



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DE GRADO.

PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE:

INGENIERO EN RECURSOS NATURALES Y AMBIENTE.

TEMA:

EFICIENCIA DE LA MICROALGA *Chlorella* sp. PARA LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES EN LAS LAGUNAS DE OXIDACION DE LA CIUDAD DE MANTA.

AUTORES.

Silvia Polette López Mendoza.

José Aristarco Meza Vera

DIRECTOR DE TESIS.

BLGO. CARLOS CHINGA. M.Sc.

MANTA-MANABI-ECUADOR

2017

UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DE GRADO

***Eficiencia de la microalga Chlorella sp. para la remoción de nutrientes
en las lagunas de oxidación de la ciudad de Manta***

**Tesis presentada al H. Consejo Directivo de la Facultad Ciencias
Agropecuarias como requisito para obtener el título de:**

INGENIERO EN RECURSOS NATURALES Y AMBIENTALES

Blgo. Cosme Solís

Miembros Comisión Académica

Blgo. Carlos Chinga Mg. Sc

Director de Tesis

Miembros del Tribunal

Blgo. David Mero del Valle Mg. Sc

Blgo. Abraham Velásquez Mg. Sc

Blgo. Ricardo Castillo R. Mg. Sc

CERTIFICACIÓN

Blgo. Carlos Chinga M.Sc certifica haber tutelado la tesis “*Eficiencia de la microalga Chlorella sp. Para la remoción de nutrientes en las lagunas de oxidación de la ciudad de Manta*”, que ha sido desarrollada por *Silvia Polette Lopez Mendoza y José Aristarco Meza Vera*, egresados de la carrera **INGENIERIA EN RECURSOS NATURALES Y AMBIENTALES** previo a la obtención del título de Ingenieros en Recursos Naturales y Ambientales, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACION DE LA TESIS DE GRADO DEL TERCER NIVEL**, de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

Blgo. Carlos Chinga M.Sc

DECLARATORIA

La responsabilidad de los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis corresponde exclusivamente a los autores y el patrimonio intelectual de los autores estudiantes de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí Facultad Ciencias Agropecuarias.

Silvia Polette Lopez Mendoza

José Aristarco Meza Vera

AGRADECIMIENTO.

Agradecemos a Dios, a nuestros padres por su apoyo y amor incondicional por hacer de nosotros personas con ideales y metas.

A la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí por su excelente formación académica y ética, a nuestro tutor de tesis, el Biólogo Carlos Chinga Mg. Sc por sus aportes, al Ing. Cesar Lopez Zambrano, Ing. Amado Alcívar Cuadros, Ing. Pedro Lopez Zambrano por brindar conocimientos dentro de la elaboración de análisis dentro de los laboratorios de la Facultad.

A la Universidad Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí ESPAM por facilitarnos su laboratorio para la elaboración de análisis además de la ayuda del profesor Patricio Noles. Al Ing. Paul Macías Director del Departamento Ambiental de la EPAM por permitirnos realizar muestreos y facilitarnos la entrada a las lagunas de oxidación.

Nuestros más grandes agradecimientos a la Dra. Soraya Silva quien nos enseñó todo el proceso y nos apasiono en el mundo de la microalga sus conocimientos y ayuda constante y a la Dra. Dayanara Macías por su ayuda predispuesta sus grandes conocimientos. Por ser profesionales admirables y respetables ha sido un honor para nosotros haber podido trabajar bajo su tutela.

A nuestros compañeros y colegas el ing. Darwin Cedeño y el Ing. Diego Zambrano por su colaboración.

DEDICATORIA.

Dedico este trabajo primeramente a Dios por brindarme cada día las más hermosas bendiciones. A mis Padres este logro es para ustedes, por haber hecho de mí una persona con ética y valores, muchas gracias Mami Mariana, Mami Silvia y a mi adorado y querido Padre Rene por sus amor y apoyo incondicional porque nunca perdieron la fe en mi aun cuando muchas veces el camino se hacía difícil. A mis hermanos que son fuente de inspiración y amor incondicional muchas gracias por sus consejos diarios y su ánimo los amo infinitamente Newton, Cindy y a ti mi otra mitad Salome, como no dedicar este trabajo a cada una de las personas que me han inspirado a mis familiares y amigos, maestros. Pero más que nada esto va por ustedes dos, mis amados y adorados hijos, Daniel y Marilet por ustedes cada sacrificio y meta va a ser muy pequeña pero llena del más grande y puro amor, son ustedes quienes inspiran mi vida día a día, minuto a minuto. A mi amiga incondicional Lorena Piguave y su hermosa familia gracias por nunca dejarme caer, por tus concejos y palabras de cariño muchas gracias. Dedico este trabajo investigativo a quien me enseñó todo, muchas gracias Dra. Soraya Silva por su constante apoyo y ayuda. A mi compañero de tesis el Ing. José Meza Vera.

Polet López Mendoza.

DEDICATORIA.

“La amistad es como una pequeña semilla que más adelante dará como resultado un grande y frondoso árbol”

Dedico este trabajo a mis amigos porque siempre estuvieron pendientes de mi progreso universitario día a día y me dieron su apoyo cuando lo necesite sin pedirme nada a cambio. Ustedes me acompañaron a lo largo de este proceso, no solo en mi tesis sino desde que inicio la carrera, estuvieron pendientes de que todas las cosas me salieran bien y de que no tomara una mala decisión. Gracias por haber hecho de mi etapa universitaria un trayecto de vivencia y enseñanzas que nunca voy a olvidar. Cuando tuve mis malos momentos, yo sentía que no tenía el apoyo moral de nadie para poder salir adelante, es ahí cuando ustedes me demostraron que a pesar de las circunstancias que uno pase siempre estarán dispuestos a ayudarme y apoyarme en todo lo que sea posible. Gracias por hacer mis días en la universidad mucho más felices e inolvidables y romper la monotonía, cada día que podíamos, les que agradezco porque se tomaron la molestia de gastar un poco de su tiempo para realizar este trabajo de investigación. Gracias a ustedes estoy a punto de cumplir uno de mis tantos sueños de la vida, como lo es graduarme de Ingeniería en Recursos Naturales y Medio Ambiente yo sé que muchos de nosotros tomaremos diferentes caminos, pero el día que nos crucemos de nuevo realizaremos el sueño conjunto que añoramos desde que nos conocimos, sé que somos los últimos en graduarnos después de que todos nuestros compañeros se graduaron, pero aun así juntos hasta el final. Sin nada más que decir les deseo suerte a los “Abanderados” y que Dios bendiga cada uno de nuestros caminos, nos llene de fortalezas y virtudes.

José Aristarco Meza Vera.

I. RESUMEN.	1
II. SUMMARY.	1
III. INTRODUCCION	2
3.1 Problema.	2
3.2 Contextualización. (Macro-meso-micro)	2
3.3 Analisis Crítico.	4
3.4 Delimitacion del Problema.	4
3.5 Objetivos	6
3.5.1 Objetivo General.	6
3.5.2 Objetivos Específicos.	6
3.6 Justificacion.	7
IV. MARCO TEORICO.	8
4.1 Microalgas.	8
4.2 Antecedentes históricos del uso de las microalgas.	8
4.3 Uso y aplicaciones de las microalgas.	10
4.3.1 Acuicultura.	11
4.3.2 Agricultura.	11
4.3.3 Biomedicina y Farmacología.	12
4.3.4 Alimentación humana y animal.	12
4.3.5 Tratamiento de agua.	12
4.4 Descripción del genero Chlorella sp.	13
4.5 Clasificación taxonómica de Chlorella	14
4.6 Función fotosintética.	15
4.7 Función depuradora.	16
4.8 Crecimiento.	16
4.9 Parámetros que influyen en el crecimiento de las microalgas.	18
4.9.1 Luz.	18
4.9.2 pH.	18
4.9.3 Salinidad.	18
4.10 Nutrientes	19

4.10.1	Nitrógeno	19
4.10.2	Fosforo.	19
4.11	Lagunas de oxidación.	20
4.12	Tipos de lagunas de oxidación.	20
4.12.1	Lagunas anaerobias.	20
4.12.2	Lagunas facultativas.	21
4.12.3	Lagunas de maduración.	21
4.13	Presencia de microalgas en los sistemas de lagunas de oxidación.	22
4.14	Marco Legal.	22
4.14.1	Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente: Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua	25
4.15	Hipótesis.	28
4.16	Variables	28
4.16.1	Variables Independientes.	28
4.16.2	Variables dependientes.	28
V.	METODOLOGIA	29
5.1	Lugar de procedencia de las muestras.	29
5.2	Condiciones del cultivo.	29
5.3	Cepa de microalga	30
5.4	Cuantificación de los porcentajes de remoción.	31
5.5	Medio de cultivo.	31
5.6	Contaje celular en microalgas.	33
5.7	Tasa de crecimiento.	34
5.8	Tiempo de duplicación.	35
5.9	Parámetros analizados	35
5.9.1	DQO	35
5.9.2	Determinación de sólidos suspendidos.	36
5.9.3	Determinación de amonio.	36
5.9.4	Determinación de ortofosfato.	36
5.10	Procesamiento estadístico.	37

VI. DESCRIPCION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS.	38
VII. DISCUSIÓN	47
VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
IX. PROPUESTA	49
X. BIBLIOGRAFÍA	51
XI. ANEXOS.	58

ILUSTRACIÓN 1 ÁREA DE MUESTREO. LAGUNAS DE OXIDACIÓN DE LA CIUDAD DE MANTA.	5
ILUSTRACIÓN 2 MICROALGA CHLORELLA	14
ILUSTRACIÓN 3 CURVA DE CRECIMIENTO DE UN CULTIVO DE MICROALGAS. 1.- FASE DE LATENCIA. 2.- FASE EXPONENCIAL. 3.- FASE DE CRECIMIENTO LINEAL.4.- FASE ESTACIONARIA.5.- FASE DE MUERTE. (FOGG, 1987).	17
ILUSTRACIÓN 4 AISLAMIENTO DE CULTIVO SÓLIDO Y POR MEDIO DE DILUCIONES SERIADAS.	30
ILUSTRACIÓN 5 DETALLE DE LA REJILLA DE LA CÁMARA NEUBAUER. ABCD SON LOS CUADROS EN DONDE SE REALIZÓ LOS CONTEOS PARA EL RECUENTO CELULAR Y PODER DETERMINAR LA DENSIDAD ÓPTICA. FUENTE: CELEROMICS, 2010	34
ILUSTRACIÓN 6 DINÁMICA DE CRECIMIENTO DEL INOCULO DE CHLORELLA SP. EN MEDIO DE CULTIVO WC POR UN PERIODO DE 23 DÍAS.	39
ILUSTRACIÓN 7 DINÁMICA DE CRECIMIENTO POBLACIONAL DE LA MICROALGA CHLORELLA SP. EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE TRATAMIENTO DE LAS LAGUNAS DE OXIDACIÓN	40
ILUSTRACIÓN 8 PLANTA DE TRATAMIENTO, LAGUNAS DE OXIDACIÓN DE LA CIUDAD DE MANTA.	58
ILUSTRACIÓN 9 MUESTREO DE LAS DIFERENTES LAGUNAS. DE IZQUIERDA A DERECHA LAGUNA DE MADURACIÓN, FACULTATIVA, ANAEROBIA.	58
ILUSTRACIÓN 10 RECOLECCIÓN DE MUESTRA. LAGUNA FACULTATIVA.	58
ILUSTRACIÓN 11 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO WC.	59
ILUSTRACIÓN 12 PROCESO DE FILTRACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA REALIZAR LOS RESPECTIVOS ANÁLISIS	59
ILUSTRACIÓN 13 MUESTRAS A SER ANALIZADAS EN LOS LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD ESPAM EN CALCETA.	59

ILUSTRACIÓN 14 ANÁLISIS DE AMONIO.	59
ILUSTRACIÓN 15 ANÁLISIS DE ORTOFOSFATO	59
ILUSTRACIÓN 16 CONTEO DIARIO DEL CRECIMIENTO MICROALGAL.	59

