



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR JACOBO BUCARAM ORTIZ”
CARRERA DE INGENIERIA AMBIENTAL**

**TRABAJO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO PARA LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA AMBIENTAL**

**ANÁLISIS *IN VITRO* DE EFICACIA DE MICROALGAS
INMOVILIZADAS (*CHLORELLA SP.* Y *NANNOCHLOROPSIS SP.*)
EN REMOCIÓN DE PLOMO EN AGUA, 2023**

AUTORA

MARTINEZ PARRAGA ISSABELLA MONSERRATE

TUTOR

BLGO. SANTOS PINARGOTE JAIME

GUAYAQUIL, ECUADOR

2025



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ”
CARRERA DE INGENIERIA AMBIENTAL

APROBACION DEL TUTOR

El suscrito, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor certifico que el presente trabajo de titulación: ANALISIS IN VITRO DE EFICACIA DE MICROALGAS INMOVILIZADAS (*CHLORELLA SP.* Y *NANNOCHLOROPSIS SP.*) EN REMOCIÓN DE PLOMO EN AGUA, 2023, realizado por la estudiante MARTÍNEZ PÁRRAGA ISSABELLA MONSERRATE; con cédula de identidad N° 0802912667 de la carrera de INGENIERIA AMBIENTAL, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

BLGO. SANTOS PINARGOTE JAIME OLIVER

Guayaquil, 22 de abril de 2025



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ”
CARRERA DE INGENIERIA AMBIENTAL

APROBACION DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACION

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: “ANÁLISIS *IN VITRO* DE LA EFICACIA DE MICROALGAS INMOVILIZADAS (*CHLORELLA SP.* Y *NANNOCHLOROPSIS SP.*) EN LA REMOCIÓN DE PLOMO EN AGUA, 2023”, realizado por la estudiante MARTÍNEZ PÁRRAGA ISSABELLA MONSERRATE, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Ing. Luis Morocho Rosero, MSc.

PRESIDENTE

Ing. Pedro Fuentes Vásquez, MSc.

EXAMINADOR PRINCIPAL

Blgo. Jaime Santos Pinargote, MSc.

EXAMINADOR PRINCIPAL

Guayaquil, 25 de marzo del 2025

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación en primer lugar a Dios, quien me ha dado la fortaleza y sabiduría en cada paso de este camino. A mi madre Elizabeth Párraga, por su amor incondicional, por ser mi mayor motivación para seguir adelante, por creer en mí y apoyarme en todo, por ser mi ejemplo de mujer valiente y dedicada, todo esto es gracias a ella, sin ella nada de esto sería posible. A mi tía Gloria Párraga, por apoyarme en todo este proceso, por ser mi amiga y gran confidente, por siempre motivarme a crecer como profesional. A mi tía Betty Ordoñez, por su apoyo incondicional a lo largo de estos años, por abrirme las puertas de su casa y acogirme como parte de su familia.

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios, por permitirme cumplir una de mis metas de vida, por darme salud, fortaleza y sabiduría.

A mi madre, Elizabeth Párraga por siempre impulsarme a ser mejor cada día, por demostrarme que soy capaz de cada cosa que me proponga, por siempre decirme que, si puedo, aunque muchas veces sentía que ya no, gracias por siempre estar conmigo en todo momento.

A mis tíos Gloria, Cesar y Raúl Párraga Moncayo, mis primos Didier, Fátima y Eunice Villegas Párraga por haber estado conmigo desde que era una niña, por impulsarme a ser una buena profesional, y siempre creer en mí.

A mis amigos, Nicolás Calderón, Fredy Macas, Omar Lúa, Karla Quilumba, Joselyn Medina y Diana Gutiérrez porque a lo largo de estos años de estudio se convirtieron en buenos amigos, por todos los momentos vividos en la etapa estudiantil, por ser un gran equipo de trabajo y ahora unos excelentes colegas

A mis profesores por haberme impartido sus conocimientos y haber dedicado tiempo a la formación de nosotros como profesionales y en especial a mi tutor Jaime Santos, por aportarme sus conocimientos, por ser mi guía y creer en mi durante la realización de este trabajo de titulación.

AUTORIZACION DE AUTORÍA INTELECTUAL

Yo, MARTÍNEZ PÁRRAGA ISSABELLA MONSERRATE, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre “ANÁLISIS *IN VITRO* DE EFICACIA DE MICROALGAS INMOVILIZADAS (*CHLORELLA SP.* Y *NANNOCHLOROPSIS SP.*) EN LA REMOCIÓN DE PLOMO EN AGUA, 2023” para optar por el título de INGENIERA AMBIENTAL, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 6; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 22 de abril del 2025

ISSABELLA MONSERRATE MARTÍNEZ PÁRRAGA
C.I 0802912667

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad de remoción de plomo en agua contaminada artificialmente utilizando microalgas inmovilizadas (*Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.*). Para ello, se realizaron ensayos in vitro bajo condiciones controladas en laboratorio. La metodología incluyó la caracterización del crecimiento de las microalgas en medios específicos, la determinación de la remoción de plomo mediante espectrofotometría de absorción atómica y el análisis estadístico para comparar su eficacia. Los resultados mostraron que *Nannochloropsis sp.* alcanzó un porcentaje de remoción de plomo del 67.98%, mientras que *Chlorella sp.* logró un 53.76%. La combinación de ambas especies presentó una remoción de 75.00%, sugiriendo un efecto sinérgico. Sin embargo, los análisis estadísticos (ANOVA y Kruskal-Wallis) no encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de plomo remanentes, lo que indica una eficacia comparable entre las especies. Se concluye que ambas microalgas tienen el potencial de reducir significativamente la contaminación por plomo en agua, siendo herramientas prometedoras para la biorremediación de ambientes acuáticos contaminados con metales pesados.

Palabras clave: biorremediación, cinética, contaminación, metales pesados.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the lead removal capacity in artificially contaminated water using immobilized microalgae (*Chlorella* sp. and *Nannochloropsis* sp.). Experiments were conducted in vitro under controlled laboratory conditions. The methodology involved characterizing the growth of the microalgae in specific media, measuring lead removal through atomic absorption spectrophotometry, and performing statistical analyses to compare their effectiveness. Results showed that *Nannochloropsis* sp. achieved a lead removal rate of 67.98%, while *Chlorella* sp. reached 53.76%. The combined use of both species resulted in a removal efficiency of 75.00%, suggesting a synergistic effect. However, statistical tests (ANOVA and Kruskal-Wallis) did not reveal significant differences between the residual lead concentrations, indicating similar efficacy among the species. In conclusion, both microalgae demonstrate promising potential to significantly reduce lead contamination in water, making them valuable tools for bioremediation of heavy metal-polluted aquatic environments

Keywords: bioremediation, kinetics, contamination, metals

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes del problema	1
1.2 Planteamiento y formulación del problema	3
1.2.1 Planteamiento del problema	3
1.2.2 Formulación del problema	3
1.3 Justificación de la investigación	4
1.4 Delimitación de la investigación	4
1.5 Objetivo general.....	4
1.6 Objetivos específicos	5
1.7 Hipótesis	5
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1 Estado del arte.....	6
2.2 Bases teóricas	10
2.2.1 Condiciones para el crecimiento la biomasa microalgal	10
2.2.1.1. Ensayos cinéticos	10
2.2.1.2. Medio de cultivo para microalgas.....	10
2.2.2 Biorremediación	11
2.2.3 Microalgas	12
2.2.3.1. Chlorella sp.	12
2.2.3.2. Nannochloropsis sp.....	13
2.2.4 Métodos para la detección de plomo	14
2.2.4.1. Metales pesados.....	14
2.2.4.2. Plomo.....	14
2.2.4.3. Contaminación por metales pesados.....	14
2.2.4.4. Espectrofotometría de absorción atómica.....	15
2.2.5 Modelos estadísticos	15
2.3 Marco legal	16
2.3.1 Constitución de la República del Ecuador (2008)	16
2.3.2 Ley Orgánica de Recursos Hídricos Usos y Aprovechamiento del Agua (2014)	

2.3.3 Código Orgánico del Ambiente (2017).....	16
2.3.4 Acuerdo Ministerial 097-A.....	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1 Enfoque de la investigación	20
3.1.1 Tipo de investigación	20
3.1.2 Diseño de investigación	20
3.2 Metodología	20
3.2.1 Variables.....	20
3.2.1.1. Variables independientes.....	20
3.2.1.2. Variable dependiente.....	21
3.2.2 Tratamientos.....	21
3.2.3 Diseño experimental	21
3.2.4 Recolección de datos.....	22
3.2.4.1. Recursos.....	22
3.2.4.2. Métodos y técnicas.....	22
3.2.5 Análisis estadístico	26
3.2.5.1. Análisis Shapiro-Wilk	27
3.2.5.2. Análisis ANOVA.....	27
3.2.5.3. Kruskal Wallis	27
4. RESULTADOS.....	29
4.1 Caracterización de las condiciones óptimas para el crecimiento de microalgas a nivel de laboratorio mediante ensayos de cinética de crecimiento.....	29
4.2 Determinación de la capacidad de remoción de Plomo de las dos microalgas inmovilizadas a través de análisis de espectrofotometría de absorción atómica.....	32
4.3 Comparación de la eficacia que tuvieron las dos microalgas <i>Chlorella sp.</i> y <i>Nannochloropsis sp.</i> en la remoción de Plomo mediante análisis estadísticos.....	35
4.3.1 Test de Shapiro Wilk.....	35
4.3.2 ANOVA y Kruskal-Wallis.....	36
5. DISCUSIÓN.....	38
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	41
6.1 Conclusiones	41

6.2 Recomendaciones	42
BIBLIOGRAFÍA	43
ANEXOS	51
APÉNDICES	56

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Taxonomía de Chlorella sp.</i>	13
Tabla 2. <i>Taxonomía de Nannochloropsis sp.</i>	13
Tabla 3. <i>Tratamiento dependiendo los factores especificados.</i>	21
Tabla 4. <i>Prueba de normalidad Shapiro Wilk</i>	35
Tabla 5. <i>Anova de microalgas</i>	36
Tabla 6. <i>Test de Kruskal-Wallis</i>	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Periodo de crecimiento y desviación estándar de las dos cepas de microalgas bajo pH6.....	29
Figura 2. Periodo de crecimiento y desviación estándar de las dos cepas de microalgas bajo pH7	31
Figura 3. Periodo de crecimiento y desviación estándar de las dos cepas de microalgas bajo pH8.....	32
Figura 4. Concentraciones de Pb en aguas post-análisis.....	33
Figura 5. Promedio del porcentaje de remoción de Pb.....	34
Figura 6. Comparación de eficacia en remoción de Pb	35
Figura 7. Diagrama de cajas de los análisis ANOVA Y Kruskal-Wallis.....	37

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1: Registro fotográfico del uso de laboratorio.....	51
Anexo N° 2: Certificado de pasantías.....	54
Anexo N° 3: Guía de remisión de CENAIM por donación de microalgas	55

ÍNDICE DE APÉNDICES

Apéndice N° 1: Cinética de crecimiento de <i>Chlorella</i> sp	56
Apéndice N° 2: Cinética de crecimiento de <i>Nannochloropsis</i> sp.....	56
Apéndice N° 3: Tabla de concentración de Pb y porcentaje de remoción	57

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes del problema

En la actualidad uno de los principales problemas ambientales es la contaminación de fuentes hídricas por metales pesados, esto debido a la alta toxicidad que presentan en los mares, ríos y lagos. Los cuales son liberados normalmente en ambientes acuáticos, así como a los suelos, causado por las diversas actividades antropogénicas y presenta una seria amenaza para las plantas, animales e incluso los humanos debido a su persistencia, bioacumulación, propiedad no biodegradable y su toxicidad incluso a bajas concentraciones (Pabón et al., 2020).

Siendo esto uno de los problemas más serios y emergentes en la mayoría de los países en desarrollo, por la rápida industrialización y agricultura intensiva que han generado un aumento en la cantidad de efluentes que se eliminan en cuerpos de agua naturales, dichos efluentes constituyen una de las principales fuentes de toxicidad ambiental, que pone en peligro la biota acuática y deteriora la calidad del agua (Hussain et al., 2017).

La contaminación de las fuentes hídricas en Ecuador mayormente se dan por las actividades petroleras en la Amazonía, por hidroeléctricas y represas que desvían el cauce de los ríos, también la disposición de residuos sólidos y agroquímicos, principalmente por la extracción de recursos naturales renovables y no renovables, debido a ello, las fuentes hídricas de la Amazonía se ven afectadas por la explotación indiscriminada de la minería y las industrias las cuales ponen en riesgo a las microcuencas y los ecosistemas (Cevallos y Parrado, 2018).

Según Méndez (2022) menciona en su estudio respecto a la evaluación de la contaminación por metales pesados del río Cuchipampa, Morona Santiago que existe contaminación por metales pesados en uno de sus puntos de monitoreo, donde el metal que presentó valores más elevados fue el plomo con valores de 0.004 hasta 0.0046 mg/l, la cual puede ser a causa de la presencia de minería ilegal y también la falta de tratamiento en las aguas residuales de esa localidad, lo cual demuestra el impacto que generan las actividades antropogénicas.

La biorremediación de aguas residuales a través del uso de microalgas se conoce como fitorremediación y se emplea principalmente para el tratamiento de

aguas contaminadas debido a su capacidad para eliminar compuestos como el nitrógeno en forma de amonio (NH_4) y el fósforo en forma de fosfato (PO_4^{3-}). Estos nutrientes son asimilados por las microalgas y transformados en biomasa, proteínas y componentes esenciales para la síntesis de ácidos nucleicos (Gutiérrez, 2021).

Además, las microalgas pueden reducir contaminantes orgánicos presentes en el agua, debido a que utilizan estos compuestos como fuente de carbono para su desarrollo (Carchi y Guanga, 2024). Una de sus principales ventajas es que, al ser organismos autótrofos, presentan menores requerimientos nutricionales y, en comparación con otros microorganismos como bacterias u hongos, generan una mayor producción de biomasa (Flórez, 2024). Asimismo, tras su uso en el proceso de tratamiento de aguas residuales, estas microalgas pueden ser reutilizadas como biofertilizantes.

El estudio de Pernía et al. (2018) indicaron que la determinación de cadmio y plomo en agua, sedimento y organismos bioindicadores en el Estero Salado dicen que existe evidencias de contaminación por metales pesados en el Estero Salado indicando que los valores de Cd y Pb en agua están por encima de los límites permisibles, en uno de sus puntos, Pb muestra valores de $9.277 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $14.10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, lo cual se puede dar debido a la gran cantidad de empresas que están alrededor del estero las cuales desfogon sus aguas servidas sin previo tratamiento.

En Ecuador, se ha empleado la microalga *Chlorella sp.* para evaluar su eficiencia en la remoción de contaminantes como mercurio, sulfatos, fosfatos y nitratos presentes en aguas residuales provenientes de la actividad minera, a través de un proceso de fitorremediación (Vela y otros, 2019).

Asimismo, se han desarrollado estudios sobre la obtención de biomasa a partir de microalgas, con el propósito de producir alimentos y suplementos nutricionales, debido a su alto contenido de nutrientes (Ramírez, 2022). Además, se ha investigado su aplicación en la producción de antioxidantes, ya que estas microalgas poseen la capacidad de sintetizar compuestos bioactivos, resultado de estrategias bioquímicas y moleculares que han desarrollado para adaptarse a condiciones de estrés ambiental (Holguín-Rosero, 2019).

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

Los metales pesados son un tipo de contaminante que puede ser muy dañino para el medio ambiente y la salud humana. Cuando se introducen en fuentes hídricas como ríos, lagos y acuíferos, pueden contaminar el agua y hacerla peligrosa para el consumo humano y animal, su impacto en la contaminación de las fuentes hídricas es la necesidad de reducir su liberación en el medio ambiente (Becerra, 2020).

