

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA REMOCIÓN DE NITRÓGENO TOTAL Y
ORTOFOSFATO DE AGUAS RESIDUALES POR *Chlorella* sp., EN UN
FOTOBIOREACTOR *AIRLIFT*

YURLEY CAROLINA ARIAS GRANADOS

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2015

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA REMOCIÓN DE NITRÓGENO TOTAL Y
ORTOFOSFATO DE AGUAS RESIDUALES POR *Chlorella* sp., EN UN
FOTOBIORREACTOR *AIRLIFT*

YURLEY CAROLINA ARIAS GRANADOS

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL
TÍTULO DE MICROBIÓLOGA

Directora
REFUGIO RODRÍGUEZ VÁZQUEZ, Ph.D. EN CIENCIAS

Codirector
RAMÓN OVIDIO RICO GARCÍA,
Ph.D. BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2015

Nota de Aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Pamplona, Diciembre 14 de 2015

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido culminar esta etapa, por demostrarme su amor en cada momento y darme la fortaleza necesaria para seguir adelante.

A mi familia por su amor incondicional, por sus oraciones y por su apoyo, especialmente a mi mamá Millán Granados Villamizar quien me acompaña, motivo y aconsejó sabiamente durante este proceso.

A mis hermanas Jenny y Gabriela que alegran mis días y son una parte importante de mi vida.

A mis amigos por brindarme su cariño y apoyo durante este proceso.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme las fuerzas en los momentos cuando sentí que mi espíritu decaía y darme la sabiduría para actuar de la manera correcta.

A mis padres y hermanas por depositar en mí la confianza y animarme a alcanzar un peldaño más en mi formación profesional.

A la Universidad de Pamplona, especialmente al programa de Microbiología y al grupo de profesores que con esmero, dedicación, ética y profesionalismo fueron mis mentores.

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional en México por la oportunidad de realizar el presente trabajo de investigación en sus instalaciones.

A las personas y entidades que brindaron su apoyo y colaboración para la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN -----	11
1 OBJETIVOS -----	13
1.1 Objetivo general-----	13
1.2 Objetivos específicos -----	13
2 JUSTIFICACIÓN -----	14
3 MARCO TEÓRICO -----	16
3.1 Bases legales -----	16
3.2 Antecedentes-----	17
3.3 Agua residual-----	18
3.3.1 Tratamiento de aguas residuales-----	19
3.3.2 Límites máximos permisibles de nitrógeno y fósforo en descarga de agua residual tratada en cuerpos receptores -----	19
3.4 Eutrofización-----	20
3.5 Ficorremediación-----	20
3.5.1 Ventajas del uso de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales.-----	21
3.6 Microalgas -----	21
3.6.1 <i>Chlorella</i> sp.-----	22
3.6.2 Factores que influyen en el crecimiento de las microalgas-----	23
3.7 Proceso biológico de remoción de nitrógeno y fósforo -----	24
3.8 Sistemas de cultivo de microalgas -----	26
3.9 Reactor <i>Airlift</i> -----	27
4 METODOLOGÍA -----	28
4.1 Microalga-----	28
4.2. Medio de cultivo -----	28
4.3 Diseño experimental -----	28
4.4 Montaje y operación del fotobiorreactor -----	29
4.5 Determinación de la biomasa microalgal -----	30
4.5.1 Determinación de la biomasa por densidad óptica (O.D)-----	30

4.5.2 Determinación de la biomasa por peso seco (W/V) -----	30
4.6 Monitoreo del pH, temperatura y saturación de oxígeno del cultivo-----	30
4.7 Determinaciones analíticas-----	31
4.7.1 Determinación de Nitrógeno Total (Método 10072) -----	31
4.7.2 Determinación de Ortofosfato (Método 8114)-----	32
4.7.3 Determinación del contenido de clorofila A -----	32
5 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES-----	34
6 RESULTADOS-----	36
6.1 Determinación de la biomasa microalgal -----	36
6.2 Monitoreo del pH, temperatura y porcentaje de saturación de oxígeno en los cultivos. -----	37
6.3 Concentración de nitrógeno y ortofosfato en el efluente tratado con <i>Chlorella</i> sp. -----	37
6.3.1 Unidades de reducción de nitrógeno y ortofosfato -----	39
6.4 Concentración de clorofila A en <i>Chlorella</i> sp. -----	39
6.5 Correlación entre la concentración de consumo de nutrientes y la concentración de productos obtenida.-----	40
7. DISCUSIÓN-----	42
8 CONCLUSIONES -----	46
9 RECOMENDACIONES -----	47
10 GLOSARIO-----	48
11 BIBLIOGRAFÍA-----	51
ANEXOS -----	58

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Microalgas más comunes utilizadas para el tratamiento biológico de efluentes (Lafarga, 2012).	21
Tabla 2. Taxonomía de <i>Chlorella</i> sp. (Méndez <i>et al.</i> , 2010)	22
Tabla 3. Ventajas y desventajas de los sistemas abiertos y cerrados (Durán, 2012).	26
Tabla 4. Variables del diseño factorial 2 ² .	29
Tabla 5. Diseño factorial 2 ² (Montgomery, 1991).	29
Tabla 6. Valores de temperatura, pH y porcentaje de saturación de oxígeno obtenidos en cada tratamiento.	37
Tabla 7. Unidades de reducción de nitrógeno y ortofosfato obtenidos en los diferentes tratamientos.	39
Tabla 8. Correlación entre el consumo de nitrógeno-ortofosfato y la concentración obtenida de biomasa-clorofila A.	41
Tabla 9. Características fisicoquímicas del agua residual empleada en este estudio (Sánchez, 2015).	59
Tabla 10. Valores de biomasa y densidad óptica empleados en la elaboración de la curva de calibración.	61
Tabla 11. Biomasa obtenida en los días intermedios de cada tratamiento.	61
Tabla 12. Valores de nitrógeno total y ortofosfato en mg/L, obtenidos en los días 0, 2, 4 y 7 de cada tratamiento.	61
Tabla 13. Concentración de clorofila A obtenida al final de cada tratamiento.	62

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema simplificado de la asimilación de nitrógeno inorgánico (Cai <i>et al.</i> , 2013).	25
Figura 2. Esquema de un fotobiorreactor <i>airlift</i> , PFD (Densidad del flujo de fotones) (Xu <i>et al.</i> , 2009).	27
Figura 3. Biomasa en mg/L de <i>Chlorella</i> sp, en los diferentes tratamientos.	36
Figura 4. Concentración de nitrógeno total en mg/L en los diferentes tratamientos.	38
Figura 5. Concentración de ortofosfato en mg/L en los diferentes tratamientos.	38
Figura 6. Concentración de clorofila