TABLA 1 CLASIFICACIÓN PARA LAS FORMAS UNICELULARES Y COLONIALES PARA ÓRDENES -----	15
TABLA 2 LIMITES DE DESCARGA A UN CUERPO DE AGUA MARINA (LIBRO VI, REPUBLICA DEL ECUADOR, 2008)-----	27
TABLA 3 ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS-----	31
TABLA 4 COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO WC-----	32
TABLA 5 RELACIÓN VOLUMÉTRICA PARA CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA SP. -----	33
TABLA 6 CARACTERIZACIÓN INICIAL (PROMEDIO ± DESVIACIÓN ESTÁNDAR) DE LOS EFLUENTES DE LAS LAGUNAS DE OXIDACIÓN DEL CANTÓN MANTA. LA: LAGUNA ANAEROBIA, LF: LAGUNA FACULTATIVA, LM: LAGUNA DE MADURACIÓN -----	38
TABLA 7 VALORES DE TASA DE CRECIMIENTO (μ) Y TIEMPO DE DUPLICACIÓN (TD) CORRESPONDIENTE A LA FASE EXPONENCIAL DE LA MICROALGA CHLORELLA SP. DURANTE EL TRABAJO DE INVESTIGACION. -----	41
TABLA 8 VALORES MEDIOS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS NUTRIENTES (AMONIO Y ORTOFOSFATO) Y DE DQO EN EL PERIODO DE CRECIMIENTO DE LA MICROALGA CHLORELLA SP. --	42
TABLA 9 PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y NUTRIENTE DURANTE EL TRATAMIENTO DEL EFLUENTE RESULTANTE DE LAS LAGUNAS DE MADURACIÓN -----	44
TABLA 10 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS PARÁMETROS QUÍMICOS MEDIDOS: ORTOFOSFATO, AMONIO, DQO: TRATAMIENTO1: ESCALA DE DILUCIÓN 100%. TRATAMIENTO 2: ESCALA DE DILUCIÓN 75%. TRATAMIENTO 3: ESCALA DE DILUCIÓN 50%. TRATAMIENTO 4: ESCALA DE DILUCIÓN 75%-----	45
TABLA 11 COMPARACIÓN DE DATOS EN LAS DIFERENTES DILUCIONES DE LA LAGUNA DE MADURACIÓN CON LOS LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA DESCARGA AGUA MARINA DE ECUADOR -----	46

I. RESUMEN.

Se evaluó el uso de *Chorella sp.* para la remoción de Amonio, Ortofosfato y DQO de las aguas residuales del sistema de tratamiento de las lagunas de oxidación del Cantón Manta. Los tratamientos se realizaron con un volumen de 250 mL de efluente residual, a escalas de dilución de 100%, 75%, 50%, 25% en relación a un control con agua destilada y el inóculo de Microalga *Chlorella sp.* Los tratamientos se realizaron en medio natural por un periodo de 23 días. Se manifestó el crecimiento óptimo en la laguna de maduración en los tratamientos de 100 y 75% de dilución. Se presentó una remoción de amonio del 86%, al final del experimento. La remoción máxima de ortofosfato fue de 50%. La remoción de DQO fue del 69%. Los resultados ofrecen una buena alternativa para el tratamiento de efluentes residuales en la planta de tratamiento de las lagunas de oxidación.

Palabras claves: Efluentes residuales, *Chlorella sp.* DQO, amonio, ortofosfato, remoción.

II. SUMMARY.

The use of *Chorella sp.* for the removal of ammonium, orthophosphate and COD from the wastewater of the treatment system of the oxidation lagoons of Manta City. The treatments were carried out with a volume of 250 mL of residual effluent, at 100%, 75%, 50%, 25% dilution scales in relation to a control with distilled water and the inoculum of Microalga *Chlorella sp.* The treatments were performed in natural environment for a period of 23 days. Optimal growth was observed in the maturation pond in treatments with 100 and 75% dilution. An ammonium removal of 86% was present at the end of the experiment. The maximum removal of orthophosphate was 50%. The removal of COD was 69%. The results offer a good alternative for the treatment of residual effluents in the treatment plant of oxidation ponds.

Key words: Residual effluents, *Chlorella sp.* COD, ammonium, orthophosphate, removal.

III. INTRODUCCION

3.1 PROBLEMA.

En el caso particular de Manta, cuenta con un sistema de tratamientos de aguas servidas conformadas por lagunas de oxidación, que constituyen el tratamiento de aguas residuales, estas en conjunto tienen una capacidad de almacenamiento de 350.000 m³, este sistema no tiene capacidad para el tratamiento adecuado de todas las aguas residuales que se generan actualmente en la ciudad y la falta de recurso de la empresa pública de aguas (EPAM), para poder emprender las soluciones urgentes y oportunas ha hecho que estas aguas sean evacuadas en el cauce del río incumpliendo la normativa legal vigente en materia de vertido y disposición de efluentes (EPAM, 2007).

La ubicación geográfica del cantón Manta, provincia de Manabí, trajo consigo el asentamiento de industrias pesqueras, las cuales se han ido multiplicando con el desarrollo de la ciudad, lo cual genera un colapso en el sistema sanitario, provocando un foco de contaminación en los causes de los ríos invernales de la ciudad, cuyas aguas se unen, antes de confluir al mar. Los ecosistemas costeros están siendo receptores de estos efluentes, introduciendo grandes cargas de nutrientes, lo que podría causar eutrofización (Lynch, G., 2007).

3.2 CONTEXTUALIZACIÓN. (MACRO-MESO-MICRO)

Desde hace más de un siglo se viene trabajando en la remoción de materia orgánica y de sólidos suspendidos contenidos en las aguas residuales de todo tipo. Recientemente se han incorporado procesos para mejorar la remoción de nitrógeno y fósforo presentes en aguas residuales (Kargi F. and Uygun A., 2003).

Solo a finales de los años ochenta y principios de los noventa se observaron los efectos negativos de las descargas de aguas residuales con aportes de nitrógeno y fósforo, por lo que el interés de la remoción de estos nutrientes se ha visto

reflejado en un incremento del número de proyectos de investigación (You S. J., Hsu C. L., Chuang S.H. and Ouyang C.F., 2003).

En este contexto el desarrollo de tecnologías orientadas al cuidado del medio ambiente, la reutilización de los residuos y la generación de energías limpias de bajo costo se han tornado indispensables. En estas tecnologías los cultivos de microalgas adquieren un gran protagonismo al ser considerados eco amigables (Olguin E.J., 2003)

La importancia y aplicación de las microalgas en los tratamientos de aguas residuales, tiene sus antecedentes en la época de Caldwell (1940), quien reporta los primeros estudios, sobre la posibilidad de utilizar las microalgas como microorganismos purificadores de aguas residuales, debido al aprovechamiento de los nutrientes inorgánicos contenidos en estas aguas, para favorecer el crecimiento de las microalgas funcionando este como medio de cultivo (Margarita Salazar Gonzales, 2006).

El uso de cultivos algales masivos como tratamiento de aguas residuales ha sido aplicado en numerosos países, y se ha demostrado un método muy efectivo (Shelef G, R. Moraine y G, Oron., 1978).

Existe una vasta experiencia en el tratamiento de efluentes contaminados con aguas residuales utilizando *Chlorella sp* (Romero, T, 2001). Este género ha sido aplicado al tratamiento biológico de aguas residuales, probando su efectividad en la remoción de nitrógeno, fosforo, DQO y metales. Su uso en la aplicación de biorremediación ha sido bastante amplia, en forma suspendida o inmovilizada, como cepa pura o en asociación con otros microorganismos no fotosintéticos (Garza, M.T., Almaguer, V., Rivera, J. and Loredó, J., 2010).

Los sistemas de cultivos abiertos como lagunas son sistemas rentables ya que pueden ser utilizados para tratamientos de aguas residuales de distintas fuentes (De Godos I, S Blanco, PA Garcia-Encina, E Becares & R Muñoz., 2009). Las ventajas de los sistemas abiertos radican en su bajo costo y facilidad de

construcción y operación, así como en la alta durabilidad (Rawat I, R Ranjith-Jumar, T Mutanda & F Bux , 2011).

Como desventajas encontramos la baja accesibilidad de las células a la luz, la evaporación, la necesidad de grandes extensiones de terreno y exposición a contaminación por parte de organismos heterótrofos de rápido crecimiento (Contreras-Flores C, J Peña-Castro, L Flores-Cotera & R Cañizares- Villanueva, 2003).

3.3 ANALISIS CRÍTICO.

Por tal razón, es importante asumir investigaciones orientadas hacia el estudio de las posibles respuestas de las poblaciones algales ante el nitrógeno y el fósforo, ya que son los principales nutrientes que afectan el crecimiento de las microalgas, por lo tanto, evaluar la manera en que su disponibilidad sea la adecuada.

El presente trabajo se realiza con el fin de generar un documento que sirva de base para mejorar el sistema de tratamientos de las lagunas de oxidación del cantón Manta, brindando alternativas para el diseño de un sistema de tratamiento de pulimento utilizando *Chorella sp*, con el fin de prevenir la contaminación de los cuerpos de agua que se encuentran en la zona de influencia, preservar la flora y fauna de la zona, garantizando el buen vivir de la población.

3.4 DELIMITACION DEL PROBLEMA.

El área de las lagunas actuales esta alrededor de 50 ha. Teniendo en consideración 4 lagunas anaeróbicas, 4 lagunas facultativas, 4 lagunas de maduración (Ilustración 1). Los tratamientos a realizar tuvieron un periodo de 23 días de cultivo en condiciones ambientales, se implementaron diferentes escalas de dilución del efluente 100%, 75%, 50%,25%. En este periodo de tiempo se comprobó la efectividad de la microalga *Chlorella sp*. en la remoción de Amonio, Ortofosfato y DQO.

Ilustración 1 Área de muestreo. Lagunas de Oxidación de la ciudad de Manta.



3.5 OBJETIVOS

3.5.1 OBJETIVO GENERAL.

- Evaluar la eficiencia de la microalga *Chlorella sp.* en la remoción de nutrientes en las diferentes etapas de las lagunas de oxidación del cantón Manta.

3.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Caracterizar mediante análisis físicos químicos los distintos efluentes de las lagunas de oxidación del cantón Manta.
- Determinar la tasa del índice de crecimiento de la microalga *Chlorella sp.* en los distintos efluentes de las lagunas de oxidación del cantón Manta.
- Determinar el porcentaje de remoción de nutrientes, en los distintos efluentes de las lagunas de oxidación del cantón Manta.
- Comparar la calidad del efluente resultante, utilizando la normativa legal vigente del libro VI del TULSMA para su disposición final.

3.6 JUSTIFICACION.

Las actividades del ser humano en su gran mayoría requieren la utilización del recurso agua, el mismo que es importante preservar, debido a esto la utilización debe ser realizada de manera racional. En las actividades realizadas por el hombre se utilizan químicos, y estos productos generan ciertos compuestos que pueden alterar las condiciones adecuadas de los recursos hídricos donde se los descarga, contaminándolos si no se realiza una gestión adecuada de los mismos.

En nuestro medio, no se han reportado mediciones cinéticas precisas de microalgas de sistemas lagunares, por lo que, una completa caracterización de la composición y cinética presentes en sistemas de tratamiento lagunares del cantón Manta son el primer paso para determinar el potencial y aprovechamiento de estos microorganismos.

La obtención de estos resultados permitirá desarrollar un modelo ambiental que permita la operación y optimización del proceso, para que el efluente tratado con las microalgas cumpla con todos los límites permisibles dentro de la normativa ambiental que exige el Texto Unificado de Legislación Secundaria y de esta manera preservar el medio ambiente para lograr un proyecto socioeconómico y ambientalmente equilibrado.

IV. MARCO TEORICO.

4.1 MICROALGAS.

El termino microalga se refiere aquellos microorganismos que contiene clorofila *a* y otros pigmentos fotosintéticos, capaces de realizar fotosíntesis. (Luna, 1997). Las microalgas son organismos unicelulares eucariotas fotosintéticos (2-200 μm), que pueden crecer de modo autotrófico o heterotrófico. En general son altamente eficientes en la fijación del CO_2 y utilización de la energía solar para producir biomasa, con una eficiencia hasta cuatro veces superior a la de las plantas. (Cajamarca, 2015).

4.2 ANTECEDENTES HISTÓRICOS DEL USO DE LAS MICROALGAS.

En 1980, el microbiólogo holandés Beijerick establece cultivos puros de una microalga de agua dulce: *Chorella vulgaris*. Algo más tarde, Otto Warburg (1919) logró en el laboratorio cultivos concentrados de *Chorella*, e introdujo la idea de utilizar estos cultivos como una herramienta de trabajo en el estudio de la fotosíntesis. Los cultivos de microalgas han sido estudiados por numerosos investigadores, (José María Fernández Sevilla , 2014) especialmente a una intensidad de saturación, son muchos más productivos que las plantas superiores o las células foto autotróficas aisladas de las mismas (Luna, 1997).

La producción masiva de microalgas se llevó a cabo por primera vez en Alemania durante la II Guerra Mundial, dirigido a la producción de lípidos, para lo que se utilizaron microalgas *Chorella*, *pyrenoidosa* y *Nitzschia palea* (Luna, 1997). Después de la II Guerra Mundial comenzó a considerarse la biomasa de microalgas como un suplemento importante e incluso, capaz de reemplazar a las proteínas animales o vegetales convencionales para consumo directo del ganado o del hombre, acortando la ineficiente cadena alimenticia proteica.

En la década de los 50, en Alemania occidental, comenzaron los trabajos sobre el cultivo de *Scenedesmus acutus* en los que se planteaba la utilización de CO₂ producido en la región industrial del Rhur. Estos trabajos fueron continuados por Soeder y su grupo, que realizaron importantes aportes al cultivo masivo de microalgas (Luna, 1997). También, a comienzos de los años 50 Oswald y sus colaboradores de la universidad de California, Berkeley, sugirieron la utilización de cultivos masivos para tratamiento de aguas residuales y producción de proteínas, simultáneamente (1975).