El plomo es un metal pesado que se encuentra de forma natural en la corteza terrestre y ha sido distribuido en el ambiente, debido a fuentes fijas o móviles contaminantes antropogénica o naturales. Se puede encontrar plomo en el agua de ríos, lagos y océanos. Se atribuyen como fuentes de contaminación la pintura de paredes con compuestos de plomo, al igual que la pintura de juguetes y el uso de vasijas, utensilios de cocina de cerámica vidriada, hasta en el agua para consumo humano y en los alimentos e inclusive hasta en la leche materna (Rodríguez et al., 2016).

En el agua de mar, por ejemplo, se han encontrado concentraciones de plomo entre 0.003 y 0.20 mg/L, por lo que los peces y otros organismos que habitan en ellas incorporan el metal disponible y lo introducen en la cadena trófica. Diversos estudios han evidenciado una correlación significativa entre las concentraciones de plomo presentes en el agua de río y los niveles de este metal detectados en los tejidos blandos de moluscos y peces (Rubio et al., 2004).

Se entiende que la contaminación de plomo en el agua es un grave problema que puede generar varios impactos en el ambiente, dado que es un metal muy tóxico que al ser liberado al agua a través de distintas fuentes sea la industria, la minería, transporte y también por la mala disposición de los residuos, teniendo en cuenta que la exposición prolongada al plomo puede afectar de manera negativa la salud de las personas y es por eso que es importante tomar medidas para limitar la liberación de plomo en el medio ambiente.

1.2.2 Formulación del problema

¿Cuál será el porcentaje de remoción de Plomo al utilizar microalgas (*Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.*) como tratamiento de aguas?

1.3 Justificación de la investigación

Debido a la actividad industrial y el aumento de la población de la cual sus aguas residuales están contaminadas por una gran cantidad de metales pesados los cuales son nocivos para la salud de los humanos, es aquí donde se necesita nuevas técnicas eficientes para el tratamiento de aguas contaminadas, siendo así la biorremediación una alternativa muy eficaz que suplementaria los tratamientos normalmente usados.

Los métodos convencionales que se basan en la eliminación física o química de los contaminantes del agua a menudo implican el uso de productos químicos y procesos mecánicos para aislar y eliminar los metales pesados, lo cual puede ser muy costoso y adicionalmente generar residuos peligrosos, en cambio, la biorremediación utiliza microorganismos naturales para eliminar los metales pesados del agua, los cuales son capaces de transformar, degradar o inmovilizar metales pesados que están presentes en el agua, resultando un método eficiente en la eliminación de los contaminantes sin producir residuos.

La utilización de microalgas en la remoción de metales pesados actualmente se considera un sistema de tratamiento muy eficaz, no generan residuos tóxicos, no necesitan de materia orgánica agregada y muy poco complejo su cultivo, debido a que poseen una capacidad fitorremediadora lo cual es la eliminación o biotransformación de algún contaminante en ambientes acuáticos (Hernández y Labbé, 2014).

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** Se prepararán las muestras por medio de un estándar de concentración de Plomo en el laboratorio de microbiología de la Universidad Agraria del Ecuador.
- **Tiempo:** El desarrollo de la investigación se llevará a cabo en siete meses.
- **Población:** La propuesta de investigación está dirigida a los 3 644 891 habitantes de la Ciudad de Guayaquil (Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC], 2017).

1.5 Objetivo general

Evaluar la capacidad de remoción de Plomo en agua contaminada artificialmente, con dos especies de microalgas inmovilizadas (*Chlorella sp.*,

Nannochloropsis sp.) por medio de ensayo *in vitro* a nivel de laboratorio para la comparación de la eficacia de remoción.

1.6 Objetivos específicos

- Caracterizar las condiciones para el óptimo crecimiento de las microalgas a nivel de laboratorio, mediante ensayos de cinética de crecimiento.
- Determinar la capacidad de remoción de Plomo de las dos microalgas inmovilizadas a través de análisis de espectrofotometría de absorción atómica.
- Comparar la eficacia que tuvieron las dos microalgas *Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.* en la remoción de Plomo mediante análisis estadísticos.

1.7 Hipótesis

Las microalgas inmovilizadas (*Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.*) tendrán la capacidad de reducir las concentraciones de Plomo en agua hasta un 50% en 15 días.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Estado del arte

Arias (2017) en su estudio que trata sobre el análisis de remoción de cromo por acción de la microalga *Chlorella sp* inmovilizada en perlas de alginato demuestra que la aplicación de microalgas disminuyó la concentración en el medio ambiente, el análisis del proceso de adsorción se realizó sometiendo perlas de alginato de calcio sin *Chlorella sp* como tratamiento control; y perlas de alginato de calcio con *Chlorella sp* (25×10^6) en una solución de dicromato de potasio con aireación durante 80 minutos con tres concentraciones diferentes (mg/l): 0, 10, 50 y 100, y estableciendo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones, de los cuales se obtuvo muestras de una solución acuosa cada 10 min mismas que fueron medidas en el espectrofotómetro de absorción atómica de aspiración directa usando flama de aire-acetileno con lámpara de cromo, dando como resultado que el tratamiento de perlas de alginato con *Chlorella sp* tuvo una remoción del 61% con una concentración inicial de 10 ppm de Cromo.

Serrano (2022) en su trabajo de investigación sobre la capacidad de remoción de metales pesados por parte de microalga *Chlorella sp* y *Scirpus californicus* para su uso en humedales artificiales dice que a especie *Chlorella sp*. la cual fue sometida a crecimiento celular hasta una concentración de 6.24×10^6 cel/ml; posteriormente fue inmovilizada en perlas de alginato de sodio, para usarla en los ensayos de remoción de cadmio a concentraciones de 2 ppm, 5 ppm y 10 ppm, siendo así que de *Chlorella sp*. se obtuvieron valores de remoción significativos removiendo más del 70% del metal pesado en las tres concentraciones usadas en los ensayos.

Fernández (2023) realizó una investigación sobre la eficiencia de *Chlorella sp* en remoción de arsénico (As) en una matriz de agua destilada determinando que *Chlorella sp.*, fue eficiente para eliminar el arsénico y es un buen bioadsorbente de metaloides por contener microvellosidades en su superficie constituidas de proteínas, carbohidratos, lípidos y almidones que son afines a los metales pesados como el arsénico y otros contaminantes disueltos presentes en el agua.

El estudio de Bartra (2019) se centró en el uso de *Chlorella Vulgaris* en la remoción de Arsénico en aguas superficiales del río Uchusuma, Tacna- Perú donde se utilizó una serie de tratamientos en matraces de 500 ml con cultivos de 5ml de microalga y con concentraciones de arsénico de 20, 40, 60, 80 y 100% respectivamente, los mismos que complementaron la composición con el nutriente (Bayfoland), la evaluación de la densidad celular y crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* se realizó mediante la cámara de Neubauer de 0.1 mm de profundidad y para medir el nivel del arsénico se utilizó el test kit de HACH. Donde se tuvo como un valor inicial de 0.119mg/l de As Total y después teniendo el porcentaje de remoción mayor a 60%.

Saavedra (2020) sostiene en estudio titulado Biorremediación de aguas con metales pesados mediante biomasa microalgal se demuestra la efectividad de cuatro tipos de microalgas para la depuración de As, B, Cu, Mn, y Zn se toma como base la composición en metales pesados del río Loa, en la región de Antofagasta, debido a la importante problemática que conlleva esta contaminación, en una zona con muy importante escasez de agua. Se estudió el efecto de los principales factores de operación que afectan el proceso de biorremediación microalgal frente a la presencia de MP, empleando biomasa viva e inactiva y comparando las capacidades de biosorción tanto en disoluciones monometálicas como multimetálicas. Para ello, se evaluó el efecto de factores como pH (5.5. – 7.0 – 9.5) y tiempo de contacto (10 – 180 min) tanto en la cinética como en las isotermas de equilibrio. Estos estudios también fueron complementados con estudios de caracterización. Las pruebas lograron demostrar altas tasas de eliminación, destacándose los procesos frente a Cu, (88%, *Chlorophyceae sp.*, pH 7.0, 10 min), Mn (99.4%, *C. vulgaris*, pH 7,0, 180 min) y Zn (91.9%, *Chlorophyceae sp.*, pH 5.5, 180 min).

Adenigba et al. (2020) en su investigación sobre la evaluación de nanopartículas a base de microalgas en la adsorción de metales pesados en aguas residuales indica que utilizaron la plata (AgNPs) y nanopartículas de oro (AuNPs) se sintetizaron a *Nannochloropsis sp* y *Chlorella vulgaris* para la absorción de plomo y zinc de efluentes farmacéuticos, lo cual se determinó la concentración de zinc y plomo mediante espectrofotómetro de absorción atómica. Las AgNPs de *Nannochloropsis sp* (NN-

AgNPs) y *C. vulgaris* (CV-AgNPs) presentaron porcentajes de reducción del 70.35 % y 74.62% respectivamente para el zinc. respectivamente para el zinc. También, las nanopartículas de oro de *Nannochloropsis sp* (NN-AuNPs) y *C. vulgaris* (CV-AuNPs) tuvieron un porcentaje de reducción del 60.32% y 66.83% respectivamente para el zinc. Las CV-AgNPs (66.10%), NN-AgNPs (68.86%), CVAuNPs (57.41%) y NN-AuNPs (66.53%) redujeron la concentración de plomo, demostrando una efectividad en la remoción de metales pesados.

Quispe (2018) en su estudio sobre la biosorción de plomo en aguas contaminadas del río Rímac utilizando la microalga *Chlorella Vulgaris* indica que se cultivaron las microalgas en biorreactores de plástico con fotoperiodos de 16:8h luz y oscuridad respectivamente, aireación constante, intensidad lumínica de 800 lúmenes y a una temperatura ambiente, se usaron tres diferentes dosis de *Chlorella Vulgaris* para la muestra del río Rímac contaminada con 0.58 mg/l de plomo en donde los biorreactores de plástico tuvieron una dosificación de 10%, 20% y 30% de *Chlorella vulgaris*, a las mismas condiciones del cultivo de microalgas durante dos días, teniendo como resultados que la microalga utilizada en el estudio removió de manera positiva el metal pesado del río Rímac en un porcentaje del 92.97% en la dosis de 20%.

Vitola et al. (2021) en su investigación sobre la utilización de microalgas como alternativas para la remoción de metales pesados utilizando las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Chlorella vulgaris* en la biosorción de los metales Hg, Cd y Pb, donde sus resultados indican una diferencia significativa en la biosorción de metales pesados, donde *Chlorella vulgaris* tuvo la mayor biosorción con $94.77 \pm 1.63\%$ para Cd, $92.45 \pm 3.95\%$ de Pb y $81.78 \pm 1.36\%$ de Hg, por otro lado *Scenedesmus obliquus* removió $90.08 \pm 2.69\%$ de Cd, $86.17 \pm 1.78 \%$ de Pb y $80.2 \pm 5.49\%$ de Hg, lo que demuestra que la aplicación de las microalgas para la biosorción de metales pesados si es una buena alternativa de biorremediación.

Condor (2020) en su trabajo de investigación sobre la biorremediación de Plomo en soluciones acuosas mediadas por microalgas *Spirogyra sp.*, *Scenedesmus sp* y *Chlorella sp*, a nivel de laboratorio muestra que se evaluó el tiempo de resistencia y la biorremoción de microalgas, donde se usaron distintas concentraciones de 10, 50, 100 y 200 mg/l de plomo, en fotobiorreactores de columnas con volumen de trabajo de 570

ml, evaluando el crecimiento de cada tres días durante 15 días mediante el recuento en la cámara Neubauer, donde demostró una eficiencia de remoción de 94.72% a los diez días, demostrando ser un método eficiente para la biorremediación de aguas contaminadas con metales.

Según Leiva (2020) en su trabajo de investigación menciona que se desarrolló con el objetivo de remover iones de plomo mediante biomasa de la microalga *Chlorella Vulgaris* deshidratada, donde utilizaron el medio de cultivo Bay Folan a concentración 1 ml/l, a fotoperiodo de 12 horas e inyección de oxígeno durante el horario diurno a temperatura ambiente, se realizaron ensayos colocando en contacto 1.5, 2 y 2.5 mg/l de biomasa seca de *Chlorella Vulgaris* con soluciones de plomo a concentraciones de 22.46 y 70 mg/l y ajustando el pH a 3.5 y 7 durante 20 minutos, teniendo como resultado que la biomasa deshidratada de *Chlorella vulgaris* presentó una eficiencia entre un 27.6% y 97.2% de bioabsorción de plomo, indicando que es un microorganismo muy eficiente para la remoción de plomo en agua.

Tantte (2018) en su estudio que tiene como objetivo evaluar la capacidad de depurar el nitrógeno, fósforo y plomo de aguas residuales domésticas mediante aplicación de la microalga *Chlorella Vulgaris Beyerinck*, replicando la cepa de la microalga haciendo conteos diarios mediante la cámara de Neubauner hasta llegar a una concentración de 1.4×10^7 cel/ml, para posteriormente inmovilizarla en alginato de sodio, emplearon fotobiorreactores de luz interna con aireación constante, donde la capacidad de remoción se evaluó durante 30 días, el experimento contó con 15 unidades experimentales para un control y cuatro tratamientos con distintas concentraciones de nutrientes y plomo, dando como resultado que el tratamiento dos fue el que tuvo el mayor porcentaje de remoción de fosforo y plomo, con un 66 y 75%, teniendo en cuenta que el mayor porcentaje se dio entre la primera y segunda semana.

Chienda y Espíritu (2020) en su estudio sobre la remoción de cromo hexavalente en aguas residuales de la industria curtiembre, utilizando microalga *Scenedesmus sp.* nos dice que se realizó un cultivo cerrado de un fotoperiodo de 8/16 horas luz y oscuridad, conectado a una bomba de aire por 24 horas, una iluminación de 50 W y temperatura ambiente, con la finalidad de obtener una gran cantidad para dicho experimento, se realizó en tres grupos de nueve con tres dosis diferentes de

Scenedesmus sp. (10,30 y 50 ml), realizándose los análisis a los 7.14 y 21 días, teniendo como resultado que el tratamiento con una dosis de 50 ml de microalga en un tiempo de cultivo de 21 días fue el que demostró una gran eficiencia al remover Cromo hexavalente en un 60.8%, determinando a esta como una alternativa viable para reducir la presencia del metal pesado.

Naula y Zúñiga (2021) demuestran en su trabajo sobre el uso de la microalga *Chlorella* coinmovilizada en alginato de sodio manifiestan que la especie de alga *Chlorella* es una solución viable para el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados, porque se obtuvo un porcentaje de remoción de 70% y 97% en las diferentes pruebas sintéticas, por otro lado, los ensayos con aguas industriales los porcentajes de remoción oscilan entre 30% y 85%.

Cedeño y Guillén (2022) en su trabajo de investigación donde evalúan la biosorción del cadmio con *Padina pavonica* y *Acanthophora specifera*, donde se utilizaron tres tratamientos y tres repeticiones, las concentraciones de cadmio y los parámetros físicos como la temperatura y el pH fueron tomados en cuenta antes y después del tratamiento. Teniendo en cuenta que el lugar de estudio está expuesto a actividades antropogénicas como la actividad agrícola y también las descargas de aguas residuales. Dando como resultado que el tratamiento con más eficiencia en la remoción de metales pesados fue el T2, el cuál removió el 90% del cadmio.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Condiciones para el crecimiento la biomasa microalgal

2.2.1.1. Ensayos cinéticos

Los ensayos cinéticos implican una opción experimental simple, que es requerida, así como son importantes los reactivos en su implementación, y pueden ser de fácil acceso en algunos laboratorios, de esta forma, el control de los diversos parámetros asociados al sistema es muy riguroso, y así se evita en mayormente los problemas y errores que se asocian a los procedimientos manuales (Obeid et al., 2018).

