)	53
Anexo 5. Auto clavado azul índigo	54
Anexo 6. Azul índigo concentración al 100%.....	54
Anexo 7. Concentración inicial azul índigo al 100%, 75%, 50%, 10% (<i>Chorrella sp</i>)	55
Anexo 8. Concentración al 100% (<i>Chorrella sp</i>)	55
Anexo 9 Concentración al 75% (<i>Chorrella sp</i>)	56
Anexo 10 .Concentración al 50% (<i>Chorrella sp</i>)	56
Anexo 11. Concentración al 10% (<i>Chorrella sp</i>).....	57
Anexo 12. Concentración inicial azul índigo al 100%, 75%, 50%, 10% (<i>Chorrella vulgaris</i>).....	57
Anexo 13. Concentración final <i>Chorella sp</i> y <i>Chorella vulgaris</i> 12 días después al 100% 75% 50% y 10%.....	58
Anexo 14. Evaluación de parámetros de calidad de uso de riego	59
Anexo 15. Luz led y temporizador	59
Anexo 16. Industria Peraltatex	60
Anexo 17. <i>Chorrella sp</i> - Remediación a 670nm	61
Anexo 18. <i>Chorrella sp</i> - Remediación a 670nm	62
Anexo 19. <i>Chorrella sp</i> - Remediación a 670nm	62
Anexo 20 <i>Chorrella sp</i> - Absorbancia a 670nm	63

1. Introducción

El proceso de teñido textil se encuentra actualmente como el segundo mayor contaminante de agua dulce. Según el Banco Mundial la industria es responsable de los más altos índices de contaminación por azufre, que se dan principalmente por los cuerpos hídricos, el mismo que se origina junto al tratamiento final que se le da a las telas. Se estima que aproximadamente 200.000 Tn se anulan en la industria de origen textil y son vertidos al medio ambiente global, con concentraciones de tintes azoicos que pueden llegar a 500 partes por millón, equivalente a 500 mg/L en el efluente textil (La Rose, 2017).

La biodegradación mediante microalgas se presenta como una solución prometedora para abordar esta problemática, son microorganismos fotosintéticos que tienen el poder de aprovechar compuestos orgánicos. Por ende, una de las aplicaciones es la generación de combustible fósil, el cual es capaz de producir energía y dióxido de carbono (da Fontoura et al., 2017). Las microalgas han demostrado su capacidad para eliminar diversos colorantes, y entre las especies que han sido objeto de investigaciones más detalladas se *Desmodesmus* sp, *Phytosphora* sp, varias especies de *Spirogyra*, *Scenedesmus* sp, *Scenedesmus quadricauda*, *Cosmarium* sp. Y *Chlorella vulgaris* (Riva et al., 2019).

En este contexto, se considera que las microalgas son una opción prometedora para la eliminación de compuestos tóxicos, ya que tienen la capacidad de eliminar eficazmente sustancias dañinas del medio ambiente mediante sus distintos mecanismos de alimentación (Goswami et al., 2021). Además, tienen la habilidad de transformar significativamente estos compuestos tóxicos a través de procesos como la acumulación, la adsorción y el metabolismo. Lo que distingue a las microalgas de otros organismos es su capacidad única para llevar a cabo la fotosíntesis y emplear sustratos de carbono (Balamurugan et al., 2021).

Las bacterias tienen un alto potencial en la reducción de contaminantes, siempre y cuando se tomen altos estándares de calidad, especialmente en el tratamiento de aguas servidas, generando de manera eficaz la reducción de la carga de contaminante, la promoción de la biodiversidad acuática y la producción de biomasa (Premaratne et al., 2021)

1.1. Problema

La preocupante proliferación de la industria textil en las últimas décadas ha impulsado una creciente producción de colorantes, entre los que destaca el azul índigo, ampliamente en la industrialización de ropa de trabajo (Y. Ma et al., 2020). Aunque este colorante es esencial para la industria textil, su impacto ambiental es innegable. El azul índigo, caracterizado por su persistencia y escasa biodegradabilidad plantea serios desafíos en la gestión de los efluentes textiles y representa una amenaza para los ecosistemas acuáticos (Yi et al., 2020).

Esta industria representa, los principales consumidores de tintes, y estos compuestos son notoriamente resistentes a la degradación debido a su alta estabilidad en diversas condiciones ambientales. Representa aproximadamente el 31% del mercado mundial, siendo uno de los tintes más utilizados el azul índigo, que corresponde al 7% de los tintes empleados (Robledo-Padilla et al., 2020).

La reducción de contaminantes, que se derivan del agua con sustancias químicas, generadas por la industria textil que contienen tinte índigo representa uno de los desafíos más complicados. Esto se debe a que dicho tinte tiene un origen sintético y está compuesto por una estructura molecular compleja y aromática, lo cual le confiere una mayor estabilidad y, por ende, una mayor resistencia a la biodegradación (Vadivel et al., 2021). La modificación de las estructuras químicas de estos tintes puede llevar a la creación de compuestos xenobióticos adicionales, los cuales podrían resultar aún más nocivos que los compuestos originales (da Silva et al., 2022).

Esta contaminación tiene graves consecuencias medioambientales, ya que los colorantes textiles pueden persistir en el agua durante períodos prolongados, afectando la salud humana (Sharma et al., 2021). Por otro lado, resulta importante mencionar que los

aditivos de tipo azoicos, que incluye el azul índigo, pueden resultar de característica tóxicos y carcinogénicos, que pueda causar daño o enfermedad a las personas cuando estas aguas contaminadas se utilizan en actividades agrícolas o se infiltran en los acuíferos (Castillo-Suárez et al., 2023).

1.2. Delimitación

Las muestras fueron tomadas de la laguna la Toreadora

La Toreadora está ubicada a una altitud de 3.900 m.s.n.m, destaca como uno de los destinos más concurridos dentro del Parque Nacional Cajas, ubicado en Azuay, en los Andes Ecuatorianos, exactamente a unos 40 kilómetros de Cuenca, destaca como un punto de interés turístico altamente demandado. Consecuentemente, es importante mencionar que de la laguna en mención, se tomó las muestras de microalgas, las mismas que fueron utilizadas en este trabajo de titulación.

Figura 1. Laguna Toreadora



Fuente: Google maps, 2024

1.3. Pregunta de investigación

¿Cómo es el aumento de tolerancia de las especies en estudio, frente a diferentes concentraciones de azul índigo a nivel de laboratorio?

1.4. Objetivo general

Valorar la tolerancia de microalgas *Chlorella* sp frente al azul índigo a nivel de laboratorio.

1.4.1. Objetivos específicos

- Cultivar microalgas *Chlorella* sp y *Chorrella vulgaris* en condiciones controladas a nivel de laboratorio.
- Formular soluciones en concentraciones físicas al 100% 75% 50% y 10%
- Cuantificar las concentraciones de azul índigo mediante UV visible por espectrofotometría para determinar la curva de calibración
- Comparar la calidad del vertido resultante, utilizando la normativa legal vigente del libro VI del TULSMA

1.5. Hipótesis

2. **H0:** No Existe una diferencia significativa en la capacidad de tolerancia del azul índigo entre las microalgas valoradas en diferentes concentraciones en un entorno de laboratorio
3. **H1:** Existe una diferencia significativa en la capacidad de tolerancia del azul índigo entre las microalgas estudiadas en diferentes concentraciones en un entorno de laboratorio.

4. Fundamentación teórica

4.1. La industria textil

Esta industria, se dedica a la producción de hilados y fibras, que están presentes en diversos productos, incluyendo prendas de vestir (Sanches et al., 2023). Esta industria desempeña un papel significativo en la economía global, contribuyendo con un 7% a las exportaciones totales (Desore & Narula, 2018). Por lo tanto, es un sector económico de

gran importancia. En particular, el denim es un componente fundamental de la industria textil y goza de una amplia utilización en diferentes productos textiles.

4.2. Contaminación de la industria textil

La industria ha sido identificada como uno de los principales contaminantes a nivel mundial, ya que consume gran porcentaje de agua, aproximadamente 93 mil millones de metros cúbicos del recurso hídrico por año, abasteciendo a un gran nivel de la población. Esta cantidad es equivalente al consumo anual de agua de una ciudad, con un tamaño poblacional superior a la media poblacional de la ciudad de Cuenca Ecuador (Niinimäki et al., 2020).

La industria textil es considerada una destacada fuente de aguas residuales debido a la emisión de sustancias contaminantes, como tintes no degradables (Babu et al., 2019). En los procesos textiles, es común evidenciar componentes de manganeso, que se utilizan para fijar los tintes mediante reacciones químicas (Uddin & Muhammad, 2019). Los tintes sintéticos, como el azul índigo (IB) y el índigo carmín (IC) empleados en la producción de mezclilla, son tintes resistentes que resultan extremadamente difíciles de eliminar de las aguas residuales y presentan una notable estabilidad química y fotolítica, la liberación de aguas residuales textiles en el entorno puede tener graves consecuencias para la salud, incluyendo irritación de la piel y los ojos, lesiones en la córnea y conjuntiva, dermatitis e incluso la posibilidad de cáncer en individuos que mantienen un contacto directo con zonas en proceso de contaminación (Khadhri et al., 2019).

Además, la afección al recurso hídrico, provocado por los sistemas de impresión, se deriva de un material específico, que está en materias originadas por la empresa textil, especialmente en derivados químicos procesados biológicamente. Las mismas, que nacen del cuerpo hídrico en conjunto con otros químicos, afectando de manera directa al ambiente. Además, dichas aguas, tienen valores elevados de contaminantes orgánicos o tóxicos, convirtiendo a la empresa textil en una razón primordial de la contaminación ambiental (Pillapa, 2022).

4.3. Azul índigo

El azul índigo ($C_{16}H_{10}N_2O_2$) es un pigmento y tinte de color azul profundo que se ha empleado extensamente a través del tiempo en la historia en el mercado de la fabricación

de ropa (Li et al., 2019). Este colorante se deriva de varias plantas, siendo la planta de índigo (*Indigofera tinctoria*) una de las fuentes más conocidas (Haltia et al., 2021). El azul índigo es especialmente apreciado por su intensidad y durabilidad, ya que es resistente a la decoloración con la exposición a la luz y al lavado repetido (Rai et al., 2021). Su importancia histórica radica en su aplicación en la producción de prendas de mezclilla, conocida como denim, que ha sido una parte icónica de la tendencia a nivel global. Además de su uso en la industria textil, también ha tenido aplicaciones en la pintura artística y la decoración a lo largo de la historia (Jin, 2021). Sin embargo, es importante destacar que el proceso de obtención y fijación del azul índigo puede tener implicaciones ambientales debido a su resistencia a la biodegradación, lo que ha generado preocupaciones sobre su impacto en las aguas residuales y el medio ambiente (Vadivel et al., 2021).

4.4. Biorremediación

La biorremediación de textiles, debido a su capacidad para abordar la contaminación en cuerpos hídricos, se ha dado como una alternativa efectiva. Además, esta técnica no solo reduce la carga ambiental de la industria textil, sino que también presenta ventajas económicas considerables. Por un lado, se minimizan los costos asociados con la gestión de aguas residuales y la reducción de compuestos de origen tóxico (Sudarshan et al., 2023). Además, al recuperar productos químicos valiosos a partir de las aguas residuales, la biorremediación puede generar beneficios económicos adicionales. No obstante, es crucial destacar que la implementación exitosa de la biorremediación de textiles requiere una cuidadosa planificación y monitoreo constante (Wang et al., 2022).

