



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ALGAS *CHLOROPHYTA*
PARA REMOVER MATERIA ORGÁNICA EN AGUAS
RESIDUALES DEL CAMAL MUNICIPAL DEL CANTÓN
SHUSHUFINDI”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTOR: MELANIE ESTEFANIA OCAÑA MEJIA

DIRECTORA: DRA. YOLANDA DOLORES DIAZ HEREDIA MSC

Riobamba - Ecuador

2019

© 2019, Melanie Estefanía Ocaña Mejía

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal de trabajo de titulación certifica que: El trabajo de titulación: “**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ALGAS *CHLOROPHYTA* PARA REMOVER MATERIA ORGÁNICA EN AGUAS RESIDUALES DEL CAMAL MUNICIPAL DEL CANTÓN SHUSHUFINDI**”, de responsabilidad de la señorita egresada Melanie Estefanía Ocaña Mejía, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

<i>NOMBRE</i>	<i>FIRMA</i>	<i>FECHA</i>
Dr. Edgar Iván Ramos Sevilla PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2019-06-19
Dra. Yolanda Dolores Díaz Heredia MSc DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		2019-06-19
Ing. Ana Rafaela Pacurucu Reyes. MIEMBRO DEL TRIBUNAL		2019-06-19

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, MELANIE ESTEFANIA OCAÑA MEJIA, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de titulación, y el patrimonio intelectual del trabajo de titulación, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos del presente trabajo de titulación.

Melanie Estefanía Ocaña Mejía

C.C. 1804615993

DEDICATORIA

A mis padres Celso y Miriam; les dedico este trabajo con mucha estima, ya que ellos han estado presentes en los días más difíciles de mi vida

AGRADECIMIENTO

A Dios y su amor diario, me ha enseñado a valorar cada instante, por ser el inspirador y darme fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mis padres, por todo lo que han hecho por mí, sus enseñanzas coherentes con sus acciones, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, que me ha brindado oportunidades extraordinarias, por abrirme las puertas y permitirme realizar todo el proceso investigativo dentro de su establecimiento educativo.

A los docentes de la Escuela de Ciencia Químicas, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de esta profesión, de manera especial, a la Dra. Yolanda Díaz MSc, por sus valiosas orientaciones y conocimiento brindado durante la realización del presente trabajo.

Melanie Ocaña

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	XIX
SUMMARY.....	XX
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	5
CAPITULO I	
1. MARCO TEÓRICO.....	7
1.1. Marco conceptual.....	7
1.1.1. Aguas residuales	7
1.1.1.1. Conceptos, propiedades y tratamientos.....	7
1.1.1.2. Aguas residuales de camal.	8
1.1.2. Algas Chlorophyta	9
3.1.1.1. Estructura y Metabolismo de células Chlorophyta	9
3.1.1.2. Reproducción y ciclo de vida de Chlorophyta	10
3.1.1.3. Cultivo de microalgas Chlorophyta.....	11
3.1.2. Aplicaciones biotecnológicas de las algas Chlorophyta	14
3.1.3. Laguna Limoncocha.....	15
CAPITULO II	
2. METODOLOGÍA	16
2.1. Tipo y diseño de la investigación.....	16
2.2. Diseño experimental.....	16
2.2.1. Población de estudio	16
2.2.1.1. Alcance.....	16
2.2.1.2. Elementos.....	16
2.2.1.3. Unidades experimentales	17
2.1.1. Tamaño de la muestra	18
2.1.1.1. Muestras de agua residual de camal.....	18
2.2.1.2. Muestra de la laguna Limoncocha.	21
2.3. Técnicas de recolección de datos.	23

2.3.1.	Protocolo para muestreo biológico.....	23
2.3.1.1.	Toma y conservación de muestras biológicas.....	23
2.3.1.2.	Identificación de las muestras biológicas.....	24
2.3.1.3.	Caracterización física del agua de la Laguna de Limoncocha	24
2.3.2.	Protocolo para muestreo de agua residual.....	24
2.3.2.1.	Muestreo de agua residual.....	24
2.3.3.	Recolección de datos de pH, conductividad, temperatura y TDS.....	25
2.2.1.	Medición del crecimiento celular.....	25
2.2.1.1.	Densidad celular.....	25
2.2.1.2.	Productividad celular	26
3.1.4.	Recolección de datos de DBO ₅ , nitrógeno total Kjeldahl, fosfatos y sulfatos.	27
2.3.4.	Funcionamiento del fotobiorreactor.....	27
2.4.	Análisis estadístico.....	28
2.4.1.	Sistema de Variables.....	28
2.4.1.1.	Hipótesis.....	28
2.4.2.	Análisis de Varianza (ANOVA).....	28
2.4.3.	Prueba de Tukey.....	28

CAPITULO III:

3.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	29
3.1.	Resultados.....	29
3.1.3.	Temperatura de cultivo	30
3.1.4.	Crecimiento y productividad celular.....	30
3.1.6.	Reducción de materia orgánica.....	36
3.2.	Microalgas Chlorophyta identificadas morfológicamente durante los tratamientos.....	38
3.2.1.	<i>Characium sp. (A. Braun, 1849)</i>	39
3.2.2.	<i>Chlamydomonas sp. (Ehrenberg, 1833, nom. contras.)</i>	39
3.2.3.	<i>Chlorella sp. (Beyerink (Beijerinck), 1890)</i>	40
3.2.4.	<i>Closterium sp. (Nitzsch ex Ralfs, Brit. Desm. 159. 1848.)</i>	41
3.2.5.	<i>Coelastrum sp. (Nägeli, 1849)</i>	41
3.2.6.	<i>Coccomyxa sp. (Schmidle, 1901)</i>	42
3.2.7.	<i>Monoraphidium sp. (Komárková-Legnerová, 1969)</i>	43
3.2.8.	<i>Desmodesmus sp. (Komárková-Legnerová, 1969)</i>	43
3.2.9.	<i>Golenkinia sp. (Chodat, 1894)</i>	44
3.2.10.	<i>Staurastrum sp. (Ehrenberg ex Ralfs, 1848)</i>	45
3.3.	Análisis estadístico.....	45

3.3.1. Análisis estadístico de pH.	46
3.3.2. Análisis estadístico de conductividad	46
3.3.3. Análisis estadístico de Solidos Totales Disueltos (TDS)	47
3.3.4. Análisis estadístico de productividad celular	48
3.3.5. Análisis estadístico de Demanda biológica de oxígeno	48
3.3.6. Análisis estadístico de disminución de nitrógeno	49
3.3.7. Análisis estadístico de disminución de fosfatos	49
3.3.8. Análisis estadístico de disminución de sulfatos	50
CONCLUSIONES	51
RECOMENDACIONES	53
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Descripción de parámetros físicos de crecimiento de microalgas Chlorophyta.....	11
Tabla 1-2: Fases del crecimiento y desarrollo de microalgas.....	11
Tabla 2-1: Composición de las unidades experimentales para control de crecimiento.....	17
Tabla 2-2: composición de las unidades experimentales para control de la capacidad de degradación de materia orgánica.	18
Tabla 2-3: Descripción de las muestras de agua residual	19
Tabla 2-4: Valores comunes para la relación H/D en vertedero circular.	20
Tabla 2-5: Composición de caudales de las muestras de agua residual de camal.	21
Tabla 2-6: Descripción de las muestras tomadas en la laguna Limoncocha.....	22
Tabla 2-7. Parámetros de funcionamiento del fotobiorreactor.	27
Tabla 3-1: resultados de parámetros in situ de la laguna Limoncocha.....	29
Tabla 3-2 promedio de temperatura durante los tratamientos.....	30
Tabla 3-3: Promedio de variación de pH	46
Tabla 3-4: Promedio de porcentaje reducción de conductividad.....	47
Tabla 3-5: Promedio de porcentaje reducción de TDS.	47
Tabla 3-6: Promedio de productividad celular	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 2-1: Partes de un vertedero circular.....	20
Fig. 2-2: Regla en el punto de vertido	20
Fig. 2-3: Mapa de los puntos de muestreo de la laguna de Limoncocha.....	22
Fig. 2-4: Punto 1: El Caño.....	23
Fig. 2-5: Punto 2: Desembocadura de Playa Yacu.....	23
Fig. 2-6: Punto 3: Muelle	23
Fig. 2-7: Cámara de Neübauer.....	26
Fig. 3-1: Prueba con Lugol positiva para almidón	29

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 3-1: Curvas de crecimiento de algas Chlorophyta	31
Gráfico 3-2: grafico de productividad celular.....	32
Gráfico 3-3: Evolución de pH promedio durante los tratamientos	32
Gráfico 3-4: Comportamiento de la conductividad en cada uno de los tratamientos.....	34
Gráfico 3-5: Comportamiento de TDS a lo largo de los tratamientos.	35
Gráfico 3-6: Comportamiento de la materia orgánica a lo largo de los tratamientos.....	36

INDICE DE ANEXOS:

Anexo A:	Elaboración de unidades experimentales
Anexo B:	Fotobiorreactor en funcionamiento
Anexo C:	Comparativa de crecimiento celular durante los tratamientos
Anexo D:	Datos de pH durante los tratamientos
Anexo E:	Datos de crecimiento celular para los tratamientos para control de crecimiento celular (células)
Anexo F:	Datos de crecimiento celular para los tratamientos para control de la capacidad de degradación de materia orgánica.
Anexo G:	Datos de conductividad eléctrica para los tratamientos para control de la capacidad de degradación de materia orgánica.
Anexo H:	Datos de TDS para los tratamientos para control de la capacidad de degradación de materia orgánica.
Anexo I:	: Datos de degradación de materia orgánica.
Anexo J:	Tablas del análisis estadístico.

ABREVIATURAS

α	Alfa
$^{\circ}\text{C}$	grados Celsius
μm	micrómetro
ADC	Alta Densidad Celular
CH_4	Metano
cm	centímetros
CO_2	dióxido de carbono
CO_3^{2-}	ion carbonato
DBO_5	Demanda Bioquímica de oxígeno en 5 días
DQO	Demanda química de oxígeno
ESPOCH	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
FFA	Ácidos grasos de alta calidad
g	gramos
GEI	gases de efecto invernadero
HCO_3^{-}	bicarbonato
I	densidad de flujo del fotón
IR	Infrarrojo
kg	kilogramos
L	Litro
lx	lumen / m^2
M	molaridad
m	metro
min	minutos

m/v	relación masa volumen
m ²	metro cuadrado
m ³	metro cúbico
N	normalidad
NaNO ₃	nitrate de Sodio
NaOCl	hipoclorito de sodio
nm	nanómetro
OD	Oxígeno disuelto
ONU	Organización de las Naciones Unidas
pH	potencial de hidrógeno
RAFA	Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente
rpm	revoluciones por minuto
SST	Sólidos Suspendidos Totales
s	segundos
SENPLADES	Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo - Ecuador
T	duración de tiempo
TRH	Tiempo de retención hidráulica
V	Voltios
v/v	relación volumen volumen
w	ancho
W	watts

GLOSARIO

Acineto: célula o espora de reposo y resistencia, de pared gruesa, que, generalmente incorpora la pared de la célula vegetativa original, propio de cianofitas y otras algas.

Agua desionizada: es aquella a la que se le han extraído cationes como el sodio, el calcio, el hierro, el cobre y otros, y aniones tales como el carbonato, el fluoruro, el cloruro y otros, mediante un proceso de intercambio iónico.

Anaerobiosis: Vida en ausencia de oxígeno libre. Se aplica a la vida del organismo anaerobio, que ocurre fuera de la presencia del aire

Autoesporas: designa un cuerpo microscópico unicelular o pluricelular que se forma con fines de dispersión y supervivencia por largo tiempo, similares a la célula madre, no puede moverse y no tiene el potencial de desarrollar ningún flagelo.

Bentos: comunidad formada por los organismos que habitan el fondo de los ecosistemas acuáticos, allí donde la luz alcanza el fondo, lo que depende de la profundidad y de la transparencia del medio, la comunidad incluye productores primarios fotosintetizadores.

Biocombustibles de Primera generación: corresponde al etanol y el biodiesel, son producidos de una parte específica, normalmente comestible, de plantas tradicionales como la caña-de-azúcar, la soja, el trigo, el maíz o la palma aceitera.

Bioconversión: Transformación de una forma de energía en otra o de una sustancia en otra, a causa de la acción de seres vivos o sus enzimas.

Biodegradable: Que puede descomponerse en elementos químicos naturales por la acción de agentes biológicos, como el sol, el agua, las bacterias, las plantas o los animales.

Biomasa: En el contexto energético, la biomasa puede considerarse como la materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía. La valoración de la biomasa puede hacerse a través de cuatro procesos básicos mediante los que puede transformarse en calor y electricidad: combustión, digestión anaerobia, gasificación y pirólisis.

Bioproducto: son el resultado de la aplicación de la biotecnología dentro del ámbito industrial (biotecnología blanca o industrial), dónde, mediante procesos Biológicos, Bioquímicos; con la incorporación de enzimas, microorganismos, bacterias, etc., se transforma la biomasa (cultivos de no alimentación) en bioproductos como: los bioplásticos, las biopinturas, los biolubricantes, los biomateriales de la construcción, la bioenergía, los biocombustibles, etc.

Bisfenol A: usualmente abreviado como **BPA**, es un compuesto orgánico con dos grupos funcionales fenol. Es un bloque (monómero) disfuncional de muchos importantes plásticos y aditivos plásticos.

Carbonáceo: definición de una sustancia rica en carbono.

Carotenos: carotenoides son pigmentos que aportan los colores amarillo y rojo, se encuentran en el interior de las células vegetales y actúan como antioxidantes naturales para nuestro organismo.

Clorofila: Pigmento de color verde que se halla presente en las hojas y tallos de muchos vegetales y que es responsable del proceso de fotosíntesis.

Coproductos: Cualquiera de dos o más productos elaborados conjuntamente. Son productos individuales que tienen un valor de venta significativo que se producen simultáneamente en un proceso.

Cosmopolita: se dice que un organismo es cosmopolita cuando se **aclimata** a cualquier territorio o logra soportar toda clase de condición climática.

DBO₅: Esta medida representa la cantidad de oxígeno necesaria para estabilizar biológicamente la materia orgánica contenida en una muestra de agua, incubada durante cinco días a 20 °C. Con esta medida se pretende reproducir el consumo de oxígeno en un medio natural, como podría ser un río, ocasionado por el vertido de agua residual.

Decantación: es un método físico utilizado para la separación de mezclas, se usa para separar un sólido de un líquido o dos líquidos, uno más denso de otro y que por lo tanto ocupa la parte superior de la mezcla.

Eutrofización: Acumulación de residuos orgánicos en el litoral marino o en un lago, laguna, embalse, etc., la abundancia anormalmente alta de nutrientes produce de manera general un aumento de la biomasa y un empobrecimiento de la diversidad.

Flagelado: es la presencia de uno o más flagelos largos en una o en todas las fases del ciclo vital.

Flagelos: es un apéndice móvil con forma de látigo presente en muchos organismos unicelulares y en algunas células de organismos pluricelulares.

Fototrófico: Los organismos fototróficos utilizan la energía proveniente de la luz solar para producir nutrientes a partir de compuestos orgánicos necesarias para la ejecución de sus actividades metabólicas. Los fotoautotróficos son, así, organismos productores y constituyen la base de los ecosistemas y de las cadenas alimenticias.

Heterotálica: Término referido a una especie constituida por individuos autoestériles (autoincompatibles), que para la reproducción sexual requieren la unión de gametos compatibles,

sin considerar la presencia de ambos órganos reproductores, masculinos y femeninos, sobre el mismo individuo.

Homotálica: Término referido a una especie que para su reproducción sexual precisa únicamente un talo, que por tanto es autocompatible. La fecundación se realizará por unión de dos gametos provenientes del mismo talo.

Mixotrófico: puede describir organismos (usualmente algas, bacterias), capaces de obtener energía metabólica tanto de la fotosíntesis como de seres vivos. Esos organismos pueden utilizar la luz como una fuente de energía, o tomarla de compuestos orgánicos o inorgánicos.

Monómero: Molécula simple, generalmente de peso molecular bajo, que forma cadenas lineales o ramificadas de dos, tres o más unidades.

Nitrógeno total Kjeldahl: es un indicador utilizado en química analítica cuantitativa. Refleja la cantidad total de nitrógeno en el agua analizada, suma del nitrógeno orgánico en sus diversas formas (proteínas y ácidos nucleicos en diversos estados de degradación, urea, aminas, etc.) y el ion amonio NH_4^+ .

Pirenoide: Región diferenciada en el plástido de ciertas algas, de composición protéica, incolora, puede ser intra o extraplástidial. En las algas verdes es una región de condensación de la glucosa en almidón.

Planctónico: Se denomina plancton al conjunto de organismos, principalmente microscópicos, que flotan en aguas saladas o dulces, más abundantes hasta los 200 metros de profundidad aproximadamente.

Polímero: son macromoléculas (generalmente orgánicas) formadas por la unión mediante enlaces covalentes de una o más unidades simples llamadas monómeros.

POME: Efluente de fábrica de aceite de palma.

Pseudocolonia: parecen pero no son colonias reales.

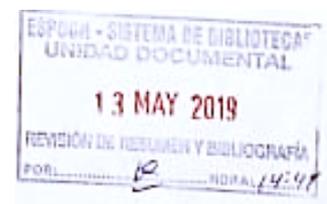
Xantofila: es un compuesto químico perteneciente al grupo de los carotenoides que posee uno o más átomos de oxígeno en su estructura.

Zoospora: es una espora asexual motil provisto de flagelos para locomoción; producido dentro de esporangios propios de algunos hongos y algas, para propagarse.

RESUMEN

Esta investigación está enfocada en evaluar la capacidad de las algas *Chlorophyta* para remover materia orgánica en aguas residuales del Camal Municipal del Cantón Shushufindi, tomando en cuenta el interés a nivel mundial en el cultivo de microalgas con fines energéticos, unido a la necesidad de disponer de tecnologías de tratamiento de aguas residuales ambientalmente más sostenibles. Se cultivó algas aisladas de la laguna Limoncocha en un fotobiorreactor tubular, se construyó 6 unidades experimentales de 1,8L con 5 repeticiones, se realizó pruebas de crecimiento sembrando en medio de cultivo Nitrofoska foliar con aireación y sin aireación; pruebas de reducción de materia orgánica sembrando algas en agua residual de camal con dilución 1:3 con aireación y sin aireación; dos unidades experimentales sin algas una con aireación y otra aireación utilizadas como blanco, se utilizó un fotoperiodo de 12 horas con lámparas led de 800 Lux aproximadamente, temperatura de $22.38, \pm 2.3$ °C y pH de $8,45 \pm 0.22$. El tratamiento más eficiente para la remoción de DBO₅, fosfatos y nitrógeno total Kjeldahl fué el cultivo de algas en agua residual de camal 1:3 con aireación, con $83,1\% \pm 5,9$; $58,9\% \pm 7,7$ y $63,1\% \pm 2,3$ respectivamente, presentando una productividad celular de 41944 células/L.día, que estadísticamente es mayor a la productividad celular de algas obtenida con el medio Nitrofoska foliar con aireación que fue de 39061 células/L.día, demostrando que las aguas residuales del Camal Municipal del Cantón Shushufindi constituyen un medio de cultivo más eficiente para la producción de biomasa algal. Para la remoción de sulfatos el cultivo en agua residual de camal sin aireación presentó mayor eficiencia con $58,9\% \pm 7,7$ de remoción. La biomasa algal residual producida por el tratamiento puede constituir una materia prima valiosa para la producción de bioenergía, alimentación animal, biofertilizantes u otros productos de valor añadido.