En la década del 80 se establecen numerosas industrias para la producción de microalgas, sobre todo *Spirulina* y *Dunaliella* en Taiwan, Tailandia, California, Australia, Hawái e Israel. La producción de *Dunaliella* aparece como una de las más prometedoras, por sus contenidos en betacaroteno y sus propiedades terapéuticas (Luna, 1997).

En años recientes, los desarrollos tecnológicos para la producción masiva de microalgas han sido significativos en todo el mundo. El resultado práctico de este cultivo masivo, en el contexto de la producción de microalgas para la alimentación, es el desarrollo de una floreciente industria de *Chlorella* en Japón y Taiwán. Esta microalga se utiliza para la manufactura de tabletas, extractos y otros alimentos dietéticos, para los que existe Japón un mercado bien establecido. (Luna, 1997)

En Taiwán, se ha utilizado *Chlorella ellipsoidea* y *Chlorella pyrenoidosa* con un rendimiento de 25 ± 30 g/m²/día. En Asia, actualmente existen numerosas factorías para la producción masiva de microalgas de agua dulce para la alimentación, principalmente *Chlorella* sp. El desarrollo de la tecnología de cultivos algales ha avanzado mucho hasta nuestros días, y Cuba se ha integrado a estos estudios, teniendo en cuenta los beneficios que estos, de forma general, reportan al desarrollo de la acuicultura. Se conoce, que el desarrollo de la acuicultura depende, en gran medida, de una exitosa producción de la semilla de siembra, es decir, los alevines y las larvas pre-criadas, donde el uso de microalgas, directa o indirectamente, ha sido de gran importancia.

En la actualidad, las microalgas tienen una vasta aplicación en varias vertientes de la vida humana; se utilizan como suplementos dietéticos, en medicina, farmacéutica, en la industria de los cosméticos, en la búsqueda y obtención de nuevos combustibles, para la alimentación de aves de corral, cerdos, rumiantes, y en la acuicultura, en la alimentación de peces y de zooplancton, siendo numerosas las investigaciones que citan la obtención de mayores índices de producción y tratamiento de aguas contaminadas.

4.3 USO Y APLICACIONES DE LAS MICROALGAS.

En los últimos años se han logrado avances importantes en la utilización de las microalgas para diversos fines como la salud humana, cosmética, purificación de aguas residuales, prevención de la contaminación acuática, industria farmacéutica, acuicultura, producción de pigmentos y antibióticos, entre otros. Hay constancia de aproximadamente 493 especies que podrían ser utilizadas como alternativas de alimentación para el hombre y otros animales. (Cajamarca, 2015).

El uso de microalgas está proporcionando a los científicos numerosas líneas de investigación y a los empresarios posibilidades de negocio, debido a la cantidad de aplicaciones que tienen, como por ejemplo, la producción de energía, ya sea en forma de hidrógeno o biocombustibles; o para limpiar el medio ambiente absorbiendo dióxido de carbono y purificando aguas residuales; para alimentación y producción de sustancias como vitaminas, ácidos grasos, o pigmentos; para la industria agraria con la producción de fertilizantes; para acuicultura; para biomedicina e incluso para la industria cosmética. (Cajamarca, 2015).

Las ventajas del cultivo de microalgas se pueden resumir en tres puntos según (Cohen, 1986).

El cultivo de microalgas es un sistema biológico eficiente de utilización de la energía solar para producir materia orgánica. Las microalgas crecen más rápido que las plantas terrestres y es posible obtener mayores rendimientos anuales de biomasa.

La composición bioquímica puede modificarse fácilmente variando las condiciones ambientales y/o la composición de cultivo. Bajo ciertas condiciones, muchas especies de microalgas pueden acumular compuestos de interés comercial en altas concentraciones, tales como proteínas, lípidos, almidón, glicerol, pigmentos naturales o biopolímeros.

Se han propuesto y desarrollado numerosas aplicaciones de las cianobacterias y microalgas eucariotas en diversos campos tecnológicos, en cultivo masivo o continuo, libres o inmovilizadas, vivas o procesadas, algunas de las cuales se encuentran en plena explotación comercial.

Cresswell (Cresswell, 1990) y Akatsuya (Akatsuka, 1990) destacan las siguientes aplicaciones:

4.3.1 ACUICULTURA.

Actualmente las microalgas constituyen la principal fuente de alimento utilizada en la nutrición de moluscos, rotíferos y fases larvarias de crustáceos, siendo además utilizadas como complemento en las dietas de peces o como medio para mantener la calidad del agua.

4.3.2 AGRICULTURA.

Utilización de biomasa microalgal como biofertilizantes.

4.3.3 BIOMEDICINA Y FARMACOLOGÍA.

Utilización de dietas de adelgazamiento y tratamiento de heridas, algunas microalgas presentan efectos hipocolesterolemicos, actividad antibacteriana, anti fúngica, inmunoreguladora y antitumoral.

4.3.4 ALIMENTACIÓN HUMANA Y ANIMAL.

Las microalgas representan una fuente de proteínas Single Cell Protein con posibles aplicaciones en la nutrición humana, pero principalmente se utiliza como complemento del peso animal. Los hidrolizados proteicos son de gran utilidad en la industria medico farmacéutica.

4.3.5 TRATAMIENTO DE AGUA.

Las microalgas se emplean en el tratamiento de aguas residuales, destoxificación biológica y control de metales pesado en aguas naturales o en aguas industriales contaminadas denominada biorremediación, la cual se entiende como la utilización de organismos vivos, de cualquier reino, para depurar ambientes contaminados. En este caso la fitodepuración es la utilización de plantas verdes (macrófitas o micrófitas) para depurar efluentes líquidos o gaseosos que nos permiten la eliminación de sustancias contaminantes, aprovechando la capacidad de ellas de metabolizar de dichas sustancias con la ayuda de la energía solar.

El potencial de las microalgas en la depuración de aguas residuales urbanas e industriales se fundamenta en su capacidad de asimilar y eliminar nutrientes, principalmente nitrógeno y fosforo. Po lo cual este estudio se centra como un tratamiento terciario para las aguas residuales, es decir que previamente ha tenido un tratamiento el cual haya eliminado la mayor parte de materia orgánica disuelta y suspendida.

Algunas especies de microalgas verdes presentan un potencial de tolerancia en medios elevados de concentraciones en nutrientes. (Wang, 2009). Evaluaron el crecimiento de la especie *Chlorella sp* en aguas residuales, en cuatro momentos distintos de su proceso de tratamiento: previa a la decantación primaria, tras la decantación primaria, después del tratamiento de lodos activos y ya en su último tratamiento. Su estudio aporta velocidades específicas de crecimiento desde 0.34 d⁻¹ tras los lodos activos hasta 0.95 d⁻¹ para el resultado final) y de eliminación de nutrientes y DQO.

En otro estudio, (Ruiz-Marin, 2010) obtuvo un porcentaje de eliminación de amonio del 100% y del 60% en cultivos tipo batch de *Chlorella sp*. estos están dirigidos más bien a su cultivo y la producción de biodiesel, para lo cual ya se cuentan con laboratorios de biotecnología con fines energéticos (Gonzales A, 2000).

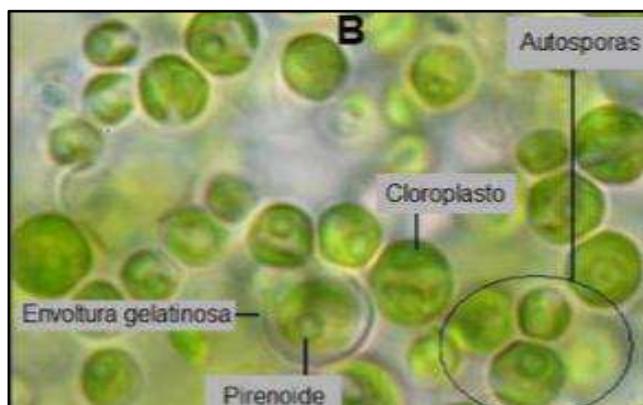
Hay estudios enfocados en determinar la presencia de microalgas e identificar las especies de las mismas en lugares aislados del Ecuador, como es el agua del glaciar Liniza, en la cual se han encontrado especies de microalgas denominadas algas de nieve que también se encuentran en zonas volcánicas del Ecuador (Nedbalová, 2008).

En nuestro medio, actualmente se están realizando investigaciones enfocadas en la identificación de especies de microalgas, en zonas como el Parque Nacional de Cajas, y en el caso de las lagunas de estabilización de Ucubamba se realizaron estudios de caracterización de especies de microalgas presentes en estas (Janssens., 2010).

4.4 DESCRIPCIÓN DEL GENERO *CHLORELLA SP*.

Las especies de *Chlorella* son especialmente conocida por su capacidad de eliminar nutrientes del agua se desarrolla por tanto en medios ricos en nutrientes. Es conocida por ser una de las microalgas con más rápido crecimiento. Son células esféricas, de coloración verde, se reconocen pirenoides, cloroplastos, envoltura gelatinosa y auto esporas contienen clorofila a y b. (Ilustración 2).

Ilustración 2 Microalga *Chlorella*



El nombre *Chlorella* proviene del griego Chloros, que significa verde, y del latín ella, que significa cosa pequeña, y fue descubierta y nombrada por el holandés M. W. Beyerinck en 1980. Su color es un verde fuerte debido a su elevado contenido de clorofila, así que su capacidad de fotosíntesis se multiplica requiriendo CO₂ agua, luz solar y minerales, para dividirse en cuatro células cada 20 horas.

Las especies del genero *Chlorella* tiene marcadas diferencias en cuanto al comportamiento ante factores de salinidad, acidez y elevada temperatura (Kelssler, E., 1986), aunque de forma general toleran amplios intervalos de salinidad y valores de pH (Oh-Hama, T & Miyashi, S, 1988).

La microalga *Chlorella* forma parte del género de algas verdes unicelulares de agua dulce del filo *Chlorophyta* de las cuales existen 30 especies de *Chlorella* según su clasificación botánica. Tiene forma esférica y miden de 2 a 10 µm de diámetro, no poseen flagelos. Se reproducen rápidamente a través de la fotosíntesis en medios autotróficos, heterotróficos y mixotróficos.

4.5 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE CHLORELLA

De acuerdo al sistema de clasificación propuesto por Parra y Bicudo (Parra , O. y C. Bicudo., 1996) la división de Chloropyta está representada en 15 ordenes, los cuales son agrupados según sus características morfológicas en: a) Formas

unicelulares y coloniales, b) formas filamentosas unicelulares y c) formas multinucleadas.

Parra y Bicudo establecen un sistema de clasificación (Tabla 1) para las formas unicelulares y coloniales.

Tabla 1 Clasificación para las formas unicelulares y coloniales para Órdenes

División	Chlorophyta	Chlorophyta	Chlorophyta
Clase	Chlorophyceae	Chlorophyceae	Chlorophyceae
Orden	Chlorococcales	Chlorococcales	Volvocales
Familia	Oocystaceae	Oocystaceae	Chlamydomonadaceae
Genero	<i>Chlorella</i>	<i>Monoraphidium</i>	<i>Chlamydomonas</i>

Fuente: (Parra , O. y C. Bicudo., 1996)

4.6 FUNCIÓN FOTOSINTÉTICA.

La fotosíntesis es un proceso llevado a cabo por organismos foto autótrofo, que tiene una capacidad de sintetizar materia orgánica partiendo de la energía del sol y la materia inorgánica. La importancia de este proceso no puede ser discutida, ya que la vida en la tierra se mantiene fundamentalmente gracias a la fotosíntesis que realizan las algas en medios acuáticos y las plantas en el medio terrestre ya que estas introducen los nutrientes minerales en la base de la cadena trófica de los ecosistemas, generando materia orgánica que es consumida por organismos superiores.

4.7 FUNCIÓN DEPURADORA.

La fitorremediación, se define como el uso de plantas verdes para poder eliminar los contaminantes del entorno o para reducir su peligrosidad. (Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I, 1998)

Las algas han ido ganando atención debido a su potencial de eliminación de nutrientes en las aguas residuales urbanas (De-Bashan, L., Bashan , Y., 2010) , industriales (Bordel, S., Guieysse, B., Muñoz, R. , 2009) y de la agroindustria (Olguin, E.J. , 2003).

Numerosos estudios destacan la reducción de CO₂ por parte de las microalgas, debido al efecto invernadero del gas y el hecho que las microalgas puedan fijar CO₂ con una eficiencia de 10 y 50 veces mejor que las plantas terrestres. Cabe destacar también el potencial que tiene las microalgas en la eliminación de metales pesados en las aguas residuales. En 1986 Gale registro una remoción del 99% de metales disueltos en agua de la minería por medio de microalgas (Abdel-Raouf N, 2012). Varios autores determinaron una remoción del 100% utilizando Scenedesmus y Chlorella para Mn. 96,5-98%, para Fe 77,4-85%, para Zn 77,5-95%, para Cr 52,3-64% y para Ni 77,3-81%. (Hammouda O, 1995)

4.8 CRECIMIENTO.

La composición y la productividad de las microalgas están determinadas principalmente por la alcalinidad del medio, el pH, la temperatura, la disponibilidad y concentración de nutrientes, la intensidad y tipo de luz, la densidad celular del cultivo y la contaminación o depuración por otros organismos. En promedio las microalgas duplican su biomasa a las 24 horas. Sin embargo, en fase exponencial algunas microalgas pueden duplicar su biomasa en tiempos tan cortos como 3,5 horas (Brenan, M., Owende, P., 2010).