4.5. Microalgas

Las microalgas, gracias a su capacidad para realizar la fotosíntesis y producir oxígeno, son fundamentales en la cadena alimentaria de los ecosistemas acuáticos. Además de su papel ecológico. Por ejemplo, en la acuicultura, las microalgas se utilizan como alimento para larvas de peces y camarones, contribuyendo así a la producción de alimentos de calidad (Dineshbabu et al., 2019). Sin embargo, su versatilidad no se detiene ahí, ya que las microalgas también se están explorando como una fuente sostenible de biocombustibles y productos químicos valiosos, lo que podría impulsar una transición hacia una economía más verde (Hossain et al., 2019). Además, su capacidad para la biorremediación (Sutherland & Ralph, 2019). En temas de investigación de la academia

las microalgas son motivo para estudiar diversos campos, como la biotecnología y la genética, debido a su simplicidad (Kselíková et al., 2022).

4.6. Rutas Metabólicas de *Chlorella*

La *Chlorella vulgaris* posee la posibilidad de viajar por diferentes medios, en base a niveles altos de energía, generando altos porcentajes de hidrógeno, teniendo una ruta alternativa de hidrogenase, liberando pequeños elementos de carbono carbonados, de componente biótico, en base al sistema fisiológico (Zúñiga, 2022).

4.6.1. Respiración

La *Chlorella vulgaris* exhibe una sorprendente plasticidad metabólica al emplear la fotosíntesis y la respiración para obtener energía, recurriendo a fuentes externas de carbono en condiciones desfavorables. Capaz de realizar respiración aerobia con oxígeno, produce dióxido de carbono, agua y adenosín trifosfato (ATP), aunque al utilizar fuentes de carbono más complejas, requiere energía adicional para su descomposición inicial en piruvato (Dragone, 2022). Esta adaptabilidad le permite cambiar entre respiración y fermentación según la disponibilidad de oxígeno, produciendo una variedad de metabolitos en diferentes áreas de un mismo cultivo y demostrando una marcada versatilidad frente a distintos entornos (Zúñiga, 2022).

4.6.2. Vía mixotrófica

Las microalgas presentan una versatilidad metabólica, empleando tanto la fotosíntesis como la respiración según las condiciones ambientales. En ausencia de carbono externo, recurre a la fotosíntesis para su crecimiento, almacenando carbohidratos que luego utiliza en la respiración cuando la fotosíntesis se ve limitada. En entornos donde no se da el proceso de respiración celular, pero existen moléculas de carbono, existe fermentación para desarrollarse. En condiciones mixotróficas, donde puede realizar tanto la fotosíntesis como la respiración al tener acceso a una fuente externa de carbono, se potencia el crecimiento al combinar ambas rutas metabólicas (Zúñiga, 2022).

4.7. Ciclo de crecimiento

El crecimiento de un cultivo es un proceso complejo que se puede dividir en cinco fases: latencia, adaptación, exponencial, declinación exponencial, estacionaria y declinación o muerte.

4.7.1. Fase de latencia

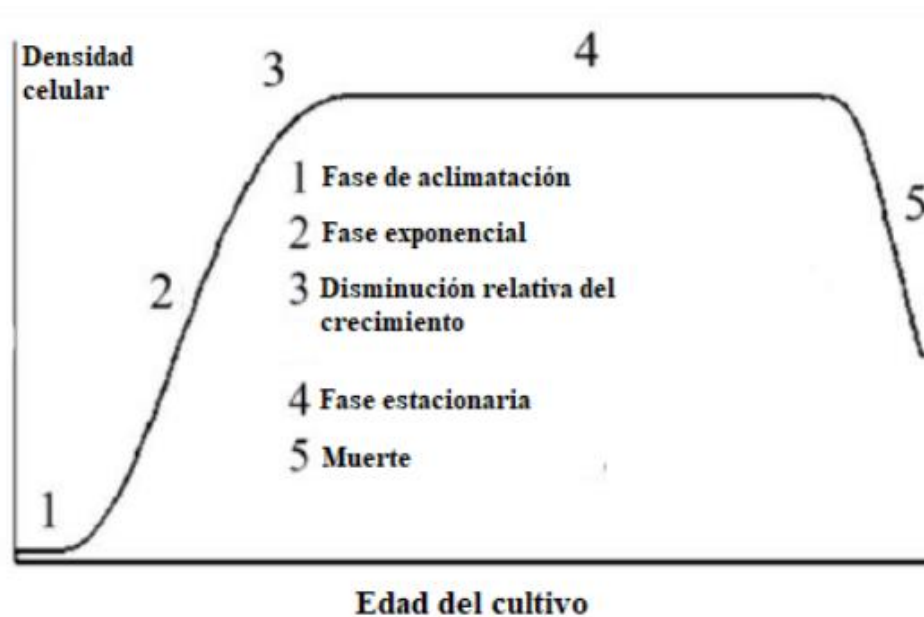
Según Pérez & Gómez (2020), la fase de adaptación es un período de transición en el que las microalgas se adaptan a las nuevas condiciones del entorno. Durante esta fase, el crecimiento celular es limitado debido a una serie de factores, como la inactivación de enzimas metabólicas, la disminución de las concentraciones de componentes celulares y la necesidad de alcanzar niveles óptimos de compuestos específicos.

4.7.2. Fase estacionaria

Durante esta etapa, se produce un sistema entre la obtención de nutrientes existentes y la velocidad de crecimiento, lo que resulta en densidades celulares estables durante un período prolongado. Sin embargo, esta fase es breve en cultivos donde los nutrientes se agotan y no son reemplazados, lo que provoca su rápida transición hacia la fase de declinación (Pérez & Gómez, 2020).

En ausencia total de nutrientes, las células experimentan una reducción rápida en su cantidad. Esta disminución resulta en la liberación de azúcares, proteínas y grasas, que pueden ser utilizados por bacterias oportunas en circunstancias particulares. Estas bacterias se nutren de estos elementos, desplazando a la población celular que aún sobrevive pero que, finalmente, se desmorona rápidamente. El lapso de tiempo antes de este colapso varía según la especie específica involucrada (García et al., 2017).

Figura 2. Fases de crecimiento microalgas



Fuente: (Pérez & Gómez, 2020)

4.8. Las microalgas y la biorremediación

4.8.1. Microalga *Chlorella sp*

Es un alga unicelular esférica con un diámetro de 2 a 10 μm . La pared celular es rígida y ayuda a proteger a la célula contra la depredación y las condiciones ambientales adversas. El citoplasma contiene proteínas solubles, minerales, agua y orgánulos, como vacuolas, mitocondrias, un pequeño núcleo, aparato de Golgi y un solo cloroplasto. El cloroplasto tiene un pirenoide, que contiene proteínas fotosintéticas, y tilacoides, que contienen clorofila y otros pigmentos fotosintéticos. *Chlorella sp.* se reproduce asexualmente por autosporulación, en donde estas producen un proceso de separación en células hijas que se liberan al medio ambiente (Ummalyma et al., 2019).

Se ha investigado el pH óptimo en el aumento y sobreposición de algas, específicamente la *Chlorella sp.*, y se ha encontrado que es pH 6. Este pH es similar al pH óptimo para la sorción de metales, lo que sugiere que *Chlorella sp.* podría utilizarse en la biorremediación de contaminantes con metales pesados (Almeida et al., 2023). Por otro lado, en el estudio por Premaratne et al. (2021). Además, la misma es capaz de

eliminar eficazmente una variedad de colorantes textiles, incluyendo el índigo, el azul directo, el remazol brillante anaranjado y el violeta cristal. La eficiencia de decoloración varió según el colorante, pero fue superior al 70% en todos los casos.

4.8.2. Microalga *Chlorella vulgaris*

El organismo microscópico *Chlorella vulgaris*, con un tamaño de 2 a 10 μm , tiene una organización análoga a la de las plantas de mayor complejidad, dado que incluye una pared celular, mitocondrias y cloroplastos, estos últimos esenciales para llevar a cabo la fotosíntesis, posee una pared celular, que actúa como defensa contra factores bióticos y abióticos, aumenta su espesor a medida que la microalga madura, alcanzando hasta 21 nm. Las mitocondrias realizan un valor primordial en metabolitos, obteniendo energía, mientras que los cloroplastos, dentro de los cuales se encuentra la clorofila (Coronado-Reyes et al., 2020).

La composición química incluye proteínas, lípidos, carbohidratos y pigmentos. Las proteínas representan entre el 42% y el 58% del producto de biomasa, los cuales son esenciales y no esenciales para los seres humanos. Los lípidos, que pueden constituir hasta el 40% del peso seco, incluyen ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, los carbohidratos están en la celulosa, mientras que los pigmentos más abundantes son la clorofila y los carotenoides, que representan hasta el 2% del peso seco (Ru et al., 2020).

4.8.3. Microalga *Cosmarium sp*

Las desmidiáceas, incluyendo *Cosmarium*, se encuentran comúnmente en aguas dulces y se caracterizan por su forma de media luna o esferoidal y la presencia de una fina banda construida por una capa mucilaginosa. La banda mucilaginosa de *Cosmarium* teniendo un valor primordial de contaminantes químicos. Estas microalgas realizan la fotosíntesis y son esenciales en la cadena alimentaria acuática, ya que proporcionan alimento para diversos organismos acuáticos, incluyendo pequeños crustáceos y protozoos. La diversidad de formas y tamaños en el género *Cosmarium* es asombrosa en taxonomía y ecología acuática (Lone et al., 2022).

4.8.4. Microalga *Scenedesmus spp*

Es un género de microalga verde unicelular que pertenece a la familia Scenedesmaceae. Estas microalgas son conocidas por su forma alargada y filamentosa, que se asemeja a una cadena de pequeñas esferas unidas. Cada célula individual de *Scenedesmus* es esférica, posee en su interior cloroplastos, con lo cual permite la respiración celular, en base a la luz solar, como motor energético. Además, *Scenedesmus spp.* es una fuente potencial de biomasa rica en proteínas y lípidos, lo que la hace interesante para aplicaciones en acuicultura y producción de biocombustibles (Goecke et al., 2020).

4.9. Cultivo de microalgas

La relevancia creciente de las microalgas en diversos campos ha impulsado la creación de distintos sistemas de cultivo para aprovechar sus beneficios. Comprender estos sistemas es crucial para garantizar condiciones óptimas de crecimiento, eficiencia en la cosecha y minimizar el impacto ambiental (Sisalema & Zambrano, 2023).

4.10. Fotobiorreactores

Un fotobiorreactor (FBR), un sistema cerrado diseñado para producir microorganismos fotosintéticos con alta eficiencia en la producción de biomasa, garantiza un crecimiento al reducir el nivel de afección, mejorando la dureza, en base a los factores de cultivo. Aunque los estanques con canales son una opción económica para el cultivo de algas, su productividad puede verse afectada por cambios estacionales, ofreciendo una solución más estable y controlada (Sathinathan et al., 2023).

4.10.1. Tipos de biorreactores

4.10.1.1. Sistema de cultivo abierto

a) Piscinas inclinadas

Posee un valor medio abierto, como se ilustra en la Figura 4, lo cual significa que el cultivo supera el índice medio, dando un leve quiebre en forma de rotura gravitacional.

Aunque, tiene inconvenientes como el desbalance del sistema de enfriamiento teórico (González, 2017).

Figura 3. Piscinas inclinadas



Fuente: (Sathinathan et al., 2023)

Figura 4. Estanques circulares



Fuente: (Sathinathan et al., 2023)

b) Estanques tipo Raceway

Los estanques de tipo Raceway son una tecnología de cultivo intensivo que se caracteriza por su diseño lineal y alargado. Estos estanques suelen tener una profundidad

de entre 15 y 30 cm y están divididos en dos canales por un muro central (Figura 6). La agitación es un elemento clave del éxito de los estanques Raceway, para proporcionarla, se utilizan paletas giratorias que se colocan estratégicamente a lo largo del estanque. Estas paletas inducen una circulación constante del curso de agua, permitiendo un transporte igual de los microorganismos y los medios de cultivo (Sathinathan et al., 2023).