Palabras clave: <BIOTECNOLOGÍA>, <BIORREMEDIACIÓN>, <TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES>, <PRODUCCION DE BIOMASA>, <MICROALGAS VERDES>, <REMOCION DE NUTRIENTES>



SUMMARY

This research focuses on evaluating the ability of *Chlorophyta* seaweed to remove organic material in sewage water from the Municipal slaughterhouse of Shushufindi Canton, taking into account the worldwide interest in the cultivation of microseaweed for energy purposes, attached to the need to have environmentally more sustainable sewage water treatment technologies. Seaweed isolated from the Limoncocha lagoon was cultivated in a tubular photobioreactor, 6 experimental units of 1.8L were constructed with 5 replications. Growth tests were made by sowing in Foliar Nitrofosca cultivation between with aeration and without aeration; organic material reduction tests by sowing seaweed in sewage water from slaughterhouse with dilution 1:3 with aeration and without aeration; two experimental units without seaweed, one with aeration and another aeration used as target. A 12-hour photoperiod was used approximately 800 Lux LED lamps, a temperature of $22.38 \pm 2.3^\circ \text{C}$ and pH of 8.45 ± 0.22 . The most efficient treatment for the removal of BOD5, phosphates and total nitrogen Kjeldahl was the cultivation of seaweed in sewage water from slaughterhouse 1:3 with aeration, with $83.1\% \pm 5.9$; $58.9\% \pm 7.7$ and $63.1\% \pm 2.3$ respectively, providing a cellular productivity of seaweed obtained with Nitrofoska Foliar with aeration that it was 39061 cells/ L.day, which demonstrating that the sewage water from the Municipal slaughterhouse of Shushufindi Canton constitutes a more efficient cultivation way for the production of seaweed biomass. For the removal of sulfates, the cultivation in sewage water from slaughterhouse without aeration showed greater efficiency with $58.9\% \pm 7.7$ removal. The residual seaweed biomass produced by the treatment can constitute a valuable raw material for the production of bioenergy, animal feed, biofertilizers of other value-added products.

KEYWORDS: BIOTECHNOLOGY // BIOREMEDIATION // SEWAGE TREATMENT // BIOMASS PRODUCTION // GREEN MICROSEAWEED // NUTRIENT REMOVAL.



INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

El Camal Municipal del cantón Shushufindi se encuentra situado junto al río Eno en el que se descarga el agua residual proveniente de sus actividades; esta agua que contiene sangre, excremento, contenido ruminal, grasa, pelos se caracteriza por contener altas concentraciones de proteínas, grasas, aceites, sólidos suspendidos y otros productos de la industria de la carne, comúnmente presenta pH básico según Víctor Manuel Luna, 2001, estas características la convierte en agua rica en: nitratos, nitritos, fosfatos, sulfatos y materia orgánica.

El principal objetivo del tratamiento de estas aguas residuales es la eliminación de la materia orgánica, la mayor parte de la materia orgánica es biodegradable, los microorganismos la utilizan como alimento, consumiendo oxígeno, así su concentración puede disminuir hasta alcanzar niveles de anaerobiosis, es decir, ausencia de oxígeno disuelto, cuando es vertida directamente al ambiente el agua residual sin depurar la materia orgánica que contiene conduce a la degradación de las corrientes de agua receptoras. En estas condiciones aparecen olores desagradables, y no hay posibilidad de supervivencia para organismos superiores como los peces, de hecho, con el vertido incontrolado de aguas residuales sin tratar se produce la muerte del medio acuático afectado. (Bolado et al. 2016). La falta de oxígeno disuelto puede provocar un crecimiento acelerado de plantas verdes que cubren la superficie del agua y evita que la luz solar llegue a las capas inferiores. Como consecuencia, se incrementa la turbiedad y, al disminuir la cantidad de luz, la vegetación muere al no poder realizar la fotosíntesis, generando que otros microorganismos, como bacterias, se alimenten de la materia muerta, y a la vez genera microorganismos patógenos que podrían causar enfermedades. (Coca et al. 2015)

La ONU ha reportado que entre 1990 y 2010 se ha producido un cambio significativo en la calidad del agua, principalmente un exceso de materia biodegradable y afecta uno de cada siete kilómetros de los ríos en América Latina. PNUMA asegura que la influencia en el cambio en la calidad del agua es más evidente en poblaciones de escasos recursos, debido a que son quienes más utilizan el agua para cubrir sus necesidades básicas, el incremento de materia orgánica en lagos y ríos está directamente relacionado con el aumento de la población e industrias.

Una alternativa de tratamiento para disminuir la concentración de materia orgánica en agua residual es el uso de algas Chlorophyta, que presentan un alto potencial para captar los nutrientes en el agua como N y P (Codina, García y Barón 2012). El tratamiento de las aguas residuales con micro

algas es eco-amigable y ofrece una ventaja significativa de costo-efectividad para la remoción de nutrientes y la producción de biomasa. (Fernández, Martin y Mosquera 2014).

Las nuevas investigaciones en procesos de tratamientos de aguas, se enfocan en la búsqueda del aprovechamiento económico permitiendo utilizar las aguas residuales como sustrato para el crecimiento de algas, lo que las hace una forma más económica de utilización y producción a nivel industrial. Se ha descubierto que la biomasa de las algas, tiene un gran número de aplicaciones dependiendo de la fuente de producción: alimento por su alto contenido en proteínas (M. García-Garibay, 2014), producción de biocombustibles (Joé C.M.Pires, 2019), reducen la cantidad de CO₂ atmosférico (Stan Pankratz, 2019), aprovechamiento de metabolitos secundarios para salud y cosméticos (Maíra Ariede, 2019) .

Justificación

El crecimiento poblacional hace necesario que se incremente la producción de alimentos, así también la crianza y matanza de animales, sin embargo, también aumenta la cantidad de aguas residuales producidas, que se convierten en agentes contaminantes para los cuerpos de agua receptores en los que son descargadas, esto hace necesario buscar tecnologías que sean ambientalmente más amigables y eficientes en la descontaminación de agua residual. Existe una creciente problemática frente al tratamiento de aguas residuales y la posibilidad de reutilizarlas, ha planteado sistemas biológicos que remuevan los contaminantes a costos reducidos manteniendo el ecosistema. (Salomón, Cravero y Rost, Zimmer 2013)

Las microalgas son organismos unicelulares fotosintéticos capaces de captar luz solar, CO₂ y nutrientes del medio para producir biomasa; por tanto, pueden ser aprovechadas en industrias para el mejoramiento del tratamiento de efluentes, fijación de CO₂ y obtención de biomasa para producción de biocombustibles (Codina, García y Barón 2012), son organismos eficientes para llevar a cabo una bioconversión de la energía solar y la utilización de materia orgánica, mejorando la calidad del efluente y aumentando la concentración de oxígeno. Las microalgas *Chlorophyta* consumen los nutrientes inorgánicos (principalmente P, y N) y desplazan microorganismos patógenos debido a la competencia que existe entre especies por los recursos utilizables. Con el consumo de los recursos por parte de las algas, se reduce la capacidad del efluente de provocar eutrofización en cauces naturales y además, se obtiene como producto adicional la biomasa, útil para fines energéticos (Codina, García y Barón 2012) entre las ventajas de las algas se encuentran: fácil adaptación, pocos requerimientos para su crecimiento, crecimiento rápido, etc.

La eficiencia de las algas para remover contaminantes, está ligada a una serie de factores como: el efluente que se necesite tratar, la carga orgánica e hidráulica del agua, características de operación del cultivo, organismos depredadores presentes en el agua residual, contaminantes, profundidad de los estanques y de los mecanismos de agitación, diferente temperatura e intensidad luminosa, características del fotoperiodo (luz-obscuridad) o luz continua y la combinación de estos, estos parámetros restringen las aplicaciones de los cultivos de algas. (Salazar et al. 2002)

El uso de un fotobiorreactor permite el control de las condiciones de cultivo, haciendo que la productividad de biomasa sea mayor, evita el contacto con el ambiente externo, para impedir contaminación y cambios bruscos en las condiciones internas del contenedor, evitando afectar el desarrollo de la biomasa, tiene condiciones más controladas de cultivo como la dosificación de nutrientes, una mejor distribución de dióxido de carbono, temperatura, iluminación, etc. (CO₂) (Subasinghe et al. 2003)

Este trabajo se enmarca en la línea de investigación de tratamiento de recursos y residuos, busca aislar y aprovechar la capacidad de las algas Chlorophyta presentes en la laguna Limoncocha descritas en estudios anteriores.(Gómez 2003, 2005; Subía y Rubio Aguiar 2018), y la disponibilidad de un fotobiorreactor en la Facultad de Ciencias.

OBJETIVOS

1.1 General

Evaluar la capacidad de las algas *Chlorophyta* para remover materia orgánica en aguas residuales del camal municipal del cantón Shushufindi

1.2. Específicos

- Realizar la caracterización fisicoquímica del agua residual proveniente del Camal Municipal del Cantón Shushufindi.
- Realizar las pruebas de crecimiento y degradación de materia orgánica contenida en las aguas residuales usando algas *Chlorophyta*.
- Determinar la eficiencia de la remoción de la materia orgánica de las microalgas *Chlorophyta*.

ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

En el cultivo de microalgas es fundamental la disponibilidad de agua y nutrientes, las aguas residuales pueden cumplir con estos requerimientos eliminando eficazmente tintes y nutrientes para la posterior producción de biodiesel (Fazal et al. 2018). En el 2017 se cultivó algas *Chlorella vulgaris*, *Chlorella kessleri* y *Scenedesmus obliquus* en agua residual real y en medio sintético con el objetivo de realizar una comparación entre estos medios, se obtuvo una mayor productividad de biomasa en el medio sintético *Scenedesmus oblicuo*; obtuvo la mayor concentración de biomasa 1.4 g / L, contenido de lípidos 36.75% y productividad de lípidos 29.8mg lípidos / L · d, mientras que *C. vulgaris* fue la especie con la mayor productividad de biomasa (0,107 g / L · d).(Álvarez-Díaz et al. 2017). Por otro lado Markou en 2015 logro maximizar la producción de biomasa junto con la eliminación de nutrientes para el tratamiento de aguas residuales, obteniendo remociones de amoníaco y fósforo mayores al 95%.

Las microalgas pueden presentar un crecimiento mixotrófico mayor en producción de biomasa de entre 3 a 10 veces en relación con el crecimiento fototrófico, estos consorcios de algas mixotróficas ofrecen una gran promesa para transformar el agua residual en biomasa renovable para aplicaciones bioenergéticas (Bhatnagar et al. 2011). Zhou en el 2012, cultivó la microalga *Auxenochlorella protothecoides*, heterotróficamente en aguas residuales municipales concentradas y luego autótroficamente con suplementos de CO₂, la eficiencia de eliminación de nutrientes al final del cultivo fue para la demanda total de fósforo 98.48%, amoníaco 100%, nitrógeno 90.60% y oxígeno químico 79.10%, demostrando ser eficaz para el tratamiento de aguas residuales ricas en materia orgánica.

En Portugal en el 2013 se demostró que las especies de algas clorófitas *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis aff. T-ISO galbana* cultivadas en aguas residuales de piscícolas en fotobiorreactores tubulares con aireación continuada, fotoperiodo de 12 horas de luz y otras 12 horas de oscuridad, durante 7-8 días, fueron capaces de crecer con una tasa de renovación del 15%. (Freire et al. 2013). En 2017 se utilizó un sistema de tratamiento biológico a partir de microalgas de la división *Chlorophyta*, para remover la carga contaminante de las aguas residuales de una mina de la empresa Coal North Energy S.A.S. Al final del tratamiento se obtuvieron porcentajes de remoción del 66,67% para hierro total, 46,67% para cloruros y 95,1% para DQO (Suárez Gelvez et al. 2018).

En 2007 en la ciudad de Zulia en Venezuela se midió la densidad celular, utilizando el hematocitómetro Neübauer y se realizó seguimiento de parámetros como: DQO, SST, pH, nitrógeno total Kjeldahl y fósforo total en el afluente, las divisiones *Cyanophyta* y *Synechocystis* fueron capaces de disminuir los valores de DQO, SST, nitrógeno total Kjeldahl en 60,38%, 31,5% y 64% respectivamente, mientras que el fósforo disminuyó de forma moderada.(Escorihuela et al.

2007). En el año 2005, se cultivó microalgas *Chlorophyta* como *Chlorella vulgaris* y *Sphaerocystis sp* en invernadero y utilizando efluentes anaerobios de reactores RAFA, tomando en cuenta parámetros como: densidad óptica (665 nm), conteo celular, pH, oxígeno, morfología al microscopio, la clorofila α y nutrientes como los nitratos, los nitritos, los fosfatos y los sulfatos. Se obtuvo mayor crecimiento en presencia de efluentes anaerobios, debido a la tolerancia de estas especies a los efluentes anaerobios (Salazar 2005). En el 2001, un estudio que adaptó el alga *Chlorella sp* primariamente en aguas residuales de pesquería, obtuvo un mayor crecimiento de las microalgas durante los tratamientos con recambio diario, un rango de DO entre 0,6 y el 0,65, pH entre 7,8 y 8,5 se obtuvo una reducción de DBO de 93%-95%. (Romero, Fresneda y Hernández 2001)

Un estudio en el 2016 evaluó el potencial de crecimiento mixotrófico cultivando *Chlamydomonas globosa*, *Chlorella minutissima* y *Scenedesmus bijuga* aisladas de aguas residuales industriales, las aguas residuales tratadas y no tratadas produjeron mayor biomasa, que el crecimiento del medio estándar BG11. La suplementación de aguas residuales tratadas con glucosa y nitrógeno produjo un aumento de entre 2 a 7 veces más de biomasa en relación con las aguas residuales que no fueron modificadas con estos suplementos. Los consorcios de *Chlamydomonas* - *Chlorella* y *Scenedesmus* - *Chlorella* obtuvieron mejor productividad de biomasa (Ahmad, Buang y Bhat 2016). La digestión anaeróbica de microalgas debería incorporarse en la producción de otros bioproductos como biodiesel, bioetanol o ácidos grasos volátiles, esto abriría la posibilidad de mejorar el tratamiento de aguas residuales y generar productos valiosos a partir de las corrientes de desechos. (Jankowska, Sahu y Oleskowicz-Popiel 2017).

En el 2015 en España se cultivó durante 115 días en dos estanques algas en agua residual de camal, con la finalidad de evaluar la producción de producir biocombustibles (biodiesel, metano), se logró elevada remoción de la demanda total de oxígeno químico y fósforo soluble en los cultivos colocados en interiores 92 y 71% y colocados en el invernadero 86 y 91%. Se extrajo 142 (mg FFA/g de biomasa) de ácidos grasos de alta calidad (FFA) se extrajeron con dióxido de carbono supercrítico. Las producciones más altas de CH_4 se obtuvieron a partir de la biomasa agotada de lípidos correspondiente al reactor del invernadero a una TRH de 10 días. (Coca et al. 2015)

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Marco conceptual

1.1.1. Aguas residuales

1.1.1.1. Conceptos, propiedades y tratamientos

El agua residual se refiere a todas las aguas que han sido, de una u otra manera, utilizadas en cualquier actividad humana. De acuerdo con la procedencia de estas, pueden clasificarse en aguas de escorrentía, domésticas (fecales y de limpieza), industriales (comerciales e industriales) y comerciales (agrícolas y ganaderas). (Romero, Fresneda y Hernández 2001)

Las aguas de escorrentía se producen con la lluvia y caen sobre los tejados y los techos de casas y edificios y corren por las superficies hasta llegar a los sistemas de drenaje (Coca et al. 2015). Las aguas residuales domésticas, son aquellas que proceden de zonas residenciales y de servicios y materiales suspendidos tanto orgánicos como inorgánicos que pueden ser convencionales (sólidos suspendidos, microorganismos patógenos, sólidos coloidales y materia orgánica carbonácea), no convencionales (metales, surfactantes, sólidos disueltos) y en emergentes (detergentes sintéticos, antibióticos, hormonas, esteroides, otras medicinas, etc.) (Torres, 2012).

Las aguas residuales industriales son todas aquellas que se obtienen de los procesos industriales, especialmente durante el proceso de producción de mercancías. Las industrias productoras de aguas residuales se dividen en cinco grupos principales: industrias con efluentes inorgánicos (minerías, químicas, salinas, carboníferas, de limpieza, etc.), las industrias con efluentes orgánicos (mataderos, azucareras, lecherías, fermentadoras, entre otras), las industrias con efluentes orgánicos e inorgánicos (refinerías, textiles, petroquímicas, etc.), industrias con efluentes de suspensión e industrias con efluentes de refrigeración (Revista Ambientum, 2002). De esta manera, los contaminantes que poseen las aguas residuales industriales dependen del tipo de industria y sus características.

1.1.1.2. *Aguas residuales de camal.*

Los efluentes producidos en un matadero contienen pelos, una importante carga orgánica, DBO, nutrientes (sangre), un contenido importante de sólidos en suspensión (rumen), grasas y aceites, proteínas, así como vertidos líquidos de la operación de escaldado y lavado de carnazas, limpieza de equipos e instalaciones (Gilberto Salas C. 2008). Los vertidos líquidos derivados del sacrificio de ganado constituyen una fuente importante de contaminación de las aguas superficiales en numerosas poblaciones de acuerdo a una valoración aproximada elaborada con base en estadísticas de la O.M.S (WHO 1993). La mayor parte de los mataderos están localizados en las zonas urbanas (74%), si bien la actividad genera altos niveles de empleo permanente no calificado, no aportan mucho a la conservación de suelos y agua con sus procesos y tecnología ineficiente, tampoco a la vinculación de personal calificado y al desarrollo agroindustrial regional. (Guerrero Jhoniers 2004). El proceso de matanza se caracteriza por el elevado número de operaciones de lavado, así como operaciones del mantenimiento de las condiciones de higiene que se exige a una empresa alimenticia en esta área, así que debido a la elevada carga orgánica que aporta, los efluentes líquidos constituyen uno de los principales problemas que genera el proceso. (Gilberto Salas C., 2008).

Víctor Manuel Luna, 2001, afirma que las aguas residuales de camal se caracterizan por sus altos contenidos en: nitratos, nitritos, fosfatos, sulfatos y materia orgánica. Además el agua residual de matadero representa un significativo interés, por la presencia de una proporción importante de material orgánico insoluble o potencialmente insoluble, que para ser degradados biológicamente estos componentes deben ser transformados a polímeros o monómeros de bajo peso molecular que puedan atravesar las membranas celulares de microorganismos. (EASTMAN, 1981).

La carga contaminante en aguas residuales de matadero se puede reducir con tratamientos previos como: retención los residuos del proceso de evisceración y de la recolección de estiércol, recuperación las grasas en separadores y procesando mejor la sangre, las cerdas y el pelo (Muñoz 2005). Las descargas orgánicas provenientes de la actividad de los mataderos en los países en vías de desarrollo, generan altos niveles de contaminación, situación que alcanza niveles más críticos en los municipios pequeños, debido a las limitaciones técnicas y económicas que no permiten poner en funcionamiento medidas de manejo ambiental complejas para solucionar el problema de forma definitiva. (Guerrero Jhoniers 2004)

1.1.2. Algas *Chlorophyta*

Las *Chlorophyta*, clorófitas o, más comúnmente conocidas como algas verdes, son el grupo más numeroso de algas, se han diversificado de tal forma que existen como organismos unicelulares, coloniales, cenocíticas y pluricelulares de variados tamaños y formas, con células flageladas o no, la mayoría de algas de esta división se encuentran en agua dulce 90% y en menor cantidad en agua salada 10%. (Hoek, 1995).

El nombre de algas verdes se debe al color que predomina en sus individuos, debido al color verde de la clorofila, aunque presentan pigmentos accesorios en concentraciones que no opacan a la clorofila, a diferencia de las algas rojas y pardas (Lewis y Lewis 2005). Las condiciones óptimas de temperaturas se sitúan en un rango de 18 a 24 °C y el rango propicio de pH varían entre 7.8 y 8.2 en términos generales; estos parámetros varían de acuerdo a la especie; en un cultivo convencional de microalgas el pH tiende a aumentar debido al consumo de CO₂ y a la precipitación de algunas sales. La composición de las microalgas (su contenido en lípidos, carbohidratos y proteínas), dependiendo de la especie considerada es variable y puede ser manipulada mediante el cambio de varios parámetros durante su proceso de cultivo (S.L. y Parque 2013).