Según (Lee, Y.-K. and Shen, H., 2004) las fases de crecimiento que se desarrollan en un cultivo de microalgas son: (Ilustración 3).

Fase de latencia: se observa en la fase inicial del crecimiento, con frecuencia ocurre un retardo en el desarrollo de las células, debido al ajuste fisiológico por los cambios en las condiciones de nutrientes o del medio de cultivo.

Fase exponencial: llamada también fase de crecimiento acelerado, en el cual las células se han adaptado al medio, y comienzan a multiplicarse y crecen en forma exponencial.

Fase de crecimiento lineal: conforme al cultivo va creciendo se produce una disminución de nutrientes, cambios de pH y alteración de otros factores como consecuencia del incremento de la población. (Romo Piñera, 2002).

Fase estacionaria: en esta ya no se observa una división celular neta, es decir que el número de células alcanzado se mantiene constante por cierto periodo de tiempo debido al balance entre la natalidad y mortalidad que presenta el cultivo.

Fase de muerte: en esta fase las células empiezan a morir, aunque pueden durar en la fase estacionaria semanas e incluso meses. (Romo Piñera, 2002).

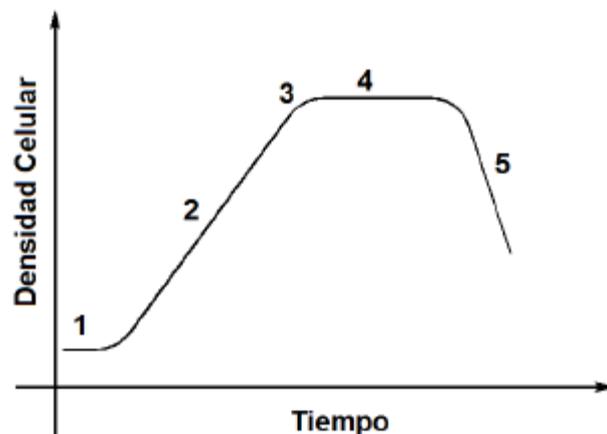


Ilustración 3 Curva de Crecimiento de un cultivo de microalgas. 1.- Fase de latencia. 2.- Fase exponencial. 3.- Fase de crecimiento lineal. 4.- Fase estacionaria. 5.- Fase de muerte. (Fogg, 1987).

4.9 PARÁMETROS QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO DE LAS MICROALGAS.

Como todo organismo vivo, las condiciones físicas tienen una gran influencia en el crecimiento de las microalgas. Cada especie tiene un particular intervalo de temperatura, intensidad de luz, salinidad, pH, nutrientes dióxido de carbono y oxígeno para la producción de un máximo crecimiento. (Romo Piñera, 2002).

4.9.1 LUZ.

Las microalgas son microorganismos que convierten la energía lumínica en metabólica mediante la fotosíntesis, esta energía lumínica puede ser recibida de forma natural en ciclos de día y noche o artificial, que a su vez puede ser de forma continua o discontinua en ciclos alternados de luz y oscuridad. (Romo Piñera, 2002). Se han encontrado diversos estudios que sostienen que a altas intensidades de luz la producción de polisacáridos en las células tiende a aumentar. (Ruiz Martínez, 2011) (Richmond, 2004).

4.9.2 PH.

El pH puede afectar muchos de los procesos bioquímicos asociados con el crecimiento y metabolismos de las algas, incluso la disponibilidad de los iones de Nitrógeno como nutrientes. El rango de pH generalmente varía de 8 y 10 aunque para la producción de masa el pH recomendable está alrededor de 8.1 y 8.7; valores de pH excesivamente bajos o altos disminuyen la productividad. (Ruiz Martínez, 2011) (Park, 2010).

4.9.3 SALINIDAD.

La concentración de sales inorgánicas disueltas, tanto en agua dulce como marinas, pueden potencialmente afectar al crecimiento de las microalgas en función de su actividad osmótica. El efecto de salinidad adquiere más influencia cuando se relaciona con otras variables, como temperatura, luz, fuente de nitrógeno y concentración de nutrientes. El intervalo de salinidad óptimo para

una microalga depende de la especie, para microalgas clorofitas la salinidad optima oscila entre 25 y 35 g/L (Abalde, 1995).

4.10 NUTRIENTES

Desde mediados del siglo XX se sabe que las microalgas son eficientes en la remoción de nitrógeno y fosforo en aguas residuos. (Hammouda O, 1995) (Abdel-Raouf N, 2012) (Park, 2010). Esto se debe a que son nutrientes esenciales en la formación biomasa (Georgakakis, 2011). Por lo que incorporan el amonio. Nitrato, y fosforo por absorción directa (Wong, 1996). Las principales formas que se encuentra el nitrógeno en las aguas residuales son NH_4^+ (amonio), NO_2^- (nitrito) y NO_3^- (nitrato), mientras que fosforo se presenta como PO_4^{3-} (ortofosfato) (Abdel-Raouf N, 2012) (Hammouda O, 1995).

4.10.1 NITRÓGENO

El nitrógeno es el nutriente más importante que contribuye a producción de biomasa. Además, es un factor crítico para la regulación del contenido lipídico celular de las microalgas. Sin embargo, en exceso puede disminuir el crecimiento celular. (Park, 2010). La fuente de nitrógeno puede ser suministrada como nitrato (NO_3^-), amonio (NH_4^+), o urea. (Richmond, 2004).

4.10.2 FOSFORO.

El fosforo es esencial para el crecimiento de las algas, así como para varios procesos como la transferencia de energía, biosíntesis de ácidos nucleicos, etc. El contenido de fosforo en las células esta alrededor del 1% de la biomasa; además es uno de los factores más importantes para el crecimiento de las algas en biotecnología y puede ser suministrado como ortofosfato (PO_4^{3-}). El suministro de fosforo influencia a la composición de la biomasa producida, especialmente en el contenido de lípidos y carbohidratos. (Richmond, 2004).

4.11 LAGUNAS DE OXIDACIÓN.

Las lagunas de estabilización son el método más simple de tratamiento de aguas residuales que existe. Están construidas por excavaciones poco profundas, generalmente tienen forma rectangular o cuadradas. Estas tienen como objetivo remover de las aguas residuales la materia orgánica que ocasiona la contaminación, además de eliminar los microorganismos patógenos que representan un grave peligro para la salud. La eliminación de materia orgánica en las lagunas es el resultado de una serie compleja de procesos físicos, químicos, y biológicos. Los procesos biológicos más importantes que tiene lugar en una laguna son:

Oxidación de la materia orgánica. Se da por bacterias aeróbicas, la respiración bacteriana provoca la degradación de la DBO_5 del agua residual hasta CO_2 y H_2O produciendo energía y nuevas células.

Producción fotosintética de oxígeno. La fotosíntesis algal produce a partir de CO_2 , nuevas algas y O_2 que es utilizado en respiración bacteriana.

Digestión anaerobia de la materia orgánica con producción de metano.

4.12 TIPOS DE LAGUNAS DE OXIDACIÓN.

Las lagunas de oxidación suelen clasificarse en: lagunas aerobias anaerobias facultativas y de maduración, la ciudad de Manta tiene como modelo de tratamiento de aguas residuales las lagunas de oxidación que se encuentra ubicada a casi 1 km de distancia al sur del sitio más poblado de la ciudad de Manta (cooperativa 24 de Mayo). Están en un terreno de 50 Ha y se distribuyen de la siguiente manera 4 lagunas anaerobias, 4 lagunas facultativas y 4 lagunas de maduración. (Macías, 2017).

4.12.1 LAGUNAS ANAEROBIAS.

El tratamiento se lleva a cabo por acción de bacterias anaerobias. Como consecuencia de la elevada carga orgánica y el otro periodo de retención del

agua residual, el contenido de oxígeno disuelto se mantiene muy bajo o nulo durante todo el año. El objetivo perseguido es retener la mayor parte posible de material sólido en suspensión, que pasan a incorporarse a la capa de fangos acumulados en el fondo y eliminar parte de la carga orgánica.

Las lagunas anaerobias suelen tener una profundidad entre 2 y 5m, el parámetro más utilizado para el diseño de la laguna anaerobia es la carga volumétrica que por su alto valor lleva a que sean habituales tiempos de retención con valores comprendidos entre 2-5 días (Romero, 1999).

4.12.2 LAGUNAS FACULTATIVAS.

Son aquellas que poseen una zona anaerobia y otra aerobia siendo respectivamente en el fondo y superficie. El fin de estas lagunas es estabilizar la materia orgánica en un medio oxigenado proporcionado principalmente por las algas presentes. Las profundidades de estas lagunas están comprendidas de 1 y 2 m para facilitar un ambiente oxigenado en la mayor parte del perfil vertical. (Rolim, 2000).

Las bacterias y algas actúan en forma simbiótica, con el resultado global de la degradación de la materia orgánica. Las bacterias utilizan el oxígeno suministrado por las algas para metabolizar en forma anaeróbica los compuestos orgánicos. En este proceso se liberan nutrientes solubles (nitrato y el fosfato) y el dióxido de carbono en grandes cantidades, estos son utilizados por las algas en su crecimiento. De esta forma, la actividad de ambas es mutuamente beneficiosa. (Rolim, 2000).

4.12.3 LAGUNAS DE MADURACIÓN.

Este tipo de lagunas tiene como objetivo eliminar las bacterias patógenas. Además de su efecto desinfectante, las lagunas de maduración cumplen otros objetivos, como son la nitrificación del nitrógeno amoniacal, cierta eliminación de nutrientes, clarificación del efluente y consecución de un efluente bien oxigenado. Tiene un tiempo de retención de 3 a 10 días cada una, y con una

profundidad de 1.5m. Estas constituyen la última etapa del tratamiento. (Rolim, 2000).

4.13 PRESENCIA DE MICROALGAS EN LOS SISTEMAS DE LAGUNAS DE OXIDACIÓN.

La microbiología en los sistemas de tratamiento de aguas residuales es compleja y muy variada. Los procesos microbiológicos que se llevan a cabo en estos sistemas son de mucha importancia ya que juegan un papel importante para la depuración de las aguas residuales.

En los sistemas de lagunas existen las condiciones adecuadas para el crecimiento adecuado de las microalgas debido a su alta presencia de luz, nitrógeno inorgánico (amonio y nitritos) y fosforo. (Abdel-Raouf N, 2012).

4.14 MARCO LEGAL.

Constitución Política del Ecuador, R. O. No. 449 del 20 de octubre del 2008.

La Constitución establece una serie de disposiciones con el fin de brindar derechos, regular y sancionar acciones dentro del territorio nacional. Los artículos que aplican para la presente auditoría ambiental se detallan a continuación.

Título II. Derechos

Capítulo Segundo. Derechos del buen vivir

Sección segunda. Ambiente sano

Art. 14.- Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*. Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio

genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Art. 15.- El Estado promoverá, en el sector público y privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto. La soberanía energética no se alcanzará en detrimento de la soberanía alimentaria, ni afectará el derecho al agua. Se prohíbe el desarrollo, producción, tenencia, comercialización, importación, transporte, almacenamiento y uso de armas químicas, biológicas y nucleares, de contaminantes orgánicos persistentes altamente tóxicos, agroquímicos internacionalmente prohibidos, y las tecnologías y agentes biológicos experimentales nocivos y organismos genéticamente modificados perjudiciales para la salud humana o que atenten contra la soberanía alimentaria o los ecosistemas, así como la introducción de residuos nucleares y desechos tóxicos al territorio nacional.

Capítulo séptimo. Derechos de la naturaleza.

Art. 71.- La naturaleza o Pacha Mama, donde se reproduce y realiza la vida, tiene derecho a que se respete integralmente su existencia y el mantenimiento y regeneración de sus ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos. Toda persona, comunidad, pueblo o nacionalidad podrá exigir a la autoridad pública el cumplimiento de los derechos de la naturaleza. Para aplicar e interpretar estos derechos se observarán los principios establecidos en la Constitución, en lo que proceda (...).

Art. 72.- La naturaleza tiene derecho a la restauración. Esta restauración será independiente de la obligación que tienen el Estado y las personas naturales o jurídicas de Indemnizar a los individuos y colectivos que dependan de los sistemas naturales afectados. En los casos de impacto ambiental grave o permanente, incluidos los ocasionados por la explotación de los recursos naturales no renovables, el Estado establecerá los mecanismos más eficaces para alcanzar la restauración, y adoptará las medidas adecuadas para eliminar o mitigar las consecuencias ambientales nocivas. Art. 73.- El Estado aplicará

medidas de precaución y restricción para las actividades que puedan conducir a la extinción de especies, la destrucción de ecosistemas o la alteración permanente de los ciclos naturales (...).