2.2.1.2. Medio de cultivo para microalgas

Los medios de cultivo son soluciones acuosas las cuales contienen los nutrientes necesarios para el óptimo crecimiento de las microalgas, las cuales están

compuestas por vitaminas, sales inorgánicas, aminoácidos y demás nutrientes orgánicos, teniendo en cuenta también el pH, la temperatura, CO₂ y la intensidad de la luz. Estos componentes influyen en la productividad y calidad de la biomasa. Existen cultivos que se realizan en sistemas abiertos o cerrados. Se clasifican como autótrofas, heterótrofas y mixotróficas (Condor, 2020).

2.2.1.2.1. Luz.

La luz es un parámetro principal que se considera en un cultivo, en casos donde la ausencia de nutrientes, la fotosíntesis se incrementa con el aumento de la luz, para alcanzar una tasa de crecimiento específica para cada especie en su punto de saturación por luz (Hernández y Labbé, 2014).

2.2.1.2.2. pH y CO₂.

El pH se ve afectado por distintos factores como la respiración, productividad algal, alcalinidad y la productividad, el valor del pH de los medios de cultivo puede ser básico usualmente, en cambio, en monocultivos sin control puede llegar a tener valores de 11, teniendo en cuenta que el valor normal del pH no puede superar los 9. Se puede controlar con un sistema automatizado de inyección de CO₂, o también ácido (Domínguez et al., 2020).

2.2.1.2.3. Temperatura.

Es otro de los parámetros importantes para el crecimiento de las microalgas, debido a que la biomasa microalgal responde de manera continua a la temperatura ambiental, aquí la temperatura celular debe ser igual a la temperatura del medio de cultivo, así mismo interactúa con la disponibilidad de nutrientes, porque a una óptima temperatura se da el crecimiento de la biomasa microalgal (Abalde et al., 1995).

2.2.2 Biorremediación

La biorremediación es una técnica que emplea microorganismos, como bacterias, hongos y algas, o incluso enzimas, para descomponer y eliminar contaminantes derivados del petróleo, así como otras sustancias nocivas presentes en el suelo, el aire o el agua. Su principal es fomentar la actividad de estos microorganismos mediante el suministro de nutrientes y compuestos químicos que facilitan la degradación de los contaminantes (Cota et al., 2019).

En este procedimiento, las enzimas producidas por microorganismos participan activamente en la transformación o procesamiento de los contaminantes. La eficacia del proceso está influenciada por diversos factores, como la cantidad y toxicidad de los contaminantes, su facilidad para ser degradados y la capacidad disponible para supervisar y controlar el desarrollo del proceso de biorremediación (Rodríguez et al., 2022).

En la biorremediación se han empleado otros microorganismos aparte de las bacterias, como son los hongos, algas y cianobacterias las cuales ayudan a la degradación de los compuestos tóxicos que pueden existir en el suelo o agua, teniendo en cuenta la capacidad metabólica del microorganismo para degradar el contaminante (Montenegro et al., 2019).

2.2.3 Microalgas

Las microalgas son organismos fotosintéticos que se encuentran de manera natural con una amplia diversidad de taxonomías, a estas se las puede utilizar en diversos procesos industriales que comprenden desde la producción de biocombustibles hasta el aporte de insumos para la industria farmacéutica, una de las más eficientes aplicaciones de estas microalgas es para el tratamiento de aguas contaminadas en etapas del proceso de purificación (Muñiz, 2019).

Al ser microorganismos unicelulares fotosintéticos estos pueden desarrollarse en cuerpos de agua dulce o salado ya que tienen una morfología que puede tener un diámetro de 3-10 μm , llegan a resistir las condiciones ambientales en sus niveles más altos como presión osmótica, salinidad, radiación UV y también, la temperatura. Estos microorganismos no sólo se encuentran en los ecosistemas acuáticos, sino también en muchos de los ecosistemas del planeta y es por eso que se pueden encontrar una diversa cantidad de especies, que habitan en una extensa escala de condiciones ambientales (Zehr et al. 2008).

2.2.3.1. Chlorella sp.

Es una microalga que posee una estructura esférica y se extiende por el mundo, es una de las más estudiadas, debido a que garantiza el control excepcional por remover contaminantes como residuos de pesticidas, metales pesados y demás, tiene una tasa de crecimiento alta en circunstancias heterótrofas y autótrofas, llegan a

formar colonias que pueden tener 64 células, en su pared celular tiene una mezcla compuesta de glucosamina, proteínas y azúcares, además, pueden acumular una cantidad manga de metales como lo son Cr, Cu, Pb, Hg, Zn, Fe (Maldonado, 2019).

Tabla 1.

Taxonomía de Chlorella sp

Reino:	Portista (Primoplantae)
División:	<i>Chlorophyta</i>
Clase:	<i>Trebouxiophyceae</i>
Orden:	<i>Chlorellales</i>
Familia:	<i>Chlorellaceae</i>
Género:	<i>Chlorella</i>

Fuente: Maldonado, 2019 **Elaborado por:** La Autora, 2025

2.2.3.2. Nannochloropsis sp.

Es una microalga marina de color verde, se caracteriza por ser unicelular sésil, no contiene flagelos, posee una alta eficiencia fotosintética, además de que puede convertir el CO₂ en lípidos de almacenamiento como triacilgliceroles, contiene una morfología simple, donde su pared celular se constituye por polisacáridos. Su estructura bioquímica puede variar dependiendo de la intensidad de luz, salinidad, y sus nutrientes (Mora, 2022).

Tabla 2.

Taxonomía de Nannochloropsis sp

Reino:	<i>Chromista</i>
División:	<i>Ochrophyta</i>
Clase:	<i>Eustigmatophyceae</i>
Orden:	<i>Eustigmatales</i>
Familia:	<i>Monodopsidaceae</i>
Género:	<i>Nannochloropsis</i>

Fuente: Mora, 2022 **Elaborado por:** La Autora, 2025

2.2.4 Métodos para la detección de plomo

2.2.4.1. Metales pesados

Los metales pesados son un grupo de elementos que tienen propiedades metálicas, donde se incluyen semimetales, metales de transición y lantánidos, donde dependiendo de su densidad específica se incluyen al grupo donde la densidad es mayor a 5 g/cm^3 , estos normalmente son considerados tóxicos (Covarrubias y Peña, 2017).

Siendo estos unos de las principales causantes de la contaminación de los ecosistemas, debido a que se generan por las actividades humanas como la minería, actividades de tipo industrial y urbana, donde la contaminación a los cuerpos de agua está alrededor de los 200 millones de metros cúbicos diarios (Pabón et al., 2021).

2.2.4.2. Plomo

El plomo es un elemento químico metálico que se encuentra en la tabla periódica, con el número atómico 82, su símbolo es Pb, una de las cosas que destaca este metal es por su densidad y maleabilidad, también por su bajo punto de fusión, sabiendo que se lo utiliza para la elaboración de pinturas, baterías, entre otras cosas (Rosales y Quevedo, 2019).

El plomo se considera muy tóxico debido a que puede acumular y afectar de manera negativa el cuerpo humano, causando daño el sistema renal y cardiovascular, es considerado uno de los diez principales contaminantes, por lo que se lo cataloga como un metal pesado peligroso para el medio ambiente (Angulo y Beltran, 2022).

2.2.4.3. Contaminación por metales pesados

La contaminación por metales pesados es un problema de crecimiento, causado principalmente por actividades humanas. Las principales fuentes incluyen la minería, la industria metalúrgica, la agricultura, los vehículos automotores y, en algunos casos, aportes naturales en acuíferos específicos (Covarrubias y Peña, 2017). Estos metales son persistentes, lo que significa que no pueden ser creados ni eliminados mediante procesos biológicos o antropogénicos. Al ingresar en los ecosistemas acuáticos, se someten a transformaciones a través de procesos biogeoquímicos, distribuyéndose en diferentes formas con propiedades físico-químicas diversas, como material particulado ($>0,45 \mu\text{m}$), coloidal ($1 \text{ nm}-0,45 \mu\text{m}$) y especies disueltas ($=1 \text{ nm}$) (Reyes et al., 2016).

La contaminación por metales pesados ocurre principalmente a través de la inhalación y la ingesta de alimentos. Los efectos tóxicos varían según el tipo de metal, su concentración y, en ciertos casos, la edad de la población expuesta. Investigaciones sobre la presencia de metales pesados en alimentos, carne y leche han identificado al cadmio, el mercurio, el plomo y el arsénico como los elementos de mayor preocupación debido a su impacto en la salud ya sus niveles de concentración, lo que hace imprescindible su evaluación y monitoreo constante. (Reyes et al., 2016).

2.2.4.3.1. Contaminación del agua.

La contaminación del recurso hídrico es un problema grave que se produce cuando existe la introducción de sustancias ajenas al agua, los efectos de la contaminación pueden llegar a ser devastadores para los dependientes de ella, y así también, la contaminación del agua llega a afectar de manera negativa la calidad del agua para uso agrícola y otros usos de los humanos (Lopez y Herrera, 2016).

2.2.4.4. Espectrofotometría de absorción atómica

Es una técnica que sirve para determinar la concentración de cualquier elemento metálico encontrado en una muestra, este se basa en la absorción de luz por los átomos del elemento, la cantidad de luz que es absorbida se correlaciona directamente en la determinación del metal. Esta técnica es específica en elementos que presentan una línea de absorción óptica en la región del espectro en el cual se realiza la medición (Palacios et al., 1982).

2.2.5 Modelos estadísticos

Los modelos estadísticos aparte de usarse en ciencias ambientales y ecológicas, también se usan en otras ramas, donde se observa un uso de estos datos fundamentalmente relacionados con análisis de regresión, los cuales requieren de una eficaz labor tanto en la organización como en el desarrollo de la investigación científica, generando así una gran atribución en la aplicación de los modelos, teniendo también el apoyo de muchas tecnologías de información y comunicación (Oliva, 2018).

La estimación de modelos de relación que se genera por cada componente se realiza utilizando herramientas estadísticas como gráficos de control, ANOVA las cuales permiten obtener información del proceso con niveles de confianza altos y

estadísticamente predeterminados, los que aseguran que la información está en un estado de control (Gras, 2010).

2.3 Marco legal

2.3.1 Constitución de la República del Ecuador (2008)

Capítulo segundo: Biodiversidad y recursos naturales

Sección sexta: Agua

Art. 411.- El Estado garantizará la conservación, recuperación y manejo integral de los recursos hídricos, cuencas hidrográficas y caudales ecológicos asociados al ciclo hidrológico. Se regulará toda actividad que pueda afectar la calidad y cantidad de agua, y el equilibrio de los ecosistemas, en especial en las fuentes y zonas de recarga de agua (p.176).

2.3.2 Ley Orgánica de Recursos Hídricos Usos y Aprovechamiento del Agua (2014)

Título II:

Recursos hídricos, capítulo: definición, infraestructura y clasificación de los recursos hídricos.

Art. 13.- Formas de conservación y de protección de fuentes de agua. Constituyen formas de conservación y protección de fuentes de agua: las servidumbres de uso público, zonas de protección hídrica y las zonas de restricción (p.5)

Capítulo III

Derechos de la naturaleza

Art. 64.- Conservación del agua. La naturaleza o Pacha Mama tiene derecho a la conservación de las aguas con sus propiedades como soporte esencial para todas las formas de vida.

b) El mantenimiento del caudal ecológico como garantía de preservación de los ecosistemas y la biodiversidad

c) La preservación de la dinámica natural del ciclo integral del agua o ciclo hidrológico

d) La protección de las cuencas hidrográficas y los ecosistemas de toda contaminación (p.19).

2.3.3 Código Orgánico del Ambiente (2017)

Libro tercero de la calidad ambiental,

Título II sistema único de manejo ambiental.

Capítulo V: Calidad de los componentes abióticos y estado de los componentes bióticos.

Art. 196.- Tratamiento de aguas residuales urbanas y rurales. Los Gobiernos Autónomos Descentralizados Municipales deberán contar con la infraestructura técnica para la instalación de sistemas de alcantarillado y tratamiento de aguas residuales urbanas y rurales, de conformidad con la ley y la normativa técnica expedida para el efecto. Asimismo, deberán fomentar el tratamiento de aguas residuales con fines de reutilización, siempre y cuando estas recuperen los niveles cualitativos y cuantitativos que exija la autoridad competente y no se afecte la salubridad pública.

Cuando las aguas residuales no puedan llevarse al sistema de alcantarillado, su tratamiento deberá hacerse de modo que no perjudique las fuentes receptoras, los suelos o la vida silvestre. Las obras deberán ser previamente aprobadas a través de las autorizaciones respectivas emitidas por las autoridades competentes en la materia (p.54).

Art. 209 De la calidad del agua. - Son las características físicas, químicas y biológicas que establecen la composición del agua y la hacen apta para satisfacer la salud, el bienestar de la población y el equilibrio ecológico. La evaluación y control de la calidad de agua, se la realizará con procedimientos analíticos, muestreos y monitoreo de descargas, vertidos y cuerpos receptores; dichos lineamientos se encuentran detallados en el Anexo I. En cualquier caso, la Autoridad Ambiental Competente, podrá disponer al Sujeto de Control responsable de las descargas y vertidos, que realice muestreos de sus descargas, así como del cuerpo de agua receptor. Toda actividad antrópica deberá realizar las acciones preventivas necesarias para no alterar y asegurar la calidad y cantidad de agua de las cuencas hídricas, la alteración de la composición fisicoquímica y biológica de fuentes de agua por efecto de descargas y vertidos líquidos o disposición de desechos en general u otras acciones negativas sobre sus componentes, conllevará las sanciones que correspondan a cada caso (p.58).

Art. 210 Prohibición. - De conformidad con la normativa legal vigente:

- a) Se prohíbe la utilización de agua de cualquier fuente, incluida las subterráneas, con el propósito de diluir los efluentes líquidos no tratados;
- b) Se prohíbe la descarga y vertido que sobrepase los límites permisibles o criterios de calidad correspondientes establecidos en este Libro, en las normas técnicas o anexos de aplicación;
- c) Se prohíbe la descarga y vertidos de aguas servidas o industriales, en quebradas secas o nacimientos de cuerpos hídricos u ojos de agua; y,
- d) Se prohíbe la descarga y vertidos de aguas servidas o industriales, sobre cuerpos hídricos, cuyo caudal mínimo anual no esté en capacidad de soportar la descarga; es decir que, sobrepase la capacidad de carga del cuerpo hídrico.

Art. 211 Tratamiento de aguas residuales urbanas y rurales. - La Autoridad Ambiental Competente en coordinación con la Agencia de Regulación y Control del Agua, verificará el cumplimiento de las normas técnicas en las descargas provenientes de los sistemas de tratamiento implementados por los Gobiernos Autónomos Descentralizados. Las actividades productivas, se sujetarán a lo dispuesto en el presente Libro y a la normativa técnica que para el efecto emita la Autoridad Ambiental Nacional. La gestión y el mantenimiento de sistemas de tratamiento de agua deberán ser monitoreados y evaluados por medio de los mecanismos de control y seguimiento establecidos en este Libro.

2.3.4 Acuerdo Ministerial 097-A

ANEXO 1 DEL LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE: NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES AL RECURSO AGUA

NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES: RECURSO AGUA

5.2.4 Normas generales para descarga de efluentes a cuerpos de agua dulce

5.2.4.1 Dentro del límite de actuación, los municipios tendrán la facultad de definir las cargas máximas permisibles a los cuerpos receptores de los sujetos de control, como resultado del balance de masas para cumplir con los criterios de calidad para defensa de los usos asignados en condiciones de caudal crítico y cargas contaminantes futuras. Estas cargas máximas serán aprobadas y validadas por la Autoridad Ambiental Nacional y estarán consignadas en los permisos de descarga.

Si el sujeto de control es un municipio, este podrá proponer las cargas máximas permisibles para sus descargas, las cuales deben estar justificadas técnicamente; y serán revisadas y aprobadas por la Autoridad Ambiental Nacional.

5.2.4.2 La determinación de la carga máxima permisible para una descarga determinada se efectúa mediante la siguiente relación desarrollada a través de un balance de masa, en el punto de descarga, en cualquier sistema consistente de unidades:

$Q_e.C_e = (Q_e + Q_r)C_c - Q_r C_r$ En donde:

C_e = concentración media diaria (del contaminante) máxima permitida en la descarga (o efluente tratado), para mantener el objetivo de calidad en el tramo aguas abajo de la descarga, en condiciones futuras.