Hay muchas especies diferentes caracterizadas principalmente por su morfología que pertenecen a *Chlorophyta*; algunas son unicelulares, algunas son multicelulares. Presentan diferentes estructuras en el genoma, sin embargo, hay algunas características a través de las especies que se conservan. Las condiciones que necesitan para la supervivencia de estas algas incluyen luz, carbono, nutrientes esenciales, calidad del agua y temperatura. Hay muchas formas y tamaños, pero *Chlorophyta* comparte un potencial de crecimiento rápido, común en la mayoría de sus especies (Leliaert, Verbruggen y Zechman 2011).

3.1.1.1. Estructura y Metabolismo de células *Chlorophyta*

Las *Chlophytas* presentan cloroplastos, muy diversos en forma y número, tienen clorofila de tipo a y b, carotenos y xantofilas. El pirenoide presente en el cloroplasto es importante para determinar si un alga pertenece a este grupo, en esta estructura se forma una enzima involucrada en la síntesis del almidón, que se constituye como principal producto de reserva característico de las clorófitas o algas verdes y es almacenado en el cloroplasto. Presentan paredes celulares compuestas de celulosa, los cloroplastos de estas algas se han considerado producto de endosimbiosis primaria (Lewis y Lewis 2005).

La mayoría de las clorófitas son unicelulares, pero existen también algunas especies multicelulares, algunas son de vida libre, otras son coloniales, otras son cenocíticas, la gran diversificación morfológica también les ha permitido colonizar números ambientes, desde ambientes marinos costeros como parte del nanoplacton y sujetas a fondos, son mucho más abundantes en las aguas dulces de lagos y ríos, es común además encontrarlas en ambientes terrestres como lodo, troncos, rocas, llegando a colonizar ambientes extremos como hipersalinos, acidófilos, incluso crecer en suelos desérticos soportando largos periodos de desecación y elevadas temperaturas, llegan a conformar asociaciones simbióticas con hongos y sobrevivir en ambientes psicrófilos («Filo Chlorophyta Filo Chlorophyta»). Los esporofitos filamentosos tienen núcleos lenticulares singulares, que se incrustan en un citoplasma grueso, *Chlorophyta* usualmente tiene gametos biflagelados (Herron et al. 2012).

Al igual que otras plantas verdes, *Chlorophyta* contiene clorofilas a y b, aunque el pigmento principal es clorofila b pero, además, algunas especies tropicales presentan pigmentos como sifonoxantina y siphonein, que son producidos durante la fotosíntesis y almacenados en los cloroplastos (Guiry, MD & Guiry 2019).

3.1.1.2. *Reproducción y ciclo de vida de Chlorophyta*

Estas algas han colonizado un gran número de hábitats, debido a diversidad en morfología y organización en general que presentan, así como el nivel de desarrollo de su metabolismo. (Leliaert, Verbruggen y Zechman 2011) Los ciclos de vida que ocurren con mayor frecuencia son:

- Alternancia de generaciones: en el cual existen dos representantes adultos, uno haploide y otro diploide, que se van alternando esporádicamente en el tiempo
- Alternancia de fases: en el cual se reduce una de las fases y se forma sólo un cuerpo adulto diploide o haploide.

Las algas verdes pueden ser móviles o inmóviles, o no móviles. Los filamentos multicelulares pueden implicar un ciclo de vida que incluye reproducción sexual y asexual, dependiendo de la especie (Lewis y Lewis 2005). La predominancia de dichos estados cromosómicos es específica de cada grupo de algas verdes. Las características de los padres se recombinan a través de la fusión de los gametos, pero la reproducción también ocurre a través de las esporas, sin embargo para la especie sin alternancia, la meiosis ocurre en el cigoto (Herron et al. 2012).

La reproducción ocurre más rápidamente con células de apareamiento cercanas. La clorófitas se reproduce tanto sexual como asexualmente, pero generalmente de forma sexual. La reproducción

asexual puede ocurrir por fisión, fragmentación o zoosporas. La reproducción sexual puede ser isógama, anisógama u oógama (Hoek, 1995).

3.1.1.3. *Cultivo de microalgas Chlorophyta*

Para el cultivo de algas, es necesario que se den un número de condiciones que garanticen el crecimiento óptimo y está dado por parámetros como la iluminación, la temperatura, y la aireación como se muestra en tabla 1-1:

Tabla1-1: Descripción de los parámetros físicos de crecimiento de microalgas Chlorophyta.

Parámetro	Detalle
Iluminación	Las algas son microorganismos fotosintéticos por lo que es necesario suministrar iluminación para permitir su desarrollo.
Temperatura	Interfiere en el crecimiento celular, la reproducción celular es mucho mayor cuando se encuentran a temperaturas favorables y estables. Las microalgas, casi todas sus especies, crecen en temperaturas que oscilan entre los 10 y los 35°C, aunque el rango óptimo se sitúa entre los 16 y los 24°C.
Aireación	Permite que los nutrientes que se encuentran en el medio posean una mayor difusión, además de conservar la suspensión de las microalgas y de suministrar el dióxido de carbono (CO ₂), que sirve como fuente para la fotosíntesis y la estabilidad del pH en los cultivos.

Fuente: Peña & Quiroz, 2013.

Elaborado por: Ocaña Melanie, 2019.

Las etapas de crecimiento y desarrollo de microalgas que están ligadas a la existencia de cultivos artificiales, buscan asimilar lo más cercanamente posible al ambiente natural, pero generando las condiciones para un cultivo controlado y funcional. En la Tabla 1-2 se muestra las fases de crecimiento de las microalgas y su duración.

Tabla 1-2. Fases del crecimiento y desarrollo de microalgas

Fase	Inducción	Características
Inducción	1-3 días	Proceso de adaptación al ambiente de cultivo, comienza la absorción de nutrientes. Las células no tienden a dividirse, debido a que no existe un contexto apropiado para el proceso, pues aún es necesario que se ajusten a las condiciones bioquímicas de cultivo.
Exponencial	4 días	Se inicia cuando las células ya han logrado adaptarse, empieza la multiplicación celular. La división celular es mucho más rápida que en otras fases.

Estacionaria		La población algal se vuelve constante, sin llegar a aumentar significativamente. Su duración en muchos casos tiende a ser corta.
Declinación relativa de crecimiento	1-2 días	Disminuye la división celular, debido a factores desfavorables en el cultivo, además del agotamiento de nutrientes, ajustes de pH, disminución de irradiaciones solares, entre otros
Muerte.		Por el aumento de factores desfavorables presentes en el cultivo, se produce la muerte.

Elaborado por Ocaña Melanie. ESPOCH, 2019. Fuente: Peña & Quiroz, 2013

Formas de cultivo de microalgas

Existen dos tipos básicos de cultivo de microalgas: los cultivos abiertos, en los cuales la biomasa se encuentra expuesta a las condiciones del ambiente, y los cultivos cerrados (también llamados fotobiorreactores) en los que es posible aislar la biomasa de factores ambientales, la selección del método de cultivo dependerá principalmente de las características de la biomasa a obtener, la resistencia de la cepa a contaminación la durabilidad del material disponible, los costos de su construcción y las posibilidades comerciales (Hernández-Pérez & Labbé, 2014).

Los sistemas de cultivo abierto de microalgas, que se han popularizado desde los años cincuenta del siglo XX, se componen tanto de medios naturales (lagunas y estanques), como de medios artificiales. Tienen una elevada posibilidad de contaminación biológica aunque posee grandes ventajas en el proceso de producción comercial de las microalgas, la contaminación del cultivo por bacterias y otros microorganismos tiende a ser bastante elevada, otro inconveniente se relaciona con la temperatura, ya que es bastante complejo y consume una importante cantidad de recursos mantenerla estable (AST Ingeniería, 2014).

Para corregir las desventajas y necesidades que poseen los sistemas de cultivo abierto se han desarrollado los sistemas de cultivo cerrado, lo que los ha hecho también exitosos. Los sistemas de cultivo cerrado se encuentran aislados de la atmósfera, esta característica se traduce a una reducción de la contaminación y la posibilidad de llevar a cabo mayores controles en las condiciones del cultivo, lo que brinda una mayor rentabilidad y comercialización. Hasta el momento, se han desarrollado dos formas de cultivo cerrado, dependiendo de las necesidades y de las condiciones de las microalgas (S.L. y Parque 2013):

- Cámaras de algas: se adaptan de mejor manera a las pequeñas escalas de producción. Son cultivos de algas escalares, en donde el volumen del cultivo va en constante aumento. El control de la temperatura se realiza por medio de la combinación de termostatos y calefactores, mientras la iluminación se realiza medio de tubos fluorescentes, para distribuirse

de forma homogénea. Los controles de luz en las cámaras de algas son estrictos, de acuerdo con las especificaciones tenidas en cuenta, entre 2,000 y 4,000 lux y una temperatura promedio entre 15 y 22°C.

- Fotobiorreactores: estos tienen la función de recrear al máximo posible las condiciones necesarias para el crecimiento óptimo de las microalgas. Teniendo en cuenta el tipo de diseño que se realice, los fotobiorreactores pueden ser planos o tubulares, horizontales, verticales, inclinados, serpentines o múltiples. Si se toma como referencia el modo de operación, continuo, semicontinuo y Batch. Para escoger un tipo de fotobiorreactor debe tenerse en cuenta la especie de microalga a cultivar, los niveles de resistencia a condiciones medioambientales, los costos derivados de la operación, y los recursos hídricos y de suelo con los que se cuente. (S.L. y Parque 2013).

Además de los sistemas de cultivo abiertos y cerrados, en la actualidad se ha optado por llevar a cabo sistemas híbridos que mezclan pasos del sistema de fotobiorreactores y de lagunas abiertas o estanques. (AST Ingeniería, 2014).

Un fotobiorreactor busca evitar el contacto con el medio ambiente externo, para impedir contaminación y cambios bruscos en las condiciones internas de cultivo que podrían afectar a la biomasa (Tredici, et al. 1999). Los fotobiorreactores permiten un mejor control de las condiciones de cultivo que los sistemas abiertos, la productividad de biomasa es mayor. Se prevé que la biotecnología de las algas abriría paso al desarrollo de nuevos sistemas, el reto actualmente es utilizar eficazmente la energía solar para la producción de biomasa algal. Los fotobiorreactores tubulares horizontales e inclinados son prometedores excepto por la dificultad de escalarlos (Uggetti et al. 2016).

Los fotobiorreactores han encontrado aplicaciones en diferentes campos: farmacia, cosméticos y alimentos para la acuicultura, cabe señalar que el desarrollo de fotobiorreactores industriales aún requiere de esfuerzos de optimización, para lograr una alta tasa de producción. Los nuevos avances son más radicales para su aplicación en biorefinería (Abinandan y Shanthakumar 2015).

Medios de cultivo para microalgas

Los medios de cultivo son técnicas que se utilizan en laboratorios, contienen material alimenticio en concentraciones adecuadas necesario, que junto a condiciones físicas óptimas, permite el desarrollo de una especie biológica de interés, en el caso de las microalgas consiste en una disolución con los nutrientes orgánicos e inorgánicos necesarios para que las microalgas tengan un crecimiento adecuado, estos nutrientes generalmente están en función de la producción de

biomasa, es necesario que contenga una fuente de carbono, nitrógeno usualmente como nitritos y nitratos, fósforo como fosfato y otros componentes en función de la especie, así como también existe la necesidad de la existencia de macronutrientes como: cloruro de sodio y magnesio, sulfatos, sales de calcio, micronutrientes: manganeso, cobre, cobalto, zinc, molibdeno, vanadio y otros. (Fernández, 2014)

Para el cultivo de las microalgas existe una variedad significativa de medios de cultivo, que están en función del objetivo que se desea obtener, pueden ser naturales enriquecidos o artificiales, los medios artificiales se utilizan principalmente con fines experimentales destinados a la obtención de resultados replicables, tanto en la producción masiva como el mantenimiento de las microalgas. (FAO, s.f)

3.1.2. Aplicaciones biotecnológicas de las algas *Chlorophyta*

Al contrario que los biocombustibles de primera generación, las algas se pueden cultivar en cualquier lugar del mundo, no compitiendo en ocupar hectáreas con los cultivos alimentarios y suponiendo, además, un valor añadido en la cadena alimentaria. (S.L. y Parque 2013). Se ha descrito el uso de *Chlorophyta* para diversas aplicaciones energéticas y medioambientales. Además, se presentan aspectos tales como la aplicabilidad de *Chlorophyta* en el tratamiento de aguas residuales industriales, el tratamiento de aguas residuales domésticas y la eliminación de nutrientes y otras aplicaciones comerciales se han discutido ampliamente (Abinandan y Shanthakumar 2015). Los metabolitos producidos por estas microalgas son extremadamente variados y tienen propiedades comerciales y aplicaciones en un gran número de áreas, entre ellas: suplementos para humanos y nutrición animal, productos farmacéuticos y cosméticos, acuicultura, y combustible para industrias (Markou 2015).

La ampliación de la biotecnología de microalgas para proporcionar grandes cantidades de biocombustibles, lípidos y coproductos no está completamente desarrollada debido a las grandes necesidades de nutrientes, agua, tierra, insolación solar y suministros de CO₂ / carbono (Zhang et al. 2017).

Las microalgas son empleadas para el tratamiento de aguas residuales: de origen municipal, efluentes de caucho y efluentes de la fabricación de aceites de palma, lixiviados de vertedero, la disminución de color de aguas residuales textiles; como una herramienta biológica para la evaluación y seguimiento de los tóxicos ambientales: metales pesados, productos farmacéuticos, y pesticidas; generación de biodiesel. Algunas microalgas como *Spirulina* y *Chlorella* son cultivadas para consumo animal y humano, debido a su alto valor nutricional (Abinandan y Shanthakumar 2015).

Una de las aplicaciones más importantes de las microalgas corresponde a la captura de CO₂, se puede conducir un flujo de gases de combustión tras haber sido tratado previamente, con la consideración que el gas no contenga altos niveles de partículas en suspensión (NO_x y SO_x) que podrían mezclarse con el agua y generen de esta manera sus correspondientes ácidos, que desencadenarían en un descenso drástico de pH y la muerte del cultivo, por lo que los fotobiorreactores deben ser operados de manera controlada, procurando la máxima eficiencia en la captura e inyección de CO₂. (ALGAEFIX, 2015), estas algas también permiten la producción de biocombustibles (Uggetti et al. 2016), reducen la cantidad de CO₂ atmosférico (Santhosh Kumar, Prasanthkumar y Ray 2017), aprovechamiento de metabolitos secundarios para salud y cosméticos (Carvajal Ana María 2015) etc.

3.1.3. *Laguna Limoncocha*

La reserva biológica de Limoncocha se encuentra ubicada en la región amazónica, provincia de Sucumbíos, cantón Shushufindi, situada en el margen izquierda del río Napo, tiene una planicie aluvial de 4, 613,25 hectáreas pobladas de bosque Húmedo Tropical, una temperatura promedio de 24,9 grados centígrados y una precipitación lluviosa de 3.058 mm por año. La laguna de Limoncocha, anteriormente llamada Capucuy, tiene una superficie aproximada de 2.5 Km² en la que se encuentra una gran diversidad de especies de flora y fauna. (Gómez 2005)

CAPITULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo y diseño de la investigación

El tipo de investigación es experimental correlacional.

Experimental: porque actuamos constantemente sobre el objeto de estudio de nuestra investigación, lo cual corresponde a las algas *Chlorophyta* y su capacidad para reducir la concentración de materia orgánica.

Correlacional: porque se obtiene datos estadísticos mediante esta investigación lo cual corresponde al porcentaje de reducción de materia orgánica, y también se realizó un análisis estadístico de estos datos mediante ANOVA para establecer si existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, y una prueba de Tukey, para conocer que tratamientos son estadísticamente diferentes.

2.2. Diseño experimental

2.2.1. Población de estudio

2.2.1.1. Alcance

El agua residual proveniente del Camal Municipal del cantón Shushufindi Central de la provincia de Sucumbíos, el inóculo de algas *Chlorophyta* se tomó de la laguna Limoncocha ubicada en el mismo cantón.

2.2.1.2. Elementos

- Agua residual del Camal Municipal del Cantón Shushufindi
- Muestra de Algas *Chlorophyta* de la Laguna Limoncocha

2.2.1.3. Unidades experimentales

Pruebas de control de crecimiento

Las pruebas de control de crecimiento se describen en la tabla 2-1. Para el control de crecimiento se utilizó como medio de cultivo Nitrofoska foliar, para determinar la concentración de éste se tomó en cuenta estudios anteriores que sugieren que la concentración ideal de Nitrofoska foliar es del 5% (5g/L) (Pástor y Pozo 2013) ya que sobre esta concentración no se reporta un crecimiento significativo de algas; concentraciones superiores a ésta representa un mayor gasto económico debido al desperdicio del medio de cultivo.

Para seleccionar el volumen adecuado de inóculo de algas se recomienda un 5% v/v para un crecimiento óptimo. (Sullivan Graham et al. 2017; Lei et al. 2018)

Tabla 2-1: Composición de las unidades experimentales para control de crecimiento

Número de tratamiento	Número de repeticiones	Medio de cultivo	Inóculo	Tratamiento físico	Vt (mL)
T1	5	1710 mL de Nitrofoska foliar al 5% (5g/L)	90 mL de algas <i>Chlorophyta</i>	Ninguno	1800
T2	5	1710 mL de Nitrofoska foliar al 5% (5g/L)	90 mL de algas <i>Chlorophyta</i>	Aireación	1800

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Pruebas de capacidad de degradación de materia orgánica

Las pruebas de degradación de materia orgánica se describen en la tabla 2-2. Autores anteriores reportan que las algas *Chlorophyta* cultivadas en aguas residuales tienen un mayor crecimiento celular a una concentración de 1:3 de agua residual, por lo se utilizó agua destilada para realizar las diluciones (Coca et al. 2015). Adicionalmente se recomienda no esterilizar al agua residual utilizada en el tratamiento, ya que se produce una acción simbiótica entre algas y bacterias presentes en las aguas residuales, esto permite una reducción de contaminantes más eficiente (Codina, García y Barón 2012; Coca et al. 2015).

Tabla 2-2: composición de las unidades experimentales para control de la capacidad de degradación de materia orgánica.

Número de tratamiento	Número de repeticiones	Medio de cultivo	Inóculo	Tratamiento físico	Volumen total (mL)
T3	5	1710 ml de agua residual de camal 1:3	90 mL de algas <i>Chlorophyta</i>	Ninguno	1800
T4	5	1710 ml de agua residual de camal 1:3	90 mL de algas <i>Chlorophyta</i>	Aireación	1800
T5	5	1710 ml de agua residual de camal 1:3	Ninguno	Ninguno	1800
T6	5	1710 ml de agua residual de camal 1:3	Ninguno	Aireación	1800

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Verificación y masificación de inóculo de algas *Chlorophyta*

Una vez recolectadas las muestras se procedió a unificarlas y cultivarlas en Nitrofoska foliar al 5% v/v durante un periodo de 15 días, para la reproducción de las mismas y su posterior uso en las unidades experimentales.

Pruebas para verificar la presencia de algas *Chlorophyta* en la muestra

Las algas *Chlorophyta* tienen como sustancia de almacenamiento almidón formado por amilasa y amilopectina como en plantas superiores (Guiry, MD & Guiry), para verificar su existencia en el medio de cultivo se procedió a realizar prueba de Lugol.

2.1.1. Tamaño de la muestra

2.1.1.1. Muestras de agua residual de camal

Se tomó muestras compuestas del agua residual procedente de las actividades de sacrificio y limpieza, de ganado porcino y vacuno, a lo largo de un día de trabajo del Camal Municipal del Cantón Shushufindi, se realizó 5 repeticiones de cada tratamiento, cada muestra con un volumen total de 5L, para esto se utilizó la ecuación 2-1.

Tabla 2-3: Descripción de las muestras de agua residual

Repetición	Muestra N°	Tipo	Volumen (L)
R1	1	Compuesta	5
R2	2	Compuesta	5
R3	3	Compuesta	5
R4	4	Compuesta	5
R5	5	Compuesta	5

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019.

