



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Chlorella vulgaris* EN FUNCIÓN DE LA
CONCENTRACIÓN DE POTASIO, FOSFATOS Y NITRATO EN EL MEDIO DE
CULTIVO

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:

INGENIERA BIOTECNÓLOGA

AUTOR: VICTORIA SALOME MOSQUERA MARIN

TUTOR: CHRISTIAN FABRICIO LARENAS URÍA

Quito-Ecuador

2025


CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN

Yo, Victoria Salome Mosquera Marín con documento de identificación N° 1750744938
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.

Quito, 16 de marzo del año 2025

Atentamente,



Victoria Salome Mosquera Marín

1750744938

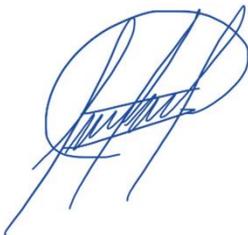
CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Yo, Victoria Salome Mosquera Marín con documento de identificación No.1750744938, 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 Crecimiento de *Chlorella vulgaris* en Función de la Concentración de Potasio, Fosfatos y Nitrato en el Medio de Cultivo”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera Biotecnóloga, 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.

Quito, 16 de marzo del año 2025

Atentamente,



Victoria Salome Mosquera Marín

1750744938

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Christian Fabricio Larenas Uría con documento de identificación N° 1500964182, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Chlorella vulgaris* EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE POTASIO, FOSFATOS Y NITRATO EN EL MEDIO DE CULTIVO, realizado por Victoria Salome Mosquera Marín con documento de identificación N° 1750744938, 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, 16 de marzo del año 2025

Atentamente,



Ing. Christian Fabricio Larenas Uria PhD

1500964182

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTO

Un profundo agradecimiento a Dios, quien me ha guiado y bendecido en el camino, otorgándome sabiduría, fortaleza y perseverancia necesarias para alcanzar este logro; A mis padres Nancy Marín y Vinicio Mosquera, no tengo palabras para expresar la profunda gratitud y amor por ustedes. Desde el momento que nací, han estado allí con su apoyo y guía en cada paso. Su dedicación han sido mi refugio e inspiración. Un amor que me ha hecho sentir segura, valorada y amada, que no tiene condiciones ni fin. Han sido mi modelo a seguir, guiando mi crecimiento personal y profesional, gracias por su sacrificio y paciencia, han sido la base de mi vida y mi carrera. Los amo y estaré eternamente agradecida. A mi hermana Vivian Mosquera, mi refugio emocional, mi confidente y mejor amiga. Su presencia me ha llenado de felicidad y alegría, A mi hermana Vane que, aunque ya no esté aquí siempre la amare. A mi abuelito Luis Marín por sus ocurrencias, amor, y presencia. A mi novio, prometido, futuro esposo, mi mejor amigo, mi ojitos, mi complemento, Josh Keeter, quien se ha convertido en mi motivación, mi motor y mi apoyo incondicional. Su amor y dedicación han sido fundamentales para mi crecimiento personal y profesional. Lo amo con todo mi corazón. A Steven y Michelle Keeter que se han convertido en mi nueva familia y me han regalado un hombre excepcional. A mis perritas Burge y Mora, quienes han sido mi compañía constante, mi fuente de alegría y consuelo. Su amor incondicional y su presencia en mi vida han sido un regalo invaluable. A todos mis profesores, quienes guiaron y orientaron mi camino académico. Su experiencia, sabiduría y dedicación han sido esenciales para mi. Este trabajo es el resultado de la suma de todos estos factores, y es mi forma de expresar mi gratitud y reconocimiento a cada uno de ellos. GRACIAS A TODOS, POR TODO.

RESUMEN

La producción de biomasa a partir de la microalga *Chlorella vulgaris* ha cobrado relevancia en los últimos años debido a su potencial en diversas aplicaciones y su capacidad para adaptarse a diferentes entornos. Esta investigación se propuso explorar las condiciones óptimas para el crecimiento de *Chlorella vulgaris*, analizando factores clave como la temperatura, el pH, la luminosidad y la composición del medio nutritivo, esta investigación fue evaluar el crecimiento de *Chlorella vulgaris* en función de la concentración de potasio, fosfatos y nitratos para así determinar la concentración óptima de estos nutrientes y maximizar la biomasa. La investigación se llevó a cabo mediante un sistema de biorreactores a escala de laboratorio, utilizando un diseño experimental que involucró la manipulación de concentraciones de potasio, fosfatos y nitratos. Los resultados de esta investigación contribuirán al desarrollo de técnicas más eficientes y rentables para la producción de biomasa a partir de *Chlorella vulgaris*.

PALABRAS CLAVE

Chlorella vulgaris, Producción sostenible, Biomasa, Condiciones óptimas de crecimiento, Medio nutritivo, Microalgas

ABSTRACT.

The production of biomass from the microalgae *Chlorella vulgaris* has gained relevance in recent years due to its potential in various applications and its ability to adapt to different environments. This research aimed to explore the optimal conditions for the growth of *Chlorella vulgaris*, analyzing key factors such as temperature, pH, luminosity and the composition of the nutrient medium, this research was to evaluate the growth of *Chlorella vulgaris* as a function of the concentration of potassium, phosphates and nitrates in order to determine the optimal concentration of these nutrients and maximize the biomass. The research was carried out using a laboratory-scale bioreactor system, using an experimental design that involved the manipulation of potassium, phosphates, and nitrate concentrations. The results of this research will contribute to the development of more efficient and cost-effective techniques for the production of biomass from *Chlorella vulgaris*.

KEYWORDS

Chlorella vulgaris, Sustainable production, Biomass, Optimal growing conditions, Nutrient medium, Microalgae

ÍNDICE DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Delimitación	2
1.1.1	Geográfica	2
1.1.2	Temporal	2
1.1.3	Sectorial.....	2
1.1.4	Institucional	2
1.2	Pregunta de investigación.....	2
1.3	Objetivos.....	3
1.3.1	General	3
1.3.2	Específicos.....	3
1.4	Hipótesis.....	3
2	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	4
2.1	Microalgas	4
2.2	<i>Chlorella vulgaris</i>	5
2.2.1	Morfología.....	6
2.2.2	Taxonomía.....	6
2.2.3	Reproducción.....	7
2.2.4	Ciclo de vida.....	7
2.3	Medio de cultivo	10

2.3.1	Condiciones de cultivo	10
2.4	Biomasa	13
2.5	Conteo celular	13
2.5.1	Conteo Celular en cámara de Neubauer	14
2.5.2	Espectrofotometría	17
2.5.3	Turbidez	18
2.5.4	Clorofila	18
3	MATERIALES Y METODOLOGÍA	20
3.1	Materiales	20
3.2	Métodos	21
3.2.1	Método de investigación	21
3.2.2	Revisión Bibliográfica.....	21
3.2.3	Obtención de Material Biológico.....	21
3.2.4	Preparación de Inoculo.....	21
3.2.5	Preparación de Medios de Cultivo Específicos	23
3.2.6	Siembra en Medio de Cultivo para propagación de <i>Chlorella vulgaris</i>	27
3.2.7	Diseño Experimental Central Compuesto	29
3.2.8	Instalación del diseño experimental	33
3.2.9	Conteo Celular por Cámara de Neubauer.....	33
3.3	Análisis de Espectrofotometría en turbidez	34

4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
4.1	Resultados.....	36
4.1.1	Evaluación de conteo celular por cámara de Neubauer.....	36
4.1.2	Evaluación de turbidez.....	39
4.1.3	Evaluación de turbidez a 680 (nm).....	39
4.1.4	Evaluación de turbidez 560 Bastofoliar.....	41
4.1.5	Evaluación de pH.....	43
4.1.6	Evaluación de conductividad.....	44
4.1.7	Evaluación de temperatura.....	45
4.1.8	Análisis estadístico superficie de respuesta.....	46
4.2	Discusión.....	49
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	50
5.1	Conclusiones.....	50
5.2	Recomendaciones.....	50
6	BIBLIOGRAFÍA.....	51
7	ANEXOS.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de la especie <i>Chlorella vulgaris</i>	7
Tabla 2 Lista de materiales, equipo y reactivos usados para el diseño experimental de <i>Chlorella vulgaris</i>	20
Tabla 3 Reactivos de Medio específico de micronutrientes	24
Tabla 4 Reactivos de Medio específico de macronutrientes	25
Tabla 5 Diseño experimental para <i>Chlorella vulgaris</i>	30
Tabla 6 Alimentación semanal del diseño experimental.....	32
Tabla 7 Cronograma de actividades.....	32
Tabla 8 Resultado de conteo celular por cámara de Neubauer.....	37
Tabla 9 Análisis de superficie de respuesta de <i>Chlorella vulgaris</i>	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Chlorella vulgaris vista desde microscopio a 40X.....	6
Figura 2 Crecimiento celular de Chlorella vulgaris	9
Figura 3 Cámara Neubauer con vista frontal.....	15
Figura 4 Cámara Neubauer con vista lateral	15
Figura 5 Áreas de recuento de células en la cámara de Neubauer	16
Figura 6 Bastofoliar, fertilizante comercial.....	22
Figura 7 Inóculo de Chlorella vulgaris.....	23
Figura 8 Soluciones al 1% del medio de macronutrientes	25
Figura 9 Pesado de reactivos	27
Figura 10 Soluciones de reactivos del diseño experimental.....	27
Figura 11 Material esterilizado.....	28
Figura 12 Propagación de Chlorella vulgaris	29
Figura 13 Instalación de diseño experimental	33
Figura 14 Cámara de Conteo celular con Chlorella vulgaris.....	34
Figura 15 Espectrofotómetro.....	35
Figura 16 Resultados de turbidez.....	35
Figura 17 Grafica estadística de conteo celular del diseño experimental solo experimentos.....	38
Figura 18 Grafica estadística de conteo celular del diseño experimental solo controles	39
<i>Figura 19 Evaluación de Turbidez con bastofoliar a 678 (nm)</i>	<i>40</i>
Figura 20 Evaluación de Turbidez con concentraciones variables a 678 (nm)	41
Figura 21 Evaluación de Turbidez con bastofoliar a 560 (nm)	42
Figura 22 Evaluación de Turbidez con concentraciones variables a 560 (nm)	43
Figura 23 Evaluación de pH de los experimentos y controles.....	44

Figura 24 Evaluación de conductividad de los experimentos y controles.....	45
Figura 25 Evaluación de temperatura de los experimentos y controles	46
Figura 26 Gráfica de superficie de respuesta para el crecimiento de biomasa	48
Figura 27 Interacción del rendimiento en la biomasa de <i>Chlorella vulgaris</i>	48

ÍNDICE DE FÓRMULAS

Ecuación 1 Densidad celular	17
Ecuación 2 Ley de Beer-Lambert	17
Ecuación 3 Ecuación de la molaridad	26
Ecuación 4 Molaridad de Nitrato de Potasio	26
Ecuación 5 Molaridad de Cloruro de Potasio	26
Ecuación 6 Molaridad de Fosfato Monosódico	26

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Datos obtenidos de mediciones de pH	54
Anexo 2 Gráfico pH semana 1	55
Anexo 3 Gráfico pH semana 2	55
Anexo 4 Gráfico pH semana 3	56
Anexo 5 Gráfico pH semana 4	56
Anexo 6 Gráfico pH semana 5	57
Anexo 7 Gráfico pH semana 6	57
Anexo 8 Tabla de datos obtenidos de temperatura de las 6 semanas	58
Anexo 9 Gráfico temperatura semana 1	59
Anexo 10 Gráfico temperatura semana 2	59
Anexo 11 Gráfico temperatura semana 3	60
Anexo 12 Gráfico temperatura semana 4	60
Anexo 13 Gráfico temperatura semana 5	61
Anexo 14 Gráfico temperatura semana 6	61
Anexo 15 Tabla de datos de conductividad obtenidas durante las 6 semanas	62
Anexo 16 Gráfico conductividad semana 1	63
Anexo 17 Gráfico conductividad semana 2	63
Anexo 18 Gráfico conductividad semana 3	64
Anexo 19 Gráfico conductividad semana 4	64
Anexo 20 Gráfico conductividad semana 5	65
Anexo 21 Gráfico conductividad semana 6	65

1 INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, la intensa búsqueda por el mejoramiento y el crecimiento de *Chlorella vulgaris*, ha cobrado relevancia, debido a su potencial en diversas aplicaciones, adecuada eficiencia fotosintética y su capacidad para adaptarse a diferentes entornos con diversidad de condiciones ambientales variables, lo que la hace ser candidata ideal para una producción sostenible de biomasa, siendo la razón por que ha impulsado investigaciones que buscan optimizar su cultivo y maximizarla mediante el uso de medios de cultivo específicos, como soluciones enriquecidas, micronutrientes, macronutrientes y subproductos industriales, entre otros.

En este trabajo, se propone explorar las condiciones óptimas para el crecimiento de *Chlorella vulgaris*, microalga de gran potencial para la producción de biomasa. Para lograr este objetivo, se analizarán factores clave como la temperatura, el pH, la luminosidad y la composición del medio nutritivo, utilizando concentraciones variadas de potasio, fosfato y nitratos. Estos parámetros son fundamentales para comprender el crecimiento y desarrollo de la microalga, y se espera que contribuyan al desarrollo de técnicas más eficientes y rentables para la producción de biomasa.

Mediante un sistema de biorreactores, implementado a escala de laboratorio, se busca optimizar las condiciones de crecimiento de *Chlorella vulgaris*. Para el cumplimiento de este proyecto, se llevó a cabo un seguimiento detallado de la microalga, que consistió en aislar y aumentar la biomasa algal para su posterior aplicación en soluciones madres modificadas con Nitrato, Fosfatos y Potasio. Con el respaldo de la Universidad Politécnica Salesiana, que proporcionó el uso del laboratorio y los equipos necesarios para el desarrollo de este proyecto en condiciones favorables.

1.1 Delimitación

1.1.1 Geográfica

El presente estudio se lo realizó en el Distrito Metropolitano de Quito, cantón Quito, provincia de Pichincha.

1.1.2 Temporal

El proyecto de investigación se realizó en los meses de Octubre a Diciembre, la propagación de la especie preseleccionada de la microalga *Chlorella vulgaris* fue en el a inicios del mes de Octubre y el diseño experimental fue realizado a mediados del mes de Septiembre y Diciembre

1.1.3 Sectorial

El área de actuación del diseño experimental se enmarca en el Sector de La Floresta en la Universidad Politécnica Salesiana, bloque B, la cual presenta altitud de 2810 m, una latitud de 0°12'28"S y una longitud de 78°29'16"O

1.1.4 Institucional

El proyecto experimental se realizó en los Laboratorios de Ciencias de la Vida, Investigación y Desarrollo II, de la Universidad Politécnica Salesiana.

1.2 Pregunta de investigación

¿Cuál es la concentración óptima de potasio, fosfatos y nitratos en el medio de cultivo que maximiza la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*, y cómo interactúan estos nutrientes para influir en su crecimiento y productividad?

1.3 Objetivos

1.3.1 General

Evaluar el crecimiento de la especie *Chlorella vulgaris* en función de la concentración de potasio, fosfatos y nitratos por el método de conteo celular

1.3.2 Específicos

- Determinar la concentración óptima de potasio, fosfatos y nitratos mediante el método de superficie de respuesta para maximizar la biomasa de *Chlorella vulgaris*.
- Cuantificar la biomasa de *Chlorella vulgaris* mediante conteo celular en función de los factores experimentales propuestos.
- Cuantificar la cantidad de clorofila presente en la biomasa de *Chlorella vulgaris* en función de los factores experimentales propuestos.

1.4 Hipótesis

Hipótesis nula: No hay un efecto significativo de las concentraciones de potasio, fosfatos y nitratos en el medio de cultivo sobre la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*.

Hipótesis alterna: Existen efectos significativos de las concentraciones de potasio, fosfatos y nitratos en el medio de cultivo sobre la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*.

2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 Microalgas

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos unicelulares, estas poseen un tamaño de 5 a 50 μm , son necesarias para la producción primaria en la cadena trófica, ya que debido a su tamaño permite que el proceso de digestión en los organismos que las consumen logren mejorar y facilitar el proceso de digestión(Plasencia, 2012)

Las microalgas poseen un aspecto verdoso muy similar al de las plantas, por lo cual necesitan de la luz para desarrollarse y crear materia orgánica, debido a que poseen clorofila (Safi et al., 2014).

En la actualidad, los microorganismos han experimentado un aumento significativo en su aplicación en diversas áreas de investigación y producción, incluyendo la agricultura, la farmacéutica, la biorremediación, la alimentación y la energía. Esto se debe a la amplia gama de propiedades que presentan, las cuales varían según la especie. En particular, la producción de aminoácidos libres, minerales y sustancias de interés ha sido un área de gran interés, ya que ha permitido avanzar en la investigación y comprensión de estos microorganismos.

Las microalgas, un tipo de microorganismo, han demostrado ser especialmente prometedoras en este sentido. Estos microorganismos pueden subsistir en condiciones aisladas o en colonias, y se estima que existen aproximadamente 30.000 especies diferentes. Además, desempeñan un papel fundamental en el balance del oxígeno en el planeta, contribuyendo con casi el 50% de la fotosíntesis mundial. De igual forma, constituyen la base de la cadena alimentaria global, generando alrededor del 70% de la producción total de materia orgánica(Gómez et al., 2022).

La importancia de las microalgas en la producción de biomasa y su potencial para diversas aplicaciones han generado un creciente interés en la investigación y el desarrollo de tecnologías para su cultivo y procesamiento. En este sentido, el presente estudio se propone explorar las condiciones óptimas para el crecimiento de *Chlorella vulgaris*, una especie de microalga con gran potencial para la producción de biomasa y otros productos de interés (Candela, 2016).

En este grupo de organismos también se encuentran las cianobacterias que son mayormente conocidas como algas verdeazuladas, asimismo, las algas eucariotas verdes, rojas o doradas, una de ellas es la especie *Chlorella vulgaris*, debido a que posee una alta tasa de crecimiento y resistencia que la caracteriza, logrando así que pueda sobrevivir a condiciones extremas, sin embargo, hay que tener en cuenta los parámetros biológicos, operacionales y climáticos (Gómez et al., 2022).