C_c = concentración media diaria igual al criterio de calidad para el uso asignado en el tramo aguas abajo de la descarga.

C_r = concentración del contaminante en el tramo aguas arriba de la descarga, cuyo valor debe ser menor que la concentración que el criterio de calidad

Q_c, Q_r = caudal crítico de cuerpo receptor, generalmente correspondiente a un período de recurrencia de 10 años y siete días consecutivos o caudal con una garantía del 85%, antes de la descarga o caudal ambiental.

Q_e = Caudal de la descarga en condiciones futuras (generalmente se considera de 25 años, período que es el utilizado en el diseño de las obras de descontaminación).

5.2.4.3 Ante la inaplicabilidad para un caso específico de algún parámetro establecido en la presente norma o ante la ausencia de un parámetro relevante para la descarga bajo estudio, la Autoridad Ambiental Nacional deberá establecer los criterios de calidad en el cuerpo receptor para los caudales mínimos y cargas contaminantes futuras. La carga máxima permisible que deberá cumplir el sujeto de control será determinada mediante balance de masa del parámetro en consideración. La Entidad Ambiental de Control determinará el método para el muestreo del cuerpo receptor en el área de afectación de la descarga, esto incluye el tiempo y el espacio para la realización de la toma de muestras.

5.2.4.4 Para el caso en el cual el criterio de calidad es la concentración de bacterias, la correspondiente modelación bacteriana es de carácter obligatorio, como parte de un Plan Maestro de Control de la Contaminación del Agua.

5.2.4.5 En los tramos del cuerpo de agua en donde se asignen usos múltiples, las normas para descargas se establecerán considerando los valores más restrictivos de cada uno de los parámetros fijados para cada uno.

5.2.4.6 En condiciones especiales de ausencia de estudios del cuerpo receptor, se utilizarán los valores de la TABLA 9 de limitaciones a las descargas a cuerpos de agua dulce, con el aval de la Autoridad Ambiental Competente. Las concentraciones corresponden a valores medios diarios.

5.2.4.7 Los lixiviados generados en los rellenos sanitarios cumplirán con las normas fijadas considerando el criterio de calidad de acuerdo al uso del cuerpo receptor.

Adicionalmente, los límites máximos permisibles para descarga de estos lixiviados a cuerpos de agua, se regirán conforme a la normativa ambiental emitida para el efecto.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1 Tipo de investigación

Para esta investigación se utilizó dos tipos de investigaciones: experimental y de laboratorio.

Investigación de laboratorio: Se clasifica como investigación de laboratorio ya que se desarrolló en un entorno controlado (Nájera y Paredes, 2017), específicamente en un laboratorio. Este enfoque permitió aplicar un método sistemático para examinar una hipótesis, con el objetivo de obtener resultados que respalden la viabilidad de los objetivos planteados.

Investigación experimental: Este enfoque comprende una serie de actividades técnicas y metódicas diseñadas para recolectar la información y los datos necesarios sobre el tema de estudio (Galarza, 2021).

En este caso, se llevaron a cabo distintos tratamientos para evaluar la eficacia de la reducción de plomo en agua utilizando microalgas (*Chlorella sp*, *Nannochloropsis sp*) través de diversos ensayos con tratamientos específicos.

3.1.2 Diseño de investigación

El diseño propuesto en esta investigación se centró en analizar la eficiencia en la remoción de plomo por medio de dos cepas de microalgas inmovilizadas (*Chlorella sp* y *Nannochloropsis sp*) en agua. Para ello, se realizaron ensayos *in vitro* en condiciones de laboratorio. El diseño experimental incluyó la evaluación cinematográfica de la reproducción de biomasa mediante cultivos discontinuos. Posteriormente, se determinarán las concentraciones de plomo eliminadas mediante el uso de las microalgas. Finalmente, se analizaron los niveles de remoción logrados por las distintas cepas utilizando modelos estadísticos.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1. Variables independientes.

- Concentración inicial de plomo ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) en agua a través de ensayo *in vitro* a nivel de laboratorio.
- Cepa de microalga inmovilizada ($\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$). (*Chlorella sp*).

- Cepa de microalga inmovilizada (cel·ml⁻¹). (*Nannochloropsis sp.*)
- pH.
- Salinidad (ppt).
- Solidos suspendidos (mg/l).
- Temperatura
- Tiempo

3.2.1.2. Variable dependiente.

- Concentración final de plomo (mg·l⁻¹) en agua a través de ensayo *in vitro* que son tratadas con las cepas de microalgas (*Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.*).

3.2.2 Tratamientos

En la Tabla 3 se presentan los dos tratamientos con cepas de microalgas (*Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.*) para la remoción de plomo en agua, a través de ensayo *in vitro* con cuatro réplicas.

Tabla 3.

Tratamiento dependiendo los factores especificados

Tratamientos	Descripción	Concentración (Pb/ H ₂ O)(mg/l)	Réplicas	Tiempo
T1	<i>Chlorella sp</i> 9x10 ⁶ cel·ml ⁻¹	0.02 mg/l	3	15 días
T2	<i>Nannochloropsis sp.</i> 9x10 ⁶ cel·ml ⁻¹	0.02 mg/l	3	15 días
T3	<i>Nannochloropsis sp/Chlorella sp.</i> 9x10 ⁶ cel·ml ⁻¹	0.02 mg/l	3	15 días
Blanco 1	E1	0.02 mg/l	3	15 días

Elaborado por: La Autora, 2025

3.2.3 Diseño experimental

Se instaurará el diseño experimental DCA, con los dos tratamientos que se indicaron con anterioridad en la Tabla 3 con la finalidad de homogenizar los datos, usando la prueba ANOVA al 5% de significancia.

3.2.4 Recolección de datos

El progreso de la investigación se la realizará con la utilización de los siguientes materiales y recursos.

3.2.4.1. Recursos

Recursos institucionales: Laboratorio Bureau Veritas S.A para el análisis de muestras.

3.2.4.1.1. Materiales.

- Placa Petri de vidrio de 10 cm de diámetro
- Botellas de vidrio 475 ml
- Espátula de mango plástico y lamina de acero inoxidable
- Llaves triples de pecera
- Manguera transparente de 10 m
- Matraz de Erlenmeyer de 2000 ml de capacidad
- Probeta de vidrio con capacidad 2000 ml
- Balanza analítica con precisión de 0.001 g
- Matraces 100 y 50 ml
- Viales 1 ml
- Tapas de matraces

3.2.4.1.2. Equipos.

- Autoclave
- Incubadora
- Microscopio
- Bomba de aire
- Estufa Corning PC-620D
- Espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer

3.2.4.2. Métodos y técnicas.

Durante el proceso de investigación se requirió la recolección de información y datos estadísticos necesarios para poder obtener los resultados que demuestren los objetivos específicos planteados en este proyecto.

3.2.4.2.1. Caracterización de las condiciones para el óptimo crecimiento de las microalgas, mediante ensayos de cinética.

El modelo de crecimiento se desarrolló siguiendo las siguientes directrices:

Preparación de la muestra: Se contamina artificialmente una muestra de agua con plomo, manteniendo el control bajo los lineamientos de la normativa AM 097-A.

Material biológico: Se utilizaron las microalgas *Chlorella sp.* Y *Nannochloropsis sp.* Que se obtuvieron de los laboratorios del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM).

Medio de cultivo: Se utilizó como medio base el Guillard F2 sin metasilicato. Para preparar los medios de cultivo neutros, se empleó agua destilada previamente fertilizada con soluciones concentradas de nutrientes del medio de cultivo F/2.

El experimento se realizó en botellas de vidrio de 475 ml con 300 ml de medio de cultivo F/2, partiendo inóculo inicial de 2×10^4 cel/ml. El diseño experimental fue unifactorial completamente aleatorio, con la luz como variable independiente en un nivel, donde la luz blanca se usaba como control. Cada tratamiento se replicó tres veces, sumando un total de 12 unidades experimentales. Los cultivos se mantuvieron bajo condiciones controladas: pH 6, pH 7, pH 8, salinidad de 35 UPS, intensidad lumínica de $60 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de 25°C y aireación constante.

Se tomaron muestras cada 24 horas para determinar el crecimiento mediante un conteo celular con una cámara de Neubauer. Además, se realizó análisis de síntesis bioquímica mediante la recolección de alícuotas tras 72 horas desde el inicio del ensayo. Las muestras seleccionadas correspondieron a las fases de crecimiento: exponencial, estacionaria y de declive, registrando promedios para el análisis final.

Composición del medio de cultivo Guillard F/2: $\text{NaNO}_3 \text{ H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, FeCl_3 , Na_2EDTA , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y vitamina B1, H Y B12.

Establecimiento de los parámetros de crecimiento:

Metales trazas: H_3BO_3 2.86 g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.81 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22 g, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 0.39 g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.08 g, $\text{Co} (\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g.

Densidad celular: Diariamente se tomaron alícuotas de 1 ml de cultivo en microtubos para realizar recuentos celulares con una cámara de Neubauer,

identificando morfotipos unicelulares y cenobiales. La densidad celular se calculó con la fórmula:

$$N \text{ cel/mL} = (N \text{ de células contadas} / N \text{ de cuadros contados}) \times 10$$

Inmovilización con Alginato de Sodio: La biomasa de las cepas de microalgas se obtuvo mediante un proceso de cinética de crecimiento. El pellet generado se mezcló con una solución de alginato de sodio al 16%, manteniendo una proporción de 0,5 g de biomasa por gramo de alginato. Posteriormente, esta mezcla se homogeneizó con una solución de cloruro de calcio al 4%.

➤ Determinación de los parámetros de crecimiento

La densidad celular se evaluó diariamente siguiendo el protocolo establecido por Arredondo y Voltolina. Este procedimiento consistió en realizar un contacto celular directo utilizando un hematocitómetro o cámara de Neubauer de 0,1 mm de profundidad. Para ello, las muestras se fijaron con 20 μL de Lugol. La fórmula empleada para calcular la densidad celular fue:

$$dc = \frac{nc}{N} \times 10^4 \times fd \text{ (ecuación 1)}$$

Dónde:

dc= Densidad celular

nc= Número de células

N= Número de cuadrantes contados

fd= Factor de dilución (dilución de la muestra).

Los resultados fueron expresados en célula/ml.

El tiempo de duplicación y la velocidad de crecimiento celular fueron estimados usando la fórmula propuesta por Becker (1994):

$$\mu = \frac{\text{Ln } X_1 - \text{Ln } X_0}{t_1 - t_0} \text{ (ecuación 2)} \quad t_d = \text{Ln}2 / \mu \text{ (ecuación 3)}$$

Dónde:

μ = Velocidad de crecimiento

t_1 t_0 = Tiempo que transcurrió entre los intervalos escogidos.

X_1 X_0 = Corresponde a la densidad celular final e inicial del intervalo de tiempo escogido

t_d = tiempo de duplicación de los cultivos

$\ln 2 =$ Logaritmo natural de dos

Por ende, se calculó la velocidad de crecimiento acumulada mediante la suma diaria de las velocidades de crecimiento, lo que permitirá identificar las diferentes fases de crecimiento y representarlas gráficamente. Basándose en estos resultados, se seleccionaron los días correspondientes a las fases de crecimiento exponencial, estacionaria y de declive, los cuales sirvieron como base para los análisis de síntesis bioquímica.

3.2.4.2.2. Determinación de la capacidad de remoción de Plomo de las dos microalgas inmovilizadas mediante espectrofotometría de absorción atómica.

Las muestras se procesaron en el laboratorio Bureau Veritas SA, aplicando el protocolo EPA3015A para determinar las concentraciones de plomo. Antes del análisis, las muestras fueron tratadas durante 15 días con las microalgas inmovilizadas (*Chlorella sp.* Y *Nannochloropsis sp.*).

Determinación de Metales pesados en muestra de agua

El protocolo EPA3015A es un método analítico desarrollado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) que tiene como propósito la extracción de metales pesados en muestras de sedimentos, suelos y aguas. Este procedimiento emplea una solución de ácido nítrico y se complementa con la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, utilizando atomización en horno de grafito.

Preparación de las muestras previo análisis:

- Se utilizó una probeta de 100 ml para medir exactamente 40 ml de la muestra de agua;
- Los 40 ml se transfirieron a un matraz Erlenmeyer de 150 ml;
- Se añadieron 5 ml de ácido nítrico a la muestra;
- La mezcla se calentó en una estufa a 300 °C hasta alcanzar el punto de ebullición;
- Posteriormente, se retiró el matraz de la estufa y se dejó enfriar;
- La muestra enfriada se transfirió a un matraz aforado de 50 ml previamente rotulado para su identificación;

- Finalmente, se aforó el volumen del matraz con agua tipo I hasta alcanzar los 50 ml.

Análisis de plomo en agua

- La muestra contenida en el matraz de 50 ml se vertió en un vial de 1 ml;
- Los viales preparados se organizaron en una gradilla;
- La gradilla fue colocada en el espectrofotómetro de absorción atómica y se ajustó la posición de la punta de los viales;
- Se seleccionó el método de análisis denominado “Plomo-horno”;
- En el sistema Syngistix, se configuró una lista para indicar al equipo la posición de cada vial en la gradilla;
- Finalmente, se inició el análisis y se esperaron los resultados generados por el equipo.

3.2.4.2.3. Comparación de la eficacia que tuvieron las dos microalgas *Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.* en la absorción de Plomo.

Para comparar los niveles de remoción de plomo utilizando las dos microalgas inmovilizadas (*Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.*), se realizaron tres réplicas de cada muestra. Los datos obtenidos se registraron en tablas de Excel y posteriormente se procesaron en el software estadístico Statgraphics 18. Este análisis permitió identificar diferencias significativas mediante el nivel de significancia (p-valor). Además, se compararán las estadísticas de los medios para determinar cuál tratamiento mostró un mejor desempeño en la remoción de plomo.

3.2.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis ANOVA, que sirvió para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos que se plantearon y las variables estudiadas. Este ayudó para comparar los valores medios de las concentraciones de Plomo (mg/l^{-1}) para los dos tipos de microalgas incluido el control. Se realizó también una prueba de normalidad de Shapiro- Wilk, la cual nos ayudó a indicar si el valor de la prueba fue mayor o igual a 0,05 en la concentración de Plomo.

3.2.5.1. Análisis Shapiro-Wilk

Es un análisis que originalmente se usa para tamaños de muestra pequeños ($n < 50$), esta prueba sirve para detectar las desviaciones de la normalidad, ya sea debido a la curtosis o la asimetría, o ya sea por ambos. Se utilizó el test para determinar si los datos de remoción de plomo seguían una distribución normal.

Las hipótesis a contrastar estarán establecidas de la siguiente manera:

- H_0 : la muestra sigue una distribución normal
- H_1 : la muestra NO sigue una distribución normal

3.2.5.2. Análisis ANOVA.

Es una técnica que se utiliza para comparar las medias de dos o más conjuntos de datos, ayuda al análisis de la variación en los datos y medir si hay diferencias significativas entre los datos que se están comparando, sirve como una herramienta útil en las investigaciones porque conlleva a que puedan entender cómo influyen los diferentes factores en las mediciones (Contreras, 2023).

La hipótesis en el análisis ANOVA se da de la siguiente manera:

- H_0 = medias de los grupos son iguales
- H_1 = no todas las medias de los grupos son iguales
- Al menos una de las medias es distinta.

3.2.5.3. Kruskal Wallis

La prueba de Kruskal-Wallis, también conocida como "ANOVA de rangos" o "ANOVA no paramétrico," permite determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre dos o más grupos de variables independientes en un sistema de análisis. Se utilizó esta prueba debido a que los datos no mostraron una distribución normal. Esta prueba no especifica si existen desviaciones en los grupos comparados, sino que señala cuáles son diferentes entre sí. Es importante contar con al menos cinco muestras por grupo para aplicar esta prueba, la cual se rige por la siguiente ecuación:

$$KW = \frac{12}{n(n+1)} \left(\frac{T_1^2}{n_1} + \frac{T_2^2}{n_2} + \dots + \frac{T_k^2}{n_k} \right) - 3(n+1)$$

Donde n_i representa el tamaño de las muestras, n es el número total de muestras y T_i denota la suma de los rangos de cada grupo. Para obtener el valor de significancia estadística o valor-p asociado a este resultado.