La agitación controlada en estos estanques tiene varios beneficios, entre los que se incluyen:

- Mejora el suministro de oxígeno a los microorganismos.
- Reduce la acumulación de nutrientes y desechos.
- Ayuda a prevenir la proliferación de patógenos.

Los estanques Raceway son una tecnología versátil que se puede usar en el cultivo de especies de componente hídrico, como los peces, camarones, moluscos y microalgas (Sathinathan et al., 2023).

Figura 5. Raceway



Fuente: (Sathinathan et al., 2023).

a) Fotobiorreactores tubulares

Son contenedores cerrados para el cultivo de microalgas. Estos envases están diseñados para evitar que los productos entren en contacto con el aire, evitando la contaminación. Los FBR tubulares están fabricados con materiales (Ramírez, 2019); (Figura 7).

Figura 6. Fotobiorreactor tubular



Fuente: (Sathinathan et al., 2023).

b) Fotobiorreactores de panel plano

Los FBR de panel plano son los más utilizados para el cultivo de microalgas, constan de dos láminas de vidrio o plástico transparentes o semitransparentes que forman una caja rectangular (Figura 8). Las láminas están conectadas en cascada en dirección a la fuente de luz, lo que permite aprovechar al máximo la intensidad lumínica, pueden instalarse en posición vertical u horizontal, dependiendo de la ubicación de la fuente de luz. Una de las principales ventajas de los PBR de panel plano es que tienen un camino de luz muy corto, lo que facilita la penetración de la luz en el cultivo de microalgas. Esto los hace adecuados tanto para cultivos al aire libre como en entornos interiores (Chew et al., 2018).

Figura 7. Fotobiorreactores de panel plano



Fuente: (Sathinathan et al., 2023)

4.10.1.2. Sistemas de fotobiorreactores a escala de laboratorio

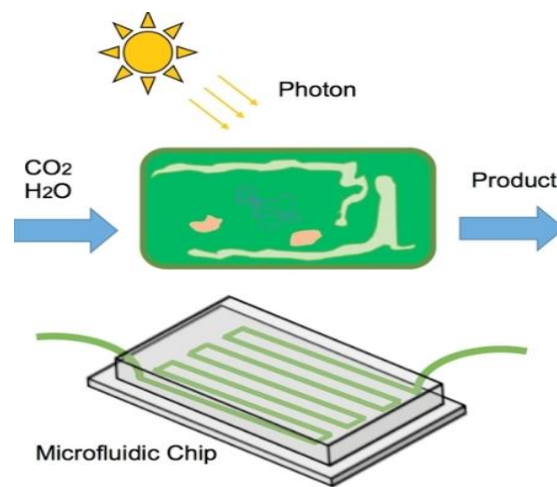
Abarcan un rango de volumen desde unos pocos litros hasta microlitros y se distinguen por su aplicación principalmente en investigación en lugar de ser empleados en la producción comercial. A diferencia de los fotobiorreactores a escala industrial que frecuentemente se benefician de la iluminación solar, aquellos a escala de laboratorio se iluminan artificialmente. Se ha evidenciado que ciertas medidas de onda luminosa, como la blanca, roja y azul, son efectivas para lograr una mayor biomasa o concentración de producto en el cultivo a nivel de laboratorio (Sathinathan et al., 2023).

a) Fotobiorreactor de micro fluido

Los fotobiorreactores de micro fluidos iluminados (PBFIM) son una nueva tecnología que se utiliza para estudiar microalgas. Estos chips consisten en varios compartimentos de cultivo conectados por un canal de fluido. Las microalgas se cultivan en una matriz de polidimetilsiloxano (PDMS) que tiene una dimensión de alrededor de 2 cm de profundidad (Figura 9).

Los PBFIM se pueden utilizar para estudiar una variedad de parámetros, incluyendo el ciclo de agentes inductores de estrés. Gracias a su flexibilidad, los PBFIM se pueden adaptar a una variedad de aplicaciones, incluyendo la producción de biocombustibles (Benner et al., 2022).

Figura 8. Fotobiorreactor de microfluido



Fuente: (Yang & Wang, 2016)

b) Fotobiorreactores agitados

Los fotobiorreactores agitados son dispositivos de cultivo de laboratorio que se utilizan para el crecimiento de microalgas y cianobacterias. Estos fotobiorreactores consisten en un matraz de cultivo agitado en un agitador orbital (Figura 10). La iluminación se puede lograr con lámparas LED o fluorescentes (Le Page et al., 2020).

Los fotobiorreactores agitados se utilizan comúnmente para la optimización del medio y la detección de microalgas industrialmente prometedoras. La biomasa de microalgas y cianobacterias fotosintéticamente activas en matraces agitados tiende a ser mayor bajo intensidades de luz más altas. Sin embargo, en la producción a escala industrial se prefieren condiciones de limitación de luz (Wu et al., 2020). Regular la temperatura es simple mediante ajustes en la incubadora, pero sin mediciones en tiempo real, podrían ocurrir variaciones de temperatura de algunos grados debido al calor generado por el sistema de iluminación (Bruder et al., 2016).

Figura 9. Fotobiorreactores agitados



Fuente: (Benner et al., 2022)

c) Fotobiorreactor de columna de burbujas

Son dispositivos que se utilizan para cultivar microalgas en un entorno rico en dióxido de carbono. Estos fotobiorreactores consisten en un tanque cilíndrico que contiene una suspensión de microalgas (Figura 11). En el fondo del tanque, hay un rociador que dispersa el CO₂ en suspensión (Gayathri et al., 2021).

El tamaño y la velocidad de las burbujas de aire se pueden controlar ajustando la presión del aire. El caudal de aire también se puede controlar para garantizar que las microalgas tengan la cantidad adecuada de dióxido de carbono. Los fotobiorreactores de columna de burbujas son una opción popular en el nacimiento de algas a nivel industrial. Estos fotobiorreactores tienen la facultad de ser fáciles de diseñar y construir, y son relativamente económicos de operar (Benner et al., 2022).

Los diámetros oscilan entre 7 y 24 cm, se iluminan mediante tubos fluorescentes o lámparas LED, distribuyendo la luz alrededor del reactor cilíndrico para lograr una iluminación uniforme. La intensidad lumínica disminuye del exterior hacia el centro, lo que puede afectar el aumento de estas bacterias (Saldarriaga et al., 2020). El seguimiento del proceso se realiza con mediciones en línea de temperatura, pH, OD y luz, mientras que algunos reactores están equipados con válvulas para muestreo. La gasificación puede generar tensiones de corte en las células de microalgas, lo que afecta sus funciones e incluso puede causar la muerte celular, particularmente en microalgas sin pared celular, dependiendo de la configuración y la tasa de aireación de la columna de burbujas (López-Rosales et al., 2019).

Figura 10. Fotobiorreactor de columna de burbujas



Fuente: (Benner et al., 2022)

d) Fotobiorreactor de tanque agitado

Los fotobiorreactores de tanque agitado, comúnmente utilizados en laboratorios y fabricados de vidrio, son aptos bajo niveles de iluminación externa o interna (Figura 12). Estos reactores proporcionan un entorno controlado para las microalgas, con una mezcla eficiente y transferencia de calor y masa adecuadas, pero pueden presentar altas variaciones locales de energía, generando esfuerzos de corte (Deniz, 2020). Para proteger las células sensibles al estrés de corte, se han empleado aditivos en cultivos de fotobiorreactores de tanque agitado. Además, se han explorado diversas fuentes de luz, como la fibra óptica para distribuir la luz solar y LED de luz roja, buscando mejorar la eficiencia fotosintética en base a línea bajo parámetros como concentración del oxígeno, temperatura y pH, junto con modelos de estimación, permite evaluar con precisión la concentración de biomasa y la eficiencia fotosintética en estos fotobiorreactores (Benner et al., 2022).

Figura 11. Fotobiorreactor de tanque agitado



Fuente: (Benner et al., 2022)

4.11. Factores que influyen en el crecimiento

4.11.1. La luz

Valores que signifiquen un exceso de luz puede llevar a la fotoinhibición, un fenómeno que inhibe la fotosíntesis y estresa las microalgas. La fotoinhibición puede ser reversible. Además, las microalgas pueden experimentar auto sombra a medida que crecen, donde las células cercanas a la fuente de luz bloquean la luz para las células posteriores, lo que inhibe su crecimiento. Para abordar este problema, es importante diseñar sistemas de cultivo que promuevan la circulación celular, preferiblemente mediante burbujeo en lugar de palas, que podrían dañar las células. También, la profundidad del líquido en el reactor afecta la distribución de la luz y debe considerarse para un crecimiento eficiente de las microalgas (Seyfabadi et al., 2011).

4.11.2. La temperatura

Para que un organismo prospere, es esencial que el ambiente en el que se desarrolla sea propicio, y la temperatura se erige como uno de los factores principales en este contexto. Cada organismo tiene sus propios intervalos de temperatura en los cuales puede desarrollarse de manera eficiente, y fuera de estos intervalos, su viabilidad se ve afectada.

El aumento de calor especialmente sobre la *Chlorella* se refiere a la temperatura ideal, y generalmente se sitúa entre 28 y 35 °C. Si la temperatura cae por debajo de estos valores, las microalgas no pueden crecer debido a la ralentización de su metabolismo. Por otro lado, si la temperatura supera este rango, las microalgas alteran su proceso metabólico, dejando de fijar dióxido de carbono (CO₂) y comenzando a fijar oxígeno (O₂) (Pourkarimi et al., 2020).

4.11.3. El pH

Las microalgas suelen prosperar en un entorno con un pH aproximado de 8, y es crucial mantener este valor cercano a su nivel óptimo, ya que cualquier variación puede tener un impacto significativo en la producción de biomasa. Diversos factores pueden perturbar el equilibrio del ambiente, incluyendo la respiración celular, la alcalinidad de los nutrientes en el momento de preparar el desarrollo microbiana, en base a la acumulación de CO₂ sin ser absorbido por las microalgas puede ocasionar un aumento en el pH del medio, lo que puede afectar negativamente el cultivo (Brindhadevi et al., 2021).

4.11.4. El oxígeno y anhídrido carbónico

Durante la fotosíntesis, se produce oxígeno, y su concentración en el medio puede aumentar significativamente hasta un 300%. Sin embargo, este aumento puede ser perjudicial, ya que el organismo puede cambiar a la respiración en lugar de continuar produciendo las moléculas deseadas, lo que puede resultar en una disminución del 17% al 25% en la producción. Por lo tanto, es crucial controlar este parámetro cuidadosamente durante el crecimiento (Daneshvar et al., 2022).

4.11.5. Los nutrientes

Las microalgas requieren principalmente nitrógeno para su crecimiento, utilizado en la síntesis de proteínas, lípidos y material genético. Pueden obtener nitrógeno de nitratos o amoníaco. En ciertos casos, se pueden emplear carbohidratos como fuentes de carbono en lugar de CO₂ en medios fotoheterótrofos. Además, se recomienda enriquecer el medio con fósforo, necesario para su formación celular, utilizando fosfatos a una concentración superior al 1% por litro de medio (Nagarajan et al., 2022).

4.12. Determinación de concentración y biomasa

4.12.1. Espectrofotometría

El espectrómetro es un aparato que se emplea para identificar la absorción, en base al valor longitudinal de la onda de luz, dicha medición está ubicada en diversos niveles, identificando valores netos de la concentración, como el de *Chlorella sp*, valorando la absorbividad de algas en un cultivo base (Gita et al., 2019).