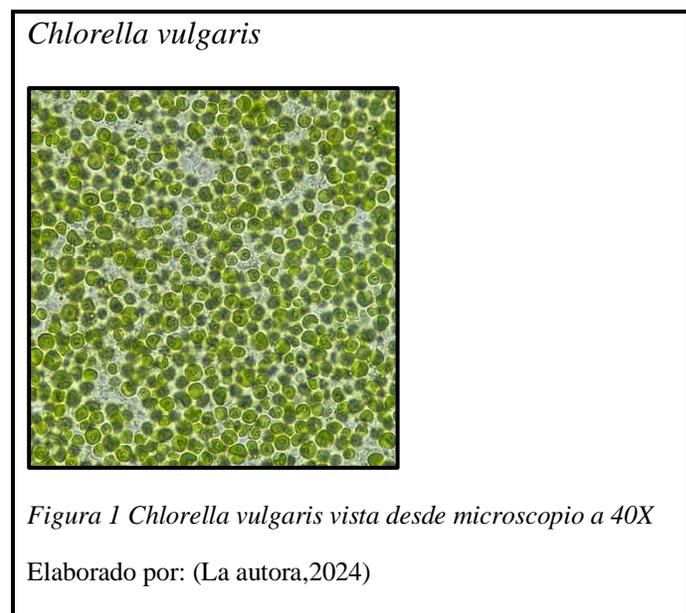
2.2 *Chlorella vulgaris*

La especie *Chlorella vulgaris* es una microalga unicelular verde que pertenece al reino Protista y al filo Chlorophyta. Esta alga es conocida por su capacidad para realizar fotosíntesis, utilizando luz solar, dióxido de carbono y agua para crecer y multiplicarse rápidamente es considerada una de las más fuertes ya que puede vivir en condiciones extremas, ideal para obtener una alta tasa de crecimiento por su buena capacidad para formar agregados y alta tolerancia a las variaciones estacionales. (Hernández & Labbé, 2014).

Aparte también posee la capacidad para eliminar una gran variedad de contaminantes como fertilizantes, productos farmacéuticos, metales pesados, detergentes, pesticidas, nitrato, fosfato, amonio, nitrito, y otros contaminantes emergentes del medio en que se encuentra (Robles et al., 2016).

2.2.1 Morfología

Tiene una forma esférica, lo que le permite una mejor flotación en el agua y facilita la captación de luz para la fotosíntesis. Esta forma es característica del género *Chlorella*, que significa "pequeña verde" en griego, reflejando su tamaño y color; Su diámetro varía entre 2 y 10 micrómetros (μm), posee una estructura celular eucariota, lo que significa que su material genético está contenido dentro de un núcleo definido. Además, cuenta con cloroplastos que contienen los pigmentos fotosintetizadores clorofila a y b, responsables de su color verde y de la realización de la fotosíntesis, posee una pared celular robusta, compuesta principalmente por celulosa, que le proporciona resistencia ante condiciones adversas como altas concentraciones de contaminantes(Gómez et al., 2022).



2.2.2 Taxonomía

Esta microalga fotosintética eucariota presenta la siguiente taxonomía

Tabla 1. Taxonomía de la especie *Chlorella vulgaris*

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

Fuente: (Safi et al., 2014).

2.2.3 Reproducción

Esta especie se reproduce de forma asexual por fisión binaria, la cual es realizada dentro de la pared celular de la célula madre, para así formar las células hijas por división del protoplasto, una célula madre se divide en dos células hijas, cada una con la misma información genética que la célula original, para posterior a eso, la pared celular externa se rompe los restos de la célula madre pueden ser utilizados como nutrientes por las células hija. Este mecanismo es eficiente y permite un rápido aumento en la población de microalgas, contribuyendo así a la colonización de nuevos hábitats (Robles et al., 2016)

2.2.4 Ciclo de vida

El ciclo de vida de las microalgas se puede dividir en varias fases, cada una de las cuales proporciona información valiosa sobre su desarrollo y crecimiento (Figura 2). A continuación, se presentan estas fases de manera más detallada:

- **Fase de Latencia**

La fase de latencia se inicia inmediatamente después de la inoculación de las microalgas en un nuevo medio de cultivo. Durante este periodo, las microalgas experimentan un proceso de adaptación a su entorno, lo que implica un ajuste metabólico significativo. En esta etapa, no se produce replicación del ADN ni

división celular, lo que significa que no hay un aumento en el número de células. Sin embargo, esta fase es crucial, ya que permite a las microalgas prepararse para las condiciones del medio y establecerse adecuadamente antes de entrar en la siguiente fase de crecimiento(Castro, 2018).

- **Fase de Crecimiento Exponencial**

Una vez que las microalgas han superado la fase de latencia, entran en la fase de crecimiento exponencial. En esta etapa, se observa un aumento acelerado en la población celular debido a la rápida reproducción. La tasa de crecimiento en esta fase es altamente dependiente de las condiciones ambientales, especialmente la disponibilidad de nutrientes. Durante este periodo, las microalgas utilizan eficientemente los recursos del medio, lo que resulta en una rápida multiplicación celular y un incremento notable en la biomasa(Prieto, 2020).

- **Fase Estacionaria**

A medida que los nutrientes comienzan a agotarse y se acumulan metabolitos secundarios potencialmente tóxicos, las microalgas alcanzan la fase estacionaria. En esta etapa, el crecimiento celular se estabiliza; el número total de células viables se mantiene constante debido a que la tasa de mortalidad celular iguala a la tasa de formación de nuevas células. Aunque algunas células continúan muriendo por la falta de nutrientes y el estrés ambiental, otras están siendo producidas al mismo ritmo, resultando en una población estable(Prieto, 2020).

- **Fase de Muerte**

Finalmente, en la fase de muerte, se produce un descenso significativo en la población celular debido al agotamiento total de los recursos alimenticios y a la acumulación

excesiva de productos tóxicos en el medio. En esta etapa, la tasa de generación de nuevas células es inferior a la tasa de mortalidad, lo que lleva a una disminución progresiva del número total de microalgas viables. Si las condiciones no mejoran o no se reinicia el suministro adecuado de nutrientes, esta fase puede culminar en la extinción completa de la población (Castro, 2018).

Fases de crecimiento celular

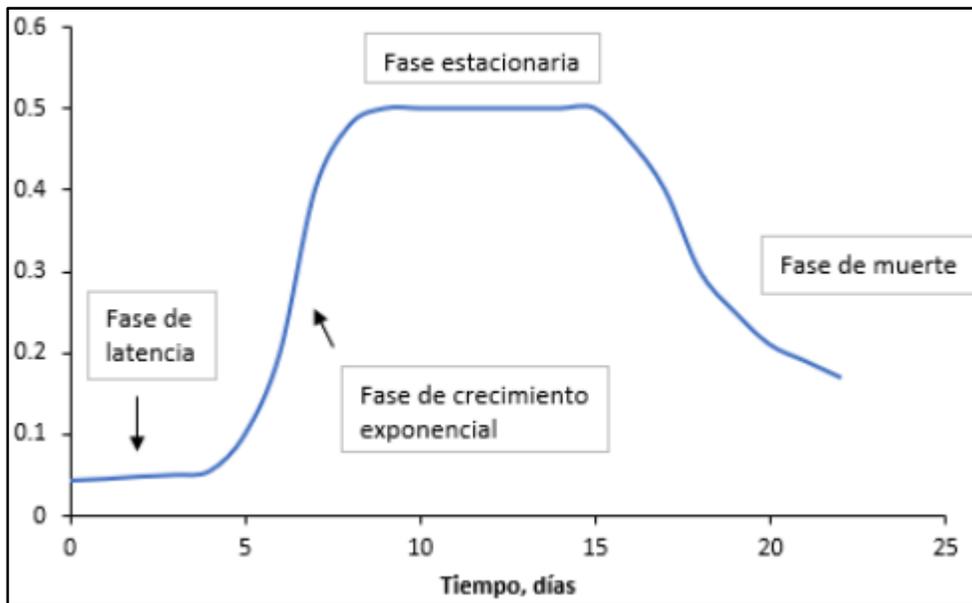


Figura 2 Crecimiento celular de *Chlorella vulgaris*

Nota: Representación de la velocidad específica de crecimiento en las fases de la especie *Chlorella vulgaris*, en la cual se representa en el eje X la variación del tiempo y en el eje Y la concentración de la biomasa de la especie

Elaborada por: (Castro, 2018).

2.3 Medio de cultivo

El cultivo de microorganismos fotosintéticos como las microalgas requieren medios nutritivos específicos que consideren las características fisiológicas y ambientales de cada grupo de microorganismo a considerar, ya que para la selección del mismo se debe tener en cuenta la concentración de nutrientes esenciales y oligoelementos que estos poseen para asegurar así un crecimiento óptimo y relevante de los microorganismos, como en el caso de las microalgas, existen muchos medios de cultivos utilizados sin embargo, algunos de los medios más utilizados son el medio Bold Basal, el medio Beijerinck, el medio BG-11, el medio Jordán, el medio Euglena, entre otros los cuales contiene nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo, potasio, y micronutrientes que son vitales para el crecimiento saludable de la microalga los que deben ser proporcionados en concentraciones adecuadas para ayudar a la síntesis de proteínas, la producción de ATP, ácidos nucleicos y la ayuda en la regulación osmótica y en la activación de enzimas(Muñoz et al., 2012).

2.3.1 Condiciones de cultivo

Para la producción de biomasa algal, es fundamental considerar diversos factores que pueden limitar su desarrollo. Estos factores incluyen la intensidad de luz, el pH, la temperatura, el oxígeno disuelto y los nutrientes disponibles. A continuación, se detallan estos aspectos críticos:

- **Luz**

La luz es un factor crucial para el crecimiento de las microalgas, ya que proporciona la energía necesaria para llevar a cabo las reacciones fotosintéticas que permiten la conversión de nutrientes inorgánicos en biomasa orgánica. Sin embargo, cuando la intensidad lumínica supera ciertos niveles, las microalgas pueden recibir más energía

de la que pueden utilizar, lo que provoca una disipación de energía en forma de calor y una reducción en la eficiencia fotosintética (Álvarez, 2012). Por lo tanto, es esencial implementar un sistema de mezcla eficiente que garantice que todas las células reciban suficiente luz, ya que la turbidez del medio puede disminuir la intensidad lumínica. Se recomienda una intensidad óptima de aproximadamente 75.000 lux; exceder este límite puede inducir estrés lumínico, provocando blanqueamiento y disminución del cultivo (Muñoz et al., 2012).

- **Temperatura**

La temperatura del medio de cultivo juega un papel determinante en el crecimiento eficiente de las microalgas. Según (Pérez et al., 2017), el rango óptimo para el crecimiento de *Chlorella vulgaris* se sitúa entre 18 y 30 °C. Temperaturas inferiores a 16 °C pueden ralentizar el desarrollo, mientras que temperaturas superiores a 35 °C resultan letales. Este factor también influye en la capacidad de las microalgas para absorber nutrientes (Gómez et al., 2022).

- **pH**

El pH del medio de cultivo es otro parámetro crítico que puede verse alterado por diversos factores como la productividad algal y la respiración. Este parámetro influye directamente en el metabolismo de las microalgas, ya que afecta la solubilidad del CO₂ y otros minerales esenciales. Para *Chlorella vulgaris*, los valores óptimos de pH oscilan entre 7,5 y 8,5; valores inferiores pueden perjudicar la producción de metabolitos y la absorción de minerales esenciales (Gómez et al., 2022).

- **Nutrientes**

La disponibilidad de nutrientes es esencial para una producción adecuada de biomasa algal. Las células algales requieren macronutrientes como nitrógeno, fósforo, carbono, hidrógeno y azufre para su desarrollo estructural y funcional. El nitrógeno es considerado uno de los nutrientes más importantes después del carbono, siendo incorporado principalmente en forma de nitrato (NO_3^-) o amonio (NH_4^+) (Hernández & Labbé, 2014). Por su parte, el fósforo es crucial para la formación de ácidos nucleicos y la transferencia energética; aunque su contenido en microalgas es inferior al 1%, su deficiencia puede limitar significativamente el crecimiento algal (Ortiz Martha et al., 2012). En los medios de cultivo, generalmente se incorpora como fosfato (PO_4^{3-}).

- **Oxígeno Disuelto**

La intensa actividad fotosintética puede llevar a un aumento significativo en los niveles de oxígeno disuelto, alcanzando saturaciones superiores al 200%. Sin embargo, estas altas concentraciones pueden afectar negativamente la productividad algal; por ejemplo, a una saturación del 200%, se observa una reducción del 17% en la productividad, mientras que a niveles del 300%, esta disminución puede alcanzar hasta el 25% (Márquez, 2020). Por lo tanto, es crucial implementar un sistema adecuado de oxigenación para mantener los niveles de oxígeno disuelto por debajo del 250% de saturación (Ararat et al., 2020).

- **Nitrato**

El nitrógeno es un elemento vital para todas las formas de vida en el planeta y juega un papel fundamental en el ciclo del nitrógeno. Este compuesto reacciona con el oxígeno para formar diversos compuestos orgánicos (MicroLab, 2017).

En condiciones ácidas, el nitrógeno permanece disuelto en agua; sin embargo, en condiciones alcalinas puede transformarse en gas amonio, lo cual facilita su volatilización a la atmósfera. A través del proceso de nitrificación llevado a cabo por bacterias como Nitrosomonas, el nitrógeno amoniacal se oxida a nitrito y posteriormente a nitrato, que es considerado menos tóxico y puede acumularse en fuentes hídricas sin alterar significativamente los ecosistemas. Estos factores deben ser cuidadosamente gestionados para optimizar la producción de biomasa algal y garantizar un cultivo sostenible y eficiente (Pérez et al., 2017).

2.4 Biomasa

Las microalgas son organismos unicelulares que desempeñan un papel fundamental como productores primarios en ecosistemas acuáticos de todo el mundo, tanto en ambientes marinos como de agua dulce. La mayoría de estas microalgas son capaces de vivir de manera fotoautotrófica, es decir, producen su propia energía a través de la fotosíntesis, lo que les permite reproducirse rápidamente y acumular biomasa de manera eficiente en un período corto de tiempo; La biomasa, en este contexto, se refiere al conjunto de materia orgánica de origen vegetal o animal que puede ser utilizada como fuente de energía renovable. Además, la biomasa también puede ser definida como la fracción biodegradable de productos, desechos y residuos de origen biológico, lo que la convierte en una fuente prometedora de energía sostenible (Rizzo et al., 2022).

2.5 Conteo celular

El conteo celular es un método utilizado para cuantificar el número de células en una muestra, y es especialmente relevante en el estudio, ya que nos permite evaluar el crecimiento y la

viabilidad celular, para poder optimizar las condiciones de cultivo y la producción de biomasa (Gallego & Pérez, 2021).

El conteo celular es una técnica fundamental en la investigación y el cultivo de microalgas, que consiste en determinar el número de células presentes en una muestra. Esta técnica es crucial para evaluar la densidad celular, el crecimiento y la productividad de las microalgas, lo que a su vez es esencial para optimizar los procesos de cultivo y producción de biomasa ya que nos permite poder optimizar las condiciones de cultivo como la iluminación, la temperatura y la nutrición, logrando así maximizar la producción de biomasa lo cual es fundamental en la investigación y el desarrollo de nuevas tecnologías y productos basados en microalgas (Castro Bustamante, 2018).

Existen varias técnicas de conteo celular para microalgas, como el conteo celular directo en el que consiste contar las células directamente bajo un microscopio, el conteo celular indirecto en el que se ve relacionado con medir la absorbancia o la fluorescencia de las células para estimar la densidad celular, el uso de cámaras de conteo, para esta técnica consiste en utilizar cámaras de conteo especializadas para contar las células como la muy conocida cámara de Neubauer, entre otras también conocidas tenemos la Citometría de Flujo que posee láseres para contar y analizar las características de las células en suspensión, proporcionando datos precisos y rápidos sobre la población celular y la Microscopía Automatizada que nos permite una Combinación de algoritmos de reconocimiento a la imagen con microscopios para contar células de manera eficiente (Gómez et al., 2021).

2.5.1 Conteo Celular en cámara de Neubauer

La cámara de Neubauer fue desarrollada en el siglo XIX por el médico alemán Friedrich Neubauer. Inicialmente, se utilizó para contar células sanguíneas, pero posteriormente se

adaptó para contar células de otros tipos, incluyendo microalgas. Es una técnica ampliamente utilizada para determinar la densidad celular de microalgas en suspensión. Esta técnica es fundamental en la investigación y el cultivo de microalgas, ya que permite evaluar el crecimiento y la productividad de estas células. La técnica de conteo celular en cámara de Neubauer (Figura 3) se basa en la visualización y el conteo de las células de microalgas en una cámara especializada ya que está diseñada con una serie de cuadrículas y líneas de referencia que permiten contar las células de manera precisa (Pérez et al., 2017).



Figura 3 Cámara Neubauer con vista frontal

Fuente:(Gallego & Pérez, 2021).

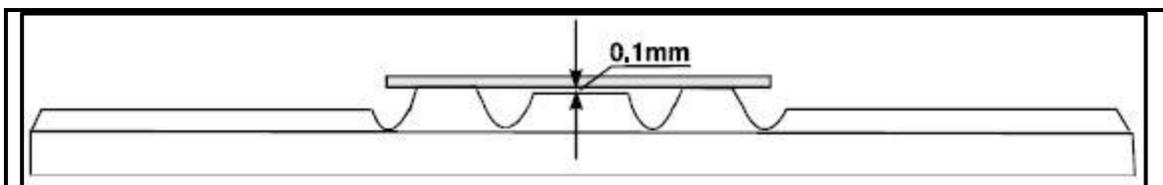
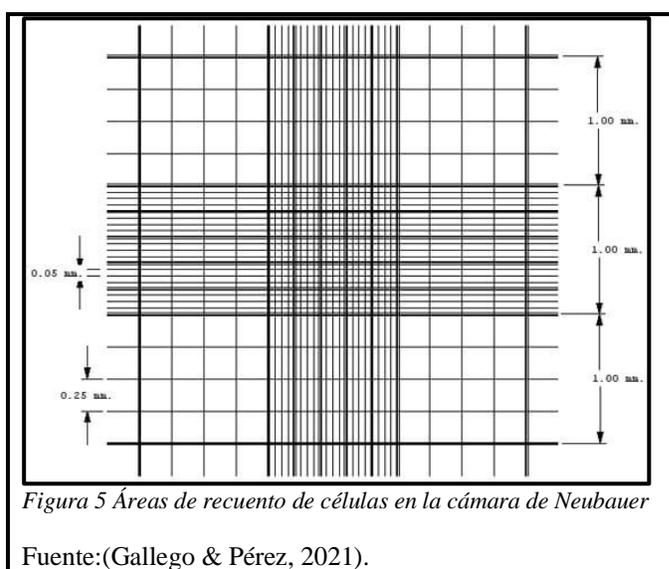


Figura 4 Cámara Neubauer con vista lateral

Fuente:(Gallego & Pérez, 2021).

En la mayoría de los laboratorios, la cámara de recuento que se utiliza es el hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad con reglilla de Neubauer, la cual consta de 9 cuadrados con lados de 1 mm (área total de recuento = 0.9 mm²). Cada uno de los cuales corresponde a un volumen de 0.1 µL. Los cuatro extremos están subdivididos en 16 cuadros (Figura 5).

El cuadro central contiene 25 cuadros, cada uno con un área de 0.04 mm² (0.2 mm x 0.2 mm), a su vez divididos en 16 cuadros más pequeños (Figura 5).



Para células más grandes de 6 µm y con cultivos relativamente poco concentrados, se recomienda que el recuento se haga en los cuatro cuadros de 1 mm, sin embargo, cuando las células son pequeñas y la concentración de los cultivos es muy alta, se pueden utilizar cinco cuadros menores del cuadro central de 0.04 mm².

Ya teniendo en cuenta, el tipo de muestra a utilizar y los resultados se procede a determinar el recuento celular con la fórmula de densidad celular (Ecuación 1).

Ecuación 1 Densidad celular

Determina la cantidad de células en el conteo de la cámara de Neubauer

$$\text{Densidad Celular}(\text{cel/mL}) = \frac{\text{media de las células vivas} \times \text{factor de dilución}}{\text{volumen de un cuadrado (mL)}}$$

Nota. Esta ecuación determina la concentración celular de la microalga *Chlorella Vulgaris* en las diferentes concentraciones del diseño experimental.

Elaborado por: (La autora,2025)

2.5.2 Espectrofotometría

La espectrofotometría es una técnica analítica fundamental utilizada para medir la cantidad de luz que absorbe una sustancia. Se basa en la relación entre la absorción de luz y las propiedades del material, permitiendo determinar concentraciones de compuestos químicos en soluciones posee como principios la Ley de Beer-Lambert, esta ley establece que la absorbancia (A) de una solución es directamente proporcional a la concentración (c) del soluto y a la longitud del camino óptico que atraviesa la luz(Pérez et al., 2017).

Ecuación 2 Ley de Beer-Lambert

Determinar concentraciones de compuestos químicos en espectrofotómetro

$$A = \epsilon C l$$

Nota: La ley explica que hay una relación entre la absorción de luz por una sustancia y la concentración de ésta, así como también con la longitud del cuerpo que la luz atraviesa; A (valor de absorbancia que nos proporciona el espectrofotómetro), ϵ (absortividad molar, depende de la longitud de onda), C (concentración molar de la sustancia detectada), l (longitud recorrida en centímetros de la celda)

Elaborado por: (La autora,2025)

existen varios tipos de Espectrofotometría las cuales se usan de acuerdo con la muestra a utilizar como:

- Espectrofotometría UV-Visible: Utiliza radiación ultravioleta y visible (180-780 nm).
- Espectrofotometría Infrarroja (IR): Analiza longitudes de onda en el rango infrarrojo.

- Espectrofotometría Fluorescente: Mide la fluorescencia emitida por una muestra tras ser excitada por luz.

2.5.3 Turbidez

La turbidez es una medida de la falta de transparencia de una muestra de agua debida a la presencia de partículas extrañas, se la realiza para determinar el grado de penetración de la luz en el agua, cantidad de oxígeno disuelto, el aumento o disminución del material suspendido en el agua, por lo cual se ha convertido en un indicador importante de la densidad celular de las microalgas en una muestra ya que al medir la turbidez, se puede estimar la cantidad de células microalgales presentes en la muestra, lo que es fundamental para evaluar el crecimiento y la productividad de las microalgas. Además, puede ser utilizada para monitorear la calidad del agua y detectar cambios en la composición de las comunidades microalgales debido a que poseen una relación directamente proporcional relacionada con la densidad ya que a medida que aumenta la densidad celular, también aumenta la turbidez(Morocho Parees & Gordillo Ordoñez, 2023).

2.5.4 Clorofila

La clorofila es un pigmento esencial, que permite a los organismos realizar la fotosíntesis, un proceso mediante el cual convierten la luz solar en energía química. Esta energía se utiliza para transformar el dióxido de carbono y el agua en glucosa y oxígeno, es responsable del color verde característico de las plantas, algas y algunas bacterias, La clorofila contiene un anillo de porfirina que incluye un átomo de magnesio en su centro. Este componente es fundamental para la absorción de luz. al igual que consta de la cadena de fitol una cadena hidrófoba permite que la clorofila se integre en las membranas de los tilacoides dentro de los

cloroplastos donde se llevan a cabo las reacciones fotoquímicas necesarias para la fotosíntesis(Delgadillo et al., 2017).

2.5.4.1 Tipos de Clorofila

Existen varios tipos de clorofila, cada uno con funciones específicas:

- Clorofila A: Es el pigmento principal en todos los organismos fotosintéticos. Absorbe principalmente luz azul y roja.
- Clorofila B: Actúa como un complemento a la clorofila A, aumentando la capacidad de absorción de luz. Se encuentra en plantas y algas verdes.
- Clorofila C: Presente en algunas algas (como las pardas), ayuda a capturar luz en longitudes de onda específicas.
- Clorofila D: Se halla en algunas algas rojas y cianobacterias.

3 MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1 Materiales

En la siguiente tabla (Tabla 2) se enlistarán los materiales, equipos y reactivos que se han utilizado durante todo el proceso del diseño experimental de este trabajo experimental

Tabla 2 Lista de materiales, equipo y reactivos usados para el diseño experimental de *Chlorella vulgaris*

MATERIALES	EQUIPOS	REACTIVOS
Algodón	Autoclave	Agua Destilada
Balón de aforo 12000 ml	Bombas de aire	Agua Estéril
Balón de aforo 500 ml	Balanza	Sulfato de Magnesio
Celdas de vidrio	Microscopio	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O
Cubreobjetos portaobjeto	Cámara de Flujo Laminar/UV	ZnSO ₄ ·7H ₂ O
Espátula	Cámara de Neubauer	MnCl ₂ ·4H ₂ O
Frascos de vidrio 1000 ml	Difusor de aire	Alcohol 70%
Frascos de Vidrio 2 L	Espectrofotómetro	Basfoliar10-4-7-SL
Frascos ámbar 1 l	Lámparas de luz LED	Bicarbonato
Manguera transparente	Micropipeta 1000 µl	Cloruro de Calcio
Matraz de Erlenmeyer 500 ml	Micropipeta 100 µl	CoCl ₂ ·6H ₂ O
Papel absorbente	Refrigeradora	CuSO ₄ ·5H ₂ O
Papel aluminio		EDTA
Gasas estériles		Feso ₄ ·7H ₂ O
Punta de Micropipeta 100 µl		
Punta de Micropipeta 1000 µl		
Tubos de ensayo		
Vasos de precipitación 500 ml		

Nota: Esta tabla de contenido está elaborada con todos los materiales que se usaron para este diseño experimental, los reactivos fueron usados para realizar los medios de cultivos modificados, desinfección, mantenimiento y alimentación, los equipos van acorde a las pruebas y a la instalación del diseño experimental

Elaborada por: (La Autora, 2025).

3.2 Métodos

3.2.1 Método de investigación

El método de investigación usado que se desarrolló en el trabajo de titulación dio un enfoque cuantitativo. En el que los parámetros evaluados posean valores numéricos los cuales determinaron así la eficiencia de las diferentes concentraciones de nitrato, fosfato y potasio aplicadas en las muestras de *Chlorella vulgaris* con condiciones controladas para observar si el crecimiento de biomasa es favorable y eficaz a comparación de otros fertilizantes del mercado y soluciones stock predeterminadas. La investigación partió desde la inoculación de la microalga hasta la obtención de la biomasa.

3.2.2 Revisión Bibliográfica

Se recopiló de forma bibliográfica los protocolos más adecuados los cuales favorezcan las fases de crecimiento, aislamiento, purificación de la cepa predeterminada previamente de *Chlorella vulgaris*, para realizar una correcta propagación de la especie en fotobiorreactores, para obtener la mayor cantidad de biomasa, y así para corroborar si el proceso fue exitoso y cuál de ellos es el más apropiado, usando herramientas como, bases de datos, revistas digitales, libros, Google académico, entre otros.

3.2.3 Obtención de Material Biológico

La cepa que fue utilizada es una cepa preseleccionada de *Chlorella vulgaris* la cual ya se encontraba en los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana en la sede del Girón en Quito -Ecuador.

3.2.4 Preparación de Inoculo

Para el cultivo de *Chlorella vulgaris*, se preparó un medio de cultivo estéril compuesto por un litro de agua destilada y 5 mL de fertilizante Bastofoliar comercial en presentación líquida

(Figura 6). La especie se mantuvo en balones de aforo de 500 mL, donde se realizó un proceso de renovación del medio cada 10 días. Este proceso consistió en extraer la mitad del contenido del balón y reemplazarlo con el medio nuevo elaborado, lo que permitió mantener la especie y propagarla en otros balones de aforo (Figura 7).

Fertilizante comercial



Figura 6 Bastofoliar, fertilizante comercial

Nota: Es usado para la alimentación y mantenimiento de la especie *Chlorella vulgaris*, se encuentra en presentación líquida y se la coloca 5mL en 1 litro de agua destilada estéril, para alimentarla cada 10 días.
Elaborado por: (La autora,2025)

Inoculación de *Chlorella vulgaris*



Figura 7 Inóculo de *Chlorella vulgaris*

Nota: El inóculo se coloca en balones de aforo, lo que facilita su transvase a otros recipientes y permite una propagación más rápida. Además, en este estado, el cultivo presenta un intenso color verde, como se observa en la imagen.

Elaborado por: (La autora,2025)

3.2.5 Preparación de Medios de Cultivo Específicos

Se inició con la esterilización de todo el material, reactivos y equipos que se va a tener en cuenta para la realización de los medios de cultivos específicos. Para este diseño experimental se tuvo en cuenta dos tipos de medios de cultivo stock es decir presente en todos los experimentos a realizar, el primer medio específico que se realizó, es un medio de micronutrientes el cual, primero se pesaron todos los reactivos en una balanza analítica, para añadirlos juntos, viendo que todos los reactivos se aforen correctamente, se lo envasa en un frasco ámbar de 1000 mL, siendo este el cultivo madre, de este cultivo tomo 1ml y se lo llevo aforar a 1000 mL en un frasco ámbar para así ponerlo en refrigeración.

Tabla 3 Reactivos de Medio específico de micronutrientes

MEDIO ESPECÍFICO DE MICRONUTRIENTES	
Micronutrientes	g/L
EDTA	4.360
Feso _{4.7} H ₂ O	3.240
CuSO _{4.5} H ₂ O	0.010
ZnSO _{4.7} H ₂ O	0.022
CoCl _{2.6} H ₂ O	0.010
MnCl _{2.4} H ₂ O	0.180
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.006

Nota: La formulación del medio de cultivo específico para *Chlorella Vulgaris* se basó en las concentraciones y reactivos de micronutrientes de soluciones comerciales stock para ello, se realizó una revisión bibliográfica de medios de cultivo preexistentes en el mercado, como el medio de cultivo Yashima y el medio de cultivo Guillard. A partir de esta revisión, se elaboró una tabla de contenido que incluye todos los reactivos necesarios para el crecimiento óptimo de *Chlorella Vulgaris*. Este medio de cultivo fue diseñado para adecuarse a las necesidades específicas del diseño experimental.

Elaborada por: (La Autora, 2025).

El segundo medio específico se preparó con diferentes macronutrientes (Tabla 4), los cuales se aforaron en 1 litro a concentraciones al 1%. A diferencia del medio de cultivo de micronutrientes, este medio requirió un proceso de preparación individual por reactivo. Cada reactivo aforado se colocó en frascos de vidrio ámbar de 1000 mL estéril (Figura 8). Una vez listos, los medios se refrigeraron para evitar contaminación y se reservaron para alimentar a la especie de *Chlorella Vulgaris*.

Tabla 4 Reactivos de Medio específico de macronutrientes

MEDIO ESPECÍFICO DE MACRONUTRIENTES PARA SOLUCIONES AL 1%	
Macronutrientes	g/L
CaCl ₂ ·2H ₂ O	10.00
MgSO ₄ ·7H ₂ O	10.00
NaHCO ₃	10.00

Nota: La formulación del medio de cultivo específico para *Chlorella Vulgaris* se basó en las concentraciones y reactivos de macronutrientes de soluciones comerciales stock para ello, se realizó una revisión bibliográfica de medios de cultivo preexistentes en el mercado, como el medio de cultivo Yashima y el medio de cultivo Guillard. A partir de esta revisión, se elaboró una tabla de contenido que incluye todos los reactivos necesarios para el crecimiento óptimo de *Chlorella Vulgaris*. Este medio de cultivo fue diseñado para adecuarse a las necesidades específicas del diseño experimental.

Elaborada por: (La Autora, 2025).

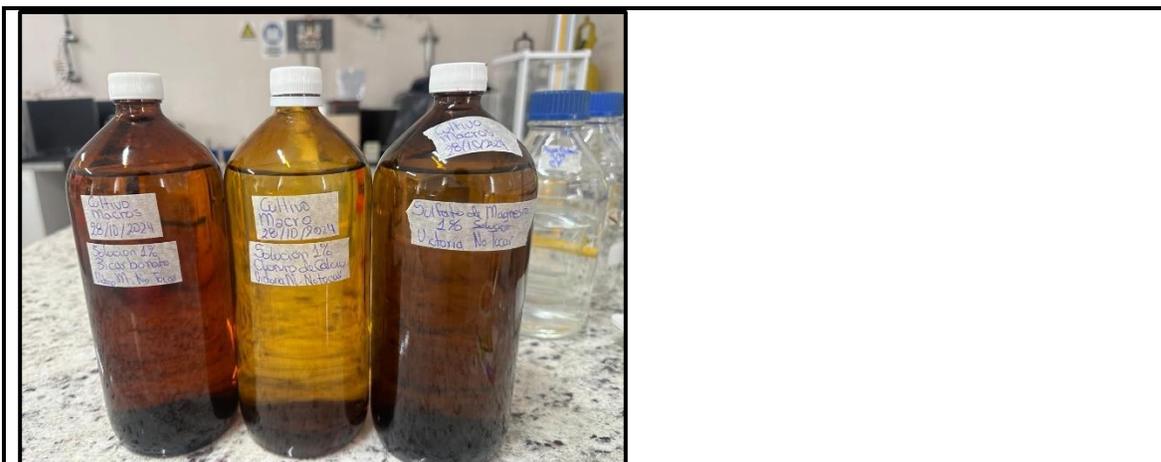


Figura 8 Soluciones al 1% del medio de macronutrientes

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Para determinar las cantidades precisas de cada reactivo en los medios de cultivo, se aplicó la fórmula de molaridad (Ecuación 3). Esta fórmula permitió calcular la cantidad de soluto en gramos necesaria para alcanzar la molaridad deseada en el volumen específico de cada solución.

En particular, se calcularon las cantidades requeridas de nitrato de potasio (Ecuación 4), cloruro de potasio (Ecuación 5) y fosfato monosódico (Ecuación 6) correspondiente a los

fosfatos. Estos cálculos fueron fundamentales para preparar los medios de cultivo según el diseño experimental establecido, ya que cada uno corresponde al nitrato, fosfato y potasio que se tomo en cuenta como variables.

Ecuación 3 Ecuación de la molaridad

$$g = PM * V(L) * M$$

Ecuación 4 Molaridad de Nitrato de Potasio

$$g = PM * V(L) * M$$

$$g = 101.10 * 1 * 0.09$$

$$g = 9.09$$

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Ecuación 5 Molaridad de Cloruro de Potasio

$$g = PM * V(L) * M$$

$$g = 74.55 * 1 * 0.03$$

$$g = 2.23$$

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Ecuación 6 Molaridad de Fosfato Monosódico

$$g = PM * V(L) * M$$

$$g = 119.97 * 1 * 0.00574$$

$$g = 0.68$$

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Una vez finalizados los cálculos para determinar la cantidad necesaria de cada reactivo, se procedió a pesar cada uno de ellos en una balanza analítica (Figura 9), Posteriormente, se almacenaron los reactivos aforados en frascos de vidrio ámbar de 1000 mL (Figura 10), con

el fin de mantener su pureza y evitar contaminación. Finalmente, se refrigeraron los frascos para garantizar la conservación de los reactivos.

Pesaje de reactivos



Figura 9 Pesado de reactivos

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Soluciones Variables



Figura 10 Soluciones de reactivos del diseño experimental

Elaborada por: (La Autora, 2025).

3.2.6 Siembra en Medio de Cultivo para propagación de *Chlorella vulgaris*

Para este proceso se necesitó la toma del inóculo principal, de la cepa *Chlorella vulgaris*, de la cual tomamos el 50% del inóculo principal y se lo llevo a aforar en otros balones de

destilación de 500 mL, con ayuda de un medio nuevo elaborado con el fertilizante líquido Bastofoliar.

Para la propagación a los nuevos cultivos se los puso en un soporte, adicionando una manguera la cual se la conecto a una bomba de aire, con el fin de que presente una buena aireación, posterior a esto se tapó con un corcho de gasa previamente esterilizado para cuidar la introducción de microorganismos ajenos a la especie y se los mantendrá con un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, para lo cual se utilizaron lámparas de luz blanca LED marca Sylvania de 16 Watts de potencia con un flujo luminoso de 1200 lm (Figura 12)

Esterilización de material

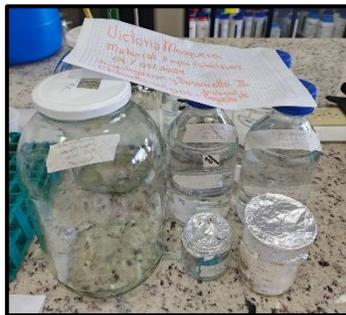


Figura 11 Material esterilizado

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Propagación de microalga

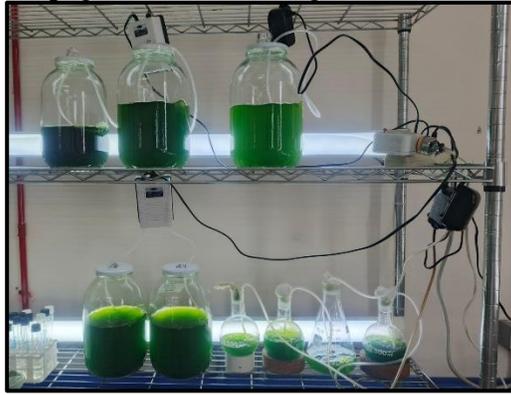


Figura 12 Propagación de Chlorella vulgaris

Elaborada por: (La Autora, 2025).

3.2.7 Diseño Experimental Central Compuesto

Se evaluó el crecimiento semanal durante seis semanas de *Chlorella vulgaris* usando las siguientes concentraciones micromolares ($\mu\text{M/L}$) de los reactivos variables los cuales fueron nitrato de potasio, fosfato monosódico, cloruro de potasio, manteniendo constante la intensidad lumínica y se registró el pH resultante para cada caso:

Tabla 5 Diseño experimental para *Chlorella vulgaris*

Diseño Experimental			
Experimento	Nitrato de Potasio (μM)	Fosfato Monosódico (μM)	Cloruro de Potasio (μM)
VMCV 1	750.0	75.0	500.0
VMCV 2	750.0	75.0	2500.0
VMCV 3	750.0	250.0	500.0
VMCV 4	750.0	250.0	2500.0
VMCV 5	4500.0	75.0	500.0
VMCV 6	4500.0	75.0	2500.0
VMCV 7	4500.0	250.0	500.0
VMCV 8	4500.0	250.0	2500.0
VMCV 9	2625.0	162.5	1500.0
VMCV 10	2625.0	162.5	1500.0
VMCV 11	2625.0	162.5	1500.0
VMCV 12	2625.0	162.5	1500.0
VMCV 13	2625.0	162.5	1500.0
VMCV 14	750.0	162.5	1500.0
VMCV 15	4500.0	162.5	1500.0
VMCV 16	2625.0	75.0	1500.0
VMCV 17	2625.0	287.0	1500.0
VMCV 18	2625.0	162.5	500.0
VMCV 19	2625.0	162.5	2500.0
VMCV 20		CONTROL	
VMCV 21		CONTROL	
VMCV 22		CONTROL	
VMCV 23		CONTROL	

Nota: Este diseño consistió en 19 experimentos, en los que se manipularon 3 variables relacionadas con reactivos. Además, se establecieron 4 controles que utilizaron el fertilizante comercial ® Bastofoliar 10-4-7 SL (Compo Expert), como referencia, y a cada experimento se les adicionaron soluciones de macronutrientes al 10% y soluciones de micronutrientes previamente preparadas.

Elaborada por: (La Autora, 2025).

para este diseño experimental se tomaron 19 Erlenmeyer de 500ml, de los cuales se llenaron la cantidad de 250 mL entre agua destilada estéril y el inóculo de *Chlorella vulgaris* y se colocó constantemente los medios de cultivos modificados de macronutrientes, micronutrientes y las concentraciones variables de los reactivos, dos veces por semana siendo este el diseño experimental de la alimentación (Tabla 6) para la especie *Chlorella vulgaris* al igual que se realizaron pruebas mediante el conteo celular en la cámara de

Neubauer (una vez por semana), revisión microscópica (una vez por semana), pH (una vez por semana), conductividad (una vez por semana), turbidez (dos veces por semana) y la evaluación de superficie de respuesta del diseño experimental, por lo cual para evitar resultados erróneos y minimizar variables en este experimento, se estableció un cronograma de actividades (Tabla 7) y parámetros de condiciones específicas del diseño experimental, como la cantidad de luz, la cual está en un fotoperiodo de doce horas luz y doce horas oscuridad, temperatura de 19-21 °C ya que es la temperatura más óptima para especie, la aeración constante mediante válvulas de aire de doble entrada.

Tabla 6 Alimentación semanal del diseño experimental

Diseño Experimental/ Alimentación Semanal							
Experimento	Cultivo Macronutriente Variable			Cultivo Macronutriente Definido (μL)			Cultivo Micronutriente Definido (μL)
	Nitrato de Potasio (μL)	Fosfato Monosódico (μL)	Cloruro de Potasio (μL)	Solución 1% Cloruro de Calcio (μL)	Solución 1% Sulfato de Magnesio (μL)	Solución 1% Bicarbonato (μL)	
VMCV 1	2420	3840	480	700	150	100	50
VMCV 2	2420	3840	2420	700	150	100	50
VMCV 3	2420	12810	480	700	150	100	50
VMCV 4	2420	12810	2420	700	150	100	50
VMCV 5	14520	3840	480	700	150	100	50
VMCV 6	14520	3840	2420	700	150	100	50
VMCV 7	14520	12810	480	700	150	100	50
VMCV 8	14520	12810	2420	700	150	100	50
VMCV 9	8470	8330	1450	700	150	100	50
VMCV 10	8470	8330	1450	700	150	100	50
VMCV 11	8470	8330	1450	700	150	100	50
VMCV 12	8470	8330	1450	700	150	100	50
VMCV 13	8470	8330	1450	700	150	100	50
VMCV 14	2420	8330	1450	700	150	100	50
VMCV 15	14520	8330	1450	700	150	100	50
VMCV 16	8470	3840	1450	700	150	100	50
VMCV 17	8470	1470	1450	700	150	100	50
VMCV 18	8470	8330	480	700	150	100	50
VMCV 19	8470	8330	2420	700	150	100	50
VMCV 20	CONTROL						
VMCV 21	CONTROL						
VMCV 22	CONTROL						
VMCV 23	CONTROL						

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Tabla 7 Cronograma de actividades

Cronograma de actividades de diseño experimental		
Actividad	Numero de evaluaciones	Periodo de evaluación
Cámara de Neubauer	6	6 semanas 1 vez por semana
pH	6	6 semanas 1 vez por semana
Conductividad	6	6 semanas 1 vez por semana
Turbidez	12	6 semanas 2 vez por semana
Temperatura	6	6 semanas 1 vez por semana
Alimentación	12	6 semanas 2 vez por semana

Elaborada por: (La Autora, 2025).

3.2.8 Instalación del diseño experimental

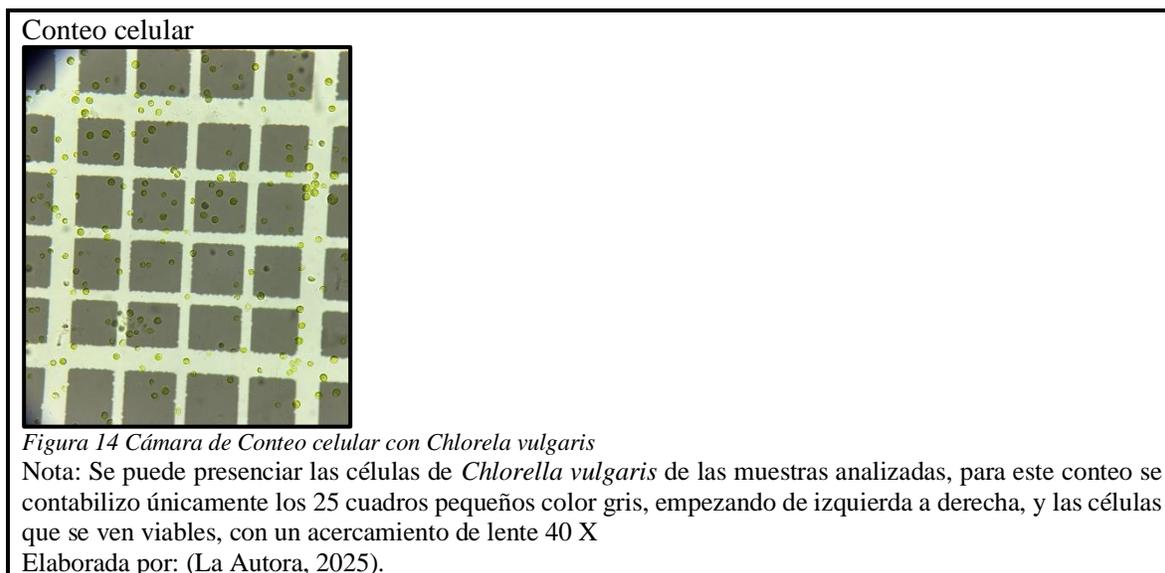
Para el diseño experimental postulado se tomó en cuenta el espacio disponible en la mampara de aluminio, siguiente a eso se esterilizo todo el material para evitar cualquier tipo de contaminación de otros microorganismos, una vez listo y esterilizado procedemos a colocar los Erlenmeyer correspondientes y membretar, para consiguiente a eso, se añadió la cantidad de 2 mL del inculo sin dilución de la especie la cual esta, previamente propagada del inculo inicial, y fue analizada mediante conteo celular por cámara de Neubauer y observación microscópica; se añade 248 mL de agua destilada estéril 248 mL hasta completar los 250 mL el cual va a servir de referencia base para este diseño experimental (Figura 13).



3.2.9 Conteo Celular por Cámara de Neubauer

Mediante la cámara de Neubauer para la cuantificación de las células se realizará el conteo semanal, para lo cual se extrae una cantidad de muestra de medio de cultivo de 1 mL, limpiamos la cámara de Neubauer y el cubreobjetos correspondiente, colocamos el cubreobjetos sobre la cámara (Figura 4) con una micropipeta tomamos de 15 a 20 μL , de

muestra y colocó en la cámara con delicadeza y evitando que se mueva el cubreobjetos una vez lista se colocó en el microscopio el lente de 40X, y en nuestro caso se tomó en cuenta la célula posee un tamaño más pequeño tomamos en cuenta los cuadrados internos de la cámara de conteo y contamos los 5 cuadrantes (Figura 5) y procedemos a observar y anotar el número que se presente teniendo en cuenta que en este diseño no se tomara en cuenta las células que se encuentren en los bordes de los cuadrados y en la parte exterior de los bordes, se realizaron los cálculos de densidad celular (Ecuación 1) y se llevó el registro de cada uno de los experimentos.



3.3 Análisis de Espectrofotometría en turbidez

Mediante el espectrofotómetro se realizaron lecturas para determinar la turbidez en cada muestra del diseño experimental, para esto se tomaron 5 ml de cada muestra, la cual se la leyó con 2 blancos diferentes, el primer blanco es el medio de cultivo elaborado para el control que contiene el fertilizante Bastofoliar y el otro blanco a considerar es la cantidad mínima de las concentraciones de los todos los reactivos siendo este el medio del

experimento número VMCV 1 (Tabla 6) y a esto se lo midió en las misma longitud de onda de 678 y 560, para una mayor precisión se tomaron en cuenta 3 lecturas por experimento del cual se sacó un promedio.

Espectrofotómetro



Figura 15 Espectrofotómetro
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Lecturas de espectrofotómetro



Figura 16 Resultados de turbidez
Elaborada por: (La Autora, 2025).

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Evaluación de conteo celular por cámara de Neubauer

Los resultados obtenidos en la (*Tabla 8*) muestran los valores de concentración celular que se han presentado durante todo el trabajo experimental, Sin embargo mucho de estos resultados son muy similares en la concentración de biomasa que se ha obtenido, se puede presenciar un decaimiento poblacional celular en muchos de los experimentos durante las primeras semanas las cuales no han mejorado con el transcurso del tiempo como es el caso de los experimentos VMCV1, VMCV 2, VMCV 5, VMCV 6, VMCV 7, VMCV 8, VMCV 9, VMCV 10, VMCV 13, VMCV 14, VMCV 15, VMCV 16, VMCV 17, VMCV 18, VMCV 19, es más, se presenta una reducción gradual de biomasa, con respecto a los otros experimentos, no obstante, también existieron experimentos que presentaron una reducción, sin embargo con el transcurso de las semanas se pudo observar una nivelación y adaptación con los medios experimentales y variables de concentración como el caso de los experimentos VMCV 3, VMCV 4, VMCV 11, VMCV 12, que a diferencia de los controles, los cuales se han mantenido la mayoría en equilibrio, estos no han reducido notoriamente el rango de similitud entre el transcurso del tiempo. Además de acuerdo con las gráficas estadísticas de los experimentos (*Figura 17*), se puede observar que la semana en la que se obtuvo resultados más altos de biomasa fue la primera y segunda semana y la semana con biomasa más baja fue la quinta y sexta.

Tabla 8 Resultado de conteo celular por cámara de Neubauer

Experimentos	Nitratos μM	Fosfatos μM	Potasio μM	Biomasa semana 1 (cel/mL)	Biomasa semana 2 (cel/mL)	Biomasa semana 3 (cel/mL)	Biomasa semana 4 (cel/mL)	Biomasa semana 5 (cel/mL)	Biomasa semana 6 (cel/mL)
VMCV 1	750	75	500	6450000	5200000	3975000	3225000	2550000	1450000
VMCV 2	750	75	2500	7475000	5925000	3650000	1975000	2675000	3200000
VMCV 3	750	250	500	2550000	2075000	1600000	1250000	2150000	2500000
VMCV 4	750	250	2500	4200000	4225000	4375000	4875000	4350000	3550000
VMCV 5	4500	75	500	6250000	4525000	3100000	3450000	2650000	975000
VMCV 6	4500	75	2500	7250000	5725000	3150000	2475000	1825000	875000
VMCV 7	4500	250	500	5475000	4750000	3525000	3525000	3300000	3075000
VMCV 8	4500	250	2500	4650000	3825000	2675000	2850000	2500000	1850000
VMCV 9	2625	162,5	1500	6350000	4775000	2275000	2325000	2175000	2125000
VMCV 10	2625	162,5	1500	4825000	3825000	3350000	3575000	3000000	2250000
VMCV 11	2625	162,5	1500	6100000	4350000	3375000	3425000	4825000	5750000
VMCV 12	2625	162,5	1500	5725000	4200000	3425000	3575000	4450000	4825000
VMCV 13	2625	162,5	1500	8050000	4975000	2975000	1350000	2525000	3650000
VMCV 14	750	162,5	1500	12950000	9300000	6900000	5350000	6500000	3425000
VMCV 15	4500	162,5	1500	5200000	4250000	3425000	3100000	2900000	2700000
VMCV 16	2625	75	1500	11550000	9050000	6125000	3450000	2850000	1650000
VMCV 17	2625	287	1500	12925000	8425000	6700000	4500000	3675000	3225000
VMCV 18	2625	162,5	500	6875000	4225000	2975000	1850000	2275000	2600000
VMCV 19	2625	162,5	2500	12675000	8750000	4700000	2150000	5775000	7750000
VMCV CONTROL 20		Bastofoliar		6725000	14550000	21125000	26650000	48875000	66700000
VMCV CONTROL 21		Bastofoliar		4650000	7275000	12975000	16400000	18725000	19475000
VMCV CONTROL 22		Bastofoliar		5200000	8400000	10700000	12275000	22400000	32450000
VMCV CONTROL 23		Bastofoliar		2450000	3650000	3725000	4350000	13375000	19000000

Nota: El nombre de cada experimento, está basado las abreviaciones del nombre y apellido de la autora, combinado el nombre de la especie y el respectivo numero de experimento, los factores que se tuvieron en cuenta de la tabla fueron, el tiempo de 6 semanas que duro el diseño experimental, la concentración variable de los reactivos, y la cantidad celular presente en el conteo realizado representado por (cel/mL).

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Resultado del conteo celular por cámara de Neubauer gráfica estadística

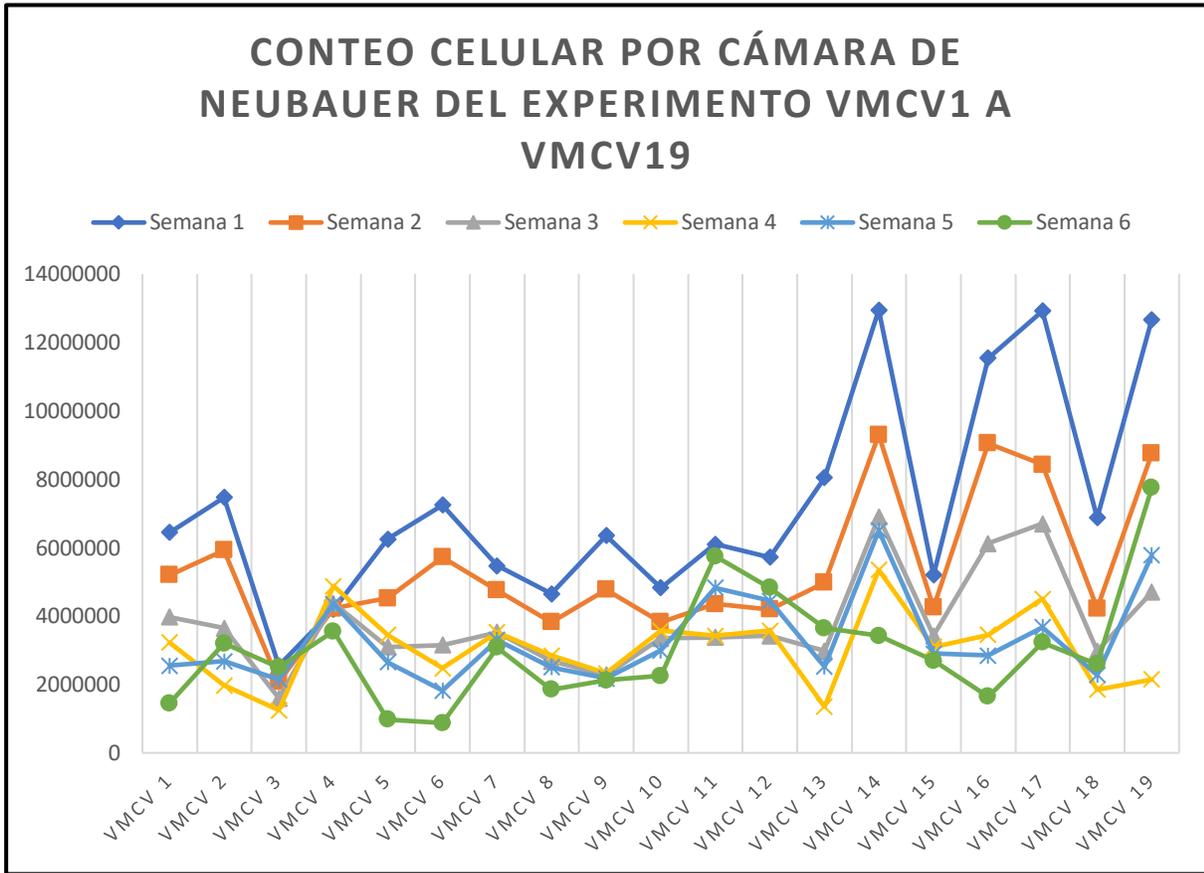


Figura 17 Gráfica estadística de conteo celular del diseño experimental solo experimentos

Nota: En la siguiente grafica se puede apreciar únicamente los resultados del conteo de los experimentos del diseño experimental, en el tiempo de 6 semanas, los cuales fueron alimentados con las variables de concentraciones y los cultivos específicos de macronutrientes y micronutrientes específicos elaborados para este diseño mediante el plan de alimentación antes mencionado.

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Resultado del conteo celular de los controles del experimento por cámara de Neubauer gráfica estadística

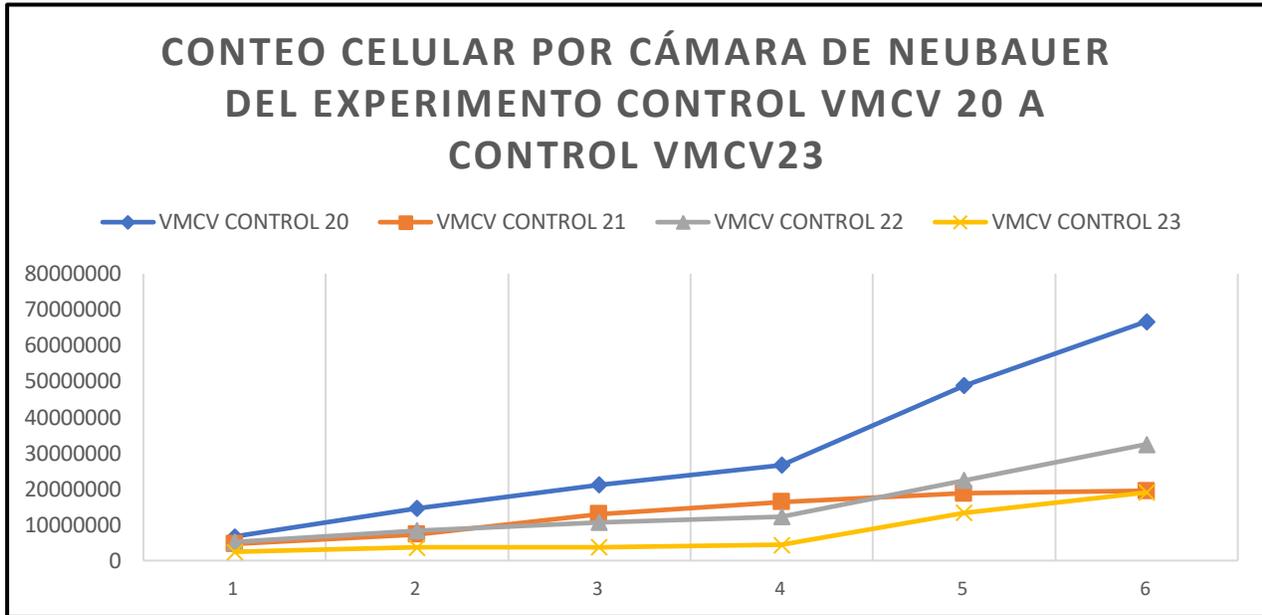


Figura 18 Gráfica estadística de conteo celular del diseño experimental solo controles

Nota: En la siguiente grafica se puede apreciar únicamente los controles del diseño experimental, en el tiempo de 6 semanas, los cuales fueron alimentados con el fertilizante comercial liquido © Bastofoliar 10-4-7 SL (Compo Expert).

Elaborada por: (La Autora, 2025).

4.1.2 Evaluación de turbidez

4.1.3 Evaluación de turbidez a 680 (nm)

En la Figura 19 se evidencia una pérdida de turbidez en los experimentos y controles debido a la ausencia gradual de partículas suspendidas de *Chlorella Vulgaris* que va en descenso por falta de crecimiento y reproducción. En la medición 1 se inició con un rango de longitud de onda de 678 nanómetros, del cual se midieron 3 lectura por experimento, con el respectivo blanco de bastofoliar. En la medición 2 se inició con un rango de longitud de onda de 678 nanómetros, del cual se midieron 3 lectura por experimento, con el respectivo blanco de concentraciones variadas en el medio de cultivo que se tomo de referencia del experimento

VMCV 1, sin embargo, se puede observar en la Figura 20 que no presenta una pérdida de turbidez en los experimentos y controles como la primera medición.

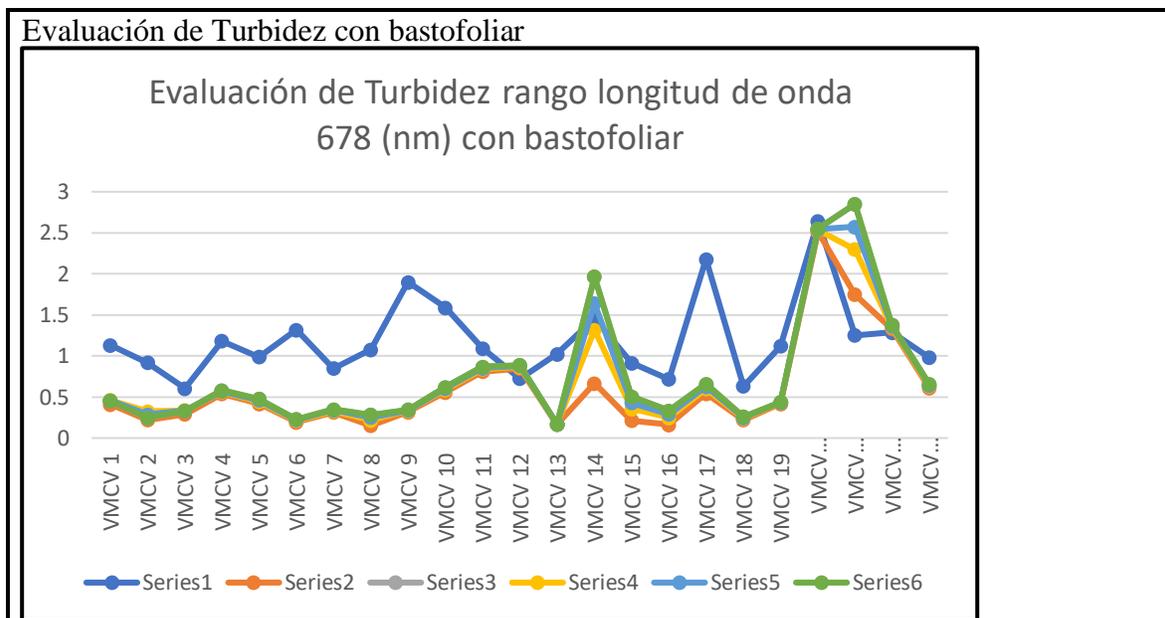


Figura 19 Evaluación de Turbidez con bastofoliar a 678 (nm)

Nota: Estos datos fueron obtenidos por el promedio de las tres lecturas que se obtenía en el espectrofotómetro, el cual se leía con su blanco respectivo en este caso bastofoliar, estas evaluaciones se las tomo una vez por semana durante seis semanas.

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Evaluación de Turbidez con concentraciones variables

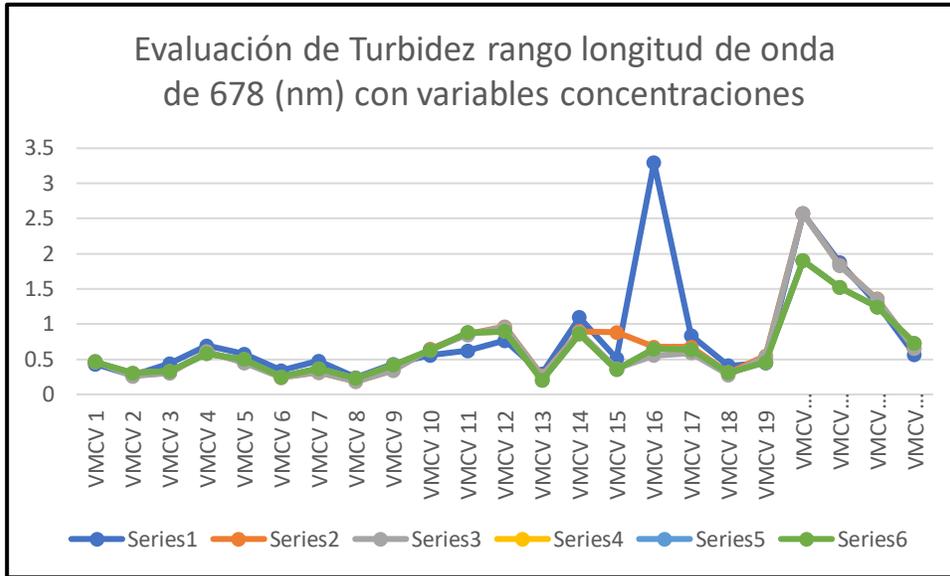


Figura 20 Evaluación de Turbidez con concentraciones variables a 678 (nm)

Nota: Estos datos fueron obtenidos por el promedio de las tres lecturas que se obtenía en el espectrofotómetro, el cual se leía con su blanco respectivo en este caso concentraciones variables, estas evaluaciones se las tomo una vez por semana durante seis semanas.

Elaborada por: (La Autora, 2025).

4.1.4 Evaluación de turbidez 560 Bastofoliar

En la Figura 21 y en la Figura 22 se pueden evidenciar una turbidez en los experimentos y controles del mismo, progresivo en donde se puede apreciar una nivelación, más no un aumento de partículas de celulares de *Chlorella vulgaris*, sin embargo, estos resultados concuerdan con las cifras del conteo celular en las cámaras de Neubauer realizadas anteriormente, mostrando así que debido a la ausencia gradual de partículas suspendidas de *Chlorella Vulgaris*, la cual va en descenso por falta de crecimiento y reproducción. En la medición 1 se inició con un rango de longitud de onda de 560 nanómetros, del cual se midieron 3 lectura por experimento, con el respectivo blanco de bastofoliar. En la medición 2 se inició con un rango de longitud de onda de 560 nanómetros, del cual se midieron 3 lectura por experimento, con el respectivo blanco de concentraciones variadas en el medio

de cultivo que se tomó de referencia del experimento VMCV 1

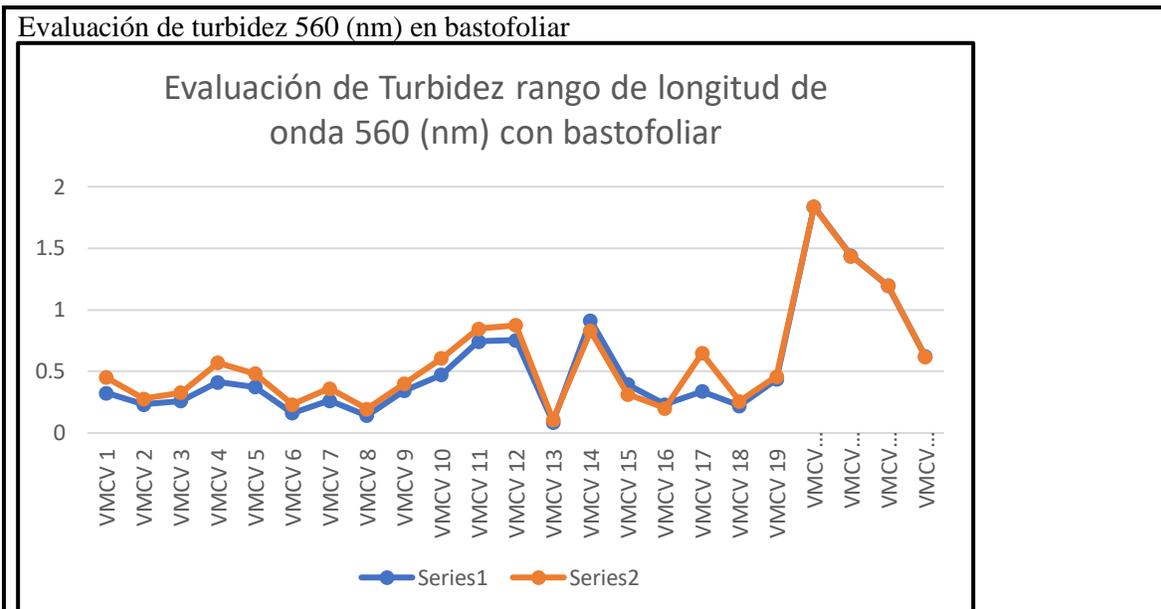
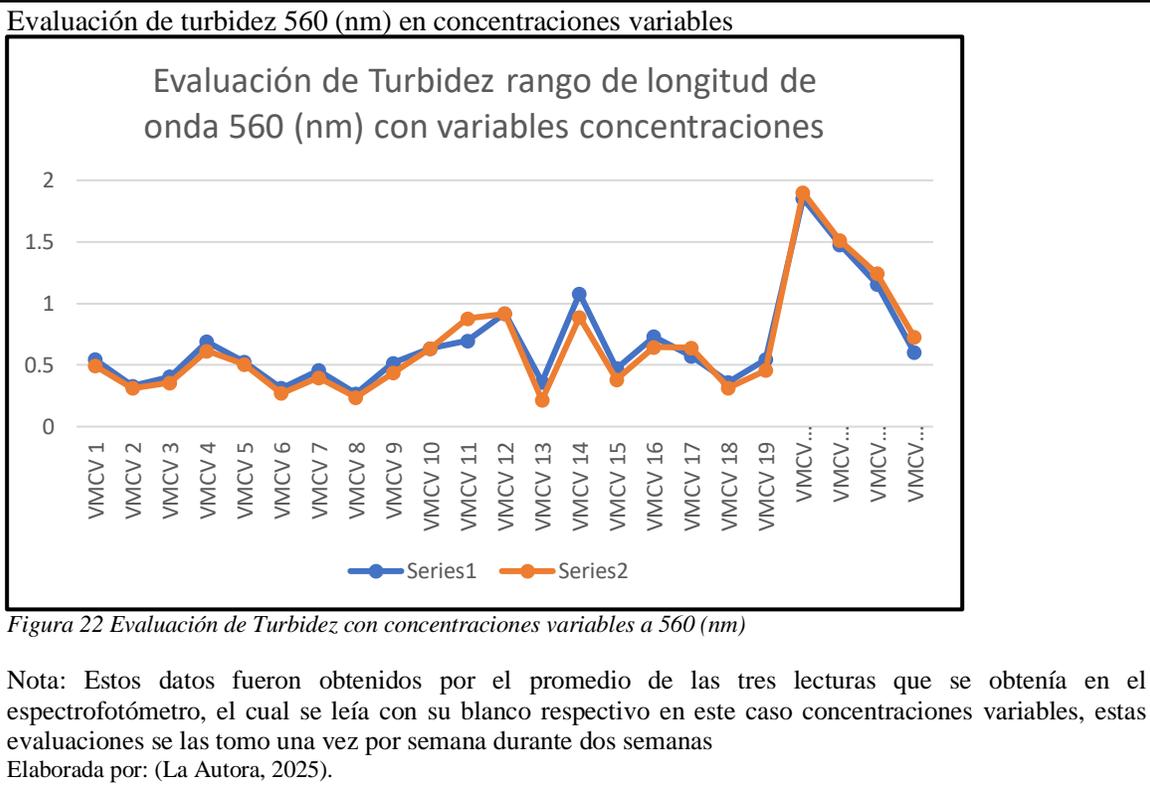


Figura 21 Evaluación de Turbidez con bastofoliar a 560 (nm)

Nota: Estos datos fueron obtenidos por el promedio de las tres lecturas que se obtenía en el espectrofotómetro, el cual se leía con su blanco respectivo en este caso bastofoliar, estas evaluaciones se las tomo una vez por semana durante dos semanas

Elaborada por: (La Autora, 2025).



4.1.5 Evaluación de pH

En la evaluación se observa que la medición pH inicia con un rango de 7.00 - 8.97 considerado un pH alcalino, con el transcurso de las semanas se nota una disminución ligera en estos valores con un rango semanal que va de 7.83 – 8.50 que indica que la microalga *Chlorella Vulgaris* tiene la capacidad de neutralizar el pH como se puede observar en la Figura 23.

Evaluación de pH

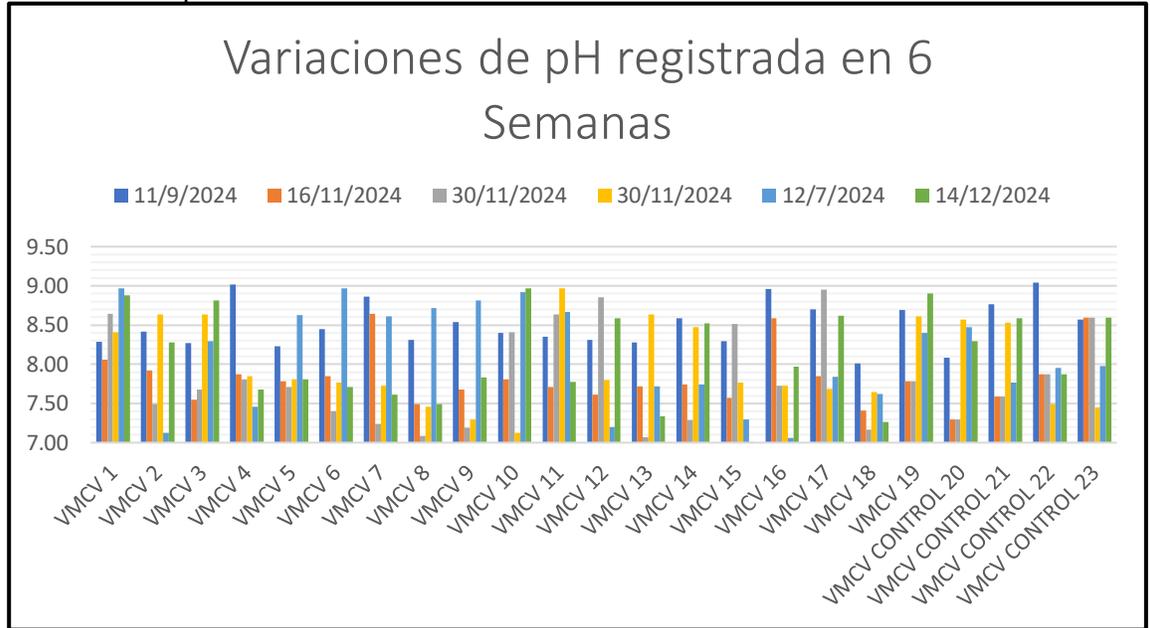


Figura 23 Evaluación de pH de los experimentos y controles

Elaborada por: (La Autora, 2025).

4.1.6 Evaluación de conductividad

La conductividad, en la primera semana se obtuvo un promedio de todos los experimentos y controles de 1114 ($\mu\text{S}/\text{cm}$), durante la segunda semana se presencié un aumento de promedio a de 1564 ($\mu\text{S}/\text{cm}$), durante la tercera semana, el promedio disminuyó gradualmente a 1313 ($\mu\text{S}/\text{cm}$), la cuarta semana se obtuvo un promedio de 1583 ($\mu\text{S}/\text{cm}$), la quinta semana 1489 ($\mu\text{S}/\text{cm}$) y sexta semana 1535 ($\mu\text{S}/\text{cm}$), como se puede observar en la Figura 24, para estos resultados se los midió semanalmente una vez a la semana.

Evaluación de conductividad

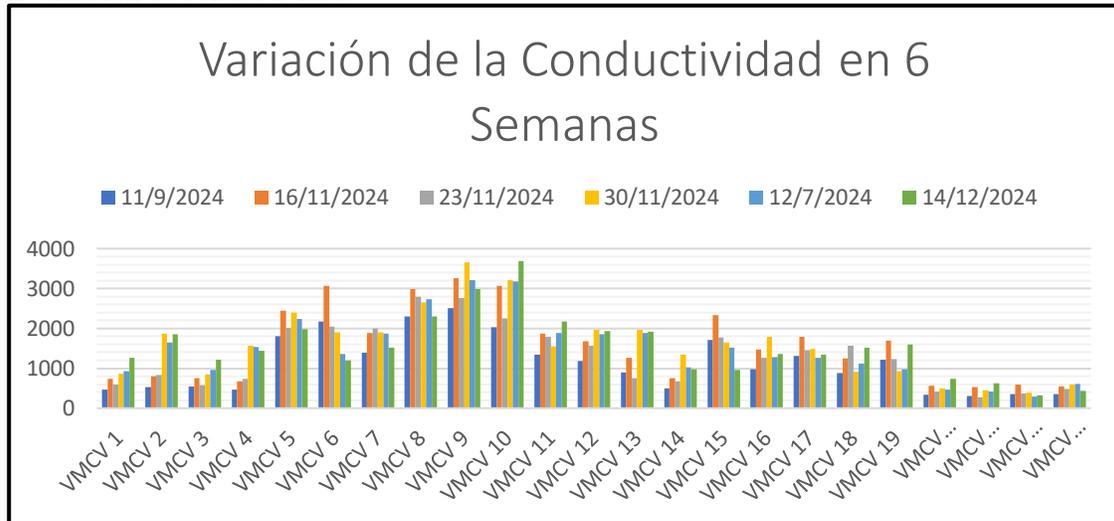


Figura 24 Evaluación de conductividad de los experimentos y controles

Elaborada por: (La Autora, 2025).

4.1.7 Evaluación de temperatura

En la evaluación se observa que la medición de temperatura inicia con un rango de 18.6 – 20.9 considerado así una temperatura apta para la especie *Chlorella vulgaris*, sin embargo se presenció en el transcurso de las semanas algunas variaciones como la disminución o aumento de la misma como se muestra en la

Figura 25

Variación de temperatura

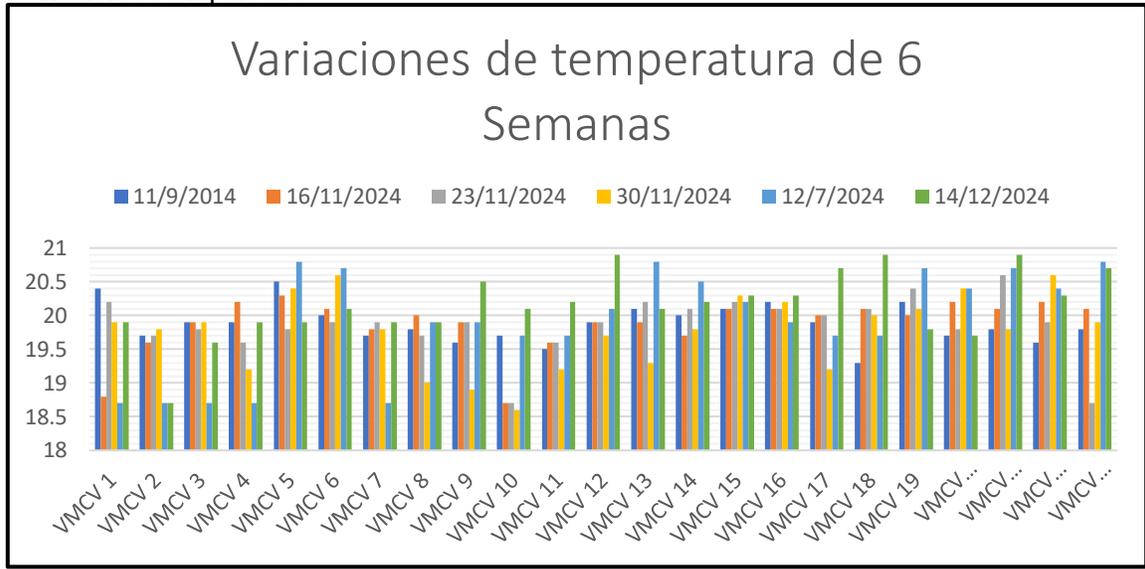


Figura 25 Evaluación de temperatura de los experimentos y controles

Elaborada por: (La Autora, 2025).

4.1.8 Análisis estadístico superficie de respuesta

Los resultados del análisis de superficie de respuesta (RSM) indican que las concentraciones variadas de nitrato de potasio, fosfato monosódico y cloruro de potasio en el medio especializado modificado, para este trabajo experimental, aplicada a la microalga *Chlorella vulgaris* si se ve afectada significativamente en la producción de biomasa por la interacción entre la concentración de los reactivos, de acuerdo a la *Tabla 9* nos indica que los valores correspondiente a el experimento VMCV 3, VMCV 11, VMCV 12, poseen las concentraciones más apropiadas de nitrato de potasio, fosfato monosódico y cloruro de potasio, sin embargo, el experimento VMCV 2, VMCV 18, VMCV 19, son concentraciones desfavorables para la producción de biomasa.

Tabla 9 Análisis de superficie de respuesta de *Chlorella vulgaris*

Experimento	Nitrato de Potasio (μM)	Fosfato Monosódico (μM)	Cloruro de Potasio (μM)	Biomasa semana 2 (cel/mL)	Biomasa semana 3 (cel/mL)	Biomasa semana 4 (cel/mL)	Biomasa semana 5 (cel/mL)	Biomasa semana 6 (cel/mL)	SEMANA 2 a 6
VMCV 1	750	75	500	5200000	3975000	3225000	2550000	1450000	-0,72115385
VMCV 2	750	75	2500	5925000	3650000	1975000	2675000	3200000	-0,45991561
VMCV 3	750	250	500	2075000	1600000	1250000	2150000	2500000	0,20481928
VMCV 4	750	250	2500	4225000	4375000	4875000	4350000	3550000	-0,15976331
VMCV 5	4500	75	500	4525000	3100000	3450000	2650000	975000	-0,78453039
VMCV 6	4500	75	2500	5725000	3150000	2475000	1825000	875000	-0,84716157
VMCV 7	4500	250	500	4750000	3525000	3525000	3300000	3075000	-0,35263158
VMCV 8	4500	250	2500	3825000	2675000	2850000	2500000	1850000	-0,51633987
VMCV 9	2625	162.5	1500	4775000	2275000	2325000	2175000	2125000	-0,55497382
VMCV 10	2625	162.5	1500	3825000	3350000	3575000	3000000	2250000	-0,41176471
VMCV 11	2625	162.5	1500	4350000	3375000	3425000	4825000	5750000	0,32183908
VMCV 12	2625	162.5	1500	4200000	3425000	3575000	4450000	4825000	0,14880952
VMCV 13	2625	162.5	1500	4975000	2975000	1350000	2525000	3650000	-0,26633166
VMCV 14	750	162.5	1500	9300000	6900000	5350000	6500000	3425000	-0,63172043
VMCV 15	4500	162.5	1500	4250000	3425000	3100000	2900000	2700000	-0,36470588
VMCV 16	2625	75	1500	9050000	6125000	3450000	2850000	1650000	-0,81767956
VMCV 17	2625	287	1500	8425000	6700000	4500000	3675000	3225000	-0,61721068
VMCV 18	2625	162.5	500	4225000	2975000	1850000	2275000	2600000	-0,38461538
VMCV 19	2625	162.5	2500	8750000	4700000	2150000	5775000	7750000	-0,11428571

Nota: Los factores que se tuvieron en cuenta de la tabla fueron, el tiempo de 6 semanas sin embargo

solo se usó la semana dos a la sexta, para evitar la fase de latencia y la semana de adaptación del nuevo medio, las concentraciones variables de los reactivos, y la cantidad celular presente en el conteo semanal realizado, representado por (cel/mL).

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Superficie de respuesta para el crecimiento de biomasa en *Chlorella vulgaris*

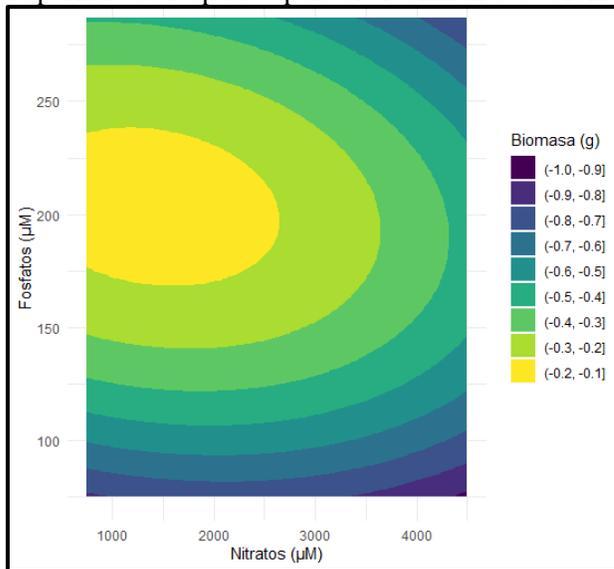


Figura 26 Gráfica de superficie de respuesta para el crecimiento de biomasa

Nota: Un resultado cercano a 1 indica que el modelo a esas concentraciones es mucho más preciso y puede predecir con confianza el crecimiento de biomasa como es en el caso de los experimentos VMCV 3, VMCV 11, VMCV 12 son los más allegados, sin embargo, también esta grafica nos ayudan a determinar de afuera hacia adentro que concentraciones no son aptas para la biomasa

Elaborada por: (La Autora, 2025).

Interacción del rendimiento entre los reactivos

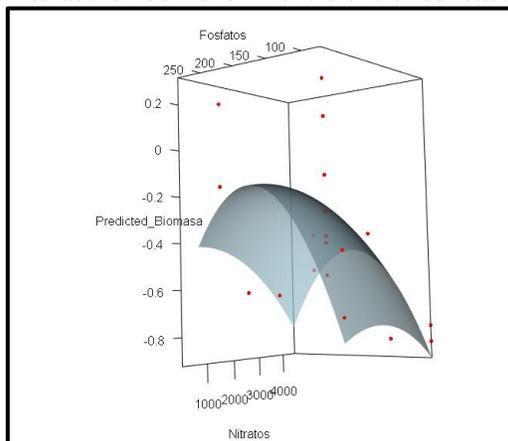


Figura 27 Interacción del rendimiento en la biomasa de *Chlorella vulgaris*

Nota: Se muestra la representación gráfica de los modelos cuadráticos con la superficie de respuesta para el rendimiento del cultivo de biomasa de *Chlorella vulgaris* de diversos niveles y combinaciones de concentraciones de los reactivos como los experimentos VMCV 3, VMCV 11, VMCV 12.

Elaborada por: (La Autora, 2025).

4.2 Discusión

El crecimiento de la microalga en el fotobiorreactor permitió controlar las condiciones de desarrollo de la microalga *Chlorella Vulgaris*, la temperatura en la fase de crecimiento fue de $18^{\circ}\text{C} \pm 21^{\circ}\text{C}$ valor que estuvo dentro del rango óptimo establecido para el aumento progresivo de la tasa de crecimiento. En investigaciones realizadas establecen un rango óptimo de temperatura entre los 18° y 25°C (Gómez et al., 2021) ya que un exceso de temperatura ocasiona la disminución de fotorrespiración lo que provoca una reducción en el crecimiento celular; otro factor que influye en el desarrollo, es el pH ya que las microalgas dependen de este para poder tener un aumento de su población según (Gomez et al., 2013; Pérez et al., 2017) Indica que el pH óptimo para su cultivo está en un rango 7 y 8, en la presente investigación los datos obtenidos se encontraron dentro del rango óptimo, lo que favoreció un crecimiento celular gradual. Las condiciones generadas en el fotobiorreactor permitieron un desarrollo controlado en el crecimiento de la microalga *Chlorella Vulgaris* en las diferentes concentraciones, la microalga *Chlorella Vulgaris* presentó mayor porcentaje de biomasa en el experimento VMCV 3, VMCV 11, VMCV 12, sin embargo, a pesar de realizar medios específicos para cada uno de los experimentos, los mejores resultados siguen siendo el uso del fertilizante comercial ® Bastofoliar 10-4-7 SL (Compo Expert) ya que debido a la composición del mismo permite la asimilación de los macronutrientes y micronutrientes en cantidades adecuadas para la especie, Finalmente de acuerdo con los análisis estadísticos de superficie de respuesta y las gráficas que se han presentado de todas las pruebas anteriores se puede observar que los valores de concentración que maximizan el crecimiento con los medios modificados y concentraciones variables para Nitrato de Potasio es $1472.9\ \mu\text{mol/L}$, para Fosfato Monosódico $216.5\ \mu\text{mol/L}$ y para Cloruro de Potasio $500\ \mu\text{mol/L}$

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Los datos obtenidos en el conteo celular realizado en la cámara de Neubauer, fueron evaluados mediante un análisis estadístico de superficie de respuesta en el cual se determinó que los experimentos VMCV 3, VMCV 11, VMCV 12, poseen las mejores concentraciones para la producción de biomasa y con valores 0,20481928; 0,32183908; 0,14880952 más cercanos al 1, el cual indica que es un modelo que se ajusta bien a los datos para el crecimiento de biomasa. Se caracterizó cuantitativa y cualitativamente los parámetros pH el cual fue manteniéndose en un pH alcalino entre 7.83 a 8.50, conductividad inicial se manejó en un rango promedio de 1113 $\mu\text{S}/\text{cm}$ hasta 1583 $\mu\text{S}/\text{cm}$, temperatura en un rango entre 18 a 21°C. Finalmente se resalta que los valores óptimos para poder trabajar con Nitrato de Potasio es de 1472.9 $\mu\text{mol}/\text{L}$ en los Fosfato Monosódico es de 216.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$ y de Cloruro de Potasio es de 500 $\mu\text{mol}/\text{L}$ siendo esto un dato relevante para futuros análisis en los cuales se podrán realizar mejoras con los medios de cultivos modificados

5.2 Recomendaciones

Evitar usar y ser precavido con los equipos los cuales no se encuentren calibrados adecuadamente como las balanzas analíticas, o espectrofotómetro para evitar inconvenientes en los resultados y preparación de material, realizar una constante observación ya que muchas de las veces el diseño experimental se ve afectado por factores externos como la presencia de otros microorganismos, o sustancias no deseadas, también tener en cuenta el espacio de cada experimento ya que debido a las vibraciones provocadas por las bombas de aire contantemente en el estante, realizaban pequeños movimientos involuntarios casi imperceptibles haciendo que se muevan y se alejen de la luz.

6 BIBLIOGRAFÍA

- Ararat, M., Sanclemente, O., & Vergara, L. (2020). Efecto de la dosificación de CO₂ en la cinética de crecimiento de microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 89–100. <https://doi.org/10.22490/21456453.3482>
- Castro Bustamante, J. (2018). *Diseño de una planta piloto para el crecimiento de microalgas heterótrofas*. <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/32691>
- Delgadillo, I., Montenegro, L., Pinilla Agudelo, G., & Marina, L. (2017). Medición de la fluorescencia de la clorofila a en algas encapsuladas en alginato de calcio. *Acta Biologica Colombiana*, 22(2), 199–208. <https://doi.org/10.15446/abc.v22n2.56166>
- Gallego, V., & Pérez, M. (2021). Estimación de la densidad celular mediante el uso de cámaras de recuento. *Universidad Politécnica de Valencia*, 9. [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/169378/GallegoPerez - Estimacion de la Densidad Celular.pdf](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/169378/GallegoPerez%20-%20Estimacion%20de%20la%20Densidad%20Celular.pdf)
- Gómez, L., Ortega, Y., & Tormos, L. (2021, January 10). Efecto del pH sobre el crecimiento y viabilidad celular de una cepa local de *Chlorella vulgaris* Beijerinck. *Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA)*, 252–276.
- Gómez, L., Tormos, L., & Ortega, Y. (2022). Cultivo y aplicaciones de *Chlorella vulgaris*: principales tendencias y potencialidades en la agricultura. *Tecnología Química*, 42(1), 70–93.
- Gomez, P. I., Inostroza, I., Pizarro, M., & Perez, J. (2013). From genetic improvement to commercial-scale mass culture of a Chilean strain of the green microalga *Haematococcus pluvialis* with enhanced productivity of the red ketocarotenoid astaxanthin. *AoB Plants*, 5(0), plt026–plt026. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plt026>

Morocho Parees, J. P., & Gordillo Ordoñez, S. K. (2023). EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE NITRATOS Y FOSFATOS CON MICROALGA, ESPECIE “CHLORELLA VULGARIS” EN AGUA RESIDUAL PROCEDENTE DEL RÍO MACHÁNGARA DEL SECTOR CHIMBACALLE, CANTÓN QUITO, PROVINCIA PICHINCHA 2022-2023. *Tesis*.

Muñoz, M., Ramírez, J., Otero, A., Medina, V., Cruz, P., & Velasco, Y. (2012). Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento y el contenido proteico de *Chlorella vulgaris*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(3), 438–449.

Ortiz Martha, Cortés Caroll, Sánchez Julián, Padilla Jorge, & Oteropaternalina Angelica. (2012). Evaluación del crecimiento de la microalga *chlorella sorokiniana* en diferentes medios de cultivo en condiciones autotróficas y mixotróficas. *Universidad de Los Llanos*, 16(1), 11–20.

Pérez, A., Santamaria, E. K., Operario, D., Tarkang, E. E., Zotor, F. B., Cardoso, S. R. de S. N., Autor, S. E. U., De, I., Dos, A., Vendas, O. D. E., Empresas, D. A. S., Atividades, P. O., Artigo, N., Gest, G. N. R. M. D. E., Para, D. E. F., Miranda, S. F. da R., Ferreira, F. A. A., Oliver, J., Dario, M., ... Volk, J. E. (2017). Estudio de la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris* crecida heterotroficamente sobre vinazas de la caña de azúcar. *BMC Public Health*, 5(1), 1–8.

<https://ejournal.poltektegal.ac.id/index.php/siklus/article/view/298><http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf><http://dx.doi.org/10.1016/j.jana.2015.10.005><http://www.biomedcentral.com/1471-2458/12/58><http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&P>

Plasencia, J. (2012). *Cultivo de Microalgas (Chorella sorokiniana) con iluminacion mediante LEDs* [FITOTECNIA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID, ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS].
http://oa.upm.es/22523/1/TFC_Juan_Plasencia.pdf

- Prieto, I. (2020). Estudio del crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y su capacidad de depuración de agua residual. *Universidad de Almería*, 14–16.
[http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/9896/PRIETO MARQUEZ%20INMACULADA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/9896/PRIETO%20MARQUEZ%20INMACULADA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Rizzo, A., Ross, M. E., Norici, A., & Jesus, B. (2022). A Two-Step Process for Improved Biomass Production and Non-Destructive Astaxanthin and Carotenoids Accumulation in *Haematococcus pluvialis*. *Applied Sciences*, *12*(3), 1261. <https://doi.org/10.3390/app12031261>
- Robles, H., Sacramento, R., Ruiz, M., Baz, R., Canedo, L., & Narváez, G. (2016). EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO CELULAR, REMOCIÓN DE NITRÓGENO Y PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS POR *CHLORELLA VULGARIS* A DIFERENTES CONDICIONES DE AIREACIÓN EN DOS TIPOS DE FOTOBIOREACTORES ANULARES. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *15*(2), 361–377.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morfología, composición, producción, procesamiento y aplicaciones de *Chlorella vulgaris*: Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *35*, 265–278.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>

7 ANEXOS

Anexo I Datos obtenidos de mediciones de pH

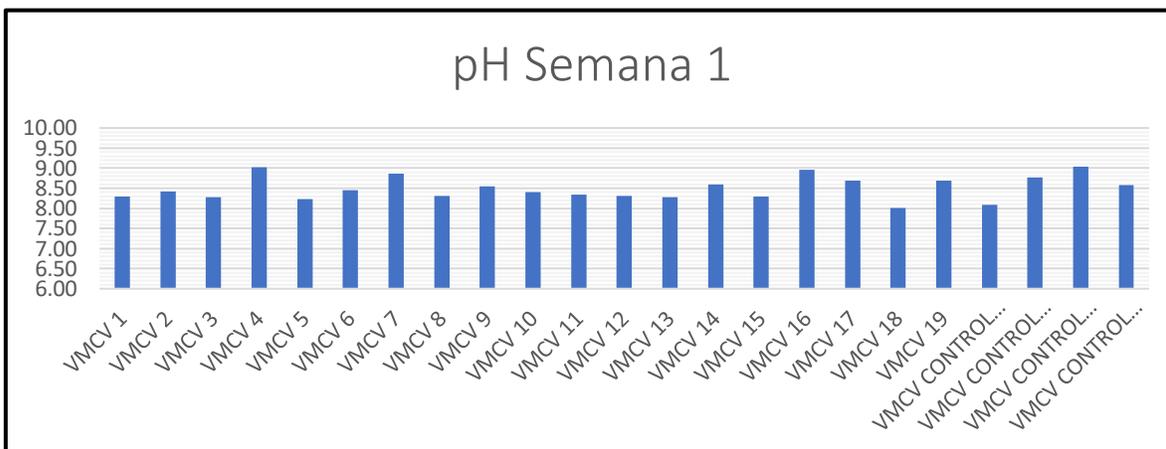
pH SEMANA 1-6						
EXPERIMENTO	SEMANA 1 09/11/2024	SEMANA 2 16/11/2024	SEMANA 3 23/11/2024	SEMANA 4 30/11/2024	SEMANA 5 07/12/2024	SEMANA 6 14/12/2024
VMCV 1	8.29	8.06	8.65	8.41	8.96	8.88
VMCV 2	8.41	7.92	7.49	8.63	7.13	8.28
VMCV 3	8.27	7.55	7.68	8.63	8.29	8.82
VMCV 4	9.02	7.87	7.81	7.85	7.46	7.68
VMCV 5	8.23	7.79	7.71	7.81	8.62	7.81
VMCV 6	8.45	7.85	7.40	7.77	8.97	7.71
VMCV 7	8.87	8.65	7.24	7.73	8.61	7.62
VMCV 8	8.31	7.49	7.09	7.46	8.71	7.49
VMCV 9	8.54	7.68	7.19	7.29	8.82	7.84
VMCV 10	8.40	7.81	8.41	7.13	8.92	8.97
VMCV 11	8.35	7.71	8.63	8.96	8.67	7.78
VMCV 12	8.31	7.62	8.85	7.80	7.20	8.58
VMCV 13	8.28	7.72	7.07	8.64	7.72	7.33
VMCV 14	8.59	7.74	7.29	8.47	7.74	8.52
VMCV 15	8.29	7.57	8.51	7.77	7.29	7.00
VMCV 16	8.96	8.59	7.73	7.73	7.06	7.97
VMCV 17	8.70	7.84	8.95	7.69	7.84	8.62
VMCV 18	8.01	7.41	7.17	7.65	7.62	7.26
VMCV 19	8.69	7.79	7.79	8.61	8.40	8.91
VMCV CONTROL 20	8.08	7.30	7.30	8.57	8.47	8.30
VMCV CONTROL 21	8.77	7.59	7.59	8.53	7.77	8.59
VMCV CONTROL 22	9.04	7.87	7.87	7.49	7.95	7.87
VMCV CONTROL 23	8.57	8.60	8.60	7.45	7.98	8.60

Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición del pH de las 6 semanas de todos los

experimentos y controles

Elaborada por: (La Autora, 2025).

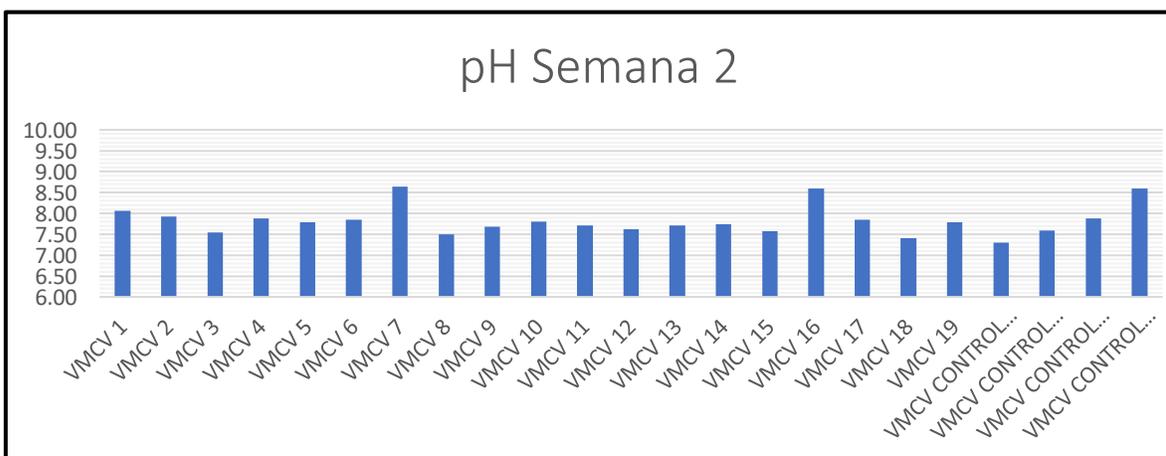
Anexo 2 Gráfico pH semana 1



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición del pH de la 1 semana de todos los experimentos y controles

Elaborada por: (La Autora, 2025).

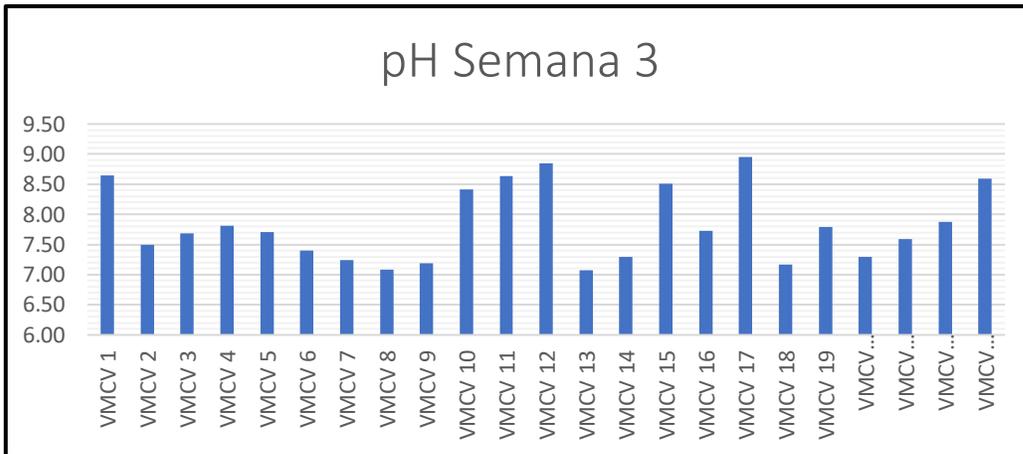
Anexo 3 Gráfico pH semana 2



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición del pH de la 2 semana de todos los experimentos y controles

Elaborada por: (La Autora, 2025).

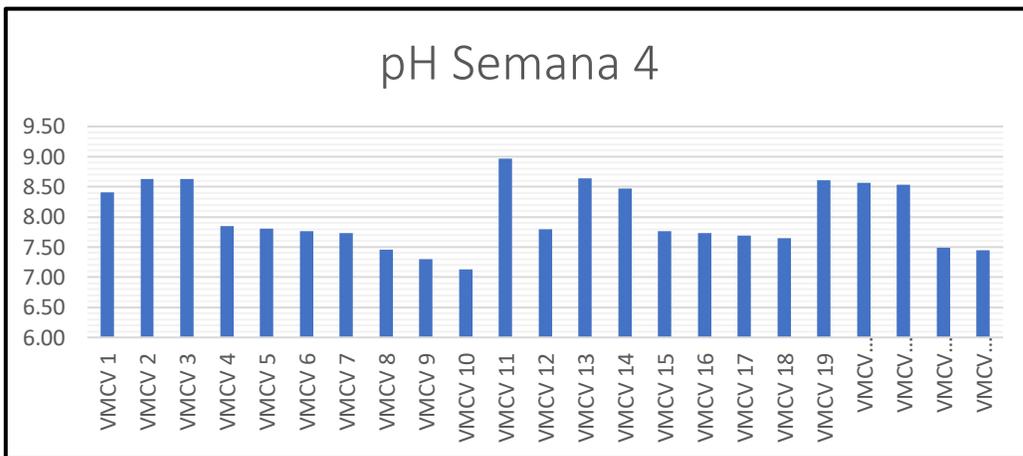
Anexo 4 Gráfico pH semana 3



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición del pH de la 3 semana de todos los experimentos y controles

Elaborada por: (La Autora, 2025).

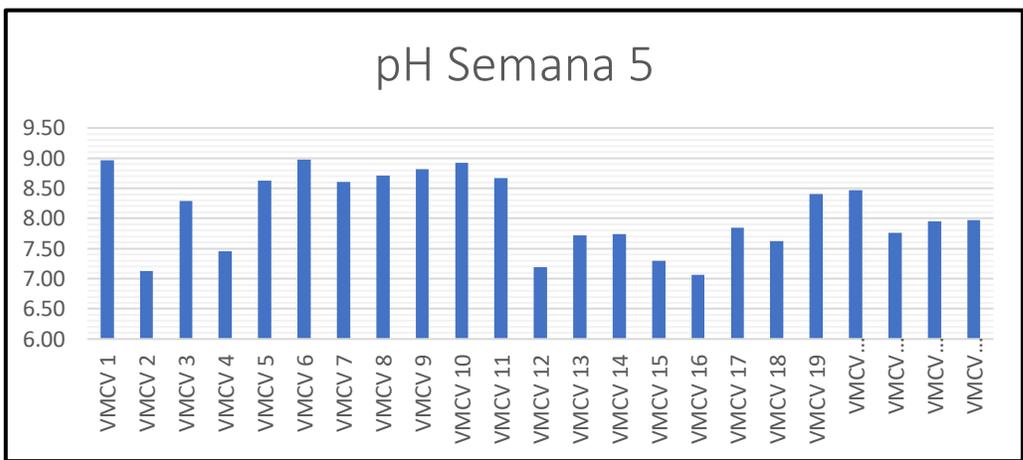
Anexo 5 Gráfico pH semana 4



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición del pH de la 4 semana de todos los experimentos y controles

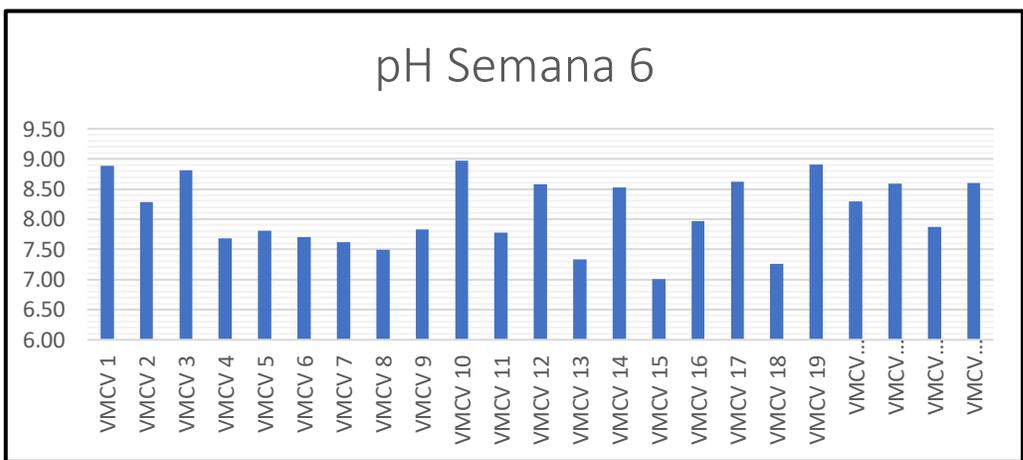
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 6 Gráfico pH semana 5



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición del pH de la 5 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 7 Gráfico pH semana 6



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición del pH de la 6 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 8 Tabla de datos obtenidos de temperatura de las 6 semanas

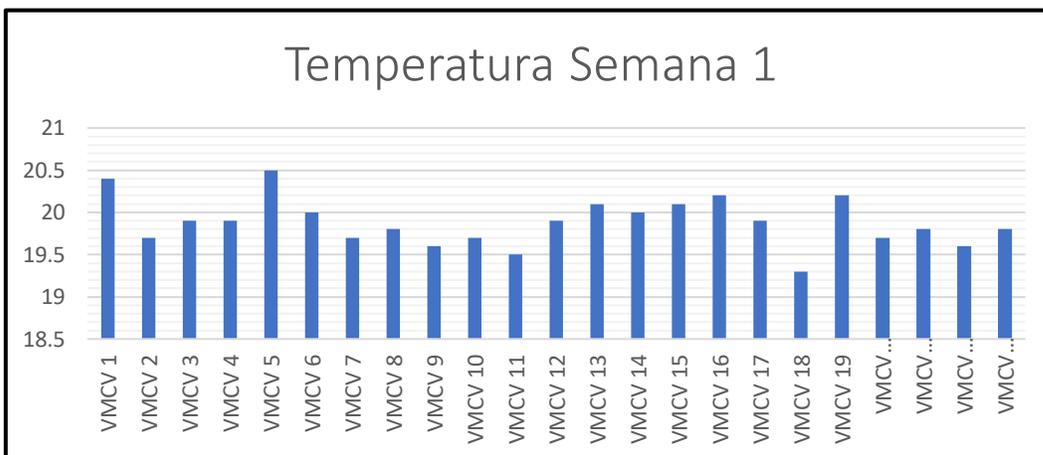
Temperatura Semana 1-6 (°C)						
EXPERIMENTO	09/11/2024	16/11/2024	23/11/2024	30/11/2024	07/12/2024	14/12/2024
VMCV 1	20.4	18.8	20.2	19.9	18.7	19.9
VMCV 2	19.7	19.6	19.7	19.8	18.7	18.7
VMCV 3	19.9	19.9	19.8	19.9	18.7	19.6
VMCV 4	19.9	20.2	19.6	19.2	18.7	19.9
VMCV 5	20.5	20.3	19.8	20.4	20.8	19.9
VMCV 6	20	20.1	19.9	20.6	20.7	20.1
VMCV 7	19.7	19.8	19.9	19.8	18.7	19.9
VMCV 8	19.8	20	19.7	19	19.9	19.9
VMCV 9	19.6	19.9	19.9	18.9	19.9	20.5
VMCV 10	19.7	18.7	18.7	18.6	19.7	20.1
VMCV 11	19.5	19.6	19.6	19.2	19.7	20.2
VMCV 12	19.9	19.9	19.9	19.7	20.1	20.9
VMCV 13	20.1	19.9	20.2	19.3	20.8	20.1
VMCV 14	20	19.7	20.1	19.8	20.5	20.2
VMCV 15	20.1	20.1	20.2	20.3	20.2	20.3
VMCV 16	20.2	20.1	20.1	20.2	19.9	20.3
VMCV 17	19.9	20	20	19.2	19.7	20.7
VMCV 18	19.3	20.1	20.1	20	19.7	20.9
VMCV 19	20.2	20	20.4	20.1	20.7	19.8
VMCV CONTROL 20	19.7	20.2	19.8	20.4	20.4	19.7
VMCV CONTROL 21	19.8	20.1	20.6	19.8	20.7	20.9
VMCV CONTROL 22	19.6	20.2	19.9	20.6	20.4	20.3
VMCV CONTROL 23	19.8	20.1	18.7	19.9	20.8	20.7

Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de temperatura de la semana 1 a 6 de

todos los experimentos y controles

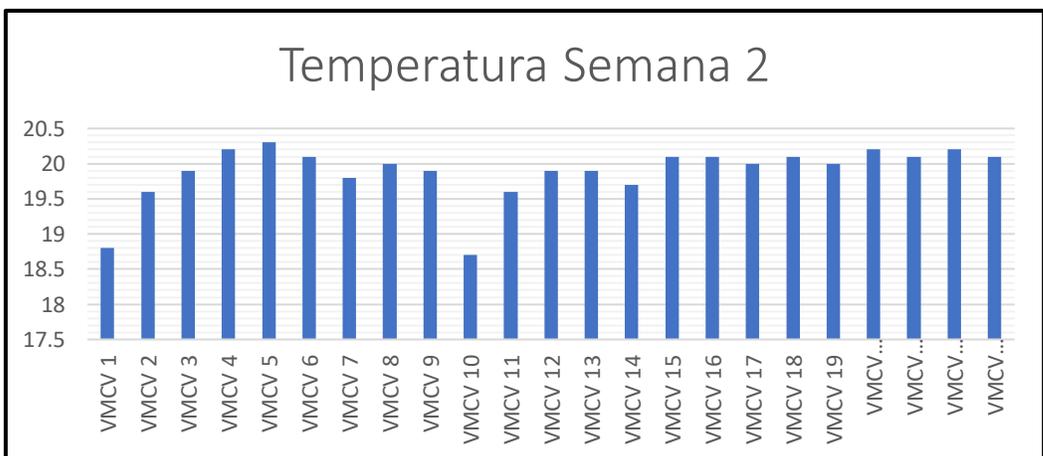
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 9 Gráfico temperatura semana 1



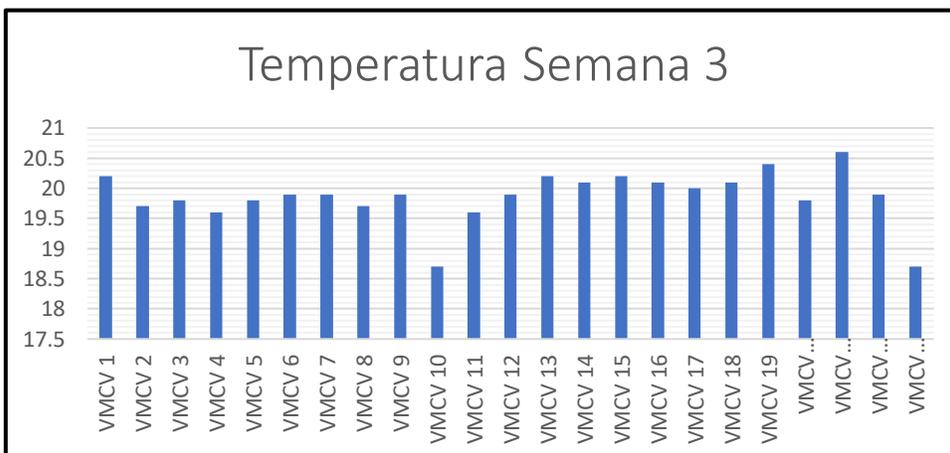
Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de temperatura de la 1 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 10 Gráfico temperatura semana 2



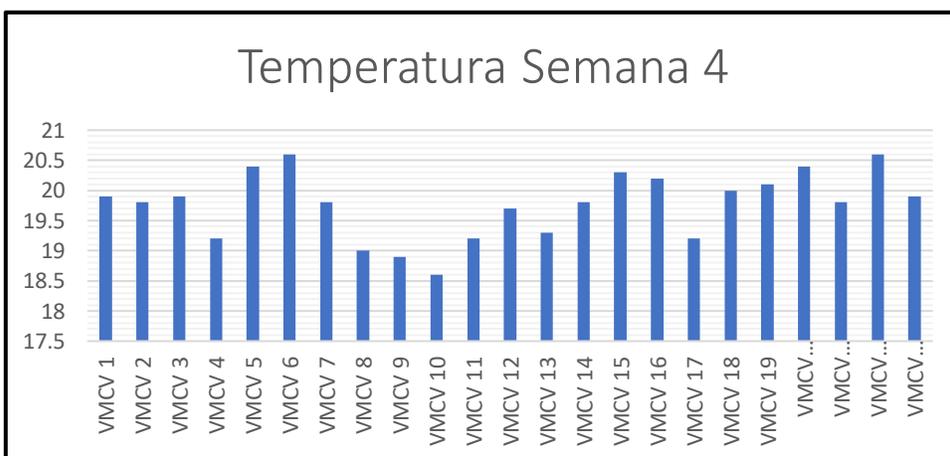
Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de temperatura de la 2 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 11 Gráfico temperatura semana 3



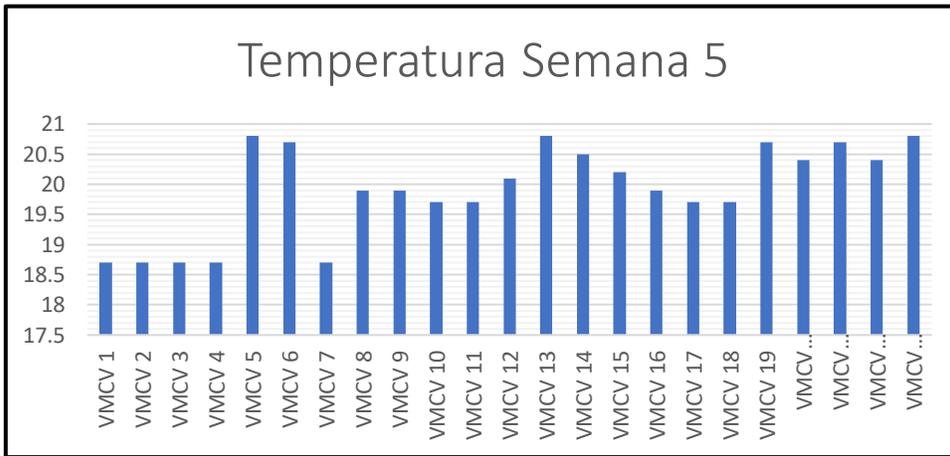
Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de temperatura de la 3 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 12 Gráfico temperatura semana 4



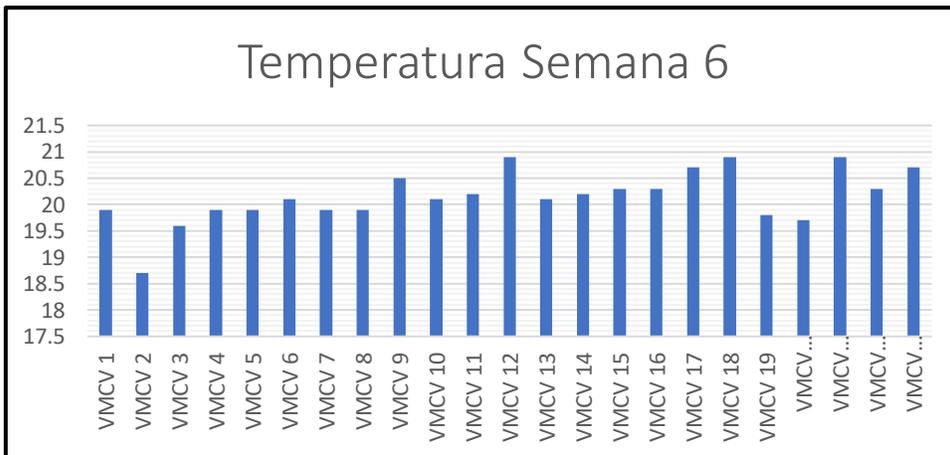
Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de temperatura de la 4 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 13 Gráfico temperatura semana 5



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de temperatura de la 5 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 14 Gráfico temperatura semana 6



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de temperatura de la 6 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 15 Tabla de datos de conductividad obtenidas durante las 6 semanas

Conductividad Semana 1-6 ($\mu\text{S}/\text{cm}$)						
Experimento	09/11/2024	16/11/2024	23/11/2024	30/11/2024	07/12/2024	14/12/2024
VMCV 1	464	729	586	863	927	1258
VMCV 2	533	793	834	1876	1642	1846
VMCV 3	550	757	570	852	967	1212
VMCV 4	472	666	743	1567	1533	1431
VMCV 5	1810	2450	2011	2398	2231	1979
VMCV 6	2170	3060	2046	1896	1356	1193
VMCV 7	1386	1884	1993	1906	1862	1524
VMCV 8	2300	2980	2799	2658	2734	2298
VMCV 9	2510	3250	2758	3657	3213	2981
VMCV 10	2030	3070	2257	3216	3174	3691
VMCV 11	1350	1869	1788	1548	1889	2169
VMCV 12	1184	1681	1572	1968	1861	1937
VMCV 13	889	1266	753	1973	1893	1920
VMCV 14	501	755	674	1350	1032	983
VMCV 15	1708	2330	1769	1650	1518	958
VMCV 16	976	1472	1268	1789	1275	1364
VMCV 17	1315	1791	1452	1489	1256	1342
VMCV 18	881	1252	1564	905	1123	1523
VMCV 19	1222	1697	1232	923	973	1592
VMCV CONTROL 20	343	567	412	497	463	729
VMCV CONTROL 21	311	524	269	453	419	631
VMCV CONTROL 22	357	593	365	379	296	328
VMCV CONTROL 23	347	545	487	598	612	426

Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de conductividad de la semana 1 a 6 de

todos los experimentos y controles

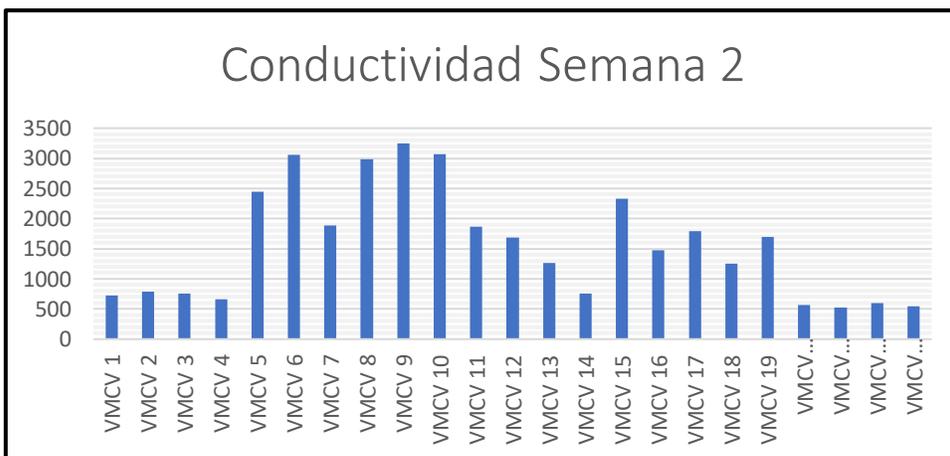
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 16 Gráfico conductividad semana 1



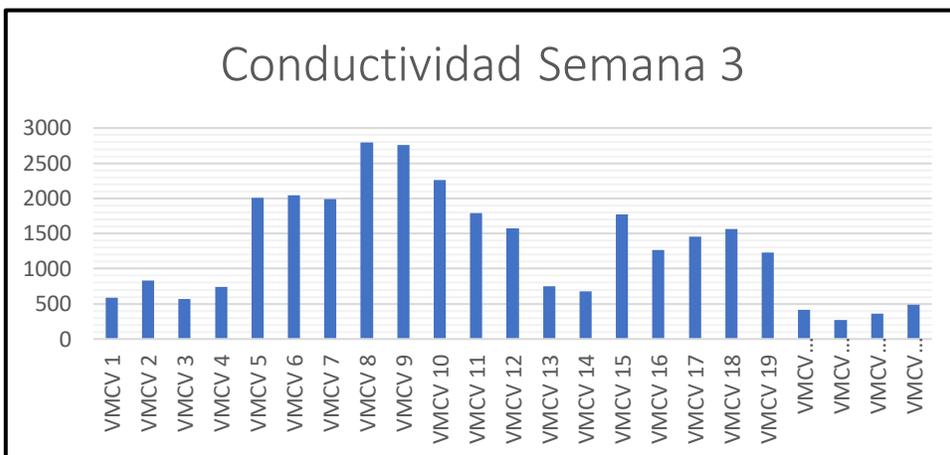
Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de conductividad de la 1 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 17 Gráfico conductividad semana 2



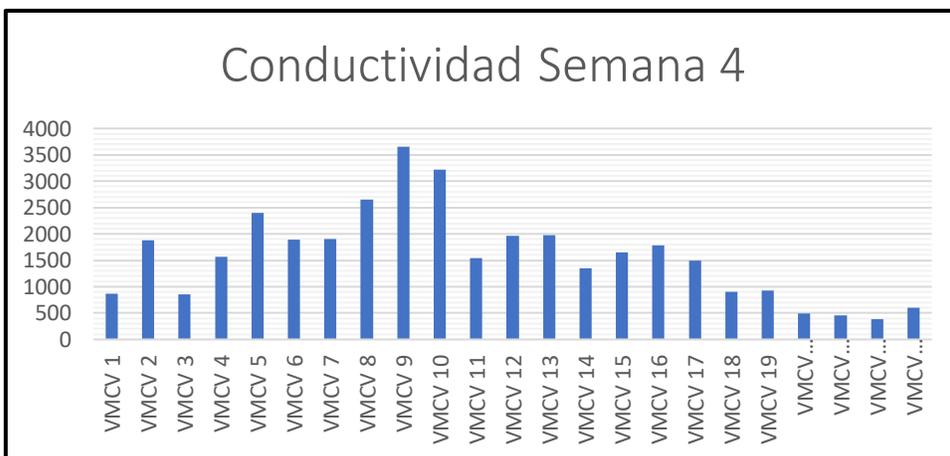
Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de conductividad de la 2 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 18 Gráfico conductividad semana 3



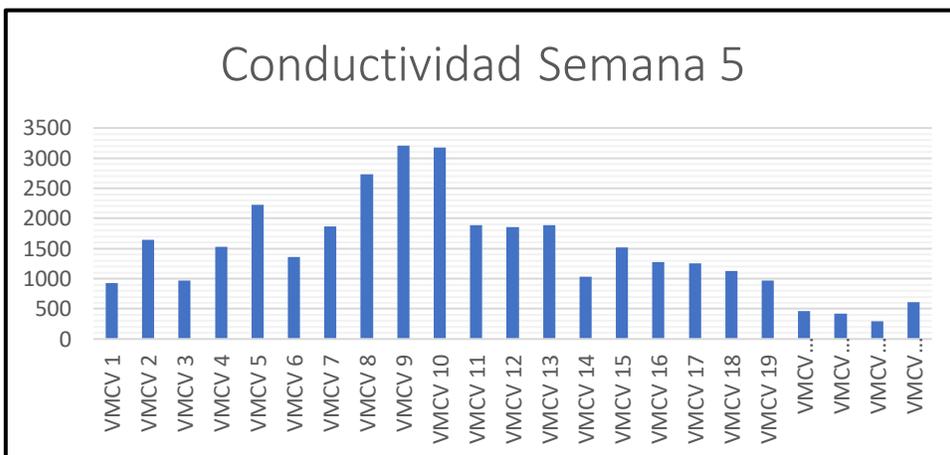
Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de conductividad de la 3 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 19 Gráfico conductividad semana 4



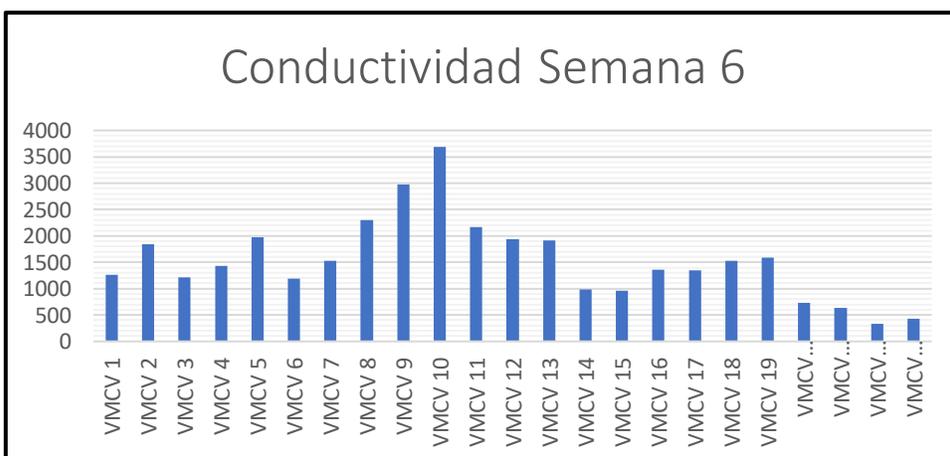
Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de conductividad de la 4 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 20 Gráfico conductividad semana 5



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de conductividad de la 5 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).

Anexo 21 Gráfico conductividad semana 6



Nota: Este anexo contiene todos los valores obtenidos de la medición de conductividad de la 6 semana de todos los experimentos y controles
Elaborada por: (La Autora, 2025).