4. RESULTADOS

4.1 Caracterización de las condiciones óptimas para el crecimiento de microalgas a nivel de laboratorio mediante ensayos de cinética de crecimiento.

4.1.1 Condiciones bajo Ph6

El crecimiento de la cepa de la microalga *Chlorella sp.* tuvo un periodo de 8 días, donde se inició con un inóculo de $2 \times 10^4 \pm 0$ por medio de cultivo Guillard F2 en un periodo de 8 días.

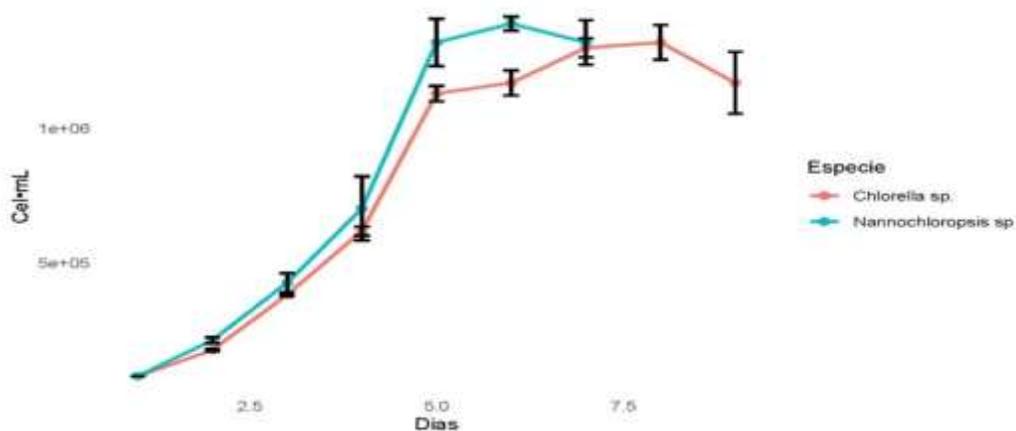
Chlorella sp. registro un crecimiento en el día 3 con un promedio de $3.83 \times 10^5 \pm 3.82 \times 10^3$. El punto con mayor crecimiento fue en el día 7 con un promedio de $1.32 \times 10^6 \pm 6.47 \times 10^4$, pero en el día 8 presento una reducción en su crecimiento con $1.17 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$ cel/ml, ver Figura 1.

El crecimiento de la cepa de la microalga *Nannochloropsis sp.* se muestra en la Figura 1, se trabajó con un inóculo de $2 \times 10^4 \pm 0$ por medio de cultivo Guillard F2 tuvo durante un periodo de 6 días.

Nannochloropsis sp. presente un crecimiento desde el día 2 teniendo un promedio de $2.14 \times 10^5 \pm 1.07 \times 10^4$, el pico más elevado se registró el día 5 alcanzando un promedio de $1.39 \times 10^6 \pm 2.54 \times 10^4$. En el día 6 se presentó una reducción del crecimiento celular con $1.32 \times 10^6 \pm 8.28 \times 10^4$, empezando su fase de muerte como se logra observar en la Figura 1.

Figura 1.

Periodo de crecimiento y desviación estándar de las dos cepas de microalgas bajo pH6



Elaborado por: La Autora, 2025

4.1.2 Condiciones bajo Ph7

El crecimiento de las microalgas *Chlorella sp* se muestra en la Figura 2. Se trabajó con un inóculo inicial de 2×10^4 cel/ml en un cultivo Guillard F2 durante un periodo de 11 días.

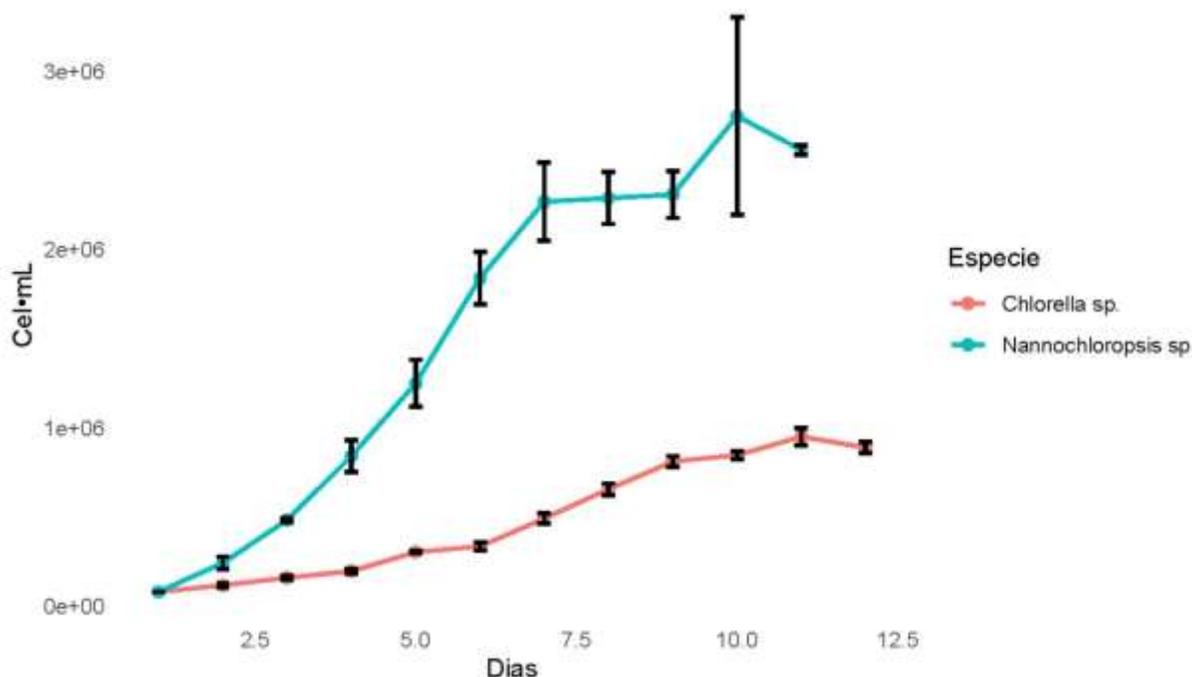
La cinética de crecimiento de *Chlorella sp.* mostró un incremento progresivo en la densidad celular a lo largo de 11 días de cultivo. La fase exponencial comenzó alrededor del día 4, con un aumento pronunciado hasta el día 10, donde se registró la mayor densidad celular $9.51 \times 10^5 \pm 4.78 \times 10^4$. Posteriormente, en el día 11, la densidad disminuyó ligeramente a $8.9 \times 10^5 \pm 3.12 \times 10^4$, sugiriendo el inicio de la fase estacionaria o de declinación.

El crecimiento de la cepa de la microalga *Nannochloropsis sp.* se muestra en la Figura 2, se trabajó con un inóculo de $2 \times 10^4 \pm 0$ por medio de cultivo Guillard F2 tuvo durante un periodo de 6 días.

Nannochloropsis sp. presentó un crecimiento más acelerado y alcanzó densidades celulares considerablemente mayores en comparación con *Chlorella sp.*. Desde el inicio del cultivo, la población celular aumentó rápidamente, alcanzando 8.42×10^5 en el día 4, lo que indica un período exponencial más corto. La mayor densidad celular se registró en el día 9, con un valor de $2.75 \times 10^6 \pm 5.54 \times 10^4$, seguido de una ligera disminución en el día 10 $2.56 \times 10^6 \pm 2.76 \times 10^4$.

Figura 2.

Periodo de crecimiento y desviación estándar de las dos cepas de microalgas bajo pH7



Elaborado por: La Autora, 2025

4.1.3 Condiciones bajo Ph8

El crecimiento de las microalgas *Chlorella sp* se muestra en la Figura 3. Se trabajó con un inóculo inicial de 2×10^4 cel/ml en un cultivo Guillard F2 durante un periodo de 20 días.

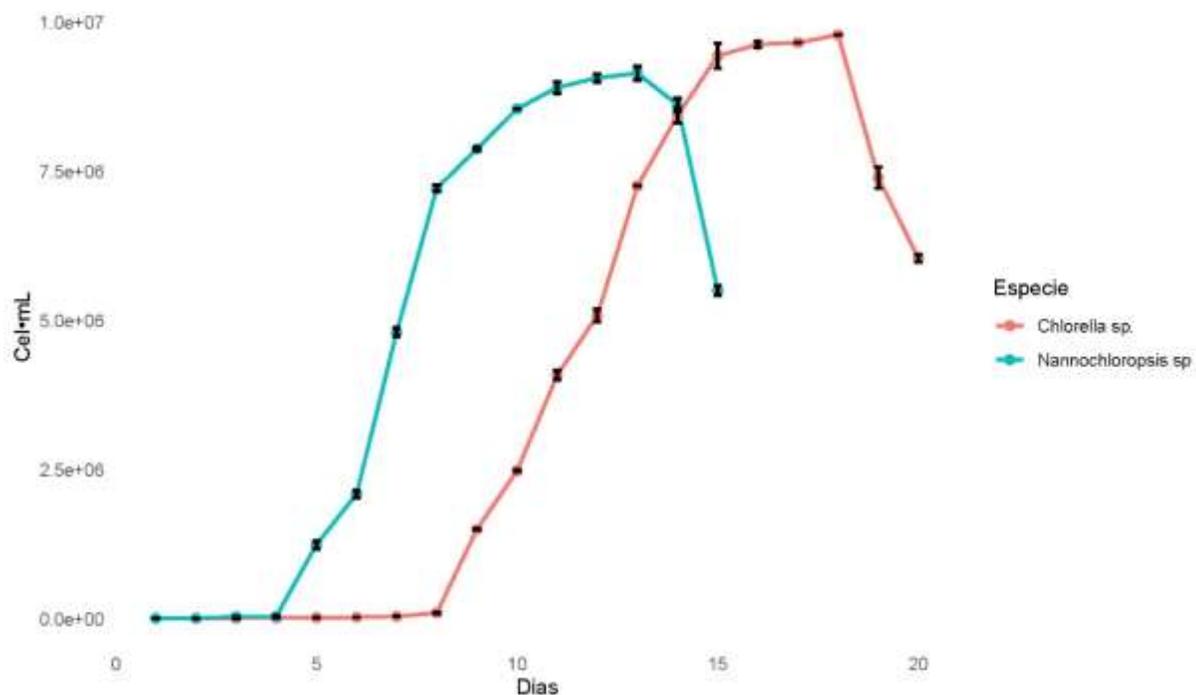
En el día 5 presentó un incremento de densidad con un promedio de $3.03 \times 10^4 \pm 6.08 \times 10^2$. Uno de los puntos con mayor crecimiento se registró el día 8 con un promedio de $1.08 \times 10^5 \pm 2.56 \times 10^3$, el día 18 fue el último con mayor crecimiento, alcanzando un promedio de $9.79 \times 10^6 \pm 0$. El día 19 se presentó una reducción del crecimiento celular con un promedio de $7.4 \times 10^6 \pm 1.78 \times 10^5$ cel/ml, de esta manera iniciando su fase de muerte como se puede ver en Figura 3.

El crecimiento de la cepa de la microalga *Nannochloropsis sp.* tuvo un periodo de 15 días, donde se inició con un inóculo de $2 \times 10^4 \pm 0$ por medio de cultivo Guillard F2 en un periodo de 15 días.

El crecimiento de *Nannochloropsis sp.* tuvo un periodo de 15 días, donde el día 5 tuvo un incremento por un promedio de $1.25 \times 10^6 \pm 6.4 \times 10^4$. Uno de los puntos con mayor crecimiento se registró en el día 11 con $8.9 \times 10^6 \pm 9.7 \times 10^4$; seguido de $9.07 \times 10^6 \pm 6.78 \times 10^4$, siendo el día 13 con mayor crecimiento con un promedio de $9.15 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$. En el día 14 se presentó una reducción del crecimiento celular con un promedio de $8.62 \times 10^6 \pm 1.06 \times 10^5$, iniciando de esta manera su fase de muerte como podemos ver en la Figura 3.

Figura 3.

Periodo de crecimiento y desviación estándar de las dos cepas de microalgas bajo pH8



Elaborado por: La Autora, 2025

4.2 Determinación de la capacidad de remoción de Plomo de las dos microalgas inmovilizadas a través de análisis de espectrofotometría de absorción atómica.

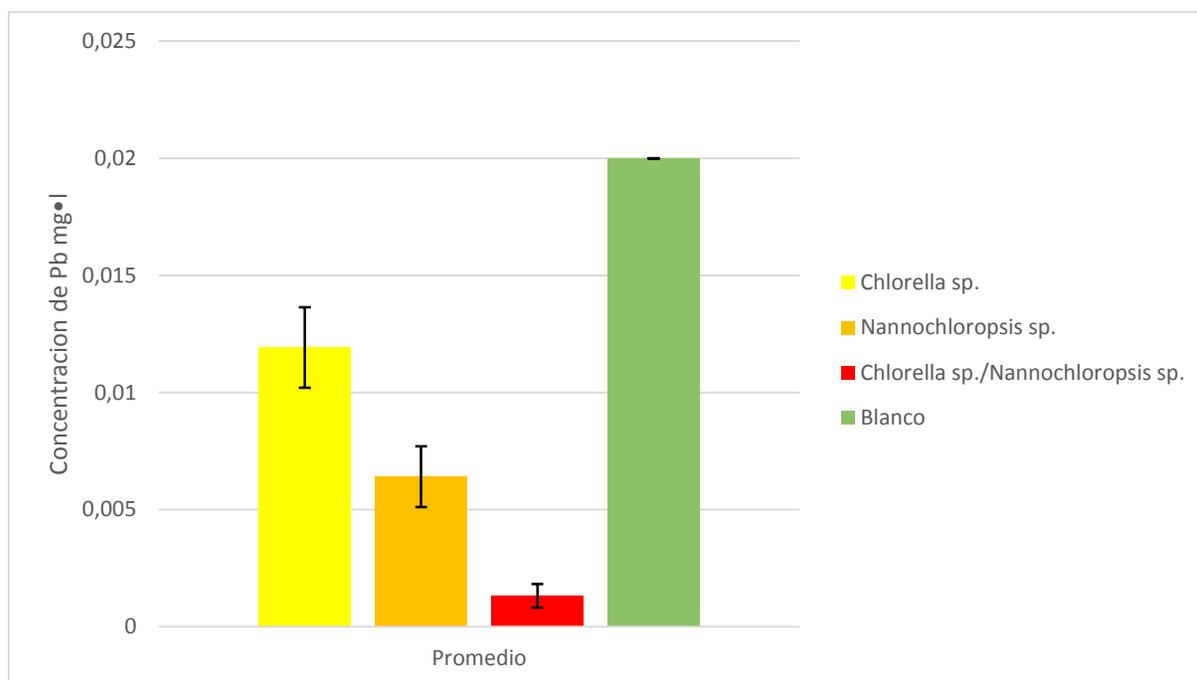
En base a los resultados del análisis de espectrofotometría de absorción atómica obtenidos de la remoción de Pb con *Chlorella sp.*, reflejó 0.01 mg/l^{-1} en la primera replica, siendo la tercera replica la más alta con $0.01331 \text{ mg/l}^{-1}$, por ende, presenta un promedio de $1.19 \times 10^{-2} \text{ mg/l}^{-1} \pm 1.72 \times 10^{-3}$. Para *Nannochloropsis sp.* arrojó

resultados similares siendo la segunda replica la más elevada con $0.00717 \text{ mg/l}^{-1}$, con un promedio de $6.40 \times 10^{-3} \text{ mg/l}^{-1} \pm 1.29 \times 10^{-3}$.