4.12.2. Curva de calibración del equipo

Una curva de calibración es un gráfico que muestra la correspondencia entre la cantidad de una sustancia y la señal de medición, generalmente obtenida a través de un instrumento de análisis como un espectrofotómetro o un cromatógrafo (Fernandes et al., 2020). Esta curva es esencial en la cuantificación de sustancias desconocidas en muestras, ya que proporciona una referencia que relaciona la intensidad de la señal medida con la cantidad real de la sustancia en estudio. Para crear una curva de calibración, se miden varias muestras con concentraciones conocidas de la sustancia de interés y se registran las señales correspondientes. Luego, estos datos se utilizan para trazar la curva, que permite extrapolar o interpolar las concentraciones de sustancias en muestras desconocidas en función de sus señales de medición (Pahija & Hui, 2019).

5. Materiales y métodos

5.1. Materiales

- Mechero
- Agua destilada
- Micropipetas
- Puntas de micropipetas
- Rollo de papel aluminio
- Vaso de precipitados
- Parafilm

- Lámparas de luz
- Microalgas
 - *Chlorella vulgaris*
 - *Chlorella sp*
- Papel aluminio

5.1.1. Equipos

- Thermo Shaker 4000
- Espectrofotómetro Genesis

5.2. Métodos

5.2.1. Cultivo de microalgas

Para la inoculación inicial, se empleó un matraz con 500 ml conteniendo agua destilada y 1 ml de cada tipo de microalga, se colocaron nutrientes específicos para su bioestimulación (Ver tabla 1). Para establecer condiciones óptimas de crecimiento microalga se fijaron los parámetros iniciales del experimento a una temperatura de 23°C, un pH del agua de 7.5, un movimiento de 150rpm, para *Chlorella sp* y *Chlorella vulgaris*, ambas fijadas en 650 nm. Se registraron datos de absorbancia cada dos días.

Tabla 1. Cantidad de nutrientes

Nutriente	Cantidad
Nitrato de sodio (NaNO ₃)	0,75g
Fosfato de potasio monobásico (KH ₂ PO ₄)	0,05g
Sulfato de magnesio heptahidratado (MgSO ₄ -7H ₂ O)	0,1g
0.04 g de Cloruro de calcio	0,02g
Sulfato de Hierro (FeSO ₄ o Fe-EDTA)	0,01g
Sulfato de Zinc (ZnSO ₄)	0,001g
Sulfato de Cobre (CuSO ₄)	0,0005g
Molibdeno de Sodio (Na ₂ MoO ₄)	0,0001g
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	0,5g

Se realizaron varios ensayos utilizando la fórmula $C1 * V1 = C2 * V2$, buscando alcanzar una densidad de (1) con todos los inóculos.

Tabla 2. Datos experimentales inoculo

	Concentración	volumen	Procedencia	Especie
1	(6.025*11ml)/ 0.5	132ml	UPS	<i>Chlorella vulgaris</i>
2	(5.605*12ml)/0.5	134ml	UPS	<i>Chlorella sp</i>
1.1	(6.025*1ml)/0.5	12ml	UPS	<i>Chlorella vulgaris</i>
2.2	(5.605*1.3ml)/0.5	14.5ml	UPS	<i>Chlorella sp</i>

Nota: La concentración se refiere a la densidad óptica que reporta el espectrofotómetro. En la columna 2 se muestra el volumen final de los inóculos de cada especie. Las réplicas se codificaron como 1.1 y 2.2

5.2.2. Tolerancia al azul índigo

En este ensayo se aplicaron cuatro concentraciones físicas de azul índigo al 100%; 75%; 50% y 10% a estas concentraciones se sometieron inóculos de microalgas para valorar su tolerancia.

VARIABLES DE ESTUDIO

- **Independientes**

- Tiempo
- Biomasa
- Concentración Azul índigo: 10,50,75 y 100%

- **Variable Dependiente**

- Tolerancia

5.2.3. Recogida de datos

Los datos se registraron cada 2 días por un período de tiempo aproximado de 15 días. El análisis estadístico de los grupos de datos se realizó en base al ANOVA, y un análisis de Tukey, determinando la significatividad mediante el paquete estadístico ISFOSTAT.

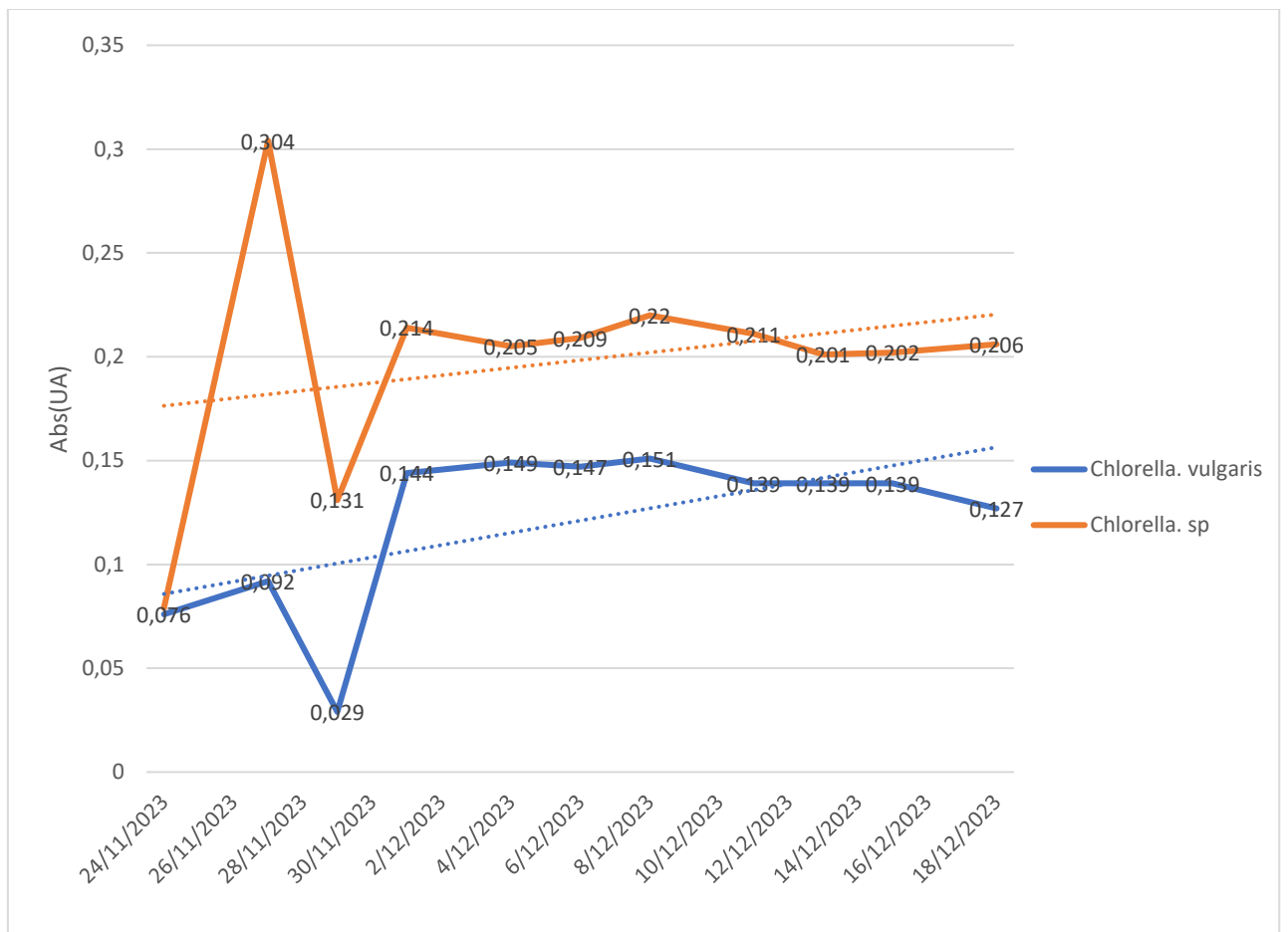
6. Resultados y discusión

6.1. Resultados

6.1.1. Siembra de microalgas y desarrollo algal

Se observó variaciones significativas en la absorbancia durante el período de estudio, las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Chlorella* sp identificaron absorbancia inicial de 0.076 y 0.079 respectivamente. Luego de 6 días *C. vulgaris* alcanzó una absorbancia de 0.029 y luego de 8 días se incrementó considerablemente hasta 0.144 *Chlorella* sp registró 0.214 variando su absorbancia dentro de los 8 días siguientes, luego de 25 días se mantuvieron niveles similares, 0.139 para *C. vulgaris* y 0.202 para *Chlorella* sp.

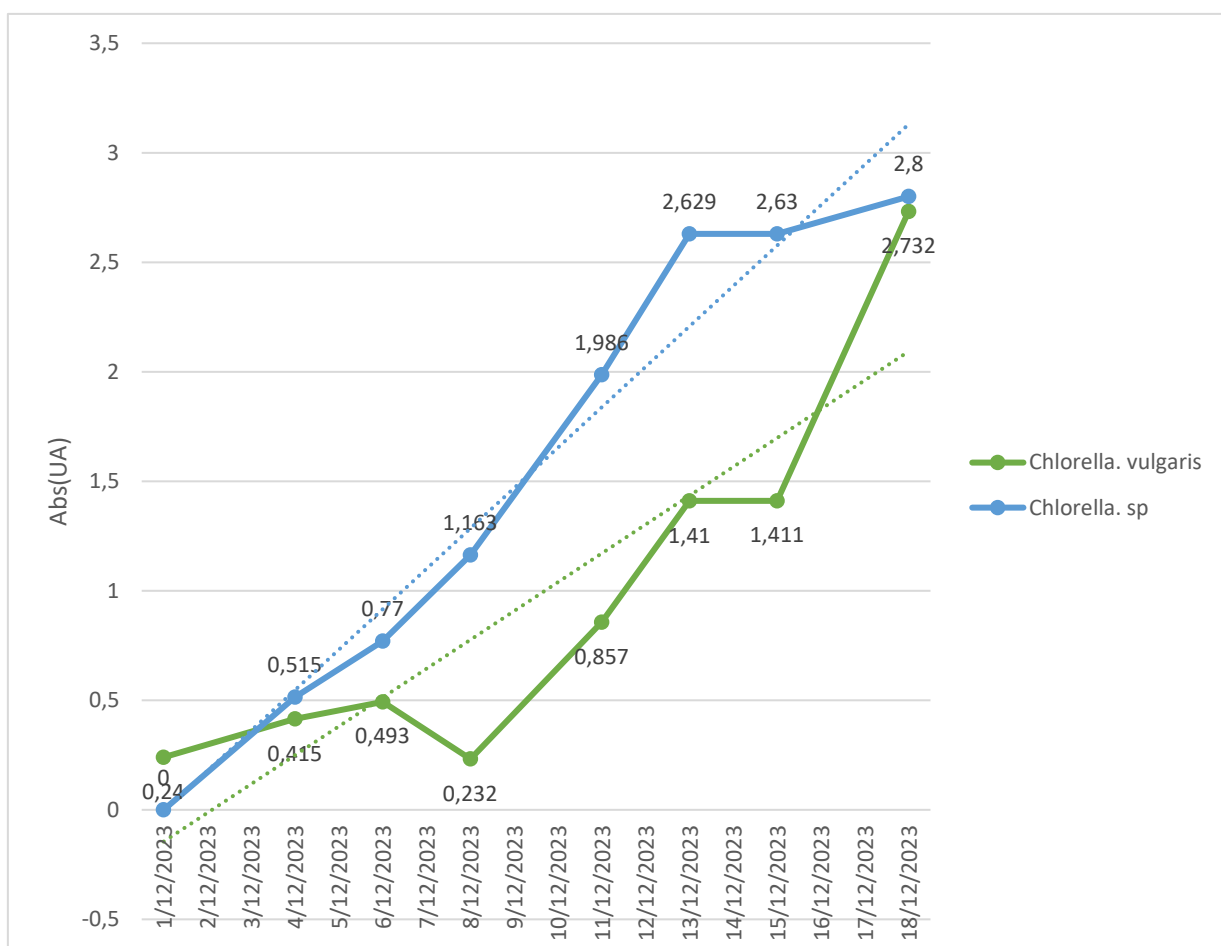
Figura 12. Resultados del desarrollo de biomasa algal en las 2 especies en 500 ml de solución y 1 ml del inóculo (Primer Inóculo)



En el gráfico podemos evidenciar la capacidad de desarrollo que tiene *Chlorella* sp. Frente a *Chlorella vulgaris* desde el inicio del estudio.