Art. 74.- Las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades tendrán derecho a beneficiarse del ambiente y de las riquezas naturales que les permitan el buen vivir. Los servicios ambientales no serán susceptibles de apropiación; su producción, prestación, uso y aprovechamiento serán regulados por el Estado

Ley Orgánica Reformatoria al Código Orgánico Integral Penal

Capítulo cuarto. Delitos contra el ambiente y la naturaleza o Pacha Mama
Sección segunda. Delitos contra los recursos naturales

Art. 251.- Delitos contra el agua.- La persona que contraviniendo la normativa vigente, contamine, deseeque o altere los cuerpos de agua, vertientes, fuentes, caudales ecológicos, aguas naturales afloradas o subterráneas de las cuencas hidrográficas y en general los recursos hidrobiológicos o realice descargas en el mar provocando daños graves, será sancionada con una pena privativa de libertad de tres a cinco años. Se impondrá el máximo de la pena si la infracción es perpetrada en un espacio del Sistema Nacional de Áreas Protegidas o si la infracción es perpetrada con ánimo de lucro o con métodos, instrumentos o medios que resulten en daños extensos y permanentes.

Ley Orgánica de Recursos Hídricos, usos y aprovechamiento del agua

Regula y controla la autorización, gestión, preservación, conservación, restauración, de los recursos hídricos, uso y aprovechamiento del agua, la gestión integral y su recuperación, en sus distintas fases, formas y estados físicos, para garantizar el buen vivir y los derechos de la naturaleza establecidos en la Constitución.

4.14.1 LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE: NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES AL RECURSO AGUA

La presente norma técnica ambiental revisada y actualizada es dictada bajo el amparo de la Ley de Gestión Ambiental y del Reglamento a la Ley de Gestión Ambiental para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental y se somete a las disposiciones de éstos, es de aplicación obligatoria y rige en todo el territorio nacional. La presente norma técnica determina o establece:

- a) Los principios básicos y enfoque general para el control de la contaminación del agua;
- b) Las definiciones de términos importantes y competencias de los diferentes actores establecidas en la ley;
- c) Los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos;
- d) Los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistemas de alcantarillado;
- e) Permisos de descarga;
- f) Los parámetros de monitoreo de las descargas a cuerpos de agua y sistemas de alcantarillado de actividades industriales o productivas, de servicios públicas o privadas;
- g) Métodos y procedimientos para determinar parámetros físicos, químicos y biológicos con potencial riesgo de contaminación del agua.

En Ecuador los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistema de alcantarillados; los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos; y, los métodos y procedimientos para determinar la presencia de contaminantes en el agua, están establecidos en la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua.

Dicha norma tiene como objetivo principal, proteger la calidad de recurso agua para salvaguardar y preservar la integridad de las personas, de los ecosistemas y sus interacciones y del ambiente en general. (Libro VI, Republica del Ecuador, 2008).

Se definen las normas de descarga de efluentes a un cuerpo de agua o receptor: Agua dulce y agua marina, las cuales son:

- Toda descarga a un cuerpo de agua marina deberá cumplir con los valores establecidos a continuación. (Tabla 2).

;

Tabla 2 Límites de descarga a un cuerpo de agua marina (Libro VI, Republica del Ecuador, 2008)

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y Grasas		mg/l	0,3
Arsénico total	As	mg/l	0,5
Alkil mercurio		mg/l	No detectable
Aluminio	Al	mg/l	5
Bario	Ba	mg/l	5
Cadmio	Cd	mg/l	0,2
Cianuro total	CN ⁻	mg/l	0,2
Cobre	Cu	mg/l	1
Cobalto	Co	mg/l	0,5
Coliformes Fecales	nmp/100 ml		[1]Remoción > al 99,9%
Color real	Color real	unidades de color	* Inapreciable en dilución: 1/20
Cromo hexavalente	Cr ⁺⁶	mg/l	0,5
Compuestos fenólicos	Expresado como fenol	mg/l	0,2
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O ₅ .	mg/l	100
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	250
Fósforo Total	P	mg/l	10
Fluoruros	F	mg/l	5
Hidrocarburos Totales de Petróleo.	TPH	mg/l	20
Materia flotante	Visibles		Ausencia
Mercurio total	Hg	mg/l	0,01
Níquel	Ni	mg/l	2
Nitrógeno Total kjedahl	N	mg/l	40
Plata	Ag	mg/l	0,1
Plomo	Pb	mg/l	0,5
Potencial de hidrógeno	pH		
Selenio	Se	mg/l	0,2
Sólidos Suspendidos Totales		mg/l	100
Sulfuros	S	mg/l	0,5

4.15 HIPÓTESIS.

La aplicación de la microalga *Chlorella sp.* generará una remoción de nutrientes sobre los diferentes puntos de muestra dentro de las lagunas de oxidación del Cantón Manta.

4.16 VARIABLES

4.16.1 VARIABLES INDEPENDIENTES.

En nuestro trabajo de investigación se tomó como variable independiente las escalas de dilución de los efluentes de las diferentes etapas de tratamiento de las lagunas de oxidación. Estas escalas serian 100%,75%,50%,25% además de contar con el control.

4.16.2 VARIABLES DEPENDIENTES.

Se trataron como variables dependientes los parámetros físicos químicos como Amonio Ortofosfato y DQO

V. METODOLOGIA

5.1 LUGAR DE PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS.

Las muestras de efluentes residuales se las tomaron de las lagunas de oxidación de la planta de tratamiento, ubicada en el cantón Manta. Las lagunas de oxidación se encuentran ubicadas a casi 1 km de distancia al sur del sitio más poblado de la ciudad de Manta (cooperativa 24 de Mayo). Debido a la expansión demográfica poblacional en los últimos 10 años, el antiguo sistema lagunar comprendía 25 Ha. y se encontraba distribuido de la siguiente manera: lagunas anaerobias, facultativas y de maduración. Este sistema de tratamientos de aguas residuales no cubría la demanda para el debido tratamiento de las aguas residuales domésticas e industriales de la urbe, para esto se realizó la ampliación de las lagunas tomando en consideración cubrir un caudal de 30.000 m³/día, sin embargo, los diseños de las mismas no cumplen con el tiempo de retención mínimo. (Macías, 2017).

El área de la laguna actualmente está alrededor en 50 Ha. Compreendida en cuatro lagunas anaerobias, cuatro lagunas facultativas, cuatro lagunas de maduración. El fundamento principal para el correcto tratamiento de aguas residuales en los sistemas de lagunas de oxidación se basa en el tiempo de retención y profundidad de las lagunas dando lugar a los fenómenos de autodepuración. (Macías, 2017). La muestra de agua residual para la presente investigación fue tomada de las distintas etapas de tratamiento que se sitúan en las lagunas de oxidación; lagunas anaeróbicas, facultativas y de maduración.

5.2 CONDICIONES DEL CULTIVO.

El trabajo presentado consistió en una simulación de un cultivo tipo batch o por caga de la microalga *Chlorella sp.* Se realizó ensayos bajo condiciones naturales no controladas con diluciones a razón de 25%, 50%, 75%, 100% del efluente procedente de las lagunas de oxidación en sus diferentes etapas de tratamiento. Se monitorearon 4 tratamientos con 3 repeticiones. Las muestras de efluentes fueron colectadas en envases de plásticos de 4L, debidamente lavados y

esterilizados con el efluente correspondiente, transportadas inmediatamente a laboratorio y refrigeradas a 4°C, se tomaron muestras de cada tipo de tratamiento existentes en las lagunas de oxidación.

5.3 CEPA DE MICROALGA

Se utilizó una cepa de la microalga *Chlorella sp* provenientes del efluente resultante de las lagunas de oxidación del cantón Manta la cual será aislada y mantenida en medio de cultivo WC. Esta fue aislada en medio de cultivo solido (Lund, J.W.G., Kipling, C. y LeCren E.D., 1958) y por medio de diluciones seriadas (Alveal M., E. Ferrario, E. Oliveira y E. Sar, 1995). (Ilustración 4)

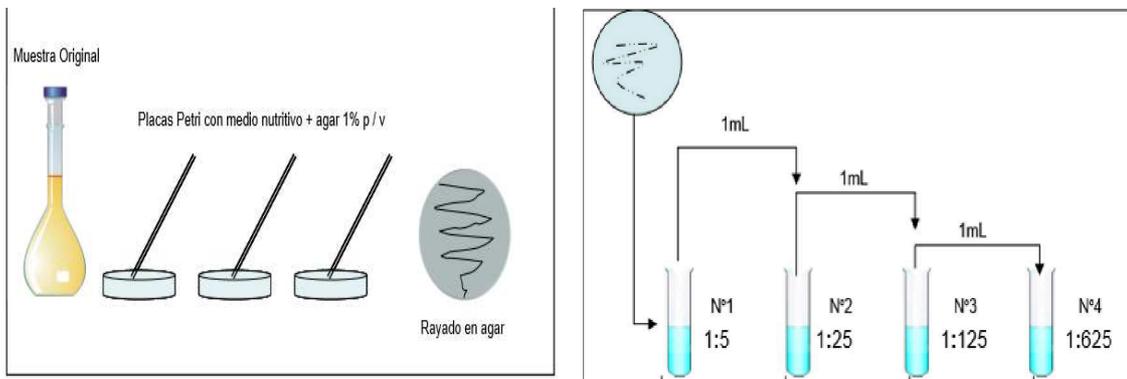


Ilustración 4 Aislamiento de cultivo sólido y por medio de diluciones seriadas.

Una vez obtenido el inóculo de la microalga *Chlorella sp*, en fase exponencial, se preparó un cultivo de *Chlorella sp* para utilizar como cultivo iniciador y utilizar como inóculo para los diferentes tratamientos en los diferentes tipos de efluentes de las lagunas de oxidación con las diluciones antes mencionadas. Los cultivos se realizaron en frascos de vidrio con una mezcla de efluente previamente filtrada de las lagunas de oxidación y agua destilada y 5 ml del inóculo de un cultivo de *Chlorella sp* en fase logarítmica desarrollado en un medio de Cultivo WC, con 1417500 (cel/mL).

Al inicio de los tratamientos se realizó la caracterización física y química de los cultivos, los análisis incluyeron: (Tabla 3).

Tabla 3 Análisis físico químicos

Análisis	Métodos
DQO	Apha et al 2005
Análisis físicos	Potenciómetro Benchtop water quality meter-860033
Amonio	Método calorímetro estándar aplicando kit de Merck
Ortofosfato	Método colorímetro estándar aplicando kit de Merck

5.4 CUANTIFICACION DE LOS PORCENTAJES DE REMOCION.

Para el cálculo del porcentaje de remoción de los indicadores de contaminación del agua y nutrientes, obtenidos con el cultivo de la microalga *Chlorella sp* en el proceso de depuración de las aguas residuales se tuvo en cuenta la siguiente expresión (Scavo, 2004).

$$\% \text{ Remoción} = \frac{\text{Cantidad inicial} - \text{Cantidad Final}}{\text{Cantidad Inicial}} * 100$$

5.5 MEDIO DE CULTIVO.

Las microalgas requieren, además de energía lumínica, nutrientes, minerales para su crecimiento, sin embargo, debido a que no todas las microalgas tienen los mismos requerimientos nutricionales, no todos los medios de cultivos son aptos para cultivar masivamente cualquier especie. El medio de cultivos contiene principalmente nitrógeno, fosforo, carbono, y otros minerales que en diferentes proporciones suministran una fuente de alimento para las microalgas (Cobelas, 1989).

El medio de cultivo convencional utilizado para el desarrollo del inóculo es WC por UTEX y está conformado por: (Tabla 4).

Tabla 4 Composición del Medio de Cultivo WC

Composición	Formula	Cant.
Nitrato de sodio	NaNO_3 (Fisher BP360-500)	1 mL/L
Cloruro de calcio dihidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma C-3881)	1 mL/L
Sulfato de magnesio heptahidratado	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sigma 230391)	1 mL/L
Bicarbonato de sodio	NaHCO_3 (Fisher S 233)	1 mL/L
Silicato de sodio	$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Sigma 307815)	1 mL/L
Ácido bórico	H_3BO_3 (Baker 0084)	1 mL/L
Fosfato di potásico	K_2HPO_4 (SIGMA P 3786)	1 mL/L

Relación volumétrica para cultivo del inóculo de la microalga *Chlorella sp.* en efluentes de la laguna de oxidación tratamientos anaerobio, facultativo, y de maduración. (Tabla 5).

Tabla 5 Relación volumétrica para cultivo de la microalga *Chlorella sp.*

N°	Código	Volumen total preparado	Volumen del efluente de la laguna según su fase de tratamiento mL	Volumen de Agua destilada	Volumen de inóculo <i>Chlorella sp</i>	del de
1	T. A ₂₅	250 mL	62.5 mL	182.5 mL	5 mL	
2	T. A ₅₀	250 mL	125 mL	120 mL	5 mL	
3	T. A ₇₅	250 mL	187.5 mL	57.5 mL	5 mL	
4	T. A ₁₀₀	250 mL	250 mL	0 mL	5 mL	
5	T. F ₂₅	250 mL	62.5 mL	182.5 mL	5 mL	
6	T. F ₅₀	250 mL	125 mL	120 mL	5 mL	
7	T. F ₇₅	250 mL	187.5 mL	57.5 mL	5 mL	
8	T. F ₁₀₀	250 mL	250 mL	0 mL	5 mL	
19	T. M ₂₅	250 mL	62.5 mL	182.5 mL	5 mL	
10	T. M ₅₀	250 mL	125 mL	120 mL	5 mL	
11	T. M ₇₅	250 mL	187.5 mL	57.5 mL	5 mL	
12	T. M ₁₀₀	250 mL	250 mL	0 mL	5 mL	

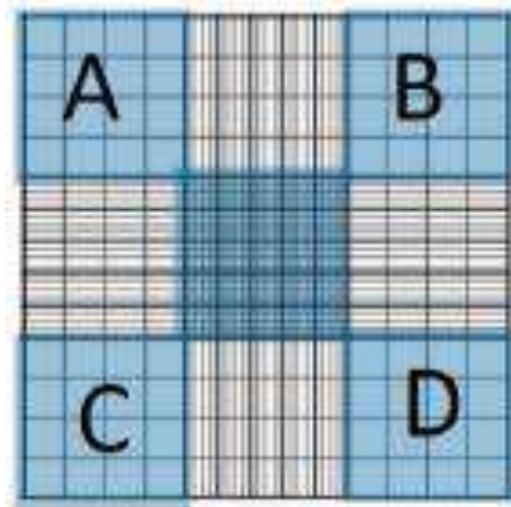
5.6 CONTAJE CELULAR EN MICROALGAS.

El conteo celular es una de las técnicas más utilizadas dependiendo de la población microalgas que se obtengan en un cultivo. Las microalgas unicelulares pueden ser monitoreadas con una cámara Neubauer. (Morales, 2014).

Cámara Neubauer: es una cámara de vidrio utilizada para realizar recuentos de diferentes microorganismos. De 0.1 mm de profundidad, consta de 9 cuadros

lados 1 mm, cada uno de los cuales corresponden a un volumen de 0.1 μL . Los cuatro extremos están divididos en 16 cuadros pequeños. (Ilustración 5).

Ilustración 5 Detalle de la rejilla de la Cámara Neubauer. ABCD son los cuadros en donde se realizó los conteos para el recuento celular y poder determinar la densidad óptica. Fuente: Celeromics, 2010



Fórmula para determinar el recuento celular (Guillard, 1973).

$$DC = N \times 10^4$$

DC= densidad celular (cel. /mL).

N= número de células presentes en 1mm².este número de células se dividen de acuerdo al número de cuadrantes contados.

10⁴= factor de conversión de 0.1 μL a 1 mL

5.7 TASA DE CRECIMIENTO.

Para determinar la tasa de crecimiento (μ) se utilizó la concentración diaria registrada y se calculó con la siguiente formula descrita por (Guillard, 1973).

$$\mu = \frac{\ln(x_2 - x_1)}{t_2 - t_1}$$

Donde:

μ = tasa de crecimiento (divisiones/día)

X_2 = densidad celular t_2

X_1 = densidad celular en t_1

\ln = logaritmo

5.8 TIEMPO DE DUPLICACION.

El tiempo de duplicación T_d en el cultivo fue expresado en las mismas unidades de tiempo que μ , calculada a partir de una estimación de μ con el uso de la ecuación propuesta por (Wood, 2005).

$$T_d = \frac{\ln_2}{\mu}$$

Donde:

T_d = tiempo de duplicación

\ln_2 = logaritmo en base 2

μ = tasa de crecimiento (divisiones/día).

5.9 PARAMETROS ANALIZADOS

5.9.1 DQO

La DQO fue analizada por el método colorimétrico estándar (American Public Health Association (APHA), 1998) usando soluciones de digestión MERCK para concentraciones de 100 1500 mg/L: a) Solución A código 1.14679.0495 (2,2 mL) y b) Solución B código 1.14680.0495 (1,8 mL). Las muestras fueron diluidas apropiadamente y llevadas a digestión (1,0 mL) en los tubos que contenían las soluciones digestoras, durante 2 horas a $150 \pm 2^\circ\text{C}$, en un bloque de digestión marca Velp Scientifica Eco 16. La medición espectrofotométrica se realizaron a

605 nm (recomendada por el método MERCK), con un espectrofotómetro MERCK Spectroquant® Pharo 100. Los resultados se reportan mgO₂/L.

5.9.2 DETERMINACION DE SOLIDOS SUSPENDIDOS.

Las concentraciones de SST se cuantificaron aplicando el método gravimétrico estándar, mediante la determinación del peso constante ($\pm 0,5$ mg de variación entre pesadas consecutivas) (balanza analítica ADAN Pw 254) de las muestras secadas a 104 ± 1 (estufa SELECTA) Y 550°C (mufla SELECTA N-8I) respectivamente. Los efluentes fueron filtrados (bomba de vacío THOMAS SCIENTIFIC modelo DQA-P1040-AA) sobre discos de fibra de vidrio WHATMAN tipo GF F, 4,7 cm de diámetro tamaño de poro 0.7 μm .

5.9.3 DETERMINACION DE AMONIO.

El nitrógeno amoniacal se determinó con el método colorímetro estándar (método de Nessler), basado en la formación de un complejo coloreado amarillo (yoduro de dimercuriaminio), cuya capacidad de absorción de luz puede ser cuantificada en un espectrofotómetro (American Public Health Association (APHA), 1998) Este método fue aplicado mediante el uso de un kit de test MERCK para el análisis de NH_4^+ , con un rango de trabajo de 0.05 a 3.00 mgN- NH_4^+ /L, y de un espectrofotómetro MERCK Spectroquant ® Pharo 100, para la estimación de la concentraciones, bajo el modo de concentración (curva de calibración interna). Se realizaron diluciones cuando se hizo necesario.

5.9.4 DETERMINACION DE ORTOFOSFATO.

Los iones ortofosfato fueron determinados por el método colorímetro estándar del ácido ascórbico, mediante la formación de un complejo coloreado azul (azul de molibdeno), cuya capacidad de absorción de luz puede ser cuantificada en un espectrofotómetro (American Public Health Association (APHA), 1998). Este método fue aplicado, mediante el uso de un kit de test MERCK para el análisis de PO_4^{3-} , con un rango de trabajo de 0.05 a 5.00 mgP- PO_4^{3-} /L, y de un espectrofotómetro MERCK Spectroquant® Pharo 100, para la estimación de las

concentraciones, bajo el modo de concentración (curva de calibración interna). Se realizaron diluciones cuando se hizo necesario.

5.10 PROCESAMIENTO ESTADISTICO.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un ANOVA de una vía, seguidos de un test de TUKEY para determinar diferencias significativas entre grupos de medias. Todos los análisis fueron realizados en el programa estadístico InsTat3.

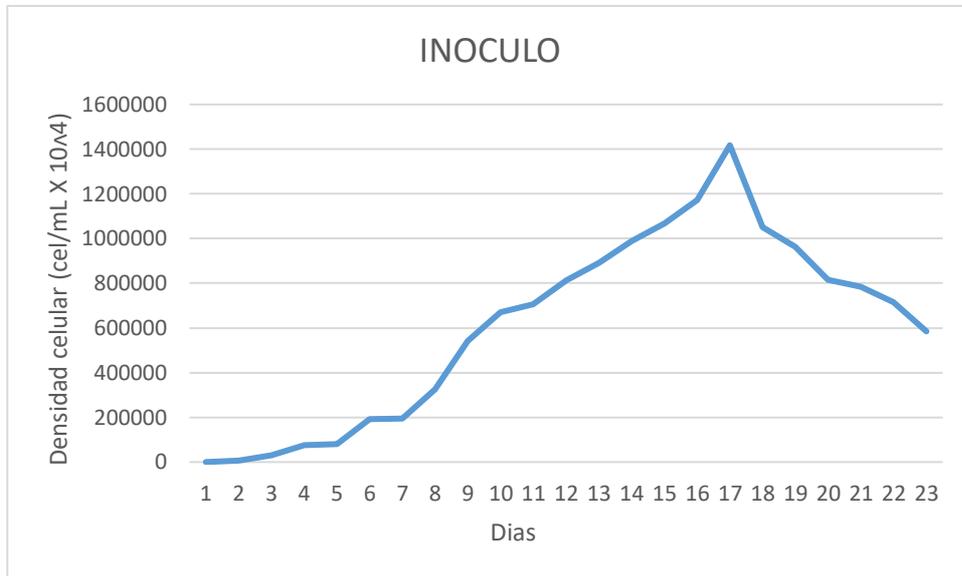
VI. DESCRIPCION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS.

Tabla 6 Caracterización inicial (promedio \pm desviación estándar) de los efluentes de las lagunas de oxidación del cantón Manta. LA: laguna anaerobia, LF: laguna facultativa, LM: laguna de maduración

Parámetro	Laguna Anaerobia	Laguna Facultativa	Laguna Maduración
pH	8,25 \pm 0,05	7,88 \pm 0,32	8,04 \pm 0,12
Conductividad (mS/cm)	4,33 \pm 0,76	4,12 \pm 0,45	4,61 \pm 0,67
Salinidad (mg/L)	1,9 \pm 1	1,8 \pm 1	2 \pm 1,4
DQO (mg/L)	3000 \pm 102	2654 \pm 54	1143 \pm 39,56
Amonio (mg/L)	1,13 \pm 0,5	0,65 \pm 0,76	0,45 \pm 0,32
Ortofosfato (mg/L)	66,44 \pm 34,12	58,47 \pm 21,74	40,01 \pm 12,03
SST (mg/L)	56,56 \pm 45,23	62,74 \pm 55,39	58,75 \pm 54,13

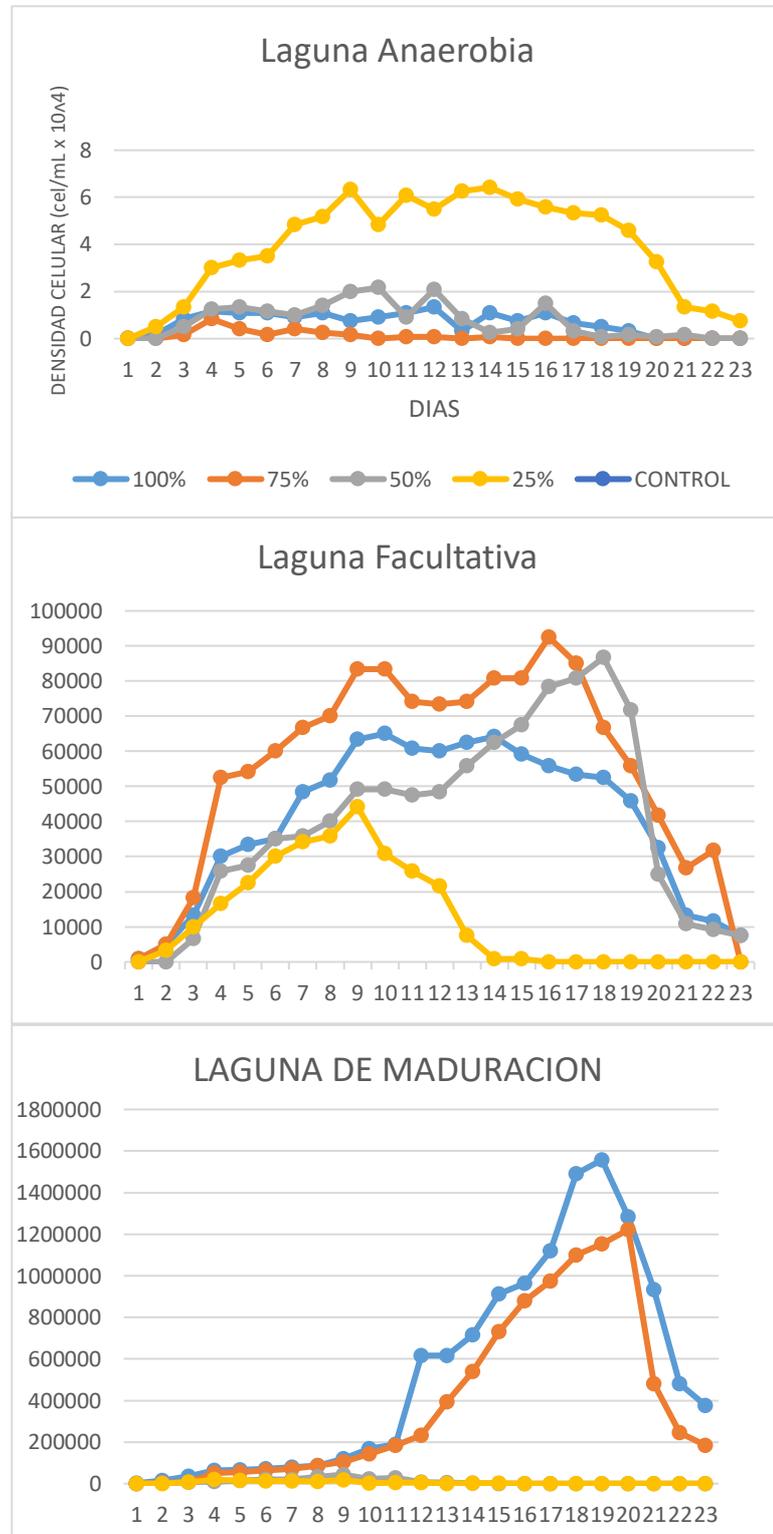
En la Tabla 6. Se presentan los resultados de la caracterización inicial de los tres efluentes de las lagunas de oxidación de la planta de tratamiento del cantón Manta, los cuales difieren en su composición física, química, como resultado de su origen.

Ilustración 6 Dinámica de crecimiento del Inoculo de *Chlorella* sp. en medio de cultivo WC por un periodo de 23 días.



La ilustración 6 nos muestra la dinámica de crecimiento de la microalga *Chlorella* sp en un medio de cultivo WC, en un periodo de 23 días.

Ilustración 7 Dinámica de crecimiento poblacional de la microalga *Chlorella* sp. en las diferentes etapas de tratamiento de las lagunas de oxidación



En la ilustración 7 comparamos la dinámica de crecimiento entre las distintas etapas de tratamiento de las lagunas de oxidación la microalga *Chlorella sp* muestra una tendencia de crecimiento optima en la laguna de maduración.

Las curvas de crecimiento de *Chlorella sp.* en los diferentes tratamientos pueden observarse en la ilustración 7. Se muestra claramente que solo en la laguna de maduración se desarrolló la fase logarítmica, con células creciendo activamente, sobretodo en 100 y 75% del efluente. Se alcanzaron valores máximos de $1557500 \text{ cel/mL} \times 10^4$:

Tabla 7 Valores de tasa de crecimiento (μ) y tiempo de duplicación (Td) correspondiente a la fase exponencial de la microalga *Chlorella sp.* durante el trabajo de investigacion.

	Tasa de crecimiento en fase exponencial (μ)	Tiempo de duplicación (Td)
Inoculo	1,17	0,59
	Laguna de Maduración.	
100%	1,97	0,35
75%	1,73	0,40
50%	5,05	0,14
25%	4,91	0,14

Tabla 8 Valores Medios y Desviaciones estándar de los nutrientes (amonio y ortofosfato) y de DQO en el periodo de Crecimiento de la Microalga *Chlorella sp.*

	Dilución	Ortofosfato (mg/L)		Amonio (mg/L)		DQO (mg/L)	
		día 0	día 23	día 0	día 23	día 0	día 23
ANAEROBIA	100%	66,28±0,14	66.41±0,02	1,1±0,02	1,87±0,98	3330±1,73	3456±0
	75%	66,12±0,06	66,13±0,04	0,93±0,05	1,85±0,99	2990,67±6,35	3321±0
	50%	65,90±0,12	65,93±0,20	0,92±0,04	3±0	2869±5,20	2987±0
	25%	63,41±0,04	63,03±0,09	3±0	3±0	2851,67±2,31	2897±0
	0%	15,3±0	15,3±0	0,1±0	0,1±0	67,01±0	89,01±0
FACULTATIVA	100%	58,56±0,33	56,33±1,11	0,54±0,02	0,1±0	2776,77±0,58	2304,67±6,35
	75%	56,92±0,06	56,24±0,15	0,64±0,03	0,1±0	2347±45,03	2184,67±62,93
	50%	55,71±0,07	55,55±0,39	0,22±0,02	0,07±0,01	2322,33±2,31	2222,67±2,89
	25%	55,08±0,12	55,21±0,15	0,51±0,13	0,4±0,02	1998,67±1,15	1987,33±2,52
	0%	15,3±0	15,3±0	0,1±0	0,1±0	90,01±0	65,02±0

MAURACION	100%	39,64±0,31	19,77±0,29	0,44±0	0,06±0,01	1127,67±2,31	521,67±1,15
	75%	37,42±0,28	25,38±0,41	0,18±0,13	0,33±0,49	803,33±5,77	251,67±2,89
	50%	35,61±0,26	35,14±0,44	1,13±0,13	0,82±0,04	876±5,20	900±1,15
	25%	34,27±0,08	34,41±0,36	1,13±0,02	1,06±0,07	775,67±0,58	892,33±2,31
	0%	15,3±0	15,3±0	0,1±0	0,1±0	97,1±0	99,02±0

Como indica la tabla 7 no hubo cambio en los valores de amonio ortofosfato y DQO en la laguna anaerobia. En la laguna de maduración se dieron las mayores reducciones en los de valores de ortofosfato, amonio y DQO. En la fase de maduración la concentración de ortofosfato al finalizar el ensayo fue menor en el tratamiento de 100% de efluente, siendo este tratamiento diferente significativamente del control y los demás tratamientos de exposición ($p < 0,001$). Y el tratamiento de 75% es diferente significativamente con el control y los demás tratamientos de exposición ($p < 0,001$). En cuanto a la concentración de amonio, esta fue menor en el tratamiento de 100% de efluente, siendo este tratamiento diferente significativamente con del tratamiento 50% y 25% de efluente. ($p < 0,001$). DQO presenta una concentración menor en el tratamiento de 75% de efluente, siendo este tratamiento diferente significativamente del control y los demás tratamientos de exposición ($p < 0,001$).

Tabla 9 Porcentaje de remoción de materia orgánica y nutriente durante el tratamiento del efluente resultante de las lagunas de maduración

	Ortofosfato	Amonio	DQO
Laguna de maduración			
100%	50,01±0,63	85,61±1,31	53,74±0,10
75%	32,17±1,61	65,45±10,49	68,67±0,51
50%	1,34±1,62	27,65±7,78	(-)
25%	(-)	6,18±5,60	(-)
0%	15,3±0	0,1±0	99,02±0

En la tabla 8 se muestra la eficiencia de remoción del cultivo de Microalga *Chlorella* en cada uno de los tratamientos, observándose los mayores porcentajes de remoción en 100 y 75% de efluente.

Tabla 10 Análisis de Varianza de los parámetros químicos medidos: Ortofosfato, Amonio, DQO: Tratamiento1: escala de dilución 100%. Tratamiento 2: escala de dilución 75%. Tratamiento 3: escala de dilución 50%. Tratamiento 4: escala de dilución 75%

Ortofosfato				
Comparison	Mean		q	P value
	Difference			
Control vs Tratamiento 1	-4.467	22.735	***	P<0.001
Control vs Tratamiento 2	-10.080	51.307	***	P<0.001
Control vs Tratamiento 3	-19.837	100.97	***	P<0.001
Control vs Tratamiento 4	-19.110	97.270	***	P<0.001
Tratamiento 1 vs Tratamiento 2	-5.613	28.572	***	P<0.001
Tratamiento 1 vs Tratamiento 3	-15.370	78.233	***	P<0.001
Tratamiento 1 vs Tratamiento 4	-14.643	74.535	***	P<0.001
Tratamiento 2 vs Tratamiento 3	-9.757	49.662	***	P<0.001
Tratamiento 2 vs Tratamiento 4	-9.030	45.963	***	P<0.001
Tratamiento 3 vs Tratamiento 4	0.7267	3.699	ns	P>0.05

Amonio				
Comparison	Mean		q	P value
	Difference			
Control vs Tratamiento 1	0.03667	1.618	ns	P>0.05
Control vs Tratamiento 2	0.03667	1.618	ns	P>0.05
Control vs Tratamiento 3	-0.7200	31.778	***	P<0.001
Control vs Tratamiento 4	-0.9633	42.518	***	P<0.001
Tratamiento 1 vs Tratamiento 2	0.000	0.000	ns	P>0.05
Tratamiento 1 vs Tratamiento 3	-0.7567	33.397	***	P<0.001
Tratamiento 1 vs Tratamiento 4	-1.000	44.137	***	P<0.001
Tratamiento 2 vs Tratamiento 3	-0.7567	33.397	***	P<0.001
Tratamiento 2 vs Tratamiento 4	-1.000	44.137	***	P<0.001
Tratamiento 3 vs Tratamiento 4	-0.2433	10.740	***	P<0.001

DQO				
Comparison	Mean		q	P value
	Difference			
Control vs Tratamiento 1	-422.65	405.03	***	P<0.001
Control vs Tratamiento 2	-152.65	146.28	***	P<0.001
Control vs Tratamiento 3	-801.65	768.23	***	P<0.001
Control vs Tratamiento 4	-793.31	760.24	***	P<0.001
Tratamiento 1 vs Tratamiento 2	270.00	258.75	***	P<0.001
Tratamiento 1 vs Tratamiento 3	-379.00	363.20	***	P<0.001
Tratamiento 1 vs Tratamiento 4	-370.67	355.22	***	P<0.001
Tratamiento 2 vs Tratamiento 3	-649.00	621.95	***	P<0.001
Tratamiento 2 vs Tratamiento 4	-640.67	613.96	***	P<0.001
Tratamiento 3 vs Tratamiento 4	8.333	7.986	**	P<0.01

Tabla 11 Comparación de datos en las diferentes diluciones de la laguna de maduración con los límites máximos permisibles para descarga agua marina de Ecuador

Diluciones	Parámetro	X±DE	Limite descarga agua marina
100%	DQO (mg/L)	521,67±1,15	250
	Amonio (mg/L)	0,06±0,01	(-)
	Ortofosfato (mg/L)	19,77±0,29	10 (P-total)
75%	DQO (mg/L)	251,67±2,89	250
	Amonio (mg/L)	0,33±0,49	(-)
	Ortofosfato (mg/L)	25,38±0,41	10 (P-total)
50%	DQO (mg/L)	521,67±1,15	250
	Amonio (mg/L)	0,06±0,01	(-)
	Ortofosfato (mg/L)	19,77±0,29	10 (P-total)
25%	DQO (mg/L)	892,33±2,31	250
	Amonio (mg/L)	1,06±0,07	(-)
	Ortofosfato (mg/L)	34.41±0,36	10 (P-total)

En la tabla 10 muestra los valores reportados de los parámetros químicos analizados del tratamiento del efluente de la laguna de maduración con la microalga *Chlorella sp*, en donde los mismos no cumplen con los valores máximos permisibles, para estos aspectos.

VII. DISCUSIÓN

El pH se mantuvo en 8.1 rango característico de *Chlorella sp.* cuando mantiene un desarrollo óptimo de las células en estos efluentes residuales. (Park, 2010) (Ruiz-Marin, 2010).

Los resultados obtenidos en cuanto a la dinámica de crecimiento de *Chlorella sp.* indican que en la Laguna de Maduración de la planta de tratamiento de la ciudad de Manta se da mayor crecimiento en los tratamientos de 100% y 75%, lo que puede ser debido quizás a tener las características necesarias para el crecimiento de la microalga *Chlorella sp.* por tener menos microorganismos patógenos en comparación a las otras lagunas

En relación a DQO se observó una remoción en los tratamientos de 100% y 75% de valores 53,7% y 68,67% siendo más eficiente el segundo tratamiento. Los resultados obtenidos fueron inferiores a los reportados por Hammouda (Hammouda O, 1995) que registro para *Chlorella vulgaris* una remoción de 91,7%, por otro lado (Li Y, 2011) registro valores de remoción de 90,8%. Colak y Kaya en 1988 en (Abdel-Raouf N, 2012) observaron remociones bajas de 67,2% por otro lado (Carmen Chacon, 2004) establece una remoción de 54,8% en aguas residuales no esterilizadas. Concluyendo que las microalgas utilizan rápidamente diferentes compuestos orgánicos como fuente de carbono, además del CO₂.

Se sabe que las microalgas son eficientes en la remoción de nutrientes como nitrógeno y fosforo, las principales formas que se encuentra el nitrógeno en las aguas son amonio, nitrito y nitrato y el fosforo se presenta como ortofosfato (Abdel-Raouf N, 2012) (Hammouda O, 1995). En el trabajo presente se obtuvieron remociones en el primer y segundo tratamiento, en ortofosfato se dieron remociones de 50% y 32,17% respectivamente, y en amonio se presentaron remociones de 85,6% y 65,45% siendo el nutriente que más se removió. (Wang, 2009) Al trabajar con *Chlorella sp.* obtuvieron remociones de 100% en amonio y 62,5-64,7% para fosforo. (Li Y, 2011) Utilizaron *Chlorella sp.* para el tratamiento de aguas residuales municipales altamente concentradas,

con porcentajes de remoción de 93,9% para amonio y 80,9% para fosforo. (Hou J, 2011) en el tratamiento de residuos agroindustriales utilizando *Chlorella Pyrenoidosa* obtuvieron 89,1% en amonio y 70,3% fosforo. (Wang L, 2010) lograron interesantes resultados con remociones 100% para amonio y 62,5-74.7% para fosforo con *Chlorella* so depurando lodos diluidos procedentes de la digestión anaerobia de estiércol de ganado.

La remoción del nitrógeno en forma oxidada es decir como amonio, nitrito y nitrato en un cultivo microalgal tiene un comportamiento secuencial, es decir el nitrito y el nitrato no son absorbidos por la microalga hasta e que el amonio en su gran mayoría es consumido (J, Abalde, 1999).

En cuanto al crecimiento de la microalga en aguas residuales observamos un mayor desempeño celular en las laguna de maduración, por tener las características necesarias para el crecimiento de la microalga *Chlorella sp.* Caldwell (1940) reporta los primeros estudios, sobre la posibilidad de utilizar las microalgas como microorganismos “purificadores de aguas residuales” debido al aprovechamiento de los nutrientes contenidos en estas aguas para favorecer el crecimiento de las microalgas. (Romero L.T., 1992) (Romero T. , 1998) experimentan en tratamientos de efluentes contaminados con aguas residuales de la industria pesquera utilizando *Chlorella sp.* en donde determinaron la adaptación satisfactoria a estos efluentes, utilizando los nutrientes presentes en el medio. (Abalde, 1995) Aprueba el uso de microalgas como un biosistema alternativo en el tratamiento de aguas residuales, por su capacidad de remover cantidades significativas de N Y P durante su crecimiento. Los géneros *Chlorella* y *Scenedesmus*, así como algunas especies del grupo de las cianobacterias, se han descrito en el tratamiento de diferentes tipos de aguas residuales, destacando las provenientes de plantas de tratamiento convencionales (Lavoie A. y J de la Noue, 1985), de origen industrial (Gonzales L.E., 1997), urbano (Jonte L., 2002). (Carmen Chacon, 2004) favorecen el uso potencial de *Chlorella sp* y *Scenedesmus sp.* para el tratamiento de aguas residuales urbanas.

VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones.

Chlorella sp. fue eficiente en la remoción de nutrientes en cultivos con efluentes de la laguna de maduración, lo que favorece el uso potencial de esa microalga para el tratamiento de aguas residuales urbanas.

Aunque no se logró disminuir la carga contaminante a los niveles permisibles por la Legislación Ambiental vigente, la aplicación de un cultivo microalgal en la Laguna de Maduración generó un porcentaje de remoción muy alentador para permitir que estos efluentes sean descargados en su efluente final.

Recomendaciones.

Realizar tratamientos con volúmenes superiores al alcanzado para la producción masiva de las microalgas teniendo en cuenta las variables más influyentes en el crecimiento de las mismas como la intensidad lumínica y la concentración de dióxido de carbono en el medio de cultivo.

Experimentar con sistemas de consorcios de microalgas que optimice la remoción de contaminantes en aguas residuales.

IX. PROPUESTA

Se sugiere realizar nuevos trabajos de titulaciones de tesis dentro de la Facultad de Ciencias Agropecuarias con cultivos de microalgas con escalamientos, de modo que se pueda evaluar los resultados obtenidos en volúmenes mayores, u otros tipos de efluentes resultantes.

Desarrollar fitorremediación como tratamiento cuartanario o de pulimiento en las plantas de tratamientos de aguas residuales de la ciudad de Manta ya que el cultivo de la microalga *Chlorella sp.* es económico y ambientalmente atractivo.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Lavoie A. y J de la Noue. (1985). Hyperconcentrated Cultures of *Scenedesmus Obliquus*: A new approach for wastewater biological tertiary treatment. *Wat.Res.* 19, 1437-1442.
- Abalde, J. C. (1995). *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. Universidad de Coruña, Servicio de Publicaciones.
- Abdel-Raouf N, A. A.-H. (2012). Microalgae an wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* 19, 257-275.
- Akatsuka. (1990). *Introduction to Applied Phycology* .
- Alveal M., E. Ferrario, E. Oliveira y E. Sar. (1995). Manual de metodos ficologicos. En U. Concepcion. Concepcion.
- American Pubic Health Association (APHA), A. W. (1998). Standard Methods for the Examinatin of Water and Wasterwater. Washhington EUA: American Publicm Health Association 20a.
- Bordel, S., Guieysse, B., Muñoz, R. . (2009). A mechanistic model for the reclamation of industrial wasterwaters using algal-bacerial photobioreactors. *Environmental Science and Technology* , 3200-3207.
- Brenan, M., Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae- A review of technologies for production, processing, and extractionof biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14, 557-577.
- Cajamarca. (Octubre de 2015). *Fundacion Cajamarca*. Obtenido de www.fundacioncajamarca.es
- Carmen Chacon, C. A. (2004). Uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en la remocion de nitrogeno fosforo y DQO en aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela. *Boletin del Cento de investigaciones biologicas* 38, 94-108.

- Cobelas, M. a. (1989). Una revisión sobre la biotecnología de las algas. 60.
- Cohen, Z. (1986). Products of Microalgae in Handbook of Microalgae Mass Culture . *Richmond A*, 41- 53 .
- Contreras-Flores C, J Peña-Castro, L Flores-Cotera & R Cañizares- Villanueva. (2003). Acances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, 450-456.
- Cresswell. (1990). *Microalgal Biotechnology*.
- De Godos I, S Blanco, PA Garcia-Encina, E Becares & R Muñoz. (2009). Long-Term operation off high rate algal ponds for the bioremediation off piggery wastewater at high loading rates. *Bioresource Technology*, 4032-4039.
- De-Bashan, L., Bashan , Y. (2010). Immobilized microalgae for removing pollutants:.. *Bioresource Technology 101*, 1611-1627.
- EPAM. (2007). *Empresa Publica Aguas de Manta*. Obtenido de <http://www.epam.gob.ec>
- Fogg, G. a. (1987). Algae Cultures and Phytoplankton Ecology. *The University of Winscoinsin Press*.
- Garza, M.T., Almaguer, V., Rivera, J. and Loredó, J. (2010). Bioingeniería aplicada a una columna empacada con *Chlorella* sp. inmovilizada para la remoción de metales pesados. *Ciencia UNAL*, 174-177.
- Georgakakis, m. G. (2011). cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters. *Applied Energy 88*, 3389-3401.
- Gonzales A. (2000). Alternativas en el Cultivo de Microalgas [Tesis previo a la obtención del título de Acuicultor]. Guayaquil, Guayas, Ecuador.

- Gonzales L.E., R. C. (1997). Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a Colombia Agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresource Technology*, 259-262.
- Guillard, R. R. (1973). Handbook of phycolological methods. London : J. R. Stein Cambridge University press p.289- 311.
- Hammouda O, A. G.-R. (1995). Microalgae and wastewater treatment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 31, 205-210.
- Hou J, P. Z. (2011). Life cycle assessment of biodiesel from soybean, jatropha and microalgae in China CONDITIONS . *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15, 5081-5091.
- J, Abalde. (1999). Microalgas: Cultivos y Medios de cultivos. *Universidad de Coruña, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología Celular y Molecular*, 210.
- Janssens. (2010). Characterization Of Algal Diversity And Kinetics In Waste Stabilization Ponds Spatialdistribution of thealgae in the WSP. [Tesis previo a la obtención del título de magister] .
- Jonte L., L. G. (2002). *agua residual urbana de un sistema de lagunas de estabilizacion para el cultivo de la cianobacteria Synechocystis sp.* Barquisimeto, Venezuela: Libro de Resumenes de la LII Convencion anual de la AsoVAC. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado,.
- José María Fernández Sevilla . (2014). *Ingenieria de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas*. Obtenido de www.ual.es
- Kargi F. and Uygur A. (2003). *Nutrient removal performance of a five-step sequencing batch reactor as a function of wastewater composition*.
- Kelssler, E. (1986). *Limits of growth of five Chlorella species in the presence of toxic heavy metals* . Arch. Hydrobiol. Suppl 73: 123-128.

- Lee, Y.-K. and Shen, H. (2004). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology Richmond. *Blackwell Publishing Ltd*, 40-56.
- Li Y, Y.-F. C. (2011). Characterization of microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresourse Tecgnology* 102, 5138-5144.
- Libro VI, Republica del Ecuador. (2008). Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso Agua. Ecuador.
- Luna, L. M. (1997). *cultivo y aplicacion de las microalgas Dunaliella salina y Cholerella vulgaris en Cuba*. Coruña.
- Lund, J.W.G.,Kipling, C. y LeCren E.D. (1958). The inverted microscope method of estimating algal numbers, and the statistical basis of estimation by counting. En *Hydrobiologia* (págs. 143-170).
- Lynch, G. (2007). *Auditoria ambiental al proyecto de control de la contaminacion del rio Manta y su area de influencia de la empresa de agua potable y alcantarillado de Manta EAPAM*. Manta.
- Macías, P. (20 de Febrero de 2017). Lagunas de Oxidacion. (P. L. Mendoza, Entrevistador) Manta, Manabi, Ecuador.
- Margarita Salazar Gonzales. (2006). Aplicacion e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales.
- Martínez, L. (2008). Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas. (pág. 226). León: Instituto de Recursos Naturales, Universidad de Leon .
- Morales, E. (3 de mayo de 2014). Medios de cultivos microalgas. Quito, Pichincha, Ecuador .
- Nedbalová. (2008). "Nuevos registros de algas de los nevados andinos Ecuatorianos". . Trujillo.: Portal Revistas Peruana Volumen 15, Número. 1. Enero-Junio.

- Oh-Hama, T & Miyashi, S. (1988). *Micro-algal Biotechnology. Cambridge Univ. Press*, 3:26.
- Olguin EJ. (2003). *Phycoremetion: key issues for cost-effective nutrient removal processes*. 81-91.
- Olguin, E.J. . (2003). Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances* 22, 81-91.
- Park J, R Craggs & Shilton. (2011). Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond. *Water Research* 45, 6637-6649.
- Park, J. C. (2010). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* (102), 35-42.
- Parra , O. y C. Bicudo. (1996). *Introducción a la biología y sistemática de las algas*. Concepción, Universidad de Concepción, Chile.
- Rawat I, R Ranjith-Jumar, T Mutanda & F Bux . (2011). Dual role off microalgae: Phycoremediation of domestic wasterwater and biomass production fos sustainable biofuels production. *Applied Energy*, 3411-3424.
- Richmond, A. (. (2004). *Handbook of Microalgal Culture. Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Sciense Ltd.*
- Rolim. (2000). *Sistema de lagunas de estabilizacion. Como utilizar aguas residuales tratadas en sistemas de regadio.*
- Romero. (1999). *Contaminación por escorrentia urbana.*
- Romero L.T., A. S. (1992). Obtencion de proteina vegetal a partir de microalgasa cultivadas en residuales liquidos de la industria pesquera. *IV Congreso Pan. de Ing. Alim. XXII Conv. UPADI* , (págs. 65-73). Santo Domingo.

- Romero, T. (2001). Tecnología de cultivo de *Chlorella Vulgaris* en los efluentes líquidos en las industrias pesqueras y sus productos derivados. *boletín del centro de investigaciones biológicas*, 42-51.
- Romero, T. (1998). Tecnología de cultivo de *Chlorella vulgaris* en los efluentes líquidos de la industria pesquera y subproductos derivados . *Anais dos IV congreso Latino-Americano de Ficologia, II reuniao Iberoamericana de Ficologia e VII Reuniao Brasileira de Ficologia, Sociada de Ficologia de America Latina e Caribe*, (págs. 475-495).
- Romo Piñera, A. (2002). *Manual para el cultivo de microalgas*, Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Ruiz Martínez, A. (2011). Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. *Master, Universidad Politécnica de Valencia Valencia*.
- Ruiz-Marin, A. M.-E. (2010). Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource Technology*, 101, 58-64.
- Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I. (1998). Phytoremediation. *Annual Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol* 49: 643-68.
- Scavo, M. (2004). Estudio de un sistema de tratamiento de aguas residuales complementario, con pasto vetiver (*Vetiveria zizanioides* L.), provenientes de una planta de producción de gaseosas, en Villa de Cura, estado Aragua". Caracas, Venezuela: (Tesis de Maestría Ingeniería Agrícola, Facultad de Agronomía) Universidad.
- Shelef G, R. Moraine y G, Oron. (1978). Photosynthetic biomass production from sewage. *Arch Hydrobiol Ergeb Limnol*, 3-14.
- Wang L, Y. L. (2010). anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. *Bioresource Technology* 101, 2623-2628.

- Wang, L. M. (2009). Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal. *Wastewater Treatment Plant. Applied Biochemical Biotechnology*.
- Wong, T. N. (1996). Effect of ammonia concentrations on growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen removal from media . *Bioresource Technology* 57, 297-304.
- Wood, A. E. (2005). Measuring Growth Rates in Microalgal Cultures. *In Andersen, R. Algal Culturing Techniques, chapter, 269-285*.
- You S. J., Hsu C. L., Chuang S.H. and Ouyang C.F. (2003). Nitrification efficiency and nitrifying bacteria abundance in combined AS-RBC and A2O systems. 37(10), 2281-2290.

XI. ANEXOS.

Ilustración 8 Planta de tratamiento, Lagunas de oxidación de la ciudad de Manta.



Ilustración 10 Muestreo de las diferentes lagunas. De izquierda a derecha Laguna de maduración, facultativa, anaerobia.



Ilustración 9 Recolección de Muestra. Laguna Facultativa.



Ilustración 12 Preparación del medio de cultivo WC.



Ilustración 11 Proceso de filtración de las muestras para realizar los respectivos análisis



Ilustración 13 Muestras a ser analizadas en los laboratorios de la Universidad ESPAM en Calceta.



Ilustración 14 Análisis de Amonio.



Ilustración 15 Análisis de Ortofosfato



Ilustración 16 *Conteo diario del crecimiento microalgal.*