Utilizando la siguiente fórmula se determinó el volumen de cada muestra individual para obtener la muestra compuesta.

$$Vm = Vt \times \left(\frac{Qi}{Qt}\right) \quad (\text{Ec.2-1})$$

Donde:

Vm= Volumen de cada una de las muestras simples i (L)

Vt = Volumen de la muestra compuesta necesario para realizar la totalidad de los análisis de laboratorio requeridos (L)

Qi = Caudal medio de la descarga en el momento de la toma de la muestra simple (L/s)

Qt = Sumatoria de cada uno de los gastos (L/s).

2.2.1.1. Medición de caudal

Para obtener una muestra compuesta fue necesario conocer los valores del caudal de cada muestra individual. Se utilizó el método de vertedero circular, debido a la forma del punto de descarga, para obtener el caudal de la descarga al momento del muestreo. De acuerdo a la ecuación 2-2.

$$Q = \phi \left[0.555 + \frac{D}{110H} + 0.041 \frac{H}{D} \right] D^{5/2} \quad (\text{Ec.2-2})$$

Donde:

Q: Caudal

H: Carga hidráulica o altura de carga

D: Diámetro

ϕ : Depende de la relación H/D

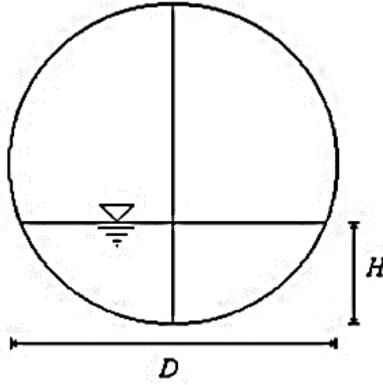


Fig. 2-1: Partes de un vertedero circular
Fuente: Pérez Ramiro 2016

Tabla 2-4: Valores comunes para la relación H/D en vertedero circular.

<i>H/D</i>	ϕ	<i>H/D</i>	ϕ
0.05	0.0272	0.55	2.8205
0.10	0.1072	0.60	3.2939
0.15	0.2380	0.65	3.7900
0.20	0.4173	0.70	4.3047
0.25	0.6428	0.75	4.8336
0.30	0.9119	0.80	5.3718
0.35	1.2223	0.85	5.9133
0.40	1.5713	0.90	6.4511
0.45	1.9559	0.95	6.9756
0.50	2.3734	1.00	7.4705

Fuente: Pérez Ramiro 2016

Para obtener datos de altura descritos en la formula se agregó una regla en el punto de vertido como se muestra en la figura 2-2.



Fig. 2-2: Regla en el punto de vertido
Realizado por: Ocaña Melanie. ESPOCH, 2019.

Composición de las muestras de agua residual de camal.

El volumen total de la muestra fue de 5L, y el punto de descarga corresponde a tubos de PVC de 3 pulgadas (0.1524m), los valores de cada muestra compuesta se describen en la tabla 2-5. Los valores exactos para \emptyset necesarios, fueron obtenidos por interpolación lineal de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$y = y_1 + \frac{(x-x_1)}{(x_2-x_1)}(y_2 - y_1) \quad (\text{Ec.2-3})$$

Tabla 2-5: Composición de caudales de las muestras de agua residual de camal.

Hora	H (m)	H/D	\emptyset	Qi (m3/S)	Qm (m ³ /s)	Vm (m ³)
Muestra N° 1 – R1						
6H00	0,063	0,4134	1,6744	0,0090	0,0188	0,0003
7H00	0,114	0,7480	4,8124	0,0261		0,0010
8H00	0,093	0,6102	3,3951	0,0183		0,0007
9H00	0,121	0,7940	5,3072	0,0288		0,0011
10H00	0,088	0,5774	3,0799	0,0166		0,0006
11H00	0,078	0,5118	3,0655	0,0165		0,0006
12H00	0,109	0,7152	3,0078	0,0163		0,0006
Muestra N° 2 – R2						
6H00	0,051	0,3346	1,1267	0,0061	0,0210	0,0002
7H00	0,078	0,5118	2,4789	0,0133		0,0005
8H00	0,117	0,7677	5,0241	0,0273		0,0009
9H00	0,123	0,8071	5,4487	0,0296		0,0010
10H00	0,069	0,4528	1,9793	0,0107		0,0004
11H00	0,132	0,8661	6,0865	0,0332		0,0011
12H00	0,116	0,7612	5,0187	0,0272		0,0009
Muestra N° 3 – R3						
6H00	0,043	0,2822	0,818	0,0044	0,0170	0,0002
7H00	0,064	0,4199	1,7244	0,0093		0,0004
8H00	0,089	0,5840	3,1016	0,0167		0,0007
9H00	0,112	0,7349	4,6739	0,0253		0,0011
10H00	0,105	0,6890	4,1915	0,0227		0,0010
11H00	0,121	0,7940	5,3072	0,0288		0,0012
12H00	0,073	0,4790	2,1981	0,0118		0,0005
Muestra N° 4– R4						
6H00	0,036	0,2362	0,5806	0,0032	0,0188	0,0001
7H00	0,074	0,4856	2,2532	0,0121		0,0005
8H00	0,098	0,6430	3,7205	0,0201		0,0008
9H00	0,112	0,7349	4,6739	0,0253		0,0010
10H00	0,131	0,8596	6,0166	0,0328		0,0012
11H00	0,102	0,6693	3,9887	0,0216		0,0008
12H00	0,087	0,5709	3,0184	0,0163		0,0006
Muestra N° 5– R5						
6H00	0,062	0,4068	0,5806	0,0031	0,0195	0,0001
7H00	0,095	0,6234	3,5261	0,0190		0,0007
8H00	0,104	0,6824	4,1235	0,0223		0,0008
9H00	0,113	0,7415	4,7437	0,0257		0,0009
10H00	0,134	0,8793	6,2252	0,0339		0,0012
11H00	0,098	0,6430	3,7205	0,0201		0,0007
12H00	0,075	0,4921	2,3074	0,0124		0,0005

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019.

2.2.1.2. Muestra de la laguna Limoncocha.

Muestreo de algas

El criterio de muestreo de la laguna Limoncocha para la obtención del inóculo de algas, se basa en tomar 3 diferentes muestras probabilísticas de puntos superficiales de interés, con el fin de obtener el mayor número de especies de algas encontradas en la laguna.

Tabla 2-6: Descripción de las muestras tomadas en la laguna Limoncocha

Muestra N°	Tipo	Volumen (mL)
1	Superficial, probabilística	300
2	Superficial, probabilística	300
3	Superficial, probabilística	300

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

3.1.3.1.1. Puntos de muestreo

Los puntos de muestreo se seleccionaron tomando en cuenta lugares que en estudios anteriores reportan una mayor concentración de algas verdes para asegurar un mayor contenido de algas en las muestras (Gómez 2005, 2003; Granizo 2011). Los puntos de muestreo se pueden observar en la figura 2-3.

- Punto 1: El Caño
- Punto 2: Desembocadura de Playa Yacu
- Punto 3: Muelle



Fig. 2-3: Mapa de los puntos de muestreo de la laguna de Limoncocha
Elaborado por: Ocaña Melanie, 2019. Fuente: Google Earth



Fig. 2-4: Punto 1: El Caño
Realizado por: Ocaña Melanie, 2019



Fig. 2-5: Punto 2: Desembocadura de Playa Yacu
Realizado por: Ocaña Melanie, 2019



Fig. 2-6: Punto 3: Muelle
Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

2.3. Técnicas de recolección de datos.

2.3.1. Protocolo para muestreo biológico

2.3.1.1. Toma y conservación de muestras biológicas.

Se usó la Norma NTE INEN 2176: Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo, para muestreo de fitoplancton según la cual se procedió de la siguiente manera:

- Se utilizó frascos de plástico con tapa rosca, de boca ancha limpio y estéril.
- Se procedió a enjuagar el frasco por lo menos tres veces con el agua de la muestra.
- Se tomó la muestra en contra corriente con el fin de evitar contaminación
- Se sumergió lentamente el recipiente dentro del cuerpo de agua y se retiró luego de haberse llenado.

- Se tapó inmediatamente los frascos para evitar fugas y contaminación.
- Se colocó las muestras en contenedores, para su transporte, manteniendo la temperatura de estas.

2.3.1.2. Identificación de las muestras biológicas.

- Las muestras se identificaron luego de la recolección evitando de este modo posibles errores.
- Se anotaron datos importantes y relevantes como: Fecha de la recolección, hora de la recolección, lugar de recolección, método de recolección, parámetros in situ. (Edition 2013).
- Luego del muestreo se unificaron las tres muestras como una muestra compuesta.

2.3.1.3. Caracterización física del agua de la Laguna de Limoncocha

Para el análisis de los siguientes parámetros in situ en cada punto de muestreo: pH con tiras de pH, temperatura del agua con multiparametro KETOTEK.

2.3.2. Protocolo para muestreo de agua residual.

2.3.2.1. Muestreo de agua residual

De acuerdo a la Norma NTE INEN 2176: Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo se realizó el siguiente procedimiento.

- Se utilizó botellas nuevas de vidrio ámbar puede reducir las actividades fotosensitivas, para retirar el polvo y los residuos del material de empaque se enjuagó con agua destilada o desionizada, debido a la determinación de fosfatos, no se usaron detergentes en la limpieza de los recipientes.
- Se llenó los frascos completamente y tapó de tal forma que no exista aire sobre la muestra, esto limita la interacción de la fase gaseosa y la agitación durante el transporte,
- Luego de la recolección de las muestras se homogenizo los volúmenes de las muestras individuales para obtener la muestra compuesta.
- Se procedió a decantar la muestra compuesta obtenida para eliminar partículas de gran tamaño.

- Se anotó, durante muestreo todos los detalles que ayuden a una correcta interpretación de los resultados (fecha y hora del muestreo, nombre de la persona que muestreó, naturaleza y cantidad de los conservantes adicionados, tipo de análisis a realizarse, etc.).
- Debido al análisis de parámetros como: DBO, sulfatos, fosfatos y nitrógeno, las botellas se guardaron en un cooler protegidas de la luz para su transporte, se refrigeró a temperatura entre 1°C y 5°C inmediatamente luego de la recolección de la muestra, con un tiempo máximo de almacenamiento de 24 H.

2.3.3. *Recolección de datos de pH, conductividad, temperatura y TDS*

El pH que se recomienda para el crecimiento óptimo de algas está sobre 8, ya que un pH alcalino facilita la solubilidad de minerales como el calcio, hierro, magnesio, cobre y zinc, permitiendo una mejor absorción de nutrientes. (Pástor y Pozo 2013)

Para la medición de pH se utilizó un pH-metro Acumet XL150, este procedimiento se llevó a cabo diariamente en todos los tratamientos, debido a que el pH del agua residual fue de 8.44 ± 0.22 que se considera ligeramente básico y óptimo para el cultivo de algas, no fue necesario utilizar un agente adicional para corregir e pH. En el caso de los cultivos con Nitrofoska cuyo pH inicial promedio fue de 6.99 ± 0.05 , fue necesario utilizar un método de corrección de pH, para ello se utilizó hidróxido de potasio (KOH) al 10%.

Para la recolección diaria de los datos de conductividad, temperatura y TDS se utilizó un multiparametros KETOTEK en todos los tratamientos.

2.2.1. *Medición del crecimiento celular*

2.2.1.1. *Densidad celular*

Para obtener las curvas de crecimiento de las algas en cada uno de los tratamientos se realizó un conteo diario del número de células por mililitro, utilizando una cámara de Neübauer en el microscopio, de la siguiente manera.

- En un vaso de precipitación se tomó una muestra del tratamiento a realizar el conteo celular.
- Con una pipeta Pasteur se colocó una gota de la muestra en la cámara de Neübauer.
- Se colocó un cubreobjetos.
- Se enfocó el microscopio con el lente 40X para realizar el conteo
- Se procedió a contar 5 cuadros de la cámara de Neübauer para luego obtener un promedio del crecimiento celular.

En la cámara de Neübauer se encuentran 5 cuadrantes, se debe excluir el cuadrante del centro. Se cuentan un mínimo de tres cuadros (64 cuadros) marcados que equivalen a un volumen de $4 \times 0.1\text{mm}^3$, ya que el volumen de cada cuadrante es: $1\text{mm} \times 1\text{mm} \times 0.1\text{mm} = 0.1\text{mm}^3$. De los cuadraditos pequeños, contamos las células que caigan dentro de las líneas, en dos de ellas a libre elección, siempre y cuando sean las mismas en todos los cuadrados. (Moreno, 2004).

La fórmula para obtener la concentración celular en el conteo en cámara de Neübauer se describe en la ecuación 2-4.

$$\text{Concentración} = \frac{N^\circ \text{ de células} \times 10.000}{N^\circ \text{ de cuadros} \times \text{dilución}} \quad (\text{Ec. 2-4})$$

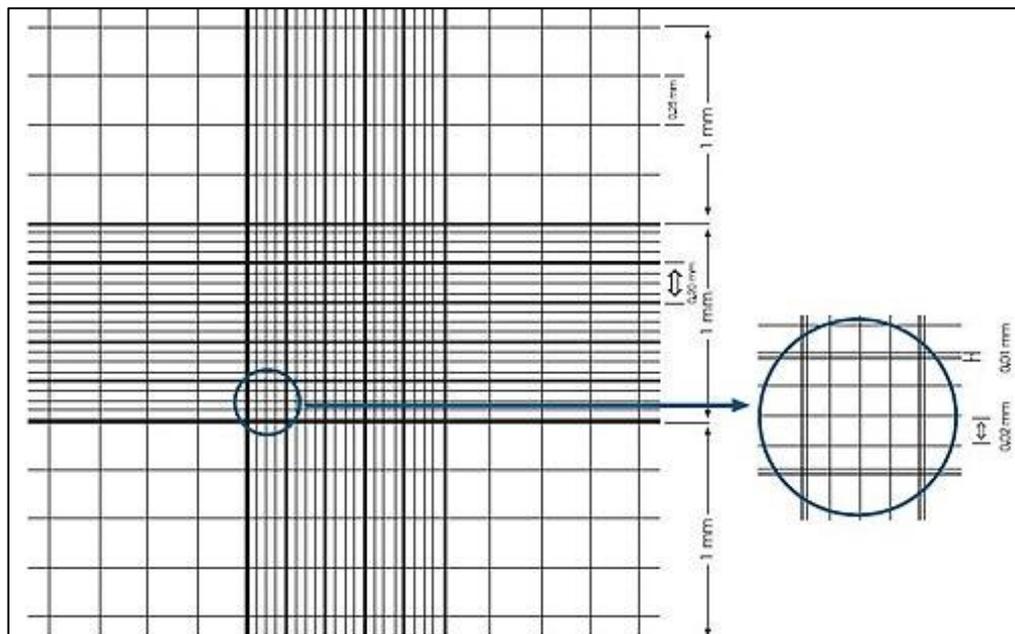


Figura 2-7: Cámara de Neübauer
Fuente: Bastidas, 2012

2.2.1.2. Productividad celular

La concentración de células por unidad de volumen del reactor por unidad de tiempo. Se calcula a partir de: (Debabrata, 2015 pp. 109):

$$Pb = \frac{dC}{Vt} \quad (\text{Ec. 2-5})$$

Donde:

Pb= Concentración de células por unidad de volumen-tiempo (células.L⁻¹.t⁻¹)

dC = Variación de células (células)

V = Volumen de cultivo (Litros).

t = periodo de tiempo (días).

3.1.4. *Recolección de datos de DBO₅, nitrógeno total Kjeldahl, fosfatos y sulfatos.*

Para la determinación de DBO₅ se utilizó el método respirométrico 5210-B, calculado a partir de la diferencia de OD inicial y final al cabo de 5 días utilizando la ecuación 2-6.

$$DBO_5 \frac{mg}{L} = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2)f}{P}$$

(Ec. 2-6)

Donde:

D₁ = OD de la muestra diluida inmediatamente después de su preparación en

mg/L D₂ = OD de la muestra diluida después de 5 días de incubación mg/L

P = fracción volumétrica decimal de la muestra utilizada.

B₁ = OD del control de simiente antes de la incubación en mg/L

B₂ = OD del control de simiente después de la incubación en mg/L

El nitrógeno total se obtuvo por el método de Kjeldahl, para los fosfatos se utilizó el método de fósforo soluble en agua por ácido ascórbico 3500-D y para sulfatos se usó el método 4-229-A.

2.3.4. *Funcionamiento del fotobiorreactor.*

Este trabajo busca aprovechar el fotobiorreactor con el que cuenta la Facultad de Ciencias. En la tabla 2-7 se muestra los parámetros de funcionamiento del fotobiorreactor

Tabla 2-7. Parámetros de funcionamiento del fotobiorreactor.

Parámetro	Condiciones
Sistema de operación	Discontinuo
Forma del Fotobiorreactor	Hexagonal
Forma de celda	Tubular
Tamaño de celda	Longitud 60cm. Diámetro 8cm
Volumen de celda	1.8 litros
Numero de celdas	6
Iluminación	6 Lámparas led. Aproximadamente 800 lux
Aireación	Q = 125.66 cm ³ /s
Temperatura	Ambiente
pH	7-8
Tiempo de retención	3 semanas

Elaborado por: Melanie Ocaña, 2019

Tomada de Chicaiza, C. 2017

2.4. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa informático IBM SPSS 25, para cada una de las pruebas se tomó un nivel de significancia del 5%.

2.4.1. Sistema de Variables.

2.4.1.1. Hipótesis

Las algas *Chlorophyta* son capaces de crecer y remover la materia orgánica del agua residual del Camal Municipal del Cantón Shushufindi

2.4.2. Análisis de Varianza (ANOVA).

Sirve para medir la variabilidad total entre tratamientos. Está centrado en comparar los tratamientos en cuanto a sus medias poblacionales, sin olvidar que también es importante compararlos con respecto a sus varianzas. Así, desde el punto de vista estadístico la hipótesis fundamental a probar cuando se comparan varios tratamientos. Si F_0 es grande, se contradice la hipótesis de que no hay efectos de tratamientos; en cambio, si F_0 es pequeño se confirma la validez de H_0 . (Gutierrez Humberto y Roman 2008) (Gutierrez Humberto y Roman 2008)

2.4.3. Prueba de Tukey

Un método utilizado cuando se detectan diferencias significativas durante el ANOVA, el cual consiste en comparar las diferencias entre medias muestrales, Se declaran significativamente diferentes los pares de medias cuya diferencia maestra en valor absoluto sea mayor que T_a . (Gutiérrez Humberto y Roman 2008)

$$T_a = q_{\alpha}(k, N - k) \sqrt{CM_E/n} \quad (\text{Ec. 2-10})$$

Donde:

CM_E : es el cuadrado medio del error, n es el número de observaciones por tratamiento,

k : es el número de tratamientos,

$N - k$: es igual a los grados de libertad para el error,

α : es el nivel de significancia prefijado y el estadístico

$q_{\alpha}(k, N - k)$: son puntos porcentuales de la distribución del rango estudentizado,

CAPITULO III:

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

3.1. Resultados

3.1.1. *Parámetros in situ de la laguna Limoncocha*

El valor de pH promedio obtenido en los puntos de muestreo de la laguna Limoncocha es de 8.33, mientras que los valores de temperatura son de 29.67°C como se muestra en la tabla 3-1, valores similares han sido obtenidos por otros autores anteriormente (Gómez 2003; Andres 2011).

Tabla 3-1: Resultados de parámetros in situ de la laguna Limoncocha

Puntos de muestreo	pH	Temperatura °C
Punto 1: El Caño	8	29
Punto 2: Desembocadura de Playa Yacu	8	28
Punto 3: Muelle	9	32
Promedio	8.33	29.67

Elaborado por: Ocaña Melanie, 2019

3.1.2. *Prueba de Lugol*

El yodo contenido en este reactivo reacciona con el almidón presente en el medio, generando una coloración marrón, confirmando la presencia de algas Chlorophyta en la muestra.