De los resultados que se obtuvieron, resulta la densidad ser demasiado pequeña para poder hacer las pruebas de tolerancia, por lo que se hizo una segunda inoculación con 20 ml de agua y 5 ml de inóculos de microalgas. Los resultados mostraron un patrón de crecimiento para *C. vulgaris* y *Chlorella* sp. 0.24 para *Chlorella vulgaris* y 0,213 para *Chlorella* sp. Las 2 especies alcanzaron sus concentraciones máximas a partir de los 12 días, 2.732 para *C. vulgaris* y 2.8 para *Chlorella* sp.

Figura 13. Resultados del desarrollo de biomasa algal en las 2 especies en 20 ml de solución y 5 ml del inóculo. (Tercera inoculación)

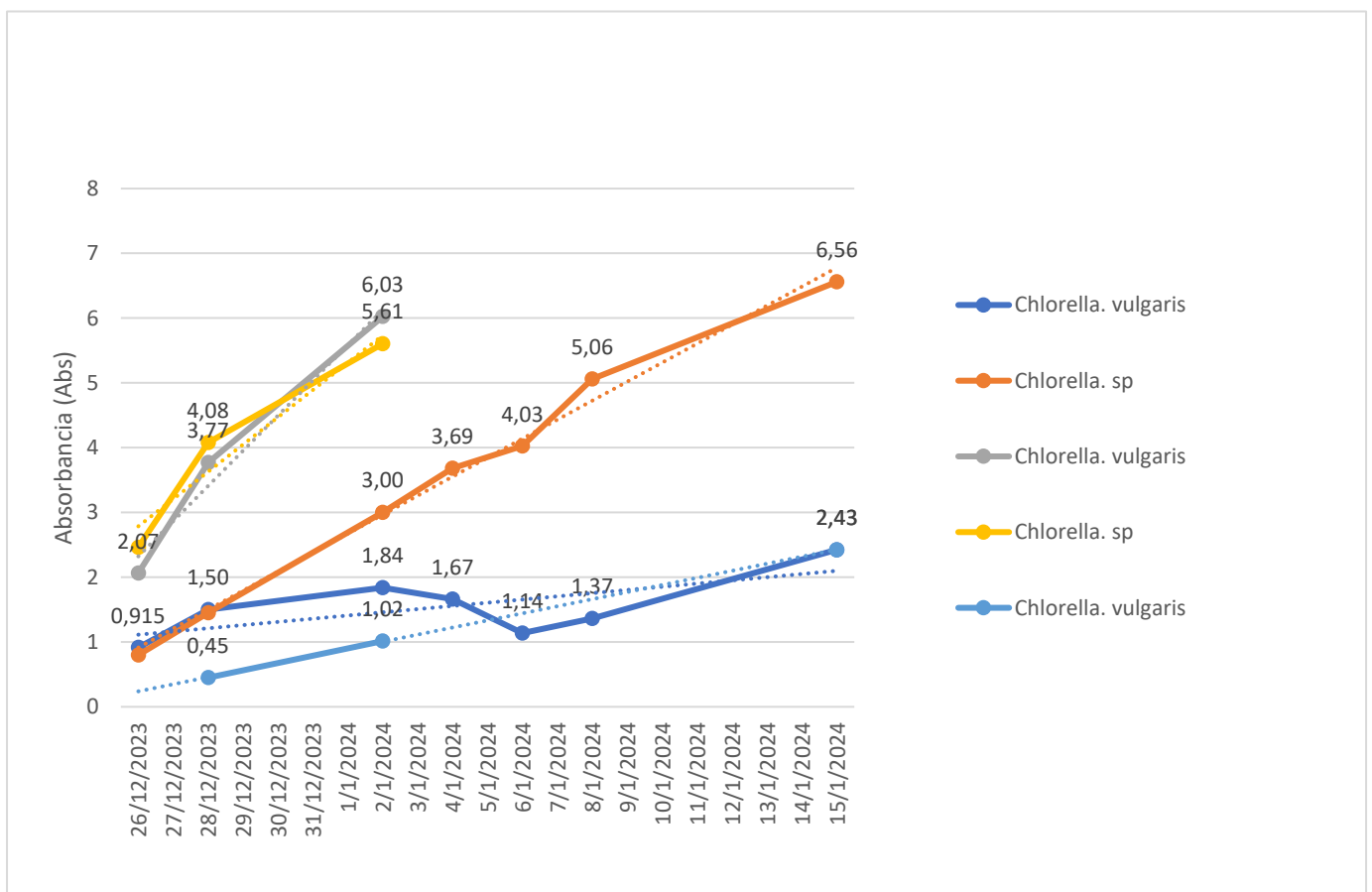


En el gráfico podemos evidenciar la capacidad de desarrollo que tiene *Chlorella* sp. Frente a *Chlorella vulgaris* desde el inicio del estudio se observó que *C. vulgaris* y

Chlorella sp presentaron absorbancias iniciales de 0.915 y 0.800 respectivamente. Sin embargo, se notó una baja absorbancia en *C. vulgaris* debido a la contaminación del medio, lo que requirió un reemplazo.

A pesar de ello, las concentraciones seguían siendo relativamente bajas en comparación con otras variantes. La sustitución se llevó a cabo el día 2, con una nueva cepa registrando una concentración de 0.45. En comparación con otras cepas, su crecimiento se mantuvo más bajo en fechas posteriores. Por otro lado, *Chlorella* sp mostró un crecimiento constante, alcanzando al final una absorbancia de 6.96. En cuanto a los resultados, tanto *C. vulgaris* como *Chlorella* sp alcanzaron concentraciones más elevadas a los 8 días, pasando de 2.43 y 1.02 a 6.03 y 5.6, respectivamente. Sin embargo, *Chlorella* sp mostró una absorbancia mayor.

Figura 14. Desarrollo de biomasa algal (Cuarta inoculación)



En la gráfica podemos observar que hubo un crecimiento exponencial durante 19 días, donde *Chlorella sp* tuvo una absorbancia de 6.560 mientras que *Chlorella vulgaris*

alcanzo una aproximado de 6.128. Mediante el análisis de los datos obtenidos, podemos inferir que *Chorella vulgaris* tuvo una mejor adaptación al medio.

6.1.2. Tolerancia al azul índigo

Los resultados luego del análisis estadístico correspondiente a *Chorella sp*, con un valor $P=0.0014$ nos sugieren una diferencia significativa entre los grupos de datos.

Mientras que para el análisis estadístico correspondiente a *Chorella vulgaris*, con un valor $P=0.2341$ con un nivel de significancia de 0,05 inferimos no hay diferencia significativa entre los grupos de datos.

Tabla 3. ANOVA Tolerancia *Chlorella sp*

F. V	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	0,33	7	0,05	7,78	0,0011
Repetición	0,15	4	0,04	6,08	0,0065
concentraciones	0,18	3	0,06	10,03	0,0014
Error	0,07	12	0,01		
Total	0,41	19			

Tabla 4. ANOVA Tolerancia *Chlorella vulgaris*

F. V	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	0,26	6	0,04	2,08	0,1555
Repetición	0,16	3	0,05	2,50	0,1260
concentraciones	0,10	3	0,03	1,66	0,2341
Error	0,19	9	0,02		
Total	0,45	15			

Mediante una prueba de Tukey se pudo inferir que la concentración más efectiva, resultó ser al 10% de azul índigo.

En el caso de *C. vulgaris*, no existieron diferencias en sus valores conceptuales de valor número técnico. Sin embargo, la media más baja también se registró con el 10% de azul índigo (0.30).

Tabla 5. Prueba de Tukey concentraciones azul índigo

Concentración	Media <i>Chlorella sp</i>	Media <i>C. vulgaris</i>
100%	0,46 A	0,51 A

75%	0,42 A	0,37 A
50%	0,4 A	0,34 A
10%	0,021 B	0,30 A

Nota: Las letras iguales A son estadísticamente iguales, mientras que B son estadísticamente diferentes, por lo tanto, se especifica los valores ascendente y decente dentro de un rango p ($>0,05$).

Chorella sp a una concentración de 10% con valor de 0,021 refleja una diferencia a lo largo del tiempo.

Las variables para considerar una densidad óptica de (1) varían de acuerdo a las especies (Vacca et al. 2017).

6.2. Discusión

La investigación sobre el desarrollo algal reveló variaciones significativas entre *Chlorella vulgaris* y *Chlorella* sp. Los resultados finales mostraron valores de absorbancia de 6.56 y 2.43, respectivamente. Los valores que arrojaron son mayores a los de Vacca et al. (2017), quienes observaron el crecimiento de *Chlorella* sp durante un período de 20 días. En su investigación, los valores de absorbancia de *Chlorella* sp aumentaron de 0.2 a 1.2. Además, la cinética de reacción es determinante para el desarrollo de las cepas, y más aún las condiciones físicas que actúan sobre ello, debido a que según la investigación de Ortiz et al. (2018), indica que frente a condiciones de temperatura mayor a 35 grados centígrados, se registra mayor actividad en la cinética de crecimiento para la cepa *C. vulgaris*, con recuento en células de $3 \times 10^6/\text{ml}$.

Es relevante destacar que los resultados obtenidos también se alinean con la investigación de Bolaños-Ortiz & Martínez-Caranguay (2016) quienes observaron un aumento de la cepa *C vulgaris* en los primeros 5 días del experimento, teniendo valores superiores de nitrógeno. La concordancia en los patrones de crecimiento entre ambos estudios sugiere la importancia del nitrógeno en el desarrollo de *Chlorella vulgaris*. Sin embargo, es esencial considerar las posibles variaciones en las condiciones experimentales, las cepas específicas utilizadas y las metodologías empleadas en estos estudios.

En cuanto a la tolerancia, se observó una diferencia significativa en la tolerancia de *Chlorella* sp ante diferentes concentraciones de azul índigo, que variaron del 10% al 100%, la absorbancia osciló entre 0.19 y 0.64 en estas concentraciones. La significativa variación en la absorbancia de *Chlorella* sp en respuesta a diferentes concentraciones de azul índigo plantea importantes consideraciones sobre su tolerancia a este compuesto. La amplia gama de concentraciones, desde el 10% hasta el 100%, proporcionó un panorama detallado de cómo la absorbancia de *Chlorella* sp fluctuó en función de la concentración del azul índigo.

Los resultados sugieren que *Chlorella* sp muestra una respuesta sensible a la presencia de azul índigo en el medio ambiente. Esta sensibilidad podría tener implicaciones significativas en entornos donde el azul índigo está presente, como en

aguas residuales industriales o en sistemas acuáticos contaminados. Es importante destacar que la absorbancia incrementó con el aumento de la concentración de azul índigo, lo que indica una correlación directa entre la cantidad de azul índigo y la respuesta de *Chlorella* sp (Premaratne et al., 2021). Este hallazgo subraya la importancia de monitorear y regular cuidadosamente los niveles de contaminantes como el azul índigo para proteger la salud de la vida acuática.