Mientras que *Chlorella sp./ Nannochloropsis sp.* expone un valor de $0.00168 \text{ mg/l}^{-1}$ como resultado de la primera replica siendo el más elevado, además, presentan un promedio de $7.50 \times 10^{-4} \text{ mg/l}^{-1} \pm 1.06 \times 10^{-3}$. Para el blanco las réplicas de mantienen un valor promedio de $0.02 \text{ mg/l}^{-1} \pm 0$.

Figura 4.

Concentraciones de Pb en aguas post-análisis



Elaborado por: La Autora, 2025

Los resultados de los análisis que se mencionaron con anterioridad tienen diferencia entre los demás resultados de cada una de las respectivas cepas de microalgas, esta diferencia se pudo dar en el periodo de remoción del metal. En la Figura 4. se presenta la concentración promedio de cada una de las cepas de microalgas utilizadas donde se adquirió un promedio total de concentración post-análisis de cada cepa de microalgas con Plomo: (C) $0.0119167 \text{ mg/l}^{-1}$, (N) $0.00640 \text{ mg/l}^{-1}$, (NC) $0.00075 \text{ mg/l}^{-1}$.

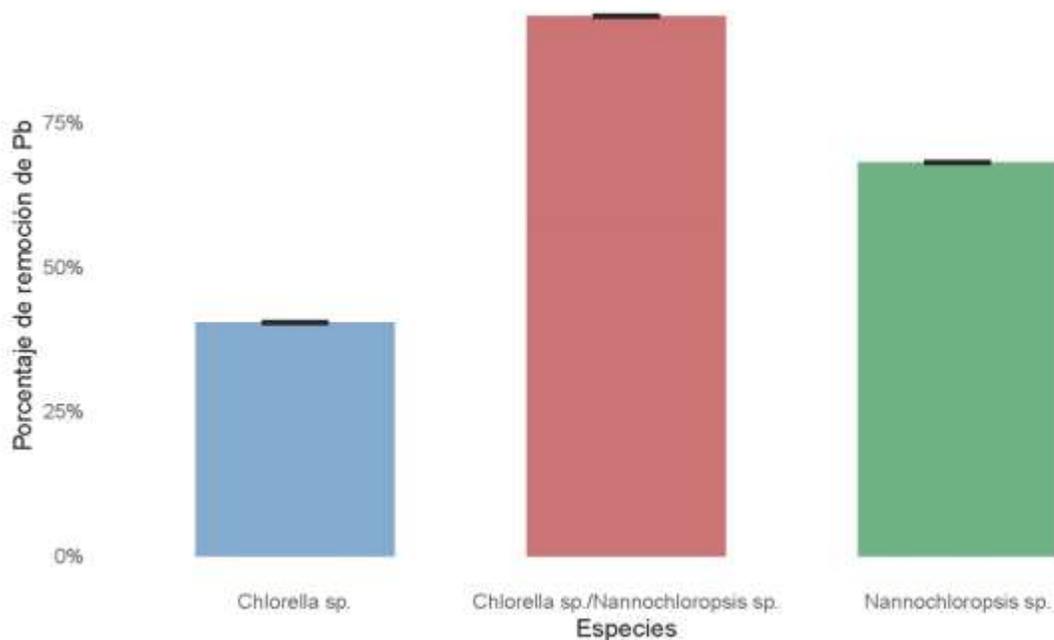
En la Figura 5 se presenta el porcentaje de Plomo que fue removido por cada una de las cepas de microalgas, se observó que ambas especies de microalgas lograron una remoción efectiva del metal, aunque con distintos niveles de eficacia.

Nannochloropsis sp., presentó un porcentaje de remoción de 67.98%, superando a *Chlorella sp.*, que alcanzó un 40.41%. Estos resultados sugieren que *Nannochloropsis sp.*, puede ser más eficiente para la remoción en estas condiciones experimentales, indicando una diferencia significativa en el desempeño de cada especie frente a la eliminación de contaminantes.

Los resultados obtenidos confirman la hipótesis planteada, ya que ambas microalgas inmovilizadas lograron reducir las concentraciones de plomo en agua en un porcentaje superior al 50%. *Chlorella sp.* alcanzó un promedio de remoción del 41.42%, mientras que *Nannochloropsis sp.* obtuvo un promedio de 68.65%. Estos valores demuestran que *Nannochloropsis sp.* tuvo un desempeño más eficiente, superando ampliamente el umbral propuesto, mientras que *Chlorella sp.* se acercó al límite de la hipótesis planteada, evidenciando su potencial en aplicaciones de biorremediación.

Figura 5.

Promedio del porcentaje de remoción de Pb

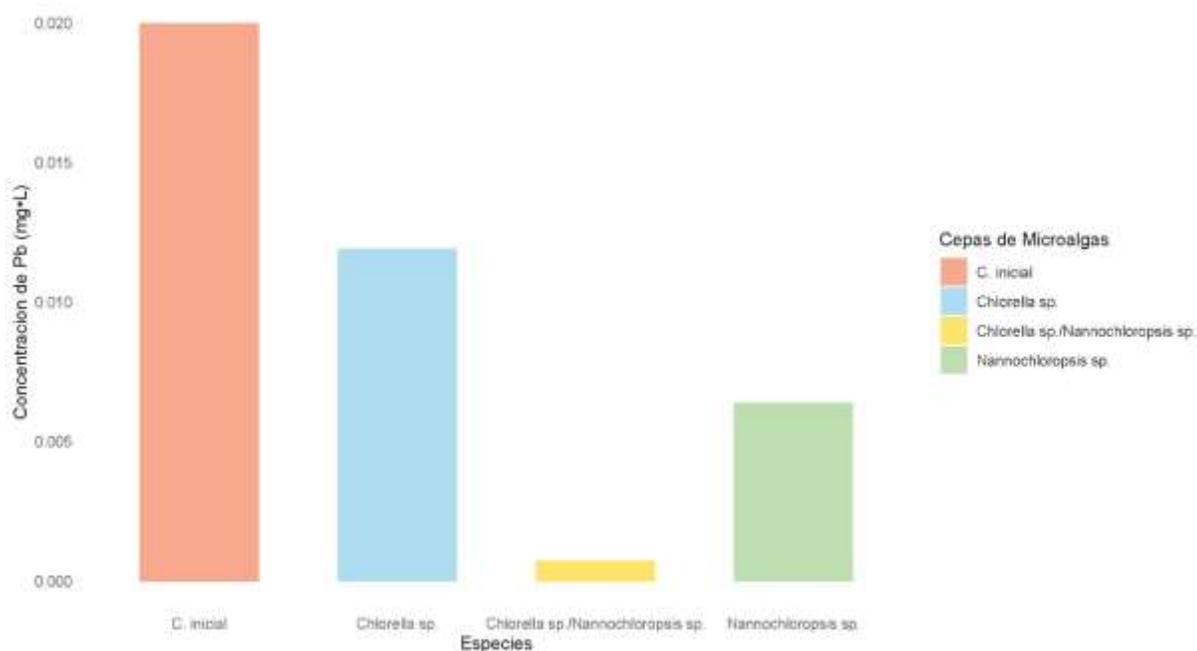


Elaborado por: La Autora, 2025

4.3 Comparación de la eficacia que tuvieron las dos microalgas *Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.* en la remoción de Plomo mediante análisis estadísticos

Los resultados expuestos indican una mayor eficacia en la remoción de Pb por parte de *Nannochloropsis sp.*, la Figura 6 ilustra la concentración inicial del metal y las concentraciones de las microalgas posterior a su absorción reflejando un rendimiento favorable en ambas especies.

Figura 6.
Comparación de eficacia en remoción de Pb



Elaborado por: La Autora, 2025

4.3.1 Test de Shapiro Wilk

Para evaluar si los datos de remoción de plomo por las microalgas *Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.*, y su combinación siguen una distribución normal, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk. Los resultados se presentan en la Tabla 4

Tabla 4.

Prueba de normalidad Shapiro Wilk

Cepa de Microalga	W	P-value
Chlorella sp.	0.89706	0.4166
Nannochloropsis sp.	0.75841	0.04615
Chlorella sp./Nannochloropsis sp.	0.7135	0.01649

Elaborado por: La Autora, 2025

Los datos de *Chlorella sp.* no rechazan la hipótesis de normalidad ($p = 0.4166$), mientras que los datos de *Nannochloropsis sp.* y su combinación de ambas microalgas presentaron p-valores menores a 0.05, lo que indica que no siguen una distribución normal. Por lo tanto, se justifica el uso de ANOVA para *Chlorella sp.*, y una prueba no paramétrica como Kruskal-Wallis para los otros dos grupos.

4.3.2 ANOVA y Kruskal-Wallis

Los resultados del ANOVA mostraron que no hay diferencias significativas entre los grupos ($F(2, 6) = 0.048$, $p = 0.954$). Esto indica que la variabilidad en las concentraciones de plomo no se debe a las diferentes cepas de microalgas, sugiriendo que la eficacia en la remoción de plomo no varía significativamente entre *Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.*, y la combinación de ambas.

Tabla 5.

Anova de microalgas

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F valor	P valor
Microalga	2	3.120×10^{-6}	1.560×10^{-6}	0.048	0.954
Residuales	6	1.95×10^{-4}	3.257×10^{-5}		

Elaborado por: La Autora, 2025

Los resultados del test de Kruskal-Wallis indicaron que no hay diferencias significativas entre las medianas de los grupos (chi-cuadrado de Kruskal-Wallis = 0.088889, Grados de libertad = 2, $p = 0.9565$). Al igual que el ANOVA, este resultado respalda la conclusión de que las diferentes microalgas no presentan eficacia diferencial en la remoción de plomo.

Tabla 6.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi cuadrado	Grados de libertad	P valor
Kruskal-Wallis	0.088889	2	0.9565

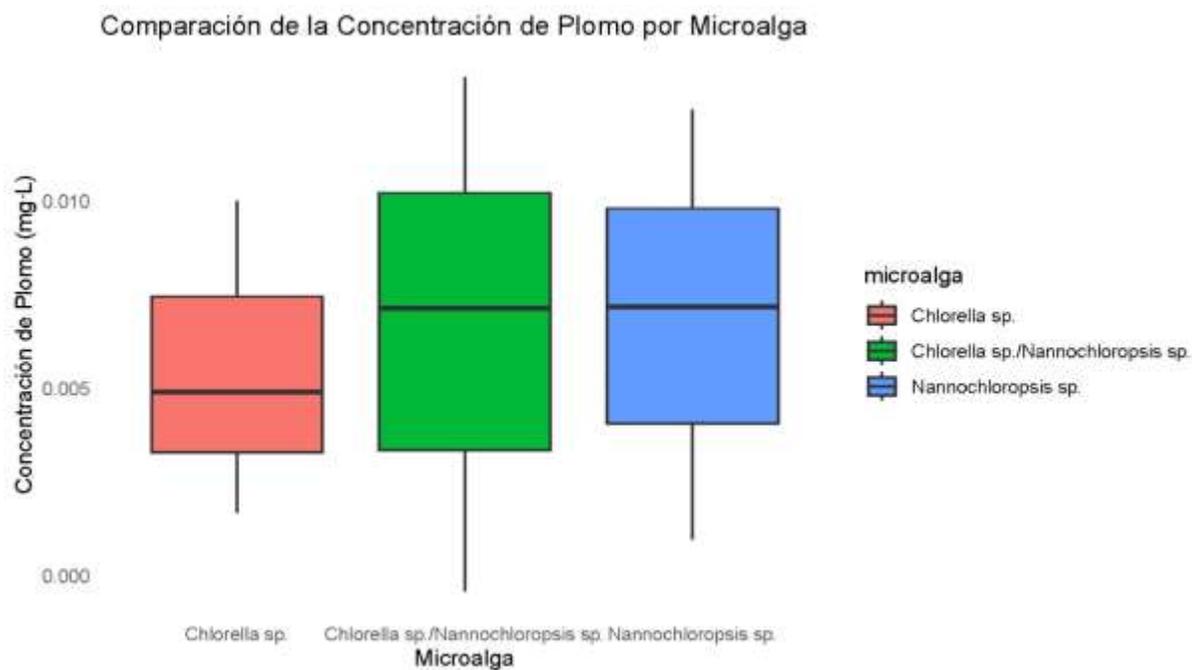
Elaborado por: La Autora, 2025

En la Figura 7 se observa la distribución de las concentraciones de plomo para *Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.*, y la combinación de ambas. Los análisis de ANOVA y Kruskal-Wallis indicaron que no existen diferencias significativas entre los grupos

(ANOVA: $p = 0.954$, Kruskal-Wallis: $p = 0.9565$). Las cajas de los diferentes grupos muestran una superposición considerable, lo que sugiere que la remoción de plomo es similar entre las microalgas analizadas.

Figura 7.

Diagrama de cajas de los análisis ANOVA Y Kruskal-Wallis



Elaborado por: La Autora, 2025

5. DISCUSIÓN

A medida que avanzan las réplicas de *Chlorella sp.*, se observa un incremento en los valores promedio, acompañado de una mayor variabilidad desde el día 4, según lo refleja el aumento en la desviación estándar. Sin embargo, en algunas días, como el 13 y la 17-18, la desviación estándar es nula, lo que indica una notable consistencia en esos casos.

Por otro lado Almeida (2020), realizó ensayo inicial de exposición de *Chlorella vulgaris* al zinc que tuvo una duración de 36 días, mostró diferencias en el incremento de la biomasa celular en la primera y segunda replica, mientras que en la tercera y cuarta replica arrojaron un crecimiento hasta el día 27, a partir de esos días los valores de concentración obtenidos en días fueron similares.

Nannochloropsis sp. mostró un periodo de crecimiento de 15 días, observándose un incremento notable a partir del día 5, con un promedio de $1.25 \times 10^6 \pm 6.4 \times 10^4$. Estos resultados coinciden con los hallazgos de Carchi y Guanga (2024), quienes reportaron un crecimiento máximo durante las primeras 48 horas en su estudio con *Nannochloropsis sp.*, donde la concentración inicial de 0.17 g/l aumentó a 0.19 g/l, y en el caso de la concentración más baja, partió de 0.10 g/l para llegar a 0.13 g/l.

Los resultados muestran que *Nannochloropsis sp.* fue más efectiva en la remediación en comparación con *Chlorella sp.*, lo que se evidencia por los mayores porcentajes de remoción alcanzados en las réplicas: 75.45 %, 64.15 % y 64.35 %, frente a los porcentajes de 50 %, 37.8 % y 33.45 % observados en *Chlorella sp.*. Este mejor desempeño podría explicarse por la capacidad de *Nannochloropsis sp.* para aprovechar los nutrientes disponibles de manera más eficiente o por características inherentes, como una mayor afinidad por los contaminantes o una mejor adaptación a las condiciones experimentales. Además, su menor desviación estándar (0.0012934 frente a 0.0017159 en *Chlorella sp.*) sugiere un comportamiento más consistente entre las réplicas, lo que refuerza su potencial como una herramienta eficaz para la biorremediación.

En contraste con Almeida (2020), quien demostró en su investigación que la capacidad de *Chlorella vulgaris* para remover zinc estaba directamente relacionada

con la concentración del metal, logrando remover el 25% en el reactor R2 y el 53.72% en el reactor R5 a concentraciones de 2. ppm y 20 ppm, respectivamente. Por otro lado, Arias (2017) reportó una eficacia de remoción de cromo superior al 60%, pero inferior al 85%.

Sin embargo, Kumar, Singh, y Sikandar (2018) encontraron que *Chlorella vulgaris* alcanzó una remoción cercana al 97% de cadmio al ser expuesto a una concentración de 10 mg/L. De manera similar, Hernández, Pérez, y Vitola (2018) informaron que *Chlorella sp.* Logró remover un 95.4% de mercurio y un 93.4% de níquel, mostrando una alta eficiencia de biosorción cuando la microalga se encontró inmovilizada en el fruto seco de *Luffa cylindrica*.