Fig. 3-1: Prueba con Lugol positiva para almidón

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

3.1.3. Temperatura de cultivo

Se realizó la medición de temperatura diariamente en cada repetición los datos se muestran en la tabla 3-2

Tabla 3-2: Promedio de temperatura durante los tratamientos

Temperatura °C					
Día	R1	R2	R3	R4	R5
1	19,4	24,3	25,3	23,3	22,3
2		21,3	21,2	25,4	25,1
3		19,2	20,5	22,3	22,3
4	25,3	22,8	23,4		18,3
5	21,2	25,7			21,1
6	26,2			23,5	
7	23,5		20,1	24,3	
8	21,3	23,6	21,2	23,8	18,3
9		24,3	26,2	25,3	21,5
10		25,7	23,5	22,5	22,5
11	23,7	21,2	21,3		18,3
12	20,3	20,8			20,7
13	23,2			25,1	
14	24		20,1	23,2	
15	21,8	19,7	26,4	27,4	18,3
16		20,5	23,2	21,4	20,7
17		18,3	25,5	24,1	20,8
18	19,6	19,7	21,8		21,4
□	22,5 ± 2,2	21,9 ± 2,4	22,8 ± 2,3	24 ± 1,6	20,8 ± 2

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

3.1.4. Crecimiento y productividad celular

Los tratamientos sin aireación presentan un crecimiento menor de células y llegan a la fase de muerte más rápidamente, los tratamientos con aireación tienen un mayor número de células así como una mayor cantidad de días de crecimiento. (Para ampliar la información se puede consultar el anexo E y F).

La productividad celular refleja con mayor eficiencia la cantidad de biomasa producida por el tiempo y volumen de cultivo, los tratamientos con mayor productividad son aquellos que incluyen aireación evidenciando la importancia de la adición de aire en el crecimiento de biomasa algal, es así que T4 presenta una mayor productividad celular con 41944 células/L.día con un crecimiento durante 17 días, seguido por T2 con 39061 células/L.día y un crecimiento de 14 días, estos tratamientos presentan una diferencia estadísticamente significativa como se muestra en la prueba

de Tukey. En estudios anteriores (Andrade et al. 2009) se ha reportado una producción en peso de biomasa algal cultivada en aguas de pescadería levemente mayor a la producida en Nitrofoska por la diferencia de disponibilidad de los nutrientes contenido en estos medios de cultivo. Estas evidencias sugieren que las aguas residuales con elevado contenido de materia orgánica pueden constituirse en un medio de cultivo eficiente para la producción de microalgas, reduciendo una de las problemáticas que presenta actualmente la producción de esta biomasa.

En el gráfico 3-1 se puede observar el crecimiento promedio de las algas a lo largo del tratamiento.

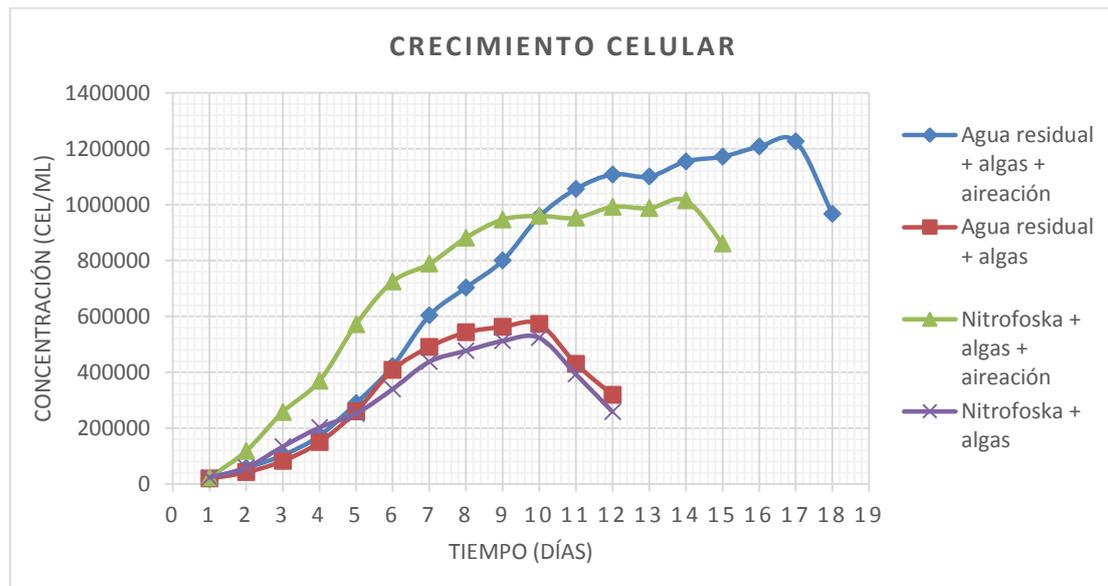


Gráfico 3-1: Curvas de crecimiento de algas Chlorophyta

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Los tratamientos sin aireación presentan una productividad celular mucho menor, T1 con 20020 células/L.día y T3 con 22394 células/L.día, no presentan una productividad celular estadísticamente diferente como se muestra en la prueba de Tukey, presentan características de crecimiento idénticas durante 10 días, esto evidencia que la aireación se convierte en factor limitante de crecimiento para las microalgas de estudio, esta reducción de crecimiento se ha reportado en estudios anteriores (Salazar et al. 2002). En este caso el contenido de nutrientes en el medio de cultivo tiene menos efecto en el crecimiento de las microalgas que la aireación. Muchas especies de algas *Chlorophyta* tienen la capacidad de crecer en concentraciones bajas de CO₂ como organismos mixotróficos, utilizando en el proceso de respiración compuestos orgánicos como aceptor final de electrones, sin embargo bajo condiciones de estrés reducen su crecimiento celular (Ahmad, Buang y Bhat 2016).

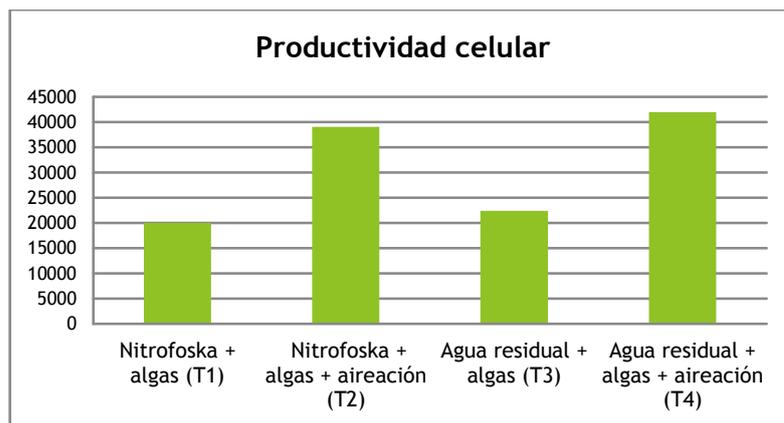


Gráfico 3-2: grafico de productividad celular
Realizado por: Ocaña Melanie, 2019.

3.1.5. Evolución del pH, conductividad y TDS

El pH inicial promedio del agua residual utilizada como sustrato en T3, T4, T5, T6, fue de 8.45 ± 0.22 , y los tratamientos T1 y T2 que utilizan Nitrofoska foliar con un pH inicial promedio de 8.42 ± 0.14 . Con el paso de los días, el pH sufrió un aumento de valores en todos los tratamientos sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos, T2 con un promedio de 9.28 ± 0.15 y T4 con un promedio de 9.32 ± 0.17 , son los tratamientos con algas Chlorophyta y aireación, presentan un mayor incremento de pH, T1 con 9.07 ± 0.1 y T3 con 8.89 ± 0.33 , tratamientos con algas pero sin aireación presentan un incremento moderado del pH, tampoco tienen diferencias significativas entre ellos T5 y T6 son tratamientos sin inóculo de algas, T5 sigue presentando un incremento del pH aunque menor a 8.81 ± 0.13 , sin embargo T6 presenta una disminución de los valores de pH a $8,00 \pm 0.07$.

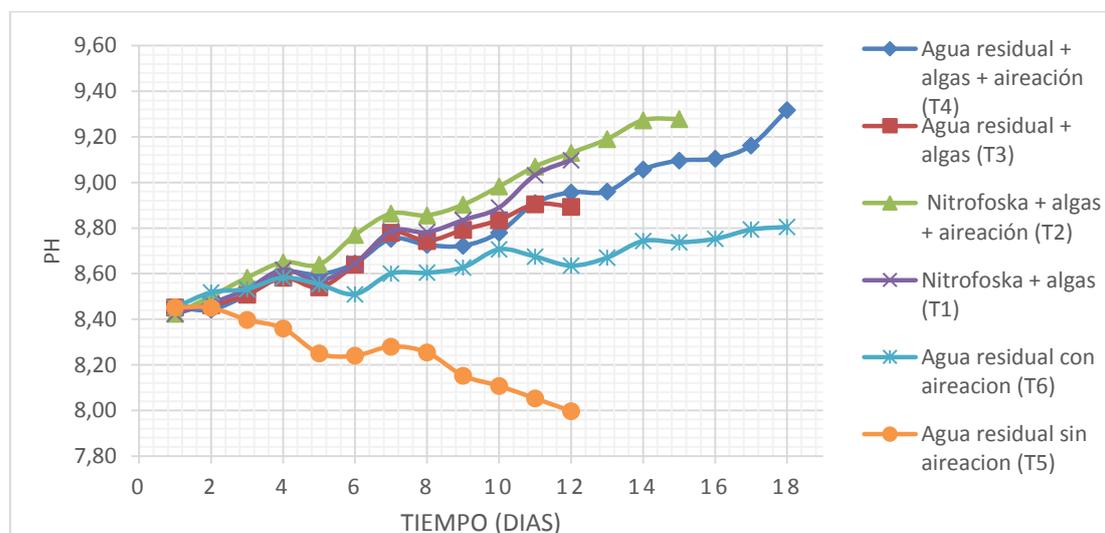


Gráfico 3-3: Evolución de pH promedio durante los tratamientos

Realizado por Ocaña Melanie. 2019

En el gráfico 3-3 se observa el desarrollo del pH promedio durante los tratamientos, es así que los tratamientos T1, T2, T3, T4, T6 presentan una variación de pH en aumento, mientras que T5 disminuye el pH. (Para ampliar la información se puede consultar el anexo D)

Trabajos anteriores muestran también un aumento de pH en cultivos de algas, esto se debe a que las microalgas tienen actividad fotosintética en el medio de cultivo de agua residual, esta actividad conduce a un aumento gradual en el pH, debido al efecto sobre el equilibrio de especies carbonatadas en el agua. (Tang, Han, Li, Miao y Zhong 2011) ; (García, Arbib y Perales 2015).

Durante el proceso de la fotosíntesis, las microalgas en el medio asimilan CO₂. El CO₂, al estar disuelto en agua, forma moléculas de ácido carbónico (H₂CO₃). Este ácido se encuentra en una fracción 10³ veces menor que el CO₂ disuelto (ac) debido a que en el agua se disocia con gran facilidad en protones H⁺ e iones bicarbonato HCO₃⁻, como se muestra en la ecuación 3-1



A su vez, el ion bicarbonato, en presencia de agua, se disocia en iones H⁺ e iones carbonato CO₃²⁻ (ecuación 3-2):



De este modo, en un cultivo de microalgas, debido al consumo de carbono inorgánico disuelto (bien en forma de CO₂, H₂CO₃, HCO₃⁻ o CO₃²⁻) provoca un desplazamiento de los equilibrios, indicados en las ecuaciones, hacia una reducción de la concentración de protones H⁺ y, por ende, un incremento del pH (Tang *et al.*, 2011).

Los tratamientos T1 y T3 son tratamientos con un menor crecimiento de biomasa, por lo que la producción de protones H⁺ es menor, esto conlleva a una variación de pH menor que en T2 y T4, en T6 no existe la presencia de algas, pero si existen bacteria aerobias, su actividad hace que aun exista un aumento de pH, en T5 se tiene presencia de bacterias anaerobias.

En la respiración aerobia un substrato es oxidado completamente a CO₂ y H₂O, con participación de una cadena de e- (ubicada en la membrana citoplasmática) y el receptor final es el oxígeno molecular (Varela 2004), la presencia del CO₂ conlleva una reducción de la concentración de protones H⁺, pero en menor cantidad que las algas, por lo que el incremento de pH es menor.

Los microorganismos anaerobios obtienen principalmente su energía mediante la utilización de las vías fermentativas, en donde los compuestos orgánicos como los ácidos y alcoholes sirven

básicamente como aceptores finales de electrones, estos microorganismos producen mucho menos energía que los aerobios, y para suplir sus necesidades de energía metabolizan una mayor cantidad de azúcares y por consiguiente elaboran una mayor cantidad de metabolitos. Durante el proceso de producción del metabolitos, los productos finales son sustancias orgánicas, por ejemplo, ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético, butanol, etanol y acetona. La presencia de estos disminuye el pH en el medio de cultivo.

La conductividad eléctrica (CE) aumenta cuando aumenta la concentración de iones, lo que la convierte en una medida indirecta la cantidad de iones en solución (principalmente cloruro, nitrato, sulfato, fosfato, sodio, magnesio y calcio) (Gao et al. 2018). La CE en el sustrato puede verse afectada: la presencia de fertilizantes insolubles, como los de liberación lenta, la incorporación de una cantidad de fertilizante superior a las absorbidas o lixiviadas, cambios en la capacidad de intercambio catiónico (Barbaro, Karlanian y Diego 2008).

Las bacterias aerobias obtienen ATP a través del ciclo de Krebs, en la generación de ATP el transporte de electrones se sitúa en la membrana citoplasmática de la célula bacteriana, de tal modo que durante el proceso de transporte, se produce una separación física entre protones y electrones. Los protones quedan fuera de la célula mientras que la e- dentro, como consecuencia de esto se genera a través de la membrana citoplasmática un gradiente de pH y un potencial eléctrico. A pesar de su pequeño tamaño ni los H⁺ ni los OH⁻ atraviesan libremente la membrana, por lo tanto, el equilibrio no puede establecerse espontáneamente, esto modifica la capacidad de intercambio catiónico del medio (Varela 2004).

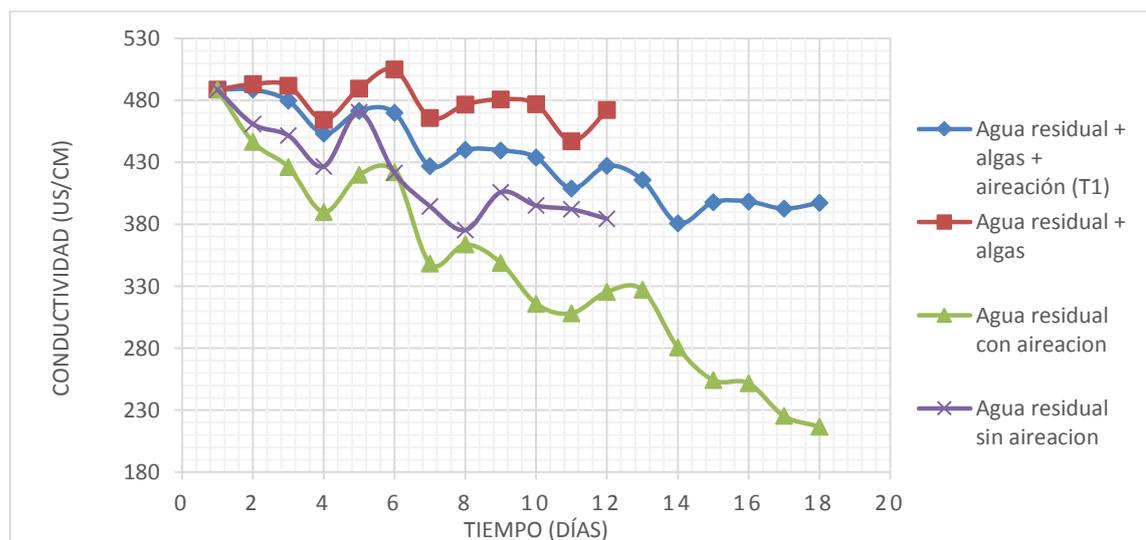


Gráfico 3-4: Comportamiento de la conductividad en cada uno de los tratamientos

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Como se observa en el gráfico 3-3 en los tratamientos con algas el comportamiento de la conductividad tiende a incrementar una vez que el cultivo entra en fase de muerte, esto se debe a que una vez que se produce la muerte de la célula los aniones y cationes contenidos son liberados nuevamente al medio, provocando un incremento de los valores de conductividad eléctrica, esto no ocurre en los tratamientos sin algas, lo que indica que los organismos presentes en estos siguen en crecimiento. (Para ampliar la información consultar el anexo G)

El porcentaje promedio de reducción de la conductividad de T3 fue 4,22%, T4 de 20,65%, T5 de 20,32% y T6 con el mayor porcentaje de reducción de conductividad con 43,76%. La modificación de la capacidad de intercambio provocada por las bacterias aerobias, sumada al hecho que las bacterias para su respiración consumen mayor cantidad de iones que las algas, provoca un descenso más acelerado de la conductividad eléctrica en T6, en T5 la falta de oxígeno provoca que los organismos presentes en este tratamiento utilicen compuestos orgánicos como aceptor final de electrones, mientras en T3 la falta de aireación y el crecimiento de algas inhibe la proliferación excesiva de estas bacterias, en T4 la aireación y el crecimiento de algas mantienen un equilibrio simbiótico con respecto al crecimiento bacteriano (Majdah Zawawi1 and Noriah Ramli 2016).

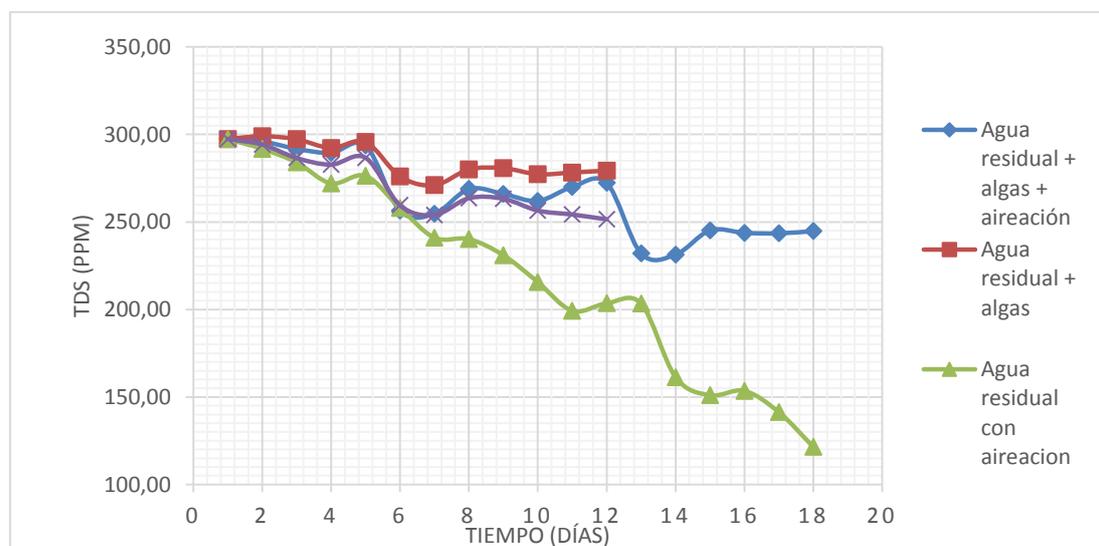


Gráfico 3-5: Comportamiento de TDS a lo largo de los tratamientos

Elaborado por: Ocaña Melanie, 2019

Los TDS (Sólidos Disueltos Totales) son la suma de los minerales, sales, metales, cationes o aniones disueltos en el agua, esto incluye cualquier elemento presente en el agua que no sea la molécula de agua pura (H₂O) y sólidos en suspensión. El total de TDS una medida del contenido combinado de todas las sustancias inorgánicas y orgánicas contenidas en un líquido en forma molecular, ionizada o en forma de suspensión micro-granular (Alfaro y Parada 2006).

El porcentaje promedio de reducción para TDS en T3 es de 8.84%, en T4 20.66 % en T5 16.64% y T6 con un mayor porcentaje de reducción es de 56.93%. La reducción de TDS como se observa en el gráfico 3- 4, tiene un comportamiento idéntico a la conductividad eléctrica, sin embargo una vez producida la muerte celular en los tratamientos con algas, los valores de TDS continúan reduciendo, esto se debe a la transformación de los compuestos por la actividad metabólica de los organismos, una vez producida la muerte los compuestos que regresan al medio presentan formas diferentes a la inicial. (Para ampliar la información se puede consultar el anexo H).