Según los datos de la investigación de El-Kassas & Mohamed (2014), se observaron concentraciones celulares máximas (C_{max}) y tasas máximas de crecimiento específico (μ_{max}) para el cultivo de *Chlorella* en aguas residuales. Estos valores alcanzaron su punto máximo en las aguas residuales bajo condiciones de calor con una absorbancia mayor a 6.5%.

7. Conclusiones y recomendaciones

7.1. Conclusiones

- Los resultados de las microalgas *Chlorella* sp y *C. vulgaris* bajo condiciones controladas de laboratorio demuestran un patrón de crecimiento altamente prometedor. Se observó que *Chlorella* sp alcanzó una absorbancia máxima de 6.56, mientras que *C. vulgaris* registró una absorbancia máxima de 2.42. Estos valores son indicativos de un desarrollo robusto y significativo de ambas cepas en el entorno experimental establecido.
- Los resultados de la prueba de tolerancia al azul índigo muestran que las concentraciones utilizadas tienen un impacto significativo en *Chlorella* sp, mientras que en *Chlorella vulgaris* las diferencias no son tan marcadas. Sin embargo la concentración más efectiva de azul índigo para *Chlorella* sp fue del 10%, lo que resultó en la mayor disminución de la absorbancia. Por otro lado, *Chlorella vulgaris* mostró una tolerancia relativamente alta a las concentraciones probadas.
- Los análisis de absorbancia y las pruebas estadísticas proporcionan información sobre la relación entre la concentración de azul índigo y la absorbancia de las microalgas.

Al contrastar los resultados obtenidos observó que los niveles de azul índigo después de la bioadsorción están bajo condiciones óptimas en temas de eficiencia y eficacia. La reducción de la concentración de azul índigo a niveles conformes es de relevancia práctica. Esto respalda la viabilidad de la bioadsorción con algas como una solución ambientalmente sostenible.

Además de la eficacia, podemos manifestar la viabilidad económica, ya que los procesos biológicos y la sostenibilidad a largo plazo son factibles en la bioadsorción. Estos aspectos se presentan como elementos claves para considerar en la aplicación a gran escala de esta estrategia.

La consistencia de los resultados en condiciones diversas refuerza la confianza en la eficacia de la bioadsorción con algas. La reproducibilidad del estudio sugiere estudios a gran escala que podrían aplicarse en diferentes contextos con resultados similares.

En conclusión, los resultados respaldan la efectividad de la bioadsorción de azul índigo con algas como una estrategia para cumplir con las normativas ambientales. Se recomienda considerar la implementación práctica de esta técnica y explorar posibles aplicaciones a mayor escala, al tiempo que se continúa investigando sus posibles impactos ambientales y económicos.

7.2. Recomendaciones

- Dado el potencial prometedor observado en el cultivo de *Chlorella* sp y *Chlorella vulgaris*, tiene como valor el optimizar las condiciones de cultivo. Esto puede incluir ajustes en factores de calor, con iluminación y la agitación del medio. La optimización de estas variables podría aumentar aún más el rendimiento de las microalgas y mejorar su potencial para aplicaciones industriales.
- Aunque el estudio evaluó la tolerancia de las microalgas al azul índigo, sería beneficioso investigar su respuesta a otros contaminantes comunes presentes en los efluentes industriales y domésticos. Esto podría ayudar a comprender mejor los niveles de algas, para reducir contaminantes en aguas con sedimentos, lo que podría conducir al desarrollo de sistemas de biorremediación más efectivos y versátiles.

- Se recomienda explorar otros posibles usos y aplicaciones de *Chlorella* sp y *Chlorella vulgaris*. Esto podría incluir la producción de biocombustibles, suplementos alimenticios, productos farmacéuticos y cosméticos, entre otros.

8. Bibliografía

- Almeida, Â., Cotas, J., Pereira, L., & Carvalho, P. (2023). Potential Role of *Spirogyra* sp. and *Chlorella* sp. in Bioremediation of Mine Drainage: A Review. *Phycology*, 3(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/phycology3010012>
- Babu, A. N., Reddy, D. S., Sharma, P., Kumar, G. S., Ravindhranath, K., & Mohan, G. V. K. (2019). Removal of Hazardous Indigo Carmine Dye from Waste Water Using Treated Red Mud. *Materials Today: Proceedings*, 17, 198-208. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.06.419>
- Balamurugan, S., Sathishkumar, R., & Li, H.-Y. (2021). Biotechnological perspectives to augment the synthesis of valuable biomolecules from microalgae by employing wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 39, 101713. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101713>
- Benner, P., Meier, L., Pfeffer, A., Krüger, K., Oropeza Vargas, J. E., & Weuster-Botz, D. (2022). Lab-scale photobioreactor systems: Principles, applications, and scalability. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 45(5), 791-813. <https://doi.org/10.1007/s00449-022-02711-1>
- Best Trip Ecuador. (2018). *Laguna La Toreadora*. <https://besttripecuador.com/laguna-la-toreadora/blog>
- Bolaños-Ortiz, S., & Martínez-Caranguay, G. (2016). *Producción de lípidos a partir de la microalga Chlorella vulgaris* (Vol. 1). UNIMAR.

<http://www.umariana.edu.co/ojs-editorial/index.php/libroseditorialunimar/article/view/976>

- Brindhadevi, K., Mathimani, T., Rene, E. R., Shanmugam, S., Chi, N. T. L., & Pugazhendhi, A. (2021). Impact of cultivation conditions on the biomass and lipid in microalgae with an emphasis on biodiesel. *Fuel*, 284, 119058. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119058>
- Bruder, S., Reifenrath, M., Thomik, T., Boles, E., & Herzog, K. (2016). Parallelised online biomass monitoring in shake flasks enables efficient strain and carbon source dependent growth characterisation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Cell Factories*, 15(1), 127. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0526-3>
- Castillo-Suárez, L. A., Sierra-Sánchez, A. G., Linares-Hernández, I., Martínez-Miranda, V., & Teutli-Sequeira, E. A. (2023). A critical review of textile industry wastewater: Green technologies for the removal of indigo dyes. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(9), 10553-10590. <https://doi.org/10.1007/s13762-023-04810-2>
- Chew, K. W., Chia, S. R., Show, P. L., Yap, Y. J., Ling, T. C., & Chang, J. S. (2018). Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 91, 332-344. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.05.039>
- Coronado-Reyes, J. A., Salazar-Torres, J. A., Juárez-Campos, B., & González-Hernández, J. C. (2020). *Chlorella vulgaris*, a microalgae important to be used in Biotechnology: A review. *Food Science and Technology*, 42, e37320. <https://doi.org/10.1590/fst.37320>
- da Fontoura, J. T., Rolim, G. S., Mella, B., Farenzena, M., & Gutterres, M. (2017). Defatted microalgal biomass as biosorbent for the removal of Acid Blue 161 dye

- from tannery effluent. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(5), 5076-5084. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.09.051>
- da Silva, D., Bilal, M., Bharagava, R. N., Kumar, A., Kumar, A., Salazar-Banda, G. R., Eguiluz, K. I. B., & Romanholo, L. F. (2022). Lignin-modifying enzymes: A green and environmental responsive technology for organic compound degradation. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 97(2), 327-342. <https://doi.org/10.1002/jctb.6751>
- Daneshvar, E., Wicker, R. J., Show, P.-L., & Bhatnagar, A. (2022). Biologically-mediated carbon capture and utilization by microalgae towards sustainable CO₂ biofixation and biomass valorization – A review. *Chemical Engineering Journal*, 427, 130884. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130884>
- Deniz, I. (2020). Scaling-up of *Haematococcus pluvialis* production in stirred tank photobioreactor. *Bioresource Technology*, 310, 123434. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123434>
- Desore, A., & Narula, S. A. (2018). An overview on corporate response towards sustainability issues in textile industry. *Environment, Development and Sustainability*, 20(4), 1439-1459. <https://doi.org/10.1007/s10668-017-9949-1>
- Dineshbabu, G., Goswami, G., Kumar, R., Sinha, A., & Das, D. (2019). Microalgae–nutritious, sustainable aqua- and animal feed source. *Journal of Functional Foods*, 62, 103545. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103545>
- Dragone, G. (2022). Challenges and opportunities to increase economic feasibility and sustainability of mixotrophic cultivation of green microalgae of the genus *Chlorella*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 160, 112284. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112284>

- El-Kassas, H. Y., & Mohamed, L. A. (2014). Bioremediation of the textile waste effluent by *Chlorella vulgaris*. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 40(3), 301-308. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2014.08.003>
- Fernandes, G. M., Silva, W. R., Barreto, D. N., Lamarca, R. S., Lima Gomes, P. C. F., Flávio da S Petrucci, J., & Batista, A. D. (2020). Novel approaches for colorimetric measurements in analytical chemistry – A review. *Analytica Chimica Acta*, 1135, 187-203. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.030>
- FVS. (2020). *La industria textil es la segunda más contaminante después de la petrolera*. <https://www.vidasostenible.org/la-industria-textil-es-la-segunda-mas-contaminante-despues-de-la-petrolera/>
- García, J., Pavía Gómez, M., García Sanz, T., Chirivella Martorell, J., & Serrano Aroca, Á. (2017). Principios de Biotecnología y Bioingeniería en el cultivo de microalgas: Importancia, problemas tecnológicos, tipos y sistemas de cultivos, crecimiento, factores limitantes, selección, aislamiento, escalado y caracterización bioquímica. *Nereis: revista iberoamericana interdisciplinar de métodos, modelización y simulación*, 9, 115-130.
- García, M. (2020). *Aislamiento y caracterización de una microalga verde para la fijación de CO₂* [Tesis de pregrado, Universidad de Sonora]. <http://repositorioinstitucional.uson.mx/handle/20.500.12984/7082>
- Gayathri, S., Rajasree, S. R. R., Suman, T. Y., Aranganathan, L., Thriuganasambandam, R., & Narendrakumar, G. (2021). Induction of β , ϵ -carotene-3, 3'-diol (lutein) production in green algae *Chlorella salina* with airlift photobioreactor: Interaction of different aeration and light-related strategies. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(5), 2003-2012. <https://doi.org/10.1007/s13399-019-00580-5>

- Gita, S., Shukla, S. P., Saharan, N., Prakash, C., & Deshmukhe, G. (2019). Toxic Effects of Selected Textile Dyes on Elemental Composition, Photosynthetic Pigments, Protein Content and Growth of a Freshwater Chlorophycean Alga *Chlorella vulgaris*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *102*(6), 795-801. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02599-w>
- Goecke, F., Noda, J., Paliocha, M., & Gislerød, H. R. (2020). Revision of *Coelastrella* (Scenedesmaceae, Chlorophyta) and first register of this green coccoid microalga for continental Norway. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, *36*(10), 149. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02897-0>
- González, C. (2017). Cultivos de microalgas a gran escala: Sistemas de producción. *Revista ADN Agro*, *18*, 1-14.
- Goswami, R. K., Mehariya, S., Verma, P., Lavecchia, R., & Zuurro, A. (2021). Microalgae-based biorefineries for sustainable resource recovery from wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, *40*, 101747. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101747>
- Haltia, T., Jungewelter, S., Airaksinen, L., Suomela, S., Lindström, I., & Suojalehto, H. (2021). Occupational asthma, rhinitis, and contact urticaria from indigo (*Indigofera tinctoria*) hair dye. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, *9*(9), 3500-3502. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2021.04.047>
- Hanco, R. R., & Pastor, I. S. (2021). *Biorremediación de cromo presente en aguas contaminadas del río Chillón – Lima por la microalga *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont* [Tesis de pregrado, Universidad Católica Sedes Sapientiae]. <https://repositorio.ucss.edu.pe/handle/20.500.14095/1261>