Los resultados obtenidos muestran que *Nannochloropsis sp.* demostró una mayor eficacia en la remoción de plomo (Pb), destacándose frente a otras especies evaluadas. Este rendimiento sugiere el potencial de *Chlorella sp.* para la biorremediación de metales pesados, lo que coincide con estudios previos que señalan su alta capacidad de biosorción en condiciones adecuadas de concentración y exposición.

El análisis de Shapiro-Wilk mostró que los datos para *Chlorella sp.* presentan una distribución normal ($p = 0.4166$), mientras que los datos de *Nannochloropsis sp.* ($p = 0.04615$) y la combinación de ambas microalgas ($p = 0.01649$) no cumplen con este supuesto. Este hallazgo sugiere que las pruebas paramétricas, como el ANOVA, podrían no ser completamente confiables para todas las comparaciones.

Sin embargo, el ANOVA realizado mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las microalgas ($F = 0.048$, $p = 0.954$), lo que indica que las variaciones observadas no son suficientemente marcadas. De manera complementaria, la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, que es más adecuada para datos no normales, corroboró estos resultados al no detectar diferencias significativas entre los tratamientos.

Estos hallazgos sugieren que, bajo las condiciones experimentales utilizadas, *Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.* tienen desempeños similares en la remediación, aunque los patrones observados podrían estar influenciados por factores biológicos o experimentales que no se reflejan en las pruebas estadísticas.

Los resultados del ANOVA mostraron que no hay diferencias significativas entre los grupos ($F(2, 6) = 0.552$, $p = 0.603$). En contraste con Lucas (2017), realizo un análisis ANOVA en base a los resultados de la concentración de Cd removido por cada tratamiento de *Chlorella sp.* y el blanco, obteniendo un $F=2.87$, $p= 1.0318 \times 10^{-19}$. Arias (2017) realizo el test de Tukey aplicado a las muestras con una concentración inicial de 10 ppm mostró un valor de $p = 0.0001$, menor a 0.05, lo que indica una diferencia significativa entre los tratamientos de *Chlorella sp.* inmovilizada en perlas de alginato, el cual, presentó un mayor porcentaje de remoción de cromo en comparación con el tratamiento control.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio respaldan la hipótesis planteada de que las microalgas inmovilizadas *Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.* tienen la capacidad de reducir las concentraciones de plomo en el agua. En el primer objetivo, se caracterizó el crecimiento de ambas microalgas en condiciones controladas bajo diferentes niveles de pH (6, 7 y 8), utilizando el medio de cultivo Guillard F2. Se observó que ambas microalgas presentan un crecimiento diferencial dependiendo del pH, siendo el pH 8 con mayor favorecimiento en el desarrollo celular.

En términos generales *Nannochloropsis sp.* mostró una mayor capacidad de proliferación celular, alcanzando densidades más elevadas en menor tiempo en comparación con un máximo de 9.15×10^6 cel/ml en el día 13, mientras que *Chlorella sp.* mostró un crecimiento notable con un pico de 9.79×10^6 cel/ml en el día 18, cumpliendo así con el objetivo de evaluar su cinética de crecimiento.

En relación al segundo objetivo, el análisis de espectrofotometría de absorción atómica demostró que *Nannochloropsis sp.* fue más eficiente en la remoción de plomo, con un porcentaje de remoción del 67.98%, en comparación con el 53.76% de *Chlorella sp.*. Estas cifras subrayan la capacidad de ambas microalgas para contribuir a la biorremediación del plomo en agua, aunque con distintas eficacias.

Por último, el análisis estadístico del tercer objetivo reveló que, a pesar de las diferencias en los porcentajes de remoción, no hubo diferencias significativas entre las concentraciones de plomo remanentes en los tratamientos con *Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.*, y su combinación. Los resultados del ANOVA ($p = 0.603$) y del test de Kruskal-Wallis ($p = 0.7326$) indicaron que la eficacia de remoción es comparable entre las microalgas analizadas.

Estos hallazgos no solo validan la hipótesis inicial, sino que también destacan el potencial de las microalgas inmovilizadas como herramientas biotecnológicas para la remediación ambiental, sugiriendo que tanto *Chlorella sp.* como *Nannochloropsis sp.* pueden ser empleadas eficazmente en la eliminación de contaminantes como el plomo en ambientes acuáticos.

6.2 Recomendaciones

Llevar a cabo estudios adicionales para optimizar las condiciones de cultivo de *Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.* es esencial, enfocándose en factores como la intensidad de luz, la temperatura y el pH. Estas variables son cruciales para maximizar tanto el crecimiento celular como la eficacia en la remoción de metales pesados. Mejorar estas condiciones podría resultar en un aumento significativo en los porcentajes de remoción, haciendo que estas microalgas sean aún más efectivas en aplicaciones de biorremediación.

Dado que *Nannochloropsis sp.* demostró ser más eficiente en la remoción de plomo, investigar la sinergia potencial de combinar diferentes cepas de microalgas o complementarlas con otros agentes biorremediadores podría incrementar los niveles de remoción de contaminantes. Este enfoque robusto ofrecería soluciones más efectivas en la lucha contra la contaminación del agua.

Realizar estudios a escala piloto o en condiciones de campo es fundamental para evaluar el rendimiento de estas microalgas en la remediación de aguas contaminadas. Este tipo de investigación proporcionará información valiosa para la aplicación práctica de estas técnicas en la industria y en el tratamiento de aguas residuales, lo que podría resultar en soluciones más efectivas para la contaminación del agua.

Asimismo, un análisis de costos sobre la viabilidad económica del uso de microalgas en la biorremediación permitirá a los investigadores y a las empresas entender mejor los costos asociados, facilitando decisiones informadas sobre su implementación. Considerar factores como el cultivo, la cosecha y el procesamiento de las microalgas es esencial en este contexto.

Finalmente, dado que el plomo es solo uno de los muchos contaminantes presentes en el agua, investigar la capacidad de remoción de otras especies de metales pesados, como el mercurio y el cromo, utilizando las mismas cepas de microalgas será valioso. También es importante explorar los mecanismos específicos mediante los cuales las microalgas retiran metales pesados del agua, contribuyendo a una mejor comprensión de su eficacia y guiando futuras investigaciones en biotecnología ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

- Abalde, J., Cid, A., Fidalgo, P., Torres, E., & Herrero, C. (1995). *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. Universidade da Coruña. <https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>
- Adenigba, V., Omomowo, I., Oloke, J., Odeniyi, B. F., & Adedayo, A. (2020). Evaluacion de nanopartículas a base de microalgas en la adsorción de metales pesados de aguas residuales. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/805/1/012030/meta>
- Almeida , L. (2020). *Estudio de adaptación de la microalga Chlorella vulgaris para la remoción del zinc*. Leiria: [Tesis de Maestria, Instituto Politécnico de Leiria]. <http://hdl.handle.net/10400.8/5697>
- Angulo, M., & Beltran, N. (2022). *Efecto de la ceniza del bagazo de la caña de azúcar en la remocion de Plomo, Aja, 2022*. Lima: [Tesis de grado, Universidad César Vallejo]. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/99385>
- Arias, A. (2017). *Análisis de remoción de cromo por acción de la microalga Chlorella sp. inmovilizada en perlas de alginato*. Quito: [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13639/1/UPS-QT11400.pdf>
- Asamblea Nacional Constituyente del Ecuador. (2017). *Código Orgánico del Ambiente*. Quito: Imprenta del Gobierno. (Registro Oficial Suplemento 983): <https://n9.cl/jlabp>
- Aznarez, J., Palacios, F., & Vidal, J. (1982). Determinación de plomo por espectrofotometria de absorción atómica con atomización electrotérmica después de la extracción con 1-pirrolidin-ditiocarbamato amónico: aplicación al análisis de agua natural y materia vegetal. *Departamento de química analítica. Facultad de Ciencias*, 45-54. <http://hdl.handle.net/10261/45492>
- Bartra, S. (2019). Evaluación de la Remoción de Arsénico Utilizando la Microalga Chlorella Vulgaris en Aguas Superficiales del Río Uchusuma, Tacna - Perú. <https://repositorio.upt.edu.pe/handle/20.500.12969/1277>
- Becerra, E. (2020). *Análisis del grado de contaminación por metales pesados en sedimentos de ecosistemas acuáticos*. Cajamarca: [Tesis de grado, Universidad

- Privada del Norte].
<https://repositorio.upn.edu.pe/bitstream/handle/11537/24003/Becerra%20Aguil%20ar%2c%20Esperanza.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bermúdez, M. (2020). *Impacto de la aplicación de técnicas “ómicas” en microalgas en el desarrollo de nuevas aplicaciones biotecnológicas. Análisis de las potenciales aplicaciones de Nannochloropsis gaditana*. Cadíz: [Tesis de grado, Universidad de Cadíz]. <https://rodin.uca.es/handle/10498/23838>
- Carchi, K., & Guanga, C. (2024). *Análisis de la eficiencia del tratamiento con microalgas Chlorella vulgaris y Nannochloropsis sp para la remoción de nutrientes y materia orgánica de aguas residuales domésticas provenientes de una vivienda de la parroquia Baños*. Cuenca: [Tesis de Grado, Universidad de Cuenca]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/45375>
- Carchi, K., y Guanga, C. (2024). *Análisis de la eficiencia del tratamiento con microalgas Chlorella vulgaris y Nannochloropsis sp para la remoción de nutrientes y materia orgánica de aguas residuales domésticas provenientes de una vivienda de la parroquia Baños*. [Tesis de Grado, Universidad de Cuenca].
- Cedeño, C., & Guillén, D. (2022). *Biosorción del cadmio con dos especies de macroalgas Padina pavonica y Acanthophora specifera en el río Arenales parroquia Crucita*. [Tesis de grado, Escuela Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. <https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/handle/42000/1777>
- Cevallos, A., & Parrado, C. (2018). Vulnerabilidad al cambio climático en Pedernales, Ecuador: retos desde el agua. *Letras Verdes. Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales*, 24, 83-104. <https://doi.org/https://doi.org/10.17141/letrasverdes.24.2018.3326>
- Cevallos, M. (2017). *Desarrollo e implementación de un método para la determinación de plomo por absorción atómica en horno de grafito en agua natural y potable en el L3C-EPMAPS*. Quito: [Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/14909>
- Chienda, T., & Espíritu, L. (2020). *Microalga Scenedesmus sp. para la remoción del Cromo Hexavalente en aguas residuales de la insudrtia de Curtiembre*. Lima:

- [Tesis de grado, Universidad César Vallejo].
<https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/54449>
- Condor, M. (2020). *Biorremoción de plomo en soluciones acuosas mediadas por microalgas a escala de laboratorio*. Tingo María: [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. <https://hdl.handle.net/20.500.14292/1795>
- Contreras, M. (2023). *Metodología para la identificación de movimientos de la mano en personas mediante análisis tiempo frecuencia en señales emg*. Querétaro: [Tesis de grado, Universidad Autónoma de Querétaro]. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/4382>
- Cota, K., Nuñez, J., Delgado, M., & Martínez, A. (2019). Biorremediación: actualidad de conceptos y aplicaciones. *Biotecnia*, 37-44.
- Covarrubias, S., & Peña, J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemáticas y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 7-21.
<https://doi.org/https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01>
- CRE. (2008). *Constitución de la República del Ecuador*. Quito: Asamblea Nacional del Ecuador. <https://n9.cl/41evj>
- Domínguez, M., Ruiz, J., Garrido, C., & Vargas, J. (2020). Fitorremediación de Aguas Residuales Urbanas de Pequeños Municipios con Microalgas. *Revista Científica ECOCIENCIA*, 7(2), 1-27.
<https://doi.org/https://doi.org/10.21855/ecociencia.73.347>
- European Environment Agency. (2022). La contaminación de la tierra y del suelo: generalizada, nociva y creciente.
<https://www.eea.europa.eu/es/señales/señales-de-la-aema-2020/articles/la-contaminacion-de-la-tierra>
- Fernández, A. (2023). *Eficiencia de la Chlorella sp. en la remoción de arsénico (As) en una matriz de agua destilada*. Chota: [Tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de Chota].
<https://repositorio.unach.edu.pe/handle/20.500.14142/364>

- Flores, J., Caballero, M., & Moreira, M. (12 de 2009). El laboratorio en la enseñanza de las ciencias: Una vision integral en este complejo ambiente de aprendizaje. *Revista de investigación*, 33(68), 75-111.
- Flórez, G. (2024). *Potencial de un consorcio microbiano con predominio de microalgas MPMC en la biorremediación de aguas residuales de la PTAR de Nemocón, Cundinamarca*. [Tesis de Grado, Universidad de los Andes]. <https://hdl.handle.net/1992/73859>
- Galarza, C. (2021). Diseños de investigación experimental. *CienciAmérica*, 10(1), 1-7. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.33210/ca.v10i1.356>
- Gras, M. (2010). *Estimacion estadística, modelado y analisis de la transmision y coste de la variabilidad en procesos multi-etapa*. Castellón: [Tesis doctoral, Universitat Jaume I*]. <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/42926>
- Gutiérrez, J. (2021). *Caracterización de los principales factores bióticos y abióticos que influyen sobre la capacidad remoción de fenol por un Consorcio Microbiano (CM) formado por Scenedesmus dimorphus y su ficoesfera*. [Tesis Doctoral, Universidad de los Andes]. <https://repositorio.uniandes.edu.co/entities/publication/4255c43e-3d47-4167-90b8-6338808f9d94>
- Hernández, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivos y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157-173. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-19572014000200001&script=sci_arttext&tIng=pt
- Hernández, Y., Pérez, A., & Vitola, D. (2018). Biosorption of Mercury and Nickel in Vitro by Microalga Chlorella sp. in Solution and Immobilized in Dry Fruit of Squash (Luffa Cylindrica). *Indian Journal of Science and Technology*, 11, 1-7.
- Hussain, J., Hussain, I., & Arif, M. (2017). Studies on heavy metal contamination in Godavari river basin. *Appl Water Sci* 7, 4539–4548 (2017). <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13201-017-0607-4>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC]. (2017). <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/guayaquil-en-cifras/>

- Kumar, M., Singh, A., & Sikandar, M. (2018). Study of sorption and desorption of Cd (II) from aqueous solution using isolated green algae *Chlorella vulgaris*. *Appl Water Sci*, 8(225).
- Leiva, J. (2020). *Aplicación de biomasa de microalga deshidratada para bioabsorción de Plomo en soluciones acuosas a escala de laboratorio*. Lima: [Tesis de grado, Universidad Peruana Unión]. <https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/3141>
- Lopez, R., & Herrera, K. (2016). *Planta de tratamiento de aguas residuales para reuso en riego de parques y jardines en el distrito de La Esperanza, provincia de Trujillo. La Libertad*. Trujillo: [Tesis de grado, Universidad Privada Antenor Orrego]. <https://hdl.handle.net/20.500.12759/1981>
- Lucas, P. (2017). *Evaluación de la capacidad de remoción de Cadmio in vitro utilizando la microalga Chlorella sp. y su potencial para la biorremediación de sitios naturales contaminados*. Universidad de las Américas .
- Maldonado, I. (2019). *Evaluación de la respuesta fisiológica de la microalga Chlorella sp. a la presencia de metal Cadmio en aguas sintéticas*. Quito: [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana sede Quito]. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17405>
- Méndez, P. (2022). *Evaluación de la contaminación por metales pesados del río Cuchipamba, Morona Santiago*. <http://dspace.esoch.edu.ec/handle/123456789/17637>
- Montenegro, S., Pulido, S., & Calderón, L. (2019). *Prácticas de remediación en suelos y aguas*. Notas De Campus. <https://doi.org/https://doi.org/10.22490/notas.3451>
- Mora, L. (2022). *Actividades de mantenimiento y levante de la microalga Nannochloropsis sp y ensayos de salinidad, tipo y concentración del medio de cultivo en el laboratorio de acuicultura*. Bogotá: [Tesis de grado, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano]. <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/31198>
- Mora, R., Moronta, R., Ortega, J., & Morales, E. (11 de 2005). *Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa Chlorella sp aislada de la represa de Tulé,*

- Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela. *Ciencia Completa*-12, 1-9.
file://C:\SciELO\serial\cien\v12n2\art_01.htm
- Muñiz, R. (2019). Los fotobiorreactores de microalgas: Un recurso para el tratamiento terciario de aguas residuales. *Revista Tekhné*, 13-25.
<https://revistasenlinea.saber.ucab.edu.ve/index.php/tekhne/article/view/4062>
- Nájera, C., & Paredes, B. (2017). Identidad e Identificación: Investigación de Campo como Herramienta de Aprendizaje en el Diseño de Marcas. *INNOVA Research Journal*, 2(10), 155-164.
- Naula, L., & Zúñiga, P. (2021). *Remoción de metales pesados (cromo, zinc, aluminio, arsénico, níquel y cobre) en aguas industriales utilizando algas coinmovilizadas con alginato de sodio*. Cuenca: [Tesis de grado, Universidad de Cuenca].
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789>
- Obeid, S., Beaufils, N., Camy, S., Takache, H., Ismail, A., & Pontalier, P. (2018). Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of lipids from freeze-dried microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 34, 49-56. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.003>
- Oliva, R. (2018). *Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo en microcosmos por hongos aislados de suelo contaminado*. Lambayeque: [Tesis de grado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].
<https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/1026>
- Pabón., S., Benitez, R., Sarria, R., & Gallo, J. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27), 9-18.
<https://doi.org/https://doi.org/10.31908/19098367.0001>
- Pernía, B., Mero, M., Cornejo, X., Ramírez, N., Ramírez, L., Bravo, K., . . . Zambrano, J. (2018). Determinación de cadmio y plomo en agua, sedimento y organismos bioindicadores en el Estero Salado, Ecuador. *Enfoque UTE*, 9(2), 89 - 105.
- Quispe, C. (2018). *Biosorción del plomo en aguas contaminadas del río Rímac utilizando la microalga Chlorella Vulgaris, 2018*. Trujillo: [Tesis de grado, Universidad Cesar Vallejo]. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/64741>

- Ramírez, E. (2022). *Análisis del efecto de la luz en el desarrollo de microalgas para la depuración de aguas residuales*. [Tesis de Grado, Universidad Agraria del Ecuador].
<https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/RAMÍREZ%20MATAMOROS%20HUMBERTO%20EMMANUEL.pdf>
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M., & González, E. (2016). Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo*, 16(2), 66-77.
- Rodríguez, A., Cuéllar, L., Maldonado, G., & Suardiaz, M. (2016). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(3), 1-21.
- Rodríguez, A., Zárate, S., & Bastida, A. (2022). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. *Revista de Ciencias Ambientales*, 56(1), 178-208.
- Rosales, D., & Quevedo, A. (2019). *Adsorción con carbono activado obtenido de la semilla de aguaje para la remoción de plomo y cromo en aguas contaminadas*. [Tesis de grado, Universidad Nacional del Callao].
<http://hdl.handle.net/20.500.12952/5114>
- Rubio, C., Gutiérrez, A., Martín, R., Revert, C., Lozano, G., & Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Revista de Toxicología*, 21(2-3), 72-80.
- Saavedra, R. (2020). *Biorremediación de aguas con metales pesados mediante biomasa microalgal*. Valladolid: [Tesis Doctoral, Universidad de Valladolid].
<http://uvadoc.uva.es/handle/10324/42745>
- Serrano, M. (2022). *Evaluación de capacidad de remoción de metales pesados por parte de microalga (Chlorella sp.) y totora (Scirpus californicus) para su uso en humedales artificiales*. Riobamba: [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.espech.edu.ec/handle/123456789/16938>
- Tantte, J. (2018). *Evaluación de la capacidad depuradora de Chlorella Vulgaris Beyerick inmovilizada en alginato para el tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Haura- Lima*. [Tesis de grado Universidad Católica Sedes Sapientiae]. <https://repositorio.ucss.edu.pe/handle/20.500.14095/552>

- United States Environmental Protection Agency. (2022). *Informacion básica sobre el plomo en el agua potable*. <https://espanol.epa.gov/espanol/informacion-basica-sobre-el-plomo-en-el-agua-potable>
- Vela, N., Guamán, M., & González, N. (2019). Biorremediación eficiente de efluentes metalúrgicos mediante el uso de microalgas de la amazonía y los andes del Ecuador. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(4), 917-929. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.04.11>
- Vitola, D., Pérez, A., & Montes, D. (2021). Utilizacion de microalgas como alternativa para la remocion de metales pesados. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. <https://doi.org/https://doi.org/10.22490/21456453.4568>
- Zehr, J., Bench, S., Carter, B., Hewson, I., Niazi, F., Shi, T., . . . Affourtit, J. (2008). Globally distributed uncultivated oceanic N₂-fixing cyanobacteria lack oxygenic photosystem II. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.1165340>

ANEXOS

Anexo N° 1: *Registro fotográfico del uso de laboratorio*

	
Contaminación de las microalgas con Pb	Preparación de muestras para iniciar el proceso de calentamiento en el digestor
	
Paso de muestras digerida a matraz previo al análisis	Cepas de microalgas con aereación continúa.



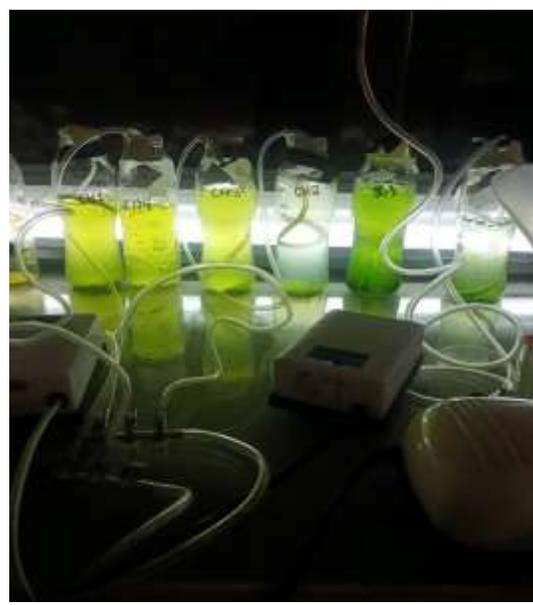
Paso de microalgas a botellas con medio de cultivo.



Microalgas inmobilizadas con alginato de sodio colocadas en agua contaminada con Pb.



Paso de microalgas a tubos falcon para centrifugar microalgas.



Propagación de microalgas *Chlorella sp.* y *Nannochloropsis sp.* en laboratorio de microbiología de UAE.



Análisis en equipo de Espectrofotetría de absorción atómica



Paso de muestra a vial para análisis en equipo.

Elaborado por: La Autora, 2025

Anexo N° 2:
Certificado de pasantías



CERTIFICADO DE PASANTIAS

Señores
A quién corresponda
Ciudad
7 de Marzo del 2024
HR-2024-0025

Mediante el presente certifico que la Srta. **ISABELLA MONSERRATE MARTÍNEZ PARRAGA**, con cédula de identidad # 0802912667, estudiante de la Universidad Agraria del Ecuador, realizó sus prácticas profesionales en la empresa BUREAU VERITAS ECUADOR S.A. con R.U.C. # 1790947696001, desde el 20 de Noviembre del 2023 hasta el 9 de Febrero del 2024, cumpliendo con 160 horas, desempeñándose con mucha responsabilidad.

La señorita Monserrate Martínez, puede hacer uso de este certificado según estime conveniente, en nombre de la ética y responsabilidad.

Atentamente. -


Mónica Asepido
Coordinadora Recursos Humanos
Cel: 0994483419
Bureau Veritas Ecuador S.A.



Bureau Veritas
Calle Guayaquil, Mz 8 solar 4
Tercer Callejon 14 y Emilio Soro Lorente

Tel: 042389192
www.bureauveritas.com

BV_C2_Internal

Anexo N° 3:

Guía de remisión de CENAIM por donación de microalgas

espol Escuela Superior
Politécnica del Litoral

espol Centro Nacional de
Acuicultura e
Investigaciones Marinas

CENAIM - ESPOL
R.U.C. # 0960002780001
INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO CIENTÍFICO

GUÍA DE REMISIÓN

N° 003-001-00 00-14746

Matriz: Km. 30.5 vía Pavimental No. 100 - Edif. Área Administración Central Prosperina
Telf.: 042269269 - 042269195 Fax: 042254625 Web: www.espol.edu.ec - Guayaquil
Sucursal Centro: San Pedro S/N - Manglaralto - Santa Elena - Ecuador - Telfs: 3035098 - 3035099
Guayaquil Telf.: 2226484 - 2269791 P.O.Box: 09-01-9863

Aut. SRI: 1131009340

Fecha de autorización: 17/Febrero/2023

FECHA DE INICIACIÓN DEL TRASLADO: 19/09/2023

FECHA DE TERMINACIÓN DEL TRASLADO: 19/09/2023

COMPROBANTE DE VENTA:

FECHA DE EMISIÓN: 19/09/2023

MOTIVO DEL TRASLADO			
<input type="checkbox"/> VENTA	<input checked="" type="checkbox"/> TRASLADO ENTRE ESTABLECIMIENTOS	<input type="checkbox"/> DEVOLUCIÓN	<input type="checkbox"/> IMPORTACIÓN
<input type="checkbox"/> COMPRA	<input type="checkbox"/> CONSIGNACIÓN	<input type="checkbox"/> OTROS	<input type="checkbox"/> EXPORTACIÓN
<input type="checkbox"/> TRANSFORMACIÓN	<input type="checkbox"/> TRASLADO POR EMISOR (ITERANTE DE COMPROBANTES DE VENTA)		<input type="checkbox"/> MANTENIMIENTO

FECHA DE EMISIÓN: PUNTO DE PARTIDA: CENAIM-ESPOL
DESTINATARIO:
NOMBRE O RAZÓN SOCIAL: Issabella Martínez
R.U.C./I.: 0802912667 PUNTO DE LLEGADA: Universidad Agraria
IDENTIFICACIÓN DE LA PERSONA ENCARGADA DEL ENVÍO: Doris Rojas R.U.C./I. #: 0911011088
IDENTIFICACIÓN DE LA PERSONA ENCARGADA DEL TRANSPORTE: Issabella Martínez TRANSPORTISTA
NOMBRE O RAZÓN SOCIAL: R.U.C./I. #: PLACA N°:

BIENES TRANSPORTADOS - ESPECIFICACIONES

CANTIDAD	UNIDAD	REFERENCIA	DESCRIPCIÓN
4	Und.		Tubos de cepas (2 Nannochloropsis y 2 Chlorella)

ENVIADO POR:  AUTORIZADO POR:  TRANSPORTISTA:  RECIBIDO POR: 

Válido para su emisión: 17/Febrero/2024

ESPOL Centro de Difusión y Publicaciones. R.U.C. 0960002780001
Telf.: 2269296 • Aut. SRI 1311 • 14201 al 15000 • 80044

1. Original: DESTINATARIO (TRANSPORTE) 2. Copia Amarilla: EMISOR (ACTIVO) 3. Copia Verde: S.R.L. (OPERACIONES) 4. Copia Celeste: ARCHIVO (SEGURIDAD)

APÉNDICES

Apéndice N° 1:

Cinética de crecimiento de Chlorella sp.

REPLICAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
R1	2,0E ⁴	2,1E ⁴	2,2E ⁴	2,4E ⁴	3,0E ⁴	3,5E ⁴	5,0E ⁴	1,1E ⁵	1,5E ⁶	2,5E ⁶	4,0E ⁶	5,1E ⁶	7,3E ⁶	8,5E ⁶	9,6E ⁶	9,6E ⁶	9,7E ⁶	9,8E ⁶	7,5E ⁶	6,0E ⁶
R2	2,0E ⁴	2,1E ⁴	2,2E ⁴	2,4E ⁴	3,1E ⁴	3,5E ⁴	5,1E ⁴	1,1E ⁵	1,5E ⁶	2,5E ⁶	4,1E ⁶	5,0E ⁶	7,3E ⁶	8,6E ⁶	9,2E ⁶	9,7E ⁶	9,7E ⁶	9,8E ⁶	7,2E ⁶	6,0E ⁶
R3	2,0E ⁴	2,1E ⁴	2,2E ⁴	2,5E ⁴	2,9E ⁴	3,5E ⁴	5,1E ⁴	1,1E ⁵	1,5E ⁶	2,5E ⁶	4,2E ⁶	5,2E ⁶	7,3E ⁶	8,3E ⁶	9,6E ⁶	9,6E ⁶	9,7E ⁶	9,8E ⁶	7,5E ⁶	6,1E ⁶
PROMEDIO	2,0E ⁴	2,1E ⁴	2,2E ⁴	2,4E ⁴	3,0E ⁴	3,5E ⁴	5,1E ⁴	1,1E ⁵	1,5E ⁶	2,5E ⁶	4,1E ⁶	5,1E ⁶	7,3E ⁶	8,4E ⁶	9,4E ⁶	9,6E ⁶	9,7E ⁶	9,8E ⁶	7,4E ⁶	6,1E ⁶
DESV STD	0,0E ⁰	0,0E ⁰	0,0E ⁰	2,8E ²	6,0E ²	5,1E ²	5,8E ²	2,6E ³	1,0E ⁴	1,0E ⁴	7,6E ⁴	1,1E ⁵	0,0E ⁰	1,3E ⁵	2,1E ⁵	4,4E ⁴	0,0E ⁰	0,0E ⁰	1,8E ⁵	6,7E ⁴

Elaborado por: La Autora, 2025

Apéndice N° 2:

Cinética de crecimiento de Nannochloropsis sp.

REPLICAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
R1	2,0E ⁴	2,0E ⁴	4,5E ⁴	6,2E ⁴	1,2E ⁶	2,0E ⁶	4,9E ⁶	7,3E ⁶	7,9E ⁶	8,5E ⁶	8,9E ⁶	9,0E ⁶	9,1E ⁶	8,7E ⁶	5,4E ⁶
R2	2,0E ⁴	2,0E ⁴	4,6E ⁴	6,2E ⁴	1,3E ⁶	2,2E ⁶	4,7E ⁶	7,2E ⁶	7,9E ⁶	8,5E ⁶	9,0E ⁶	9,1E ⁶	9,3E ⁶	8,7E ⁶	5,6E ⁶
R3	2,0E ⁴	2,0E ⁴	4,6E ⁴	2,2E ⁴	1,2E ⁶	2,1E ⁶	4,8E ⁶	7,3E ⁶	7,9E ⁶	8,5E ⁶	8,8E ⁶	9,0E ⁶	9,1E ⁶	8,5E ⁶	5,5E ⁶
PROMEDIO	2,0E ⁴	2,0E ⁴	4,6E ⁴	4,9E ⁴	1,3E ⁶	2,1E ⁶	4,8E ⁶	7,2E ⁶	7,9E ⁶	8,5E ⁶	8,9E ⁶	9,1E ⁶	9,2E ⁶	8,6E ⁶	5,5E ⁶
DESV	0,0E ⁰	0,0E ⁰	1,6E ²	2,3E ⁴	6,4E ⁴	6,1E ⁴	7,0E ⁴	5,5E ⁴	2,9E ⁴	0,0E ⁰	9,7E ⁴	6,8E ⁴	1,2E ⁵	1,1E ⁵	8,3E ⁴

Elaborado por: La Autora, 2025

Apéndice N° 3:**Tabla de concentración de Pb y porcentaje de remoción.**

Cepas de Microalgas	Concentración inicial	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Promedio	Desviación Estándar	Porcentaje 1	Porcentaje 2	Porcentaje 3	Promedio Porcentaje
<i>Chlorella sp.</i>	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001	50	37,8	33,45	40,42
<i>Nannochloropsis sp.</i>	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,001	75,45	64,15	64,35	67,98
<i>Chlorella sp./Nannochloropsis sp.</i>	0,02	0,00	0,00	-0,01	0,00	0,001	91,6	95,15		93,38

Elaborado por: La Autora, 2025