Un medidor de TDS se basa en la conductividad eléctrica (CE) de agua. El agua pura (H₂O) tiene prácticamente cero conductividad. Los medidores de TDS hacen el cálculo mediante la conversión de la CE por un factor de 0,5 a 1,0 veces la CE, dependiendo de los niveles. Típicamente, cuanto mayor sea el nivel de CE, mayor es el factor de conversión para determinar el TDS (Alfaro y Parada 2006).

3.1.6. Reducción de materia orgánica

El crecimiento de algas como materia prima para la producción de biocombustibles requiere grandes cantidades de agua, nutrientes como nitrógeno, fósforo y oligoelementos, y energía para la recolección y conversión (Zhou et al. 2012).

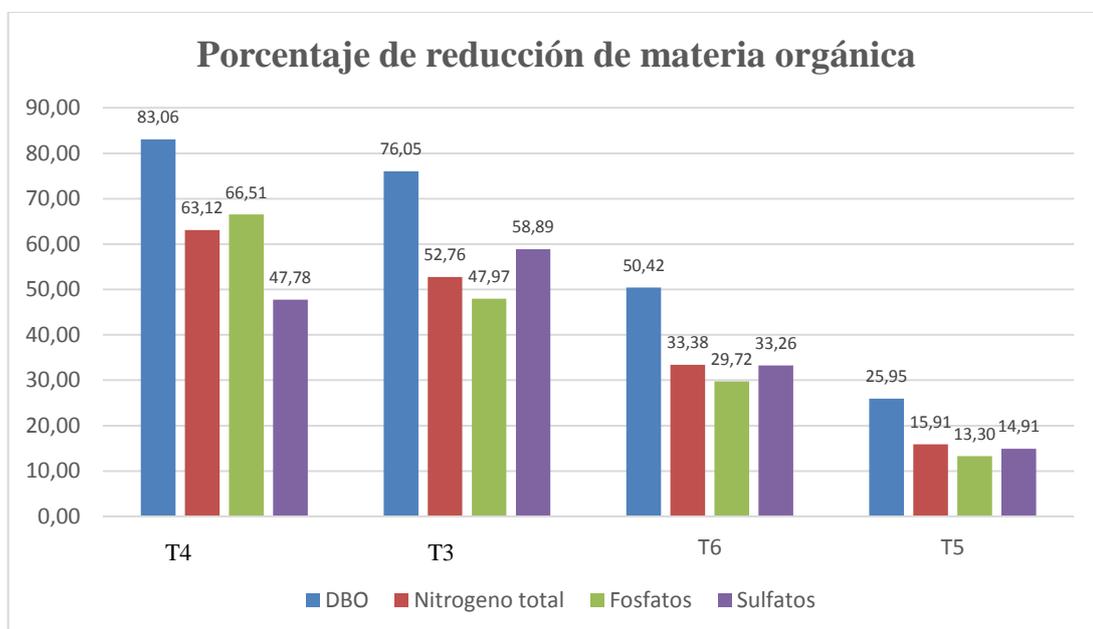


Gráfico 3-5: Comportamiento reducción de materia orgánica a lo largo de los tratamientos

Elaborado por: Ocaña Melanie, 2019

La DBO es indicativo de los niveles de materia orgánica susceptibles a degradación biológica en forma aeróbica (Salomón, Cravero y Rost, Zimmer 2013). El porcentaje promedio de reducción de DBO₅ es el siguiente, T3 76,1% ± 4,4; T4 83,1% ± 5,9; T5 25,9 ± 5,1 y T6 50,4 ± 5,7, el tratamiento más eficiente para la remoción de DBO₅ es T4, autores han reportado la reducción de DBO₅ por parte de algas anteriormente, 70% (Fazal et al. 2018), 93%-95%. (Romero, Fresneda y Hernández 2001), 95.4% (Vacca et al. 2017), 80% (Gilberto Salas C. 2008). De acuerdo a la normativa ecuatoriana en el Acuerdo Ministerial N° 061, Anexo 1 norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: recurso agua, el límite de descarga a un cuerpo de agua dulce de DBO₅ es de 100 mg/L. Las especies de algas tienen una amplia gama de respuestas a la temperatura, la luz, los nutrientes y la salinidad. Muchos modelos de crecimiento de algas consideran los procesos metabólicos fundamentales y la tasa fotosintética, pero estos coeficientes pueden ser difíciles de calibrar y medir. (Zhou et al. 2012). (Para ampliar la información se puede consultar el anexo I). Las especies de algas tienen una amplia gama de respuestas a la temperatura, la luz, los nutrientes y la salinidad.

El aumento del pH de los efluentes (proceso fotosintético), favorece la precipitación de orto fosfatos, la eliminación de nitrógeno amoniacal por efecto de intercambio gaseoso, la disminución de la demanda biológica de oxígeno, la oxigenación del agua, favoreciendo la oxidación continua de materia orgánica, la acción bactericida, reduciendo la sobrevivencia de organismos patógenos (Salazar et al. 2002). Se produce una complementación biológica entre las algas y bacterias presentes en el sistema. Las bacterias llevan a cabo la biodegradación de la materia orgánica que viene en el influente, lo que es transformado en agua, dióxido de carbono y aumento de biomasa. El dióxido de carbono y la biomasa muerta son utilizados por las algas en su proceso metabólico, proceso que se caracteriza por la producción de oxígeno, elemento vital para la biomasa bacteriana.

El nitrógeno es un parámetro que genera un costo importante en la producción de biomasa de microalgas, sin embargo, el nitrógeno también es uno de los principales requerimientos nutricionales de las algas, y el estado del nitrógeno en el cultivo tiene un fuerte impacto en la productividad de biomasa (Gao et al. 2018). Para el porcentaje de reducción promedio de nitrógeno total Kjeldahl T3 presenta 52,8% ± 5,3; T4 63,1 % ± 2,3; T5 14,9 % ± 6,6 y T6 33,3% ± 7,1, debido a que la prueba de Tukey indica que existe una diferencia significativa en la reducción de nitrógeno total Kjeldahl el tratamiento más efectivo es T4, efecto que se atribuye al crecimiento de microalgas Chlorophyta. Estudios anteriores también demuestran la reducción de nitrógeno en aguas residuales debido al cultivo de algas 84,93%(Andrés et al. 2016), 50% Nitrógeno orgánico (Lucero 2015), 59.7% (Zhou et al. 2012), 64% (Escorihuela et al. 2007), la diferencia en los porcentajes de reducción se debe a que todavía están presentes algunos compuestos orgánicos que no pueden convertirse para ser asimilados por las algas, esta asimilación depende

de las condiciones de cultivo y de las especies que se desarrollan. (Zhou et al. 2012). De acuerdo a la normativa ecuatoriana en Acuerdo Ministerial 061 Anexo 1 norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes : recurso agua, el límite de descarga a un cuerpo de agua dulce de nitrógeno total Kjeldahl es de 15mg/L.

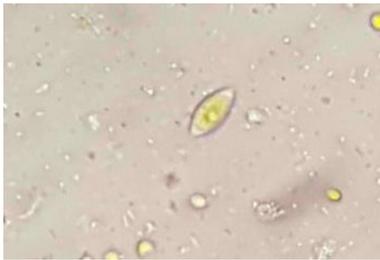
Otro requerimiento importante en el crecimiento de las algas son los fosfatos, el fósforo es un requerimiento esencial en los organismos fotosintéticos, es utilizado en el proceso de fotosíntesis para la producción de ATP, el porcentaje promedio de reducción de fosfatos en los diferentes tratamientos es el siguiente: T3 47,8 % \pm 8,7; T4 58,9% \pm 7,7; T5 14,9% \pm 6,6 y T6 33,3% \pm 7,1; debido a que todos los tratamientos son estadísticamente diferentes el tratamiento más eficiente es T4, también atribuido a la capacidad de asimilación del elemento por parte de las algas. Investigaciones anteriores demuestran la capacidad de las algas para reducir fósforo en aguas residuales 75,7% de fósforo total (Andrés et al. 2016), 48% del fosfato (Lucero 2015), 90.45% de fósforo (Zhou et al. 2012), 87% (Tafur & Estrada 2015), >95% en fosfatos(Markou 2015). Según el Acuerdo Ministerial 061 Anexo 1 norma de calidad ambiental y de descarga de efluente: recurso agua, el límite de descarga a un cuerpo de agua dulce de fosfatos es de 10 mg/L.

Las aguas residuales generalmente contienen concentraciones elevadas de azufre, este por la actividad microbiana se transforma en sulfuro de hidrogeno, gas que es responsable del característico olor desagradable en las aguas residuales (Zhou et al. 2018). Se puede observar el porcentaje promedio de reducción de sulfatos así: T3 58,9% \pm 7,7; T4 47,8% \pm 8,7; T5 con 14,9% \pm 6,6 y T6 33,3 \pm 7,1. En la prueba de Tukey se evidencia que existe una diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos en cuanto a la reducción de sulfatos, T3 demuestra ser más eficiente en la remoción de estos, a pesar de no presentar aireación. Estudios anteriores demuestran una reducción de sulfatos mayor en cultivos sin aireación, esto se debe a la capacidad de ciertas especies de Chlorophyta de crecer en concentraciones bajas de CO₂ como organismos mixotróficos, utilizando en el proceso de respiración compuestos orgánicos como aceptor de electrones, entre ellos los sulfatos (Ahmad, Buang y Bhat 2016). Otros autores reportan la capacidad de las algas para reducir sulfatos (Salazar et al. 2002) 46%, 80% (Ayala-parra, Sierra-alvarez y Field 2016) . De acuerdo a la normativa ecuatoriana en el Acuerdo Ministerial 061 Anexo 1 norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes : recurso agua, el límite de descarga a un cuerpo de agua dulce de sulfatos es de 15mg/L.

3.2. Microalgas *Chlorophyta* identificadas morfológicamente.

Las algas en sus inicios fueron clasificadas taxonómicamente de acuerdo a su morfología, décadas después se ratificó esta clasificación con el uso de pruebas genéticas (Lewis y Lewis 2005). Con fines de estudio se realizó un análisis de la morfología de las algas que crecieron durante los tratamientos, a partir de ello se realizó la identificación de las algas que cumplen con las características morfológicas propias de las microalgas *Chlorophyta*; esta son descritas a continuación:

3.2.1. *Characium sp. (A. Braun, 1849)*



Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

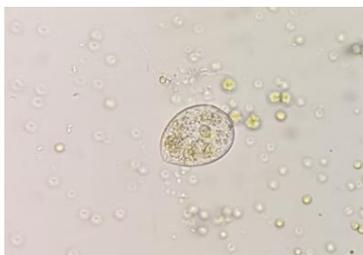
Reino:	Plantae
División:	Chlorophyta
Clase	<u>Chlorophyceae</u>
Orden:	<u>Sphaeropleales</u>
Familia:	<u>Characiaceae</u>
Genero:	<i>Characium</i>

Fuente: Algbase, 2019

Células solitarias, cilíndricas, piriformes, ovoides o con forma de huso o esféricas. Las células a menudo se doblan o son asimétricas y se unen al sustrato en un extremo mediante una almohadilla basal, células redondeadas a puntiagudas, con o sin proceso de atenuación. (Guiry, MD & Guiry 2019).

Su cultivo anterior demostró a reducción del 21.5% de la DQO, el 80.0% de nitrógeno total y el 89.9% de fosforo total además, el reciclaje del efluente final para diluir el POME resultó ser viable y económicamente deseable. (Khalid et al. 2016) La mayoría es de agua dulce, pero algunas especies han sido encontradas en suelos árticos y tropicales. En Ecuador se las encuentra en laguna de Anteojos del Parque Nacional Llanganates.(Guamán y González 2016)

3.2.2. *Chlamydomonas sp. (Ehrenberg, 1833, nom. contras.)*



Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Reino:	Plantae
División:	Chlorophyta
Clase	Chlorophyceae
Orden:	Volvocales
Familia:	Chlamydomonadaceae
Genero:	<i>Chlamydomonas</i>

Fuente: Algbase, 2019

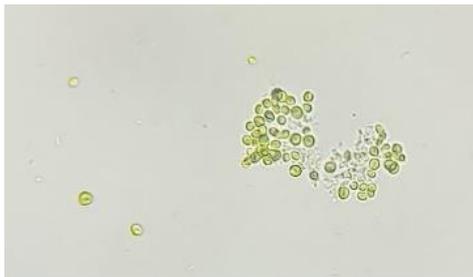
Es un organismo unicelular típicamente esférico o subesférico, cada célula suele tener dos vacuolas contráctiles anteriores, pero estas pueden no estar, dos pares de flagelos

anteriores. Cloroplasto individual por célula y extremadamente variable (Guiry, MD & Guiry 2019). Se encuentra en agua estancada y en suelo húmedo, en agua dulce, agua de mar, e incluso en la nieve.

Estudiado en modificaciones genéticas por su fácil manipulación, dependiendo de las condiciones del medio son fotoautótrofos obligados o heterótrofos opcionales, es de gran valor como fuente de combustible renovable ya que tiene altas tasas de acumulación de lípidos, así como eliminación de desechos de metales pesados (Harris 2001).

En el Ecuador, se ha encontrado en las lagunas Magdalena, Negra y Kuyuk del Parque Nacional Sangay; Pisayambo, Antejos y Chaloacocha del Parque Nacional Llanganates; Limpiopungo en el Parque Nacional Cotopaxi y en la laguna Toreadora en el Parque Nacional Cajas. (Guamán y González 2016).

3.2.3. *Chlorella sp. (Beyerink (Beijerinck), 1890)*



Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Reino:	Plantae
División:	Chlorophyta
Clase:	Trebouxiophyceae
Orden:	Chlorellales
Familia:	Chlorellaceae
Genero:	<i>Chlorella</i>

Fuente: Algabase, 2019

Concentraciones de clorofila más alta de cualquier planta en el mundo. Ciertas especies son alimento para los seres humanos y el ganado. Contienen más de 20 vitaminas y minerales, incluyendo el complejo B, beta-caroteno, vitaminas C y E, hierro, calcio, hasta 70% de proteína (Guamán y González 2016). Células esféricas, subesféricas o elipsoidales, solitarias o en formación con hasta 64 células, mucílago presente o ausente. Cloroplasto único, parietal, pirrenoide presente (Guiry, MD & Guiry 2019).

Presenta un rápido crecimiento en cultivo celular y por su capacidad de utilizar como sustrato nutricional compuestos orgánicos e inorgánicos (Wehr y Sheath, 2003; Xu *et al.*, 2006; Chinnasamy, 2010). Se ha utilizado para generar productos orientados a las industrias alimenticias farmacéuticas, de saneamiento ambiental, agropecuarias e energéticas (Chisti, 2007), son tolerantes a las aguas residuales municipales, logran eliminar más del 80% de amoníaco, nitrato y fósforo total (Quiroz Arita, Peebles y Bradley 2015).

Se han encontrado en las lagunas de los Parques Nacionales Cotopaxi, Llanganates, Sangay, Cajas, Yasuní y de las Reservas Cotacachi-Cayapas, Antisana, El Ángel, Chimborazo y en laguna de Chinchillas, Loja. (Guamán y González 2016)

3.2.4. *Closterium* sp. (Nitzsch ex Ralfs, Brit. Desm. 159. 1848.)



Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Reino:	Plantae
Subreino:	Viridiplantae
División:	Chlorophyta
Clase:	Zygnemophyceae
Orden:	Desmidiiales
Familia:	Closteriaceae
Genero:	<i>Closterium</i>

Fuente: Algabase, 2019

Células rectas, fusiformes, arqueadas a lunadas, solitarias (raramente agregado), pequeño a grande (72-1700 um). Las células generalmente disminuyen hacia ambos extremos; Extremos agudos, redondeados o truncados. Ha sido utilizado durante mucho tiempo como modelo para la producción sexual. Se ha utilizado para realizar ensayos de detección de sustancias peligrosas en sistemas analizando diversas variaciones en las actividades de clorofila, carotenoides y antioxidantes.(Sathasivam et al. 2016). Crecen principalmente en aguas estancadas o con corriente lenta.

Se ha encontrado en el Ecuador en las lagunas de Antejos, Rodeococha, Chaloacocha del Parque Nacional Llanganates; Ilincocha en el Parque Nacional Cajas; Limpiopungo en el Parque Nacional Cotopaxi y La Mica en la Reserva Ecológica Antisana.(Guamán y González 2016)

3.2.5. *Coelastrum* sp. (Nägeli, 1849)



Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Reino:	Plantae
División:	Chlorophyta
Clase:	Chlorophyceae
Orden:	Sphaeropleales
Familia:	Scenedesmaceae
Genero:	<i>Coelastrum</i>

Fuente: Algabase, 2019

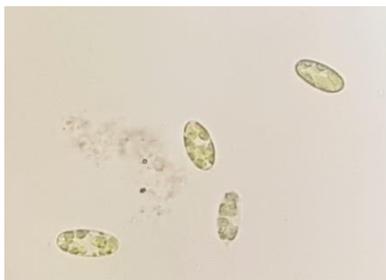
Organismos formando 4, 8, 16, 32 o 64, organizadas como colonias esféricas, piramidales o cuboides, de flotación libre. Celdas más o menos densamente alineadas, pero generalmente con

espacios vacíos entre los intersticios de la pared. Células globosas, ovoides o piramidales de 2 a 30um en la dimensión máxima. (Guiry, MD & Guiry 2019).

Utilizado recientemente para tratamientos de aguas residuales, producción de biodiesel y biorremediación de metales pesado, es un género de microalgas que crece eficientemente en aguas residuales urbanas llegando a tolerar altos niveles de radiación, bajo niveles de estrés salino aumenta 30 veces la producción de carotenoides aunque su tasa de crecimiento se ve reducida, además se ha demostrado que sus exudados con capaces de actuar como un potente biofloculador de otras especies de microalgas. (Luo et al. 2016) Forma parte en el fitoplancton en agua dulce, desde ambientes árticos hasta tropicales, a menudo abundantes en condiciones eutróficas.

En Ecuador se encuentra en las lagunas de El Salado, Reserva Ecológica El Ángel; Magdalena en el Parque Nacional Sangay; Mojanda en la Reserva Ecológica Cotacachi-Cayapas y en Limpiopungo en el Parque Nacional Cotopaxi (Guamán y González 2016).

3.2.6. *Coccomyxa* sp. (Schmidle, 1901)



Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Reino:	Plantae
Subreino:	Viridiplantae
División:	Chlorophyta
Clase:	Trebouxiophyceae
Orden:	Rebouxiophyceae
Familia:	Coccomyxaceae
Genero:	<i>Coccomyxa</i>

Fuente: Algabase, 2019

Son colonias verdes no flageladas o unicelulares rodeadas por un mucílago viscoso (Guamán y González 2016). Células de 1 a 11 um de largo, de forma muy variable, desde esféricas a elípticas, oblongas o en forma de hoz, frecuentemente con una punta hialina atenuada. (Stevenson y South 1974). Tiene una distribución mundial y muestra una amplia en hábitat y estilo de vida. (Ajayan, Harilal y Gani 2019).

Podría tener potencial para la producción a gran escala de carotenoides antioxidantes, se aisló raspando el material ferroso depositado en las rocas, esto demuestra la capacidad que tienen de tolerar concentraciones elevadas de metales (M. PASQUALETTI et al. 2015). Es capaz de almacenar un contenido elevado de lípidos intracelulares y la productividad lipídica, es una factor crucial para la producción comercial de biocombustibles (Takahashi et al. 2018). Se encuentra desde zonas templadas hasta áreas polares.

En Ecuador se encuentra en la laguna La Mica de la Reserva Ecológica Antisana y en el Yasuní (Guamán y González 2016).