- Hossain, N., Mahlia, T. M. I., & Saidur, R. (2019). Latest development in microalgae-biofuel production with nano-additives. *Biotechnology for Biofuels*, 12(1), 125. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1465-0>
- Jin, H. (2021). Innovative Design of Indigo Print in Soft Smart Knitted Garments. En T. Z. Ahram & C. S. Falcão (Eds.), *Advances in Usability, User Experience, Wearable and Assistive Technology* (pp. 102-107). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-80091-8_13
- Khadhri, N., El Khames Saad, M., ben Mosbah, M., & Moussaoui, Y. (2019). Batch and continuous column adsorption of indigo carmine onto activated carbon derived from date palm petiole. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(1), 102775. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.11.020>
- Kselíková, V., Singh, A., Bialevich, V., Čížková, M., & Bišová, K. (2022). Improving microalgae for biotechnology—From genetics to synthetic biology – Moving forward but not there yet. *Biotechnology Advances*, 58, 107885. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107885>
- LaRose, D. (2017). *To Dye For: Textile Processing's Global Impact*. Carmen Busquets. <https://www.carmenbusquets.com/journal/post/fashion-dye-pollution>
- Le Page, G., Gunnarsson, L., Snape, J., & Tyler, C. R. (2020). Development and Application of a Microplate Assay for Toxicity Testing on Aquatic Cyanobacteria. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(3), 705-720. <https://doi.org/10.1002/etc.4657>
- Li, S., Cunningham, A. B., Fan, R., & Wang, Y. (2019). Identity blues: The ethnobotany of the indigo dyeing by Landian Yao (Iu Mien) in Yunnan, Southwest China. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 15(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s13002-019-0289-0>

- Lone, J. A., Lone, F. A., & Toppo, K. (2022). *Fresh Water Algae of Dal Lake, Kashmir, India*. Cambridge Scholars Publishing.
- López-Rosales, L., Sánchez-Mirón, A., Contreras-Gómez, A., García-Camacho, F., Battaglia, F., Zhao, L., & Molina-Grima, E. (2019). Characterization of bubble column photobioreactors for shear-sensitive microalgae culture. *Bioresource Technology*, 275, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.009>
- Ma, S., Zeng, W., Huang, Y., Zhu, X., Xia, A., Zhu, X., & Liao, Q. (2022). Revealing the synergistic effects of cells, pigments, and light spectra on light transfer during microalgae growth: A comprehensive light attenuation model. *Bioresource Technology*, 348, 126777. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126777>
- Ma, Y., Rosson, L., Wang, X., & Byrne, N. (2020). Upcycling of waste textiles into regenerated cellulose fibres: Impact of pretreatments. *The Journal of The Textile Institute*, 111(5), 630-638. <https://doi.org/10.1080/00405000.2019.1656355>
- Nagarajan, D., Lee, D.-J., Varjani, S., Lam, S. S., Allakhverdiev, S. I., & Chang, J.-S. (2022). Microalgae-based wastewater treatment – Microalgae-bacteria consortia, multi-omics approaches and algal stress response. *Science of The Total Environment*, 845, 157110. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157110>
- Niinimäki, K., Peters, G., Dahlbo, H., Perry, P., Rissanen, T., & Gwilt, A. (2020). The environmental price of fast fashion. *Nature Reviews Earth & Environment*, 1(4), Article 4. <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0039-9>
- Ortíz, M. T., Romero Morales, M. A., & Meza Rodríguez, 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: RIDI*, 9(1), 163-176.

- Pahija, E., & Hui, C.-W. (2019). A systematic study on the effects of dynamic environments on microalgae concentration. *Algal Research*, 42, 101599. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101599>
- Pérez, J. D., & Gómez, Y. (2020). *Efecto del fotoperiodo sobre la producción de carotenoides y la morfología de la microalga Tetraselmis gracilis (Kylin)Butcher(1959)*. [Tesis de pregrado, Universidad de Córdoba]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/entities/publication/repositorio.unicordoba.edu.co>
- Pillapa, Y. E. (2022). *Estimación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5) en aguas residuales de las empresas de jeans de la ciudad de Pelileo utilizando redes neuronales artificiales* [bachelorThesis, Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/34978>
- Pourkarimi, S., Hallajisani, A., Alizadehdakhel, A., Nouralishahi, A., & Golzary, A. (2020). Factors affecting production of beta-carotene from *Dunaliella salina* microalgae. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101771. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101771>
- Premaratne, M., Nishshanka, G., Liyanaarachchi, V., Nimarshana, P., & Ariyadasa, T. U. (2021a). Bioremediation of textile dye wastewater using microalgae: Current trends and future perspectives. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96(12), 3249-3258. <https://doi.org/10.1002/jctb.6845>
- Premaratne, M., Nishshanka, G., Liyanaarachchi, V., Nimarshana, P., & Ariyadasa, T. U. (2021b). Bioremediation of textile dye wastewater using microalgae: Current trends and future perspectives. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96(12), 3249-3258. <https://doi.org/10.1002/jctb.6845>

- Rai, S., Saremi, R., Sharma, S., & Minko, S. (2021). Environment-friendly nanocellulose-indigo dyeing of textiles. *Green Chemistry*, 23(20), 7937-7944. <https://doi.org/10.1039/D1GC02043A>
- Ramírez, J. L. (2019). Influencia del tipo de sección transversal en la hidrodinámica de los colectores solares de los fotobiorreactores tubulares. *RIAA*, 10(2), 11.
- Riva, V., Mapelli, F., Syranidou, E., Crotti, E., Choukrallah, R., Kalogerakis, N., & Borin, S. (2019). Root Bacteria Recruited by *Phragmites australis* in Constructed Wetlands Have the Potential to Enhance Azo-Dye Phytodepuration. *Microorganisms*, 7(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100384>
- Robledo-Padilla, F., Aquines, O., Silva-Núñez, A., Alemán-Nava, G. S., Castillo-Zacarías, C., Ramirez-Mendoza, R. A., Zavala-Yoe, R., Iqbal, H. M. N., & Parra-Saldívar, R. (2020). Evaluation and Predictive Modeling of Removal Condition for Bioadsorption of Indigo Blue Dye by *Spirulina platensis*. *Microorganisms*, 8(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010082>
- Ru, I. T. K., Sung, Y. Y., Jusoh, M., Wahid, M. E. A., & Nagappan, T. (2020). *Chlorella vulgaris*: A perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. *Applied Phycology*, 1(1), 2-11. <https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1715256>
- Saldarriaga, L. F., Almenglo, F., Ramírez, M., & Cantero, D. (2020). Kinetic characterization and modeling of a microalgae consortium isolated from landfill leachate under a high CO₂ concentration in a bubble column photobioreactor. *Electronic Journal of Biotechnology*, 44, 47-57. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2020.01.006>

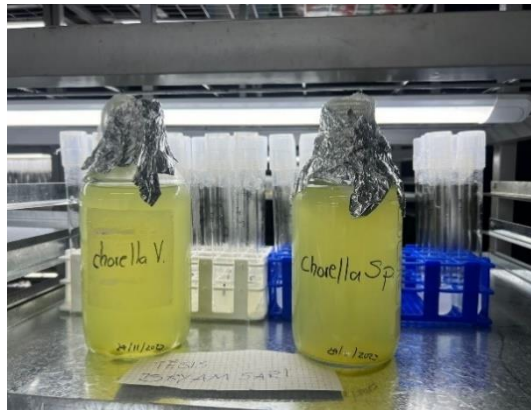
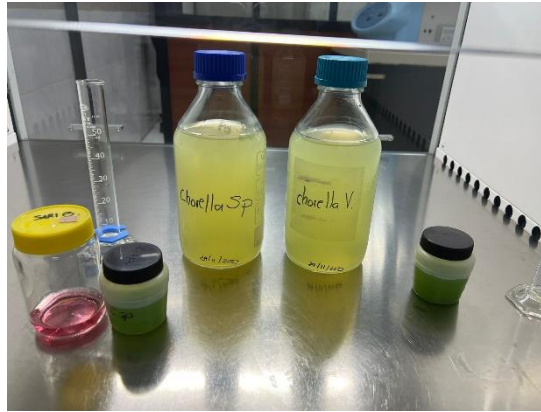
- Sanches, R. A., Rocha, R., & Duarte, A. Y. S. (2023). Proposal for Producing New Fabric Through the Use of Fabric Scraps Discarded by Ibitinga Clothing Manufacturers: A Brazilian Example of Circular Economy. En D. Raposo, J. Neves, R. Silva, L. Correia Castilho, & R. Dias (Eds.), *Advances in Design, Music and Arts II* (pp. 328-341). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-09659-4_25
- Sathinathan, P., Parab, H. M., Yusoff, R., Ibrahim, S., Vello, V., & Ngoh, G. C. (2023). Photobioreactor design and parameters essential for algal cultivation using industrial wastewater: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *173*, 113096. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.113096>
- Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z., & Amini Khoeyi, Z. (2011). Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*, *23*(4), 721-726. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9569-8>
- Sharma, J., Sharma, S., & Soni, V. (2021). Classification and impact of synthetic textile dyes on Aquatic Flora: A review. *Regional Studies in Marine Science*, *45*, 101802. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101802>
- Sisalema, D. A., & Zambrano, K. S. (2023). *Implementación de un sistema de cultivo automático de microalgas* [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/25772>
- Sudarshan, S., Harikrishnan, S., RathiBhuvaneswari, G., Alamelu, V., Aanand, S., Rajasekar, A., & Govarthan, M. (2023). Impact of textile dyes on human health and bioremediation of textile industry effluent using microorganisms: Current status and future prospects. *Journal of Applied Microbiology*, *134*(2), 1-23. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxac064>

- Sutherland, D. L., & Ralph, P. J. (2019). Microalgal bioremediation of emerging contaminants—Opportunities and challenges. *Water Research*, *164*, 114921. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114921>
- Uddin, M., & Muhammad, A. (2019). *Natural Indigo for Textiles: Past, Present and Future* (S. Hashmi, Ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.11669-8>
- Ummalyma, S. B., Sahoo, D., & Pandey, A. (2019). Bioremediation and Biofuel Production from *Chlorella* sp.: A Comprehensive Review. En *Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment* (pp. 635-655). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2264-8_24
- UNCTAD. (2019). Environmental analysis of textile products. *Clothing and Textiles Research Journal*. doi:10.1177/0887302X06293065
- Vacca, V. A., Angulo Mercado, E. R., Puentes Ballesteros, D. M., Torres Yépez, J. G., & Plaza Vega, M. E. (2017). Uso de la microalga *Chlorella* sp. Viva en suspensión en la decoloración del agua residual de una empresa textil/Using the microalgae *Chlorella* sp. Live suspended in decoloration wastewater from a textile factory. *Prospectiva*, *15*(1), 93-99. <https://doi.org/10.15665/rp.v15i1.829>
- Vadivel, V. K., Cikurel, H., & Mamane, H. (2021). Removal of Indigo Dye by CaCO₃/Ca(OH)₂ Composites and Resource Recovery. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, *60*(28), 10312-10318. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.1c01206>
- Wang, R., Li, H., Liu, Y., Chen, J., Peng, F., Jiang, Z., Liu, J., & Song, H. (2022). Efficient removal of azo dyes by *Enterococcus faecalis* R1107 and its application in simulated textile effluent treatment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *238*, 113577. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113577>

- Wu, K., Ying, K., Liu, L., Zhou, J., & Cai, Z. (2020). High irradiance compensated with CO₂ enhances the efficiency of *Haematococcus lacustris* growth. *Biotechnology Reports*, 26, e00444. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00444>
- Yang, Y.-T., & Wang, C. Y. (2016). Review of Microfluidic Photobioreactor Technology for Metabolic Engineering and Synthetic Biology of Cyanobacteria and Microalgae. *Micromachines*, 7(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/mi7100185>
- Yi, C., Tan, X., Bie, B., Ma, H., & Yi, H. (2020). Practical and environment-friendly indirect electrochemical reduction of indigo and dyeing. *Scientific Reports*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61795-5>
- Zúñiga, J. P. (2022). *Producción mixotrófica de hidrógeno usando la microalga Chlorella vulgaris G120 creciendo en agua de descarga de caña de azúcar y purines porcinos* [Tesis de pregrado, niversidad de Costa Rica]. <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/handle/123456789/18774>