3.2.7. *Monoraphidium* sp. (Komárková-Legnerová, 1969)



Reino:	Plantae
Subreino:	Viridiplantae
División:	Chlorophyta
Clase:	Chlorophyceae
Orden:	Sphaeropleales
Familia:	Selenastraceae
Genero:	<i>Monoraphidium</i>

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Fuente: Algabase, 2019

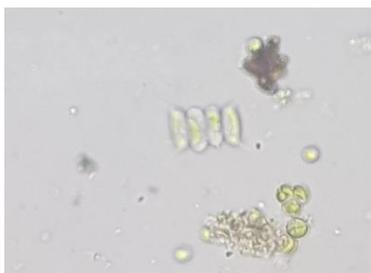
Organismo unicelular, no embebida en envoltura de mucílago. Células 2-182 x 1-8 μm , directamente de lunadas a sigmoides o helicoidalmente torcidas, a menudo con extremos alargados. Paredes celulares lisas. Células uninucleadas; cloroplasto simple y parietal; (Guiry, MD & Guiry 2019). Se encuentra formando parte del fitoplancton en ríos mesotróficos a eutróficos, estanques, lagos y reservorios.

Este género ha demostrado eficiencia en el tratamiento de aguas residuales con melaza, reduciendo el carbono orgánico, DBO y nutrientes como nitrógeno y fósforo, elevada acumulación de lípidos (Dong et al. 2019), se ha utilizado para extraer un ácido graso esencial, el ácido α -linolénico, exhibió buenas propiedades para la producción de biodiesel, alto contenido de lípidos y productividad moderada de la biomasa (Lin et al. 2018). Cultivada en agua residual exhibió un perfil de ácidos grasos similar al del aceite de soja, reducción de nitrato y fosfato, biodiesel en mezclas con petrodiesel mostró una reducción significativa en las emisiones de NOx.

En Ecuador se encuentra en la laguna de Pisayambo del Parque Nacional Llanganates (Guamán y González 2016). Se reportó anteriormente en la laguna Limoncocha (Subía y Aguiar 2018)

3.2.8. *Desmodesmus* sp. (Komárková-Legnerová, 1969)

Reino:	Plantae
Subreino:	Viridiplantae



División:	Chlorophyta
Clase	Chlorophyceae
Orden:	Sphaeropleales
Familia:	Scenedesmaceae
Genero:	<i>Desmodesmus</i>

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

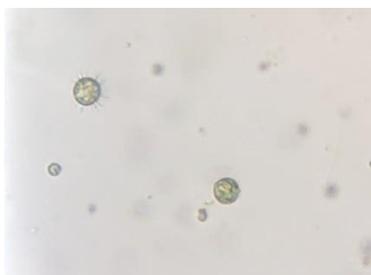
Fuente: Algabase, 2019

Unicelular o en cenobio de 2 -4 -8-16 células con ejes longitudinales a las células en paralelo, lateralmente contiguas y dispuestas en una sola serie lineal. Las células son elipsoidales a ovoides, espinas usualmente presentes en las células terminales y/o células medias; (Guiry, MD & Guiry 2019).

Es uno de los mejores candidatos para la producción de biodiesel en zonas tropicales y subtropicales, se ha cultivado en aguas residuales municipales sin la adición de fertilizante con clima tropical (Ho et al. 2013). Muestra la habilidad de retener metales pesados como cobre y níquel, también la eficiente remoción de fosforo, (Rugnini et al. 2018), es útil en el tratamiento de medios acuáticos contaminados con BPA ya muestra la habilidad de reducirlo sin que afecte de manera significativa su crecimiento fotoautótrofos (Wang et al. 2017), tiene la capacidad de acumular ácido alfa-linolénico aún bajo condiciones de estrés de luz, temperatura y nutrientes (Sijil, Sarada y Chauhan 2019). Se encuentra en el fitoplancton de estanques y lagos.

En Ecuador se localiza en las lagunas Magdalena y Kuyuk del Parque Nacional Sangay; lagunas de Cajas y Limpiopungo en el Parque Nacional Cotopaxi; Chaloacocha, Rodeococha y Anteojos en el Parque Nacional Llanganates; en la laguna de Ozogoché en el Parque Nacional Sangay y en el Yasuní. (Guamán y González 2016).

3.2.9. *Golenkinia* sp. (Chodat, 1894)



Reino:	Plantae
Subreino:	Viridiplantae
División:	Chlorophyta
Clase	Chlorophyceae
Orden:	Chlamydomonadales
Familia:	Incertae sedis
Genero:	<i>Golenkinia</i>

Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Fuente: Algabase, 2019

Organismo unicelular, algas solitarias con células esféricas, de 10 a 18 μm de diámetro, con numerosas espinas delgadas de 6 a 65 μm de largo, e pueden formar pseudocolonias formadas por

el enclavamiento de espinas, tienen una envoltura mucilaginosa delgada que rodea la célula y la base de las espinas, paredes celulares lisas, (Guiry, MD & Guiry 2019). Son algas planctónicas de agua dulce.

El género *Golenkinia* no ha sido estudiado para la producción de metabolitos de interés comercial como la producción de carotenoides y lípidos bajo estrés salino, pudiendo tener una aplicación potencial en los campos de alimentación nutraceuticos y acuícolas (Rearte et al. 2018), así también de azúcares como xilosa, manosa y galactosa (Choi et al. 2015), se cultivado anteriormente en agua residual de cocina demostrando ser útil para la generación de bioelectricidad en celda de combustible microbiano, lípidos con potencial para la producción de biodiesel, la reducción eficiente de DQO y nitrógeno (Hou et al. 2016)

En el Ecuador se encuentra en la laguna del Quilotoa de la Reserva Ecológica Los Ilinizas (Guamán y González 2016).

3.2.10. *Staurastrum* sp. (Ehrenberg ex Ralfs, 1848)



Realizado por: Ocaña Melanie, 2019

Reino:	Plantae
División:	Chlorophyta
Clase:	Zygnematophyceae
Orden:	Desmiales
Familia:	Desmidiaceae
Genero:	<i>Staurastrum</i>

Fuente: Algabase, 2019

Las células de pequeñas a grandes, de 2 a 12, irradian en la vista final, con una constricción media superficial o profunda (istmo) donde las paredes de semicélulas se superponen, y dos morfologías celulares integradas. La mayoría de las especies con procesos largos y huecos en cada semicélula (número relacionado con el patrón de radiación (Guiry, MD & Guiry 2019). Muchas especies son cosmopolitas; otras se restringen a zonas tropicales o ciertos continentes. Pueden ser planctónicas, bénticas o perifíticas en aguas ácidas, lagos oligotrófos, estanques y lagos.

En el Ecuador se encuentran en las lagunas de Muerte Pungo, La Mica (Reserva Ecológica Antisana); Rodeococha y El Tambo (Parque Nacional Llanganates); y en laguna de Chinchillas, Loja (Guamán y González 2016).

3.3. Análisis estadístico

Para cada una de las pruebas se utilizó un nivel de confianza del 95%. $\alpha = 0.05$. (Para ampliar la información se puede consultar el anexo J).

3.3.1. Análisis estadístico de pH.

H₀: No existe diferencia significativa entre el promedio de reducción de conductividad entre los tratamientos.

H₁: Existe diferencia significativa entre el promedio de reducción de conductividad entre los tratamientos.

Tabla 3-3: Promedio de variación de pH

	Nitrofoska + algas (T1)	Nitrofoska + algas + aireación (T2)	Agua residual + algas (T3)	Agua residual + algas + aireación (T4)	Agua residual sin aireación (T5)	Agua residual con aireación (T6)
pH	0,57	0,84	0,45	0,85	-0,56	0,14
	0,69	0,97	0,68	0,95	-0,48	0,25
	0,62	0,69	0,43	0,64	-0,64	0,28
	0,46	1	0,43	0,53	-0,3	0,31
	0,39	0,77	0,38	0,95	-0,21	0,67
Promedio	0,55	0,85	0,47	0,78	-0,44	0,33

Elaborado por: Ocaña Melanie, 2019

En el ANOVA se obtuvo $F_0 42,1313 > F: 6206$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, existe diferencia estadísticamente significativa en al menos un par de tratamientos. Se procedió a realizar la prueba de Tukey con $q_{0,05}(6,24) = 5.37$ en la que se obtuvo que solo las interacciones (T1-T3), (T2-T4), (T3-T6) no presentan una diferencia estadísticamente significativa, las restantes posibles interacciones entre los seis tratamientos tienen una diferencia significativa en cuanto a la variación de pH.

3.3.2. Análisis estadístico de conductividad

H₀: No existe diferencia significativa entre el promedio de reducción de conductividad entre los tratamientos.

H₁: Existe diferencia significativa entre el promedio de reducción de conductividad entre los tratamientos.

Tabla 3-4: Promedio de porcentaje reducción de conductividad

Conductividad (uS/cm)	Agua residual + algas (T3)	Agua residual + algas + aireación (T4)	Agua residual sin aireación (T5)	Agua residual con aireación (T6)
	4,51	20,60	15,24	39,91
	5,42	20,99	14,22	34,99
	4,37	21,08	23,39	43,44
	2,47	23,85	34,28	47,70
	4,31	16,72	14,48	52,76
Promedio	4,22	20,65	20,32	43,76

Elaborado por: Ocaña Melanie, 2019

En el ANOVA se obtuvo $F_0: 40,71392 > F: 3,2388$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, existe diferencia estadísticamente significativa en al menos un par de tratamientos. Se procedió a realizar la prueba de Tukey con $q_{0,05}(4,16) = 4,05$ en la que se obtuvo que solo la interacción (T4-T5) no presentan una diferencia estadísticamente significativa, las restantes posibles interacciones entre los cuatro tratamientos tienen una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la disminución de conductividad.

3.3.3. Análisis estadístico de Sólidos Totales Disueltos (TDS)

H_0 : No existe diferencia significativa entre el promedio de reducción de TDS entre los tratamientos.

H_1 : Existe diferencia significativa entre el promedio de reducción de TDS entre los tratamientos.

Tabla 3-5: Promedio de porcentaje reducción de TDS.

TDS (mg/mL)	Agua residual + algas (T3)	Agua residual + algas + aireación (T4)	Agua residual sin aireación (T5)	Agua residual con aireación (T6)
	7,39	16,20	17,96	63,03
	6,45	16,13	10,97	62,90
	3,64	20,00	13,09	65,82
	15,77	32,55	21,81	46,64
	10,94	18,44	19,38	46,25
Promedio	8,84	20,66	16,64	56,93

Elaborado por: Ocaña Melanie, 2019

En el ANOVA se obtuvo $F_0: 50,1423 > F: 3,23887$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, existe diferencia estadísticamente significativa en al menos un

par de tratamientos. Se procedio a realizar la prueba de Tukey con $q_{0.05}(4,16) = 4.05$ en la que se obtuvo que solo la interacción (T4-T5) no presentan una diferencia estadísticamente significativa, las restantes posibles interacciones entre los cuatro tratamientos tienen una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la disminución de TDS.

3.3.4. Análisis estadístico de productividad celular

H_0 : No existe diferencia significativa entre productividad celular de algas Chlorophyta en los tratamientos.

H_1 : Existe diferencia significativa entre la productividad celular de algas en los tratamientos.

Tabla 3-6: Promedio de productividad celular

	Nitrofoska + algas (T1)	Nitrofoska + algas + aireación (T2)	Agua residual + algas (T3)	Agua residual + algas + aireación (T4)
Productividad celular (células/L.día)	16835	38955	20455	43519
	19949	38161	20960	41231
	20051	39153	18704	41204
	25589	39947	28956	41939
	17677	39087	22896	41830
Promedio	20020	39061	22394	41944

Elaborado por: Ocaña Melanie, 2019

En el ANOVA se obtuvo $F_0: 43,1065 > F: 3,2388$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, existe una diferencia estadísticamente significativa en al menos un par de tratamientos. Se procedio a realizar la prueba de Tukey con $q_{0.05}(4,16) = 4.05$ en la que se obtuvo que solo la interacción (T1-T3) no presentan una diferencia estadísticamente significativa, las restantes posibles interacciones entre los cuatro tratamientos tienen una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la productividad celular.

3.3.5. Análisis estadístico de Demanda biológica de oxígeno

H_0 : No existe diferencia significativa entre el porcentaje promedio de reducción de DBO entre los tratamientos.

H₁: Existe diferencia significativa entre el porcentaje promedio de reducción de DBO entre los tratamientos.

En el ANOVA se obtuvo $F_0: 120,5760 > F_{3,2388}$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, existe diferencia estadísticamente significativa en al menos un par de tratamientos. Se procedió a realizar la prueba de Tukey con $q_{0,05}(4,16) = 4.05$ en la que se obtuvo que todas las posibles interacciones entre los cuatro tratamientos tienen una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la disminución de DBO.

3.3.6. Análisis estadístico de disminución de nitrógeno

H₀: No existe diferencia significativa entre el promedio de reducción de nitrógeno entre los tratamientos.

H₁: Existe diferencia significativa entre el promedio de reducción de nitrógeno entre los tratamientos.

En el ANOVA se obtuvo $F_0: 81,3483 > F_{3,2388}$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, existe diferencia estadísticamente significativa en al menos un par de tratamientos. Se procedió a realizar la prueba de Tukey con $q_{0,05}(4,16) = 4.05$ en la que se obtuvo que todas las posibles interacciones entre los cuatro tratamientos tienen una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la disminución de Nitrógeno, lo que evidencia que todos los tratamientos son diferentes.

3.3.7. Análisis estadístico de disminución de fosfatos

H₀: No existe diferencia significativa entre el porcentaje promedio de reducción de fosfatos entre los tratamientos.

H₁: Existe diferencia significativa entre el porcentaje promedio de reducción de fosfatos entre los tratamientos.

En el ANOVA se obtuvo $F_0: 61,2096 > F_{3,2388}$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, existe diferencia estadísticamente significativa en al menos un par de tratamientos. Se procedió a realizar la prueba de Tukey con $q_{0,05}(4,16) = 4.05$ en la que se obtuvo que todas las posibles interacciones entre los cuatro tratamientos tienen una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la disminución de fosfatos.

3.3.8. Análisis estadístico de disminución de sulfatos

H_0 : No existe diferencia significativa entre el porcentaje promedio de reducción de sulfatos entre los tratamientos.

H_1 : Existe diferencia significativa entre el porcentaje promedio de reducción de sulfatos entre los tratamientos.

En el ANOVA se obtuvo $F_{0.31,6773} > F: 3,2388$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, existe diferencia estadísticamente significativa en al menos un par de tratamientos. Se procedió a realizar la prueba de Tukey con $q_{0.05}(4,16) = 4.05$ en la que se obtuvo que todas las interacciones posibles entre los cuatro tratamientos tienen una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la disminución de sulfatos.

CONCLUSIONES

- A dilución 1:3 el agua residual del Camal Municipal del Cantón Shushufindi presenta 43mg/L de fosfatos, siendo 10 mg/L el límite máximo permitido en la normativa; un valor de nitrógeno total Kjeldahl de 47,8 g/L, siendo 15 mg/L el límite que indica la norma, una DBO₅ de 1676 mg/L para un valor permitido por la norma de 100 mg/L; un valor de sulfatos de 429 mg/L, siendo 1000 mg/L el límite máximo permitido para descarga; además un pH que se encuentra en rangos básicos de 8.61, cuyo rango en permitido por la norma es 5-9, conductividad de 488,8 uS/cm y TDS de 297.4 mg/L, parámetros que no establece valores límite de descarga en Acuerdo Ministerial 061 Anexo 1 norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes : recurso agua. Todos los parámetros a excepción de los sulfatos y pH se encuentran por encima de los valores permitidos por la normativa vigente para la descarga de agua residual en cuerpo de agua dulce.
- En base a los ensayos realizados, se demuestra la capacidad de reducción de materia orgánica que presentan las algas Chlorophyta. Los datos demuestran que los tratamientos con algas T3 y T4 reducen, 76,1% ± 4,4 y T4 83,1% ± 5,9 de DBO₅ respectivamente, comparado con tratamientos sin algas T5 25,9/ ± 5,1 y T6 50,4 ± 5,7; la reducción de nitrógeno total Kjeldahl en los tratamientos con algas es T3 52,8% ± 5,3 y T4 63,1 % ± 2,3 comparado con la reducción en T5 14,9 % ± 6,6 y T6 33,3% ± 7,1; la disminución de fosfatos en los diferentes tratamientos con algas es el siguiente: T3 47,8% ± 8,7, y T4 58,9% ± 7,7, en comparación con los tratamientos sin algas es T5 14,9% ± 6,6 y T6 33,3% ± 7,1; en sulfatos los porcentajes de reducción que se presentan son : T3 58,9% ± 7,7, T4 47,8% ± 8,7, T5 con 14,9% ± 6,6 y T6 33,3± 7,1. Todos los tratamientos con algas evidencian un mayor porcentaje de reducción de materia orgánica, esto se debe a que las algas para su crecimiento requieren grandes cantidades de agua y nutrientes como nitrógeno, fosfatos, sulfatos y oligoelementos, para la producción de biomasa, utilizando estos recursos disponibles en el agua residual de camal utilizada como medio de cultivo, además en lugar de consumir el oxígeno disuelto disponible en el agua, durante su crecimiento consumen CO₂ y producen oxígeno al medio de cultivo, reduciendo la DBO₅ y creando asociaciones simbióticas con las bacterias presentes en el medio.
- El tratamiento más eficiente para la remoción de DBO₅, fosfatos, nitrógeno total Kjeldahl es T4, este tratamiento corresponde al cultivo de algas en agua residual de camal con aireación, presentando una productividad celular de 41944 (células/L.día), estadísticamente mayor a la productividad celular obtenida con medio de cultivo de 39061(células/L.día), lo que demuestra que las aguas residuales de camal constituyen un

mejor medio de cultivo para la producción de biomasa algal. Los tratamientos con aireación demuestran ser más eficientes para el crecimiento de las algas debido a que esta introduce a medio el CO₂ necesario para la respiración celular y homogeniza tanto los nutrientes disponibles como la distribución de las algas presentes en el medio, esto permite un mayor crecimiento de biomasa y como consecuencia una mayor reducción de materia orgánica. Mientras el tratamiento más eficiente para la remoción de sulfatos es T3 con 58,9% ± 7,7, esto se debe a la capacidad de ciertas especies de *Chlorophyta* para crecer en concentraciones bajas de CO₂ como organismos mixotróficos, utilizando en el proceso de respiración compuestos orgánicos como aceptor final de electrones, entre ellos los sulfatos.

RECOMENDACIONES

- La proporción de agua residual utilizada para esta investigación ha sido tomada de estudios realizados en otros países, por lo que es necesario realizar una investigación que utilice la realidad de nuestro medio en cuanto a carga contaminante, debido a que las condiciones de operación y metodología utilizada en el proceso de faenamiento difieren de un lugar a otro, lo que cambia las características físico químicas del agua utilizada en el tratamiento, por lo que es necesario realizar investigaciones bajo las condiciones locales.
- Se recomienda realizar una investigación para conocer el potencial de producción de lípidos y proteínas en la biomasa obtenida a partir de agua residual de camal y su futura utilización en productos de interés.
- Para ampliar número de cepas de algas utilizables en investigación y los rangos de conocimiento, en un futuro se debería aislar especies de otros lugares del país, y aplicarlas al tratamiento de aguas residuales y obtención de biomasa algal, comparando la eficiencia de dichas especies.
- En la búsqueda de nuevos medios con potencial para el cultivo de biomasa algal se recomienda utilizar diferentes tipos de aguas residuales, para establecer la productividad de células en variedad de medios.
- En virtud de que el agua residual de camal actúa como un limitante, se sugiere realizar ensayos de crecimiento para establecer el reactivo limitante, así evitar la fase de muerte celular durante la producción de biomasa y lograr mayores porcentajes de degradación de la materia orgánica contenida en el agua.
- Se aconseja retirar el cultivo de algas lo más rápido posible una vez entrado en fase de muerte, debido a que una vez que los organismos mueren regresan al medio todos los contaminante que se almacenan en la célula.

BIBLIOGRAFÍA

- ABINANDAN, S. y SHANTHAKUMAR, S., 2015. Challenges and opportunities in application of microalgae (Chlorophyta) for wastewater treatment: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [en línea], vol. 52, pp. 123–132. ISSN 18790690. DOI 10.1016/j.rser.2015.07.086. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.07.086>.
- AHMAD, A., BUANG, A. y BHAT, A.H., 2016. Renewable and sustainable bioenergy production from microalgal co-cultivation with palm oil mill effluent (POME): A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [en línea], vol. 65, pp. 214–234. ISSN 13640321. DOI 10.1016/j.rser.2016.06.084. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.06.084>.
- AJAYAN, K. V, HARILAL, C.C. y GANI, P., 2019. Performance of reflector coated LED Bio-box on the augmentation of growth and lipid production in aerophytic trebouxiophyceean algae *Coccomyxa* sp. *Algal Research* [en línea], vol. 38, no. April 2018, pp. 101401. ISSN 2211-9264. DOI 10.1016/j.algal.2018.101401. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.101401>.
- ALFARO, A.R. y PARADA, T.R., 2006. Sólidos Disueltos Totales (TDS) & Electroconductividad (EC). , no. 096.
- ÁLVAREZ-DÍAZ, P.D, et al, 2017. Freshwater microalgae selection for simultaneous wastewater nutrient removal and lipid production. *Algal Research* [en línea], vol. 24, pp. 477–485. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2017.02.006. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2017.02.006>.
- ANDRADE, C.E., et al, 2009. Producción de biomasa de la microalga *Scenedesmus* sp. utilizando aguas residuales de pescadería. *Revista técnica de la Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia* [en línea], vol. 32, no. 2, pp. 126–134. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/es/revista/revista-tecnica-de-la-facultad-de-ingenieria-universidad-del-zulia/articulo/produccion-de-biomasa-de-la-microalga-scenedesmus-sp-utilizando-aguas-residuales-de-pescaderia>.
- ANDRÉS, E., et al, 2016. Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en el tratamiento de aguas residuales industriales (vinazas). , pp. 1–30.
- ANDRES, G., 2011. El estado trófico de la laguna de Limoncocha en el período (febrero 2010 – enero 2011). S.l.: Universidad Internacional SEK.
- AYALA-PARRA, P., SIERRA-ALVAREZ, R. y FIELD, J.A., 2016. Algae as an electron donor promoting sulfate reduction for the bioremediation of acid rock drainage. *Journal of Hazardous Materials* [en línea], vol. 317, pp. 335–343. ISSN 0304-3894. DOI 10.1016/j.jhazmat.2016.06.011. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.06.011>.
- BARBARO, L.A., KARLANIAN, M.A. y DIEGO, M.A., 2008. Importancia del pH y la Conductividad Eléctrica (CE) en los sustratos para plantas. *CIRN. Onstituto de floricultura* [en línea], Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_-_importancia_del_ph_y_la_conductividad_elctrica.pdf.
- BHATNAGAR, A., et al, 2011. Renewable biomass production by mixotrophic algae in the presence of various carbon sources and wastewaters. *Applied Energy* [en línea], vol. 88, no. 10, pp. 3425–3431. ISSN 03062619. DOI 10.1016/j.apenergy.2010.12.064. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.064>.
- BOLADO, S., et al., 2016. Tratamiento y valorización de aguas residuales mediante microalgas. *Universidad de Valladolid*, pp. 6.

- CARVAJAL ANA MARÍA, 2015. Las algas son la base de nueva energía renovable :: Planeta :: EL COMERCIO. *Planeta* [en línea]. [Consulta: 15 marzo 2019]. Disponible en: <http://especiales.elcomercio.com/planeta-ideas/planeta/14-marzo-2015/algas-energia-renovable-biodiesel>.
- CHOI, S.A., et al., 2015. Hydrothermal acid treatment for sugar extraction from *Golenkinia* sp. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 190, pp. 408–411. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2015.04.121. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.121>.
- COCA, M., et al, 2015. Microalgae cultivation in high rate algal ponds using slaughterhouse wastewater for biofuel applications. *Chemical Engineering Journal* [en línea], vol. 285, pp. 449–458. ISSN 13858947. DOI 10.1016/j.cej.2015.09.072. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.09.072>.
- CODINA, M., GARCÍA, C. y BARÓN, J., 2012. Planta piloto de microalgas para mejoramiento del tratamiento efluentes urbanos en Catamarca, Argentina. *Mfjvohp.Ina.Gov.Ar* [en línea], no. May 2016. Disponible en: http://mfjvohp.ina.gov.ar/pdf/ifrrhh/02_012_Codina.pdf.
- DONG, X., et al., 2019. Enhancement of lipid production and nutrient removal of *Monoraphidium* sp. FXY-10 by combined melatonin and molasses wastewater treatment. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* [en línea], vol. 99, no. xxxx, pp. 123–131. ISSN 18761070. DOI 10.1016/j.jtice.2019.03.010. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2019.03.010>.
- EDITION, F., 2013. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2176 : 2013 Primera revisión. Recurso agua ,
- ESCORIHUELA, A., et al, 2007. Microalgas presentes en una laguna para pulimento de efluentes de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas Presence of microalgae in a lagoon for polishing of effluents from a treatment plant for urban wastewaters Resumen Introducción. , pp. 225–230.
- FAZAL, T., et al, 2018. Bioremediation of textile wastewater and successive biodiesel production using microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [en línea], vol. 82, no. February, pp. 3107–3126. ISSN 18790690. DOI 10.1016/j.rser.2017.10.029. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.10.029>.
- FERNÁNDEZ, J., MARTIN, M. y MOSQUERA, F., 2014. Uso de micrialgas inmovilizadas en biofilm para tratamiento de aguas residuales. [en línea], no. CONAMA, pp. 15. Disponible en: www.conama11.vsf.es/conama10/download/files/.../Paneles/1896712030_panel.pdf%0A%0A.
- FREIRE, I., et al, 2013. Cultivo de las microalgas *Tetraselmis* e *Isochrysis* T-ISO con efluentes de una piscifactoría en RAS de Portugal. *XIV Congreso Nacional de Acuicultura (Gijón-España)*, no. AS 2570-2013, pp. 3–4.
- GAO, S., et al., 2018. Incorporation of salinity, nitrogen, and shading stress factors into the Huesemann Algae Biomass Growth model. *Algal Research* [en línea], vol. 35, no. September, pp. 462–470. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2018.09.021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.09.021>.
- GARCÍA, C., ARBIB, Z. y PERALES, J.A., 2015. Cinéticas de crecimiento y consumo de nutrientes de microalgas en aguas residuales urbanas con diferentes niveles de tratamiento. *Tecnología y Ciencias del Agua*, vol. 6, no. 1, pp. 49–68. ISSN 20072422.
- GILBERTO SALAS C., C.C.C., 2008. Tratamiento de las aguas residuales de un centro de beneficio o matadero de ganado. *REVISTA PERUANA DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA* [en línea], vol. Vol 11, no. 1. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4885>.

- GÓMEZ, G., 2005. *Estudio De Los Sedimentos De La Laguna De Limoncocha* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <http://suia.ambiente.gob.ec/documents/783967/889476/Estudio+de+los+sedimentos+de+la+lagona+de+Limoncocha..pdf/6e884865-8204-4903-a6fe-6fe92c4fd084%5Chttp://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=JpAzAQAAMAAJ&oi=fnd&pg=PA6&dq=Universidad+internacional+sek&ot>.
- GÓMEZ, P., 2003. *Diagnóstico del estado trófico de la laguna de Limoncocha y determinación de la calidad del agua del sistema Hídrico de la zona de Limoncocha*. 2003. S.l.: s.n.
- GUAMÁN, C. y GONZÁLEZ, P., 2016. Catálogo De Microalgas Y Cianobacterias. [en línea], Disponible en: <http://energia.org.ec/cie/wp-content/uploads/2017/09/Catlogo-de-Microalgas-y-Cianobacterias-del-Ecuador.pdf>.
- GUERRERO JHONIERS, R.I., 2004. Manejo ambiental de residuos en mataderos de pequeños municipios. *Scientia et Technica* [en línea], vol. X, no. 26, pp. 199–204. Disponible en: https://www.academia.edu/35538344/MANEJO_AMBIENTAL_DE_RESIDUOS_EN_MATADEROS_DE_PEQUEÑOS_MUNICIPIOS.
- GUIRY, MD & GUIRY, G., Chlorella Beyerinck [Beijerinck], 1890, nom. cons. :: Algaebase. [en línea]. [Consulta: 1 marzo 2019]. Disponible en: http://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus_id=43426&sk=0.
- GUTIERRES HUMBERTO y ROMAN, D. la V.S., 2008. *Análisis y diseño de experimentos*. Segunda. Mexico: s.n. ISBN 9789701065266.
- HARRIS, E.H., 2001. Chlamydomonas As A model organism. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, vol. 52, pp. 363–406.
- HERRON, M.D., et al, 2012. Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, vol. 31, no. 1, pp. 1–46. ISSN 0735-2689. DOI 10.1080/07352689.2011.615705.
- HO, S. hsin, et al, J.S., 2013. Selection of elite microalgae for biodiesel production in tropical conditions using a standardized platform. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 147, pp. 135–142. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2013.08.028. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.028>.
- HOU, Q., et al., 2016. The effect of algae species on the bioelectricity and biodiesel generation through open-air cathode microbial fuel cell with kitchen waste anaerobically digested effluent as substrate. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 218, pp. 902–908. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2016.07.035. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.035>.
- JANKOWSKA, E., SAHU, A.K. y OLESKOWICZ-POPIEL, P., 2017. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [en línea], vol. 75, no. November 2016, pp. 692–709. ISSN 18790690. DOI 10.1016/j.rser.2016.11.045. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.045>.
- KHALID, A.A.H., et al., 2016. Enhanced growth and nutrients removal efficiency of Characium sp. cultured in agricultural wastewater via acclimatized inoculum and effluent recycling. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [en línea], vol. 4, no. 3, pp. 3426–3432. ISSN 22133437. DOI 10.1016/j.jece.2016.07.020. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2016.07.020>.
- LEI, Z., et al, 2018. Algae granulation for nutrients uptake and algae harvesting during wastewater treatment. *Chemosphere* [en línea], vol. 214, pp. 55–59. ISSN 00456535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2018.09.107. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.107>.

- LELIAERT, F., VERBRUGGEN, H. y ZECHMAN, F.W., 2011. Into the deep: New discoveries at the base of the green plant phylogeny. *BioEssays*, vol. 33, no. 9, pp. 683–692. ISSN 02659247. DOI 10.1002/bies.201100035.
- LEWIS, L.A. y LEWIS, P.O., 2005. Unearthing the molecular phylodiversity of desert soil green algae (Chlorophyta). *Systematic Biology*, vol. 54, no. 6, pp. 936–947. ISSN 10635157. DOI 10.1080/10635150500354852.
- LIN, Y., GE, J., LING, H., ZHANG, Y., YAN, X. y PING, W., 2018. Isolation of a novel strain of *Monoraphidium* sp. and characterization of its potential for A-linolenic acid and biodiesel production. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 267, pp. 466–472. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2018.07.081. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.081>.
- LUCERO, A.S., 2015. Cultivo de consorcio microalgal autóctono y biorremediación de efluentes urbanos. [en línea], pp. 64. Disponible en: http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/6529/tesis-irnr-ana-soledad-lucero.pdf.
- LUO, S., et al., 2016. Algal-microbial community collaboration for energy recovery and nutrient remediation from wastewater in integrated photobioelectrochemical systems. *ALGAL* [en línea], ISSN 2211-9264. DOI 10.1016/j.algal.2016.10.006. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.10.006>.
- M. PASQUALETTI, S. et al, 2015. Lutein production by *Coccomyxa* sp. SCCA048 isolated from a heavy metal-polluted river in Sardinia (Italy). *Journal of Environmental Protection and Ecology* [en línea], vol. 16, no. No 4, pp. 1262–1272. [Consulta: 2 marzo 2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/295113867_Lutein_production_by_coccomyxa_sp_SCCA048_isolated_from_a_heavy_metal-polluted_river_in_Sardinia_Italy.
- MAJDAH ZAWAWI AND NORIAH RAMLI, 2016. Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones. Una revisión bibliográfica. *입법학연구*, vol. 제13집 1호, no. May, pp. 31–48.
- MARKOU, G., 2015. Fed-batch cultivation of *Arthrospira* and *Chlorella* in ammonia-rich wastewater: Optimization of nutrient removal and biomass production. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 193, pp. 35–41. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2015.06.071. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.071>.
- MUÑOZ, D., 2005. Sistema de tratamiento de Aguas residuales de matadero : para para una población menor 2000 habitantes. *Facultad de Ciencias Agropecuarias* [en línea], vol. 3, no. 1, pp. 12. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6117975.pdf>.
- PÁSTOR, V. y POZO, A., 2013. *Evaluación del rol de la iluminancia, el pH y la cantidad de nutrientes en el crecimiento de la microalga Scenedesmus sp. en condiciones de laboratorio* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6013/1/UPS-QT03777.pdf>.
- PÉREZ RAMIRO, 2016. Vertederos. *Universidad Nacional de Colombia* [en línea]. [Consulta: 17 marzo 2019]. Disponible en: <https://www.slideshare.net/deivi324/vertederos-69015376>.
- QUIROZ ARITA, C.E., PEEBLES, C. y BRADLEY, T.H., 2015. Scalability of combining microalgae-based biofuels with wastewater facilities: A review. *Algal Research* [en línea], vol. 9, pp. 160–169. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2015.03.001. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2015.03.001>.
- REARTE, T.A., et al, 2018. Biological characterization of a strain of *Golenkinia* (Chlorophyceae) with high oil and carotenoid content induced by increased salinity. *Algal Research* [en línea], vol. 33, no. June 2017, pp. 218–230. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2018.05.014. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.05.014>.

- ROMERO, T., FRESNEDA, I. y HERNÁNDEZ, D., 2001. Semi-continuous culture of the microalgae *Chlorella* sp. for treatment. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, vol. 35, no. 1, pp. 42–51. ISSN 0375-538X.
- RUGNINI, L., et al., 2018. Phosphorus and metal removal combined with lipid production by the green microalga *Desmodesmus* sp.: An integrated approach. *Plant Physiology and Biochemistry* [en línea], vol. 125, no. November 2017, pp. 45–51. ISSN 09819428. DOI 10.1016/j.plaphy.2018.01.032. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.01.032>.
- SALAZAR, M., 2005. Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. *Laboratorio de Microbiología Ambiental y Tratamiento de Aguas Residuales*, pp. 64–70.
- SALAZAR, M., et al, 2002. Tratamiento de efluentes anaerobios con microalgas clorofitas (*Chlorella vulgaris* y *Sphaerocystis* sp). , pp. 2000.
- SALOMÓN, R., CRAVERO, M. y ROST, ZIMMER, A., 2013. Crecimiento de *Scenedesmus Quadricauda* en efluentes cloacales de la ciudad de Trelew, Chubut, Argentina. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 102, no. 1, pp. 282–291. ISSN 09608524. DOI 10.1016/j.apenergy.2010.11.025. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.habitatint.2015.12.024> <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.140> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3561657&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06>.
- SANTHOSH KUMAR, K., PRASANTHKUMAR, S. y RAY, J.G., 2017. Biomass yield, oil productivity and fatty acid profile of *Chlorella lobophora* cultivated in diverse eutrophic wastewaters. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* [en línea], vol. 11, no. August, pp. 338–344. ISSN 18788181. DOI 10.1016/j.bcab.2017.08.006. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2017.08.006>.
- SATHASIVAM, R., et al, 2016. Physiological and biochemical responses of the freshwater green algae *Closterium ehrenbergii* to the common disinfectant chlorine. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [en línea], vol. 133, pp. 501–508. ISSN 10902414. DOI 10.1016/j.ecoenv.2016.08.004. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.08.004>.
- SIJIL, P. V., SARADA, R. y CHAUHAN, V.S., 2019. Enhanced accumulation of alpha-linolenic acid rich lipids in indigenous freshwater microalga *Desmodesmus* sp.: The effect of low-temperature on nutrient replete, UV treated and nutrient stressed cultures. *Bioresource Technology* [en línea], pp. 404–415. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2018.11.028. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.028>.
- STEVENSON, R.N. y SOUTH, G.R., 1974. *Coccomyxa parasitica* sp. Noy. (cocco- myxaceae, chlorococcales), a parasite of giant scallops in newfoundland. *British Phycological Journal*, vol. 9, no. 3, pp. 319–329. ISSN 00071617. DOI 10.1080/00071617400650391.
- SUÁREZ, J.H., et al., 2018. Utilización de microalgas de la división Chlorophyta en el tratamiento biológico de drenajes ácidos de minas de carbón. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 19, no. 2, pp. 95–104. ISSN 0123-3475. DOI 10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.70429.
- SUBASINGHE, R.P., et al, 2003. Recent technological innovations in aquaculture. *FAO Fisheries Circular* [en línea], vol. 886, pp. 59–74. Disponible en: www.fao.org/docrep/pdf/005/y4490E/y4490E05.pdf.
- SUBÍA, S. y RUBIO AGUIAR, R.J., 2018. Evaluación de biomasa de microalgas de la laguna Limoncocha como materia prima para la obtención de biocombustibles. *Enfoque UTE* [en línea], vol. 9, no. 2, pp. 106–116. ISSN 1390-9363. DOI 10.29019/enfoqueute.v9n2.199. Disponible en: <http://orcid.org/0000-0003-2665-016X>.

- SULLIVAN, E.J., et al, 2017. Oil and gas produced water as a growth medium for microalgae cultivation: A review and feasibility analysis. *Algal Research* [en línea], vol. 24, pp. 492–504. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2017.01.009. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2017.01.009>.
- TAKAHASHI, K., et al, 2018. Lipid productivity in TALEN-induced starchless mutants of the unicellular green alga *Coccomyxa* sp. strain Obi. *Algal Research* [en línea], vol. 32, no. April, pp. 300–307. ISSN 2211-9264. DOI 10.1016/j.algal.2018.04.020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.04.020>.
- UGGETTI, E., et al, 2016. Science of the Total Environment Intermittent aeration to improve wastewater treatment efficiency in pilot-scale constructed wetland. *Science of the Total Environment, The* [en línea], vol. 559, pp. 212–217. ISSN 0048-9697. DOI 10.1016/j.scitotenv.2016.03.195. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.195>.
- VACCA, V.A., et al, 2017. Uso de la microalga *Chlorella* sp. viva en suspensión en la decoloración del agua residual de una empresa textil. *Prospectiva* [en línea], vol. 15, no. 1, pp. 1–7. ISSN 22161368. DOI 10.15665/rp.v15i1.829. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/prosp/v15n1/1692-8261-prosp-15-01-00093.pdf>.
- VARELA, G., 2004. Fisiología y metabolismo bacteriano. *Educa Madrid* [en línea], pp. 1–8. Disponible en: http://www.educa2.madrid.org/cms_tools/files/6046b373-a0b6-4737-8f6b-4553dfefcd53/10.-Fisiologia_y_metabolismo_bacteriano.pdf.
- WANG, R., et al., 2017. Identification of novel pathways for biodegradation of bisphenol A by the green alga *Desmodesmus* sp.WR1, combined with mechanistic analysis at the transcriptome level. *Chemical Engineering Journal* [en línea], vol. 321, pp. 424–431. ISSN 13858947. DOI 10.1016/j.cej.2017.03.121. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.03.121>.
- WHO, 1993. Assessment of Sources of Air, Water and Land Pollution Part One. , no. January. DOI 10.13140/RG.2.12386.7920.
- ZHANG, W.-W., et al, 2017. Enhanced lipid and biomass production using alcohol wastewater as carbon source for *Chlorella pyrenoidosa* cultivation in anaerobically digested starch wastewater in outdoors. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 247, pp. 784–793. ISSN 09608524. DOI 10.1016/j.biortech.2017.09.152. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.152>.
- ZHOU, W., et al, 2012. A hetero-photoautotrophic two-stage cultivation process to improve wastewater nutrient removal and enhance algal lipid accumulation. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 110, pp. 448–455. ISSN 09608524. DOI 10.1016/j.biortech.2012.01.063. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.063>.
- ZHOUA, H., et al, 2018. Treatment of acidic sulfate-containing wastewater using revolving algae biofilm reactors: Sulfur removal performance and microbial community characterization. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 264, pp. 24–34. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.051>.