9. Anexos

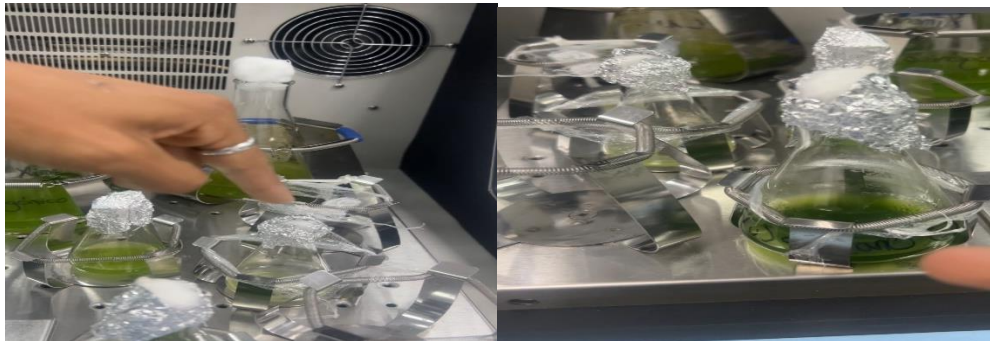
Anexo 1. Primera inoculación (Chorella vulgaris y Chorella sp)



Anexo 2. Segunda Inoculación - Chorella vulgaris ; Chorella sp (con nitrógeno y sin nitrógeno)



Anexo 3. Tercera Inoculación (Chorella sp y Chorella vulgaris)



Anexo 4. Cuarta y Quinta inoculación (Chorella sp y Chorella vulgaris)



Anexo 5. Auto clavado azul índigo



Anexo 6. Azul índigo concentración al 100%



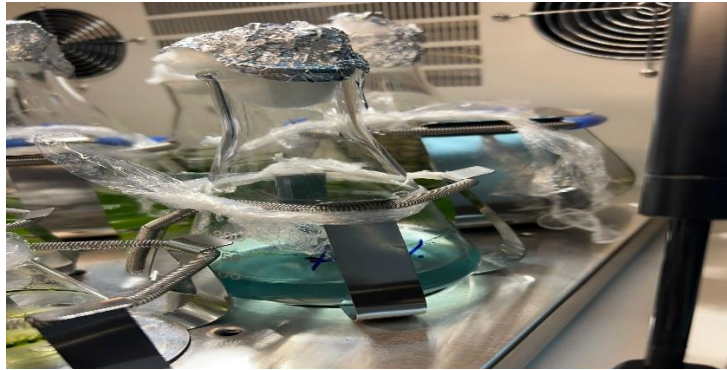
Anexo 7. Concentración inicial azul índigo al 100%, 75%, 50%, 10% (Chorrella sp)



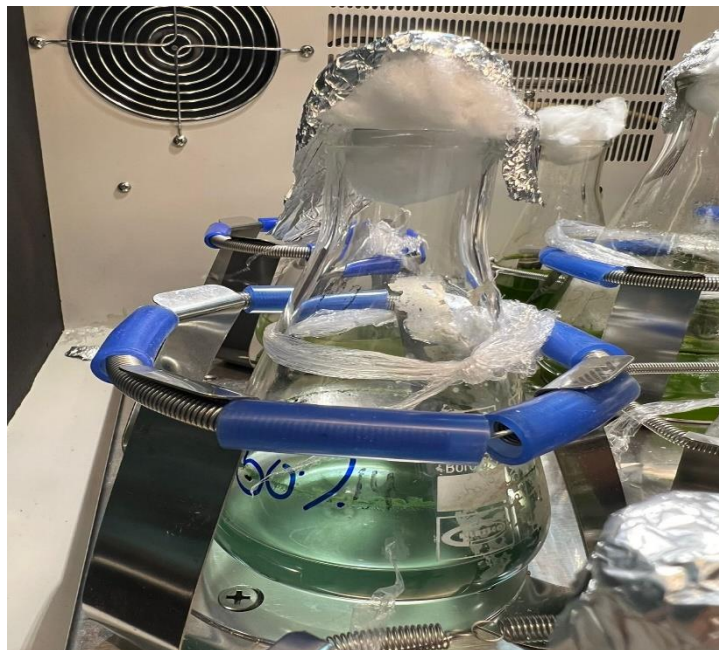
Anexo 8. Concentración al 100% (Chorrella sp)



Anexo 9 Concentración al 75% (Chorrella sp)



Anexo 10 .Concentración al 50% (Chorrella sp)



Anexo 11. Concentración al 10% (Chorrella sp).



Anexo 12. Concentración inicial azul índigo al 100%, 75%, 50%, 10% (Chorrella vulgaris)



*Anexo 13. Concentración final *Chorella sp* y *Chorella vulgaris* 12 días después
al 100% 75% 50% y 10%*

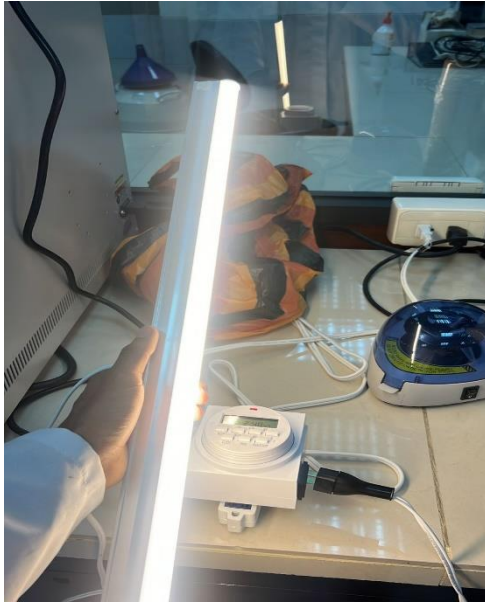


Anexo 14. Evaluación de parámetros de calidad de uso de riego



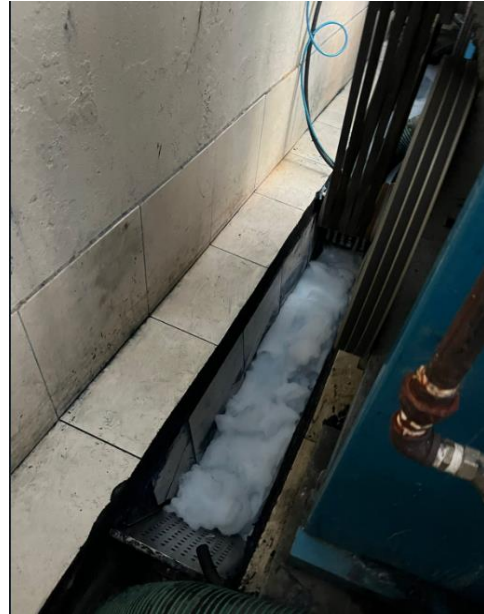
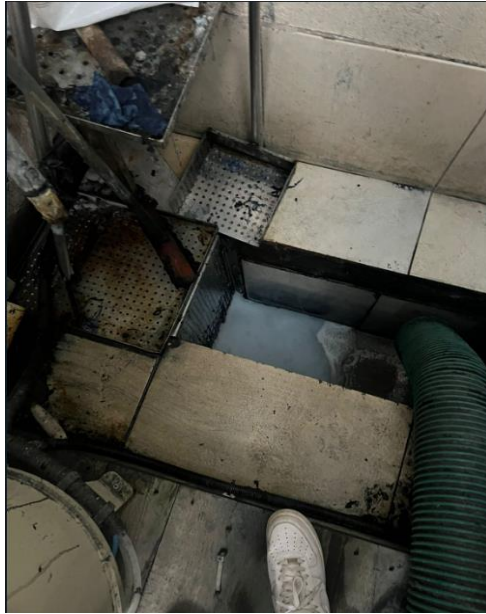
Anexo 15. Luz led y temporizador





Anexo 16. Industria Peraltatex





Anexo 17. *Chorrella sp* - Remediación a 670nm

Chorrella sp - Remediación a 670nm		
Fecha	Concentraciones	Abs- Azul inicial (Remediación)
16/1/2024	100%	0,647
16/1/2024	75%	0,476
16/1/2024	50%	0,425
16/1/2024	10%	0,199
	Concentraciones	Abs - azul
18/1/2024	100%	0.450
18/1/2024	75%	0.429
18/1/2024	50%	0.393
18/1/2024	10%	0.145
	Concentraciones	
22/1/2024	100%	0.511
22/1/2024	75%	0.445
22/1/2024	50%	0.526
22/1/2024	10%	0.448
	Concentraciones	
24/1/2024	100%	0.369
24/1/2024	75%	0.425
24/1/2024	50%	0.459
24/1/2024	10%	0.135
	Concentraciones	
26/1/2024	100%	0.299
26/1/2024	75%	0.311
26/1/2024	50%	0.203
26/1/2024	10%	0.109

Anexo 18. Chorrella sp – Absorbancia a 650nm

Chorrella sp - Absorbancia a 650nm		
Fecha	Concetraciones	Abs- Azul inicial (Remediacion)
16/1/2024	100%	1
16/1/2024	75%	1
16/1/2024	50%	1
16/1/2024	10%	1
	Concetraciones	Abs - azul
18/1/2024	100%	0.450
18/1/2024	75%	0.394
18/1/2024	50%	0.369
18/1/2024	10%	0.138
	Concetraciones	
22/1/2024	100%	0.548
22/1/2024	75%	0.450
22/1/2024	50%	0.464
22/1/2024	10%	0.390
	Concetraciones	
24/1/2024	100%	0.830
24/1/2024	75%	0.890
24/1/2024	50%	0.972
24/1/2024	10%	0.999
	Concetraciones	
24/1/2024	100%	0.916
24/1/2024	75%	0.970
24/1/2024	50%	1.204
24/1/2024	10%	1.587

Anexo 19. Chorrella sp - Remediación a 670nm

Chorrella sp - Remediación a 670nm		
Fecha	Concetraciones	Abs- Azul inicial (Remediacion)
19/1/2024	100%	0.471
19/1/2024	75%	0.168
19/1/2024	50%	0.144
19/1/2024	10%	0.056
	Concetraciones	Abs - azul
22/1/2024	100%	0.602
22/1/2024	75%	0.503
22/1/2024	50%	0.377
22/1/2024	10%	0.378
	Concetraciones	
24/1/2024	100%	0.540
24/1/2024	75%	0.470
24/1/2024	50%	0.350
24/1/2024	10%	0.344
	Concetraciones	
26/1/2024	100%	0.430
26/1/2024	75%	0.210
26/1/2024	50%	0.309
26/1/2024	10%	0.697

Anexo 20 Chorrella sp - Absorbancia a 650nm

Chorrella sp - Absorbancia a 670nm		
Fecha	Concentraciones	Abs- Azul inicial (Remediacion)
16/1/2024	100%	1
16/1/2024	75%	1
16/1/2024	50%	1
16/1/2024	10%	1
	Concentraciones	Abs - azul
18/1/2024	100%	0.450
18/1/2024	75%	0.394
18/1/2024	50%	0.369
18/1/2024	10%	0.138
	Concentraciones	
22/1/2024	100%	0.680
22/1/2024	75%	1.250
22/1/2024	50%	0.789
22/1/2024	10%	0.569
	Concentraciones	
22/1/2024	100%	0.927
22/1/2024	75%	1.989
22/1/2024	50%	1.100
22/1/2024	10%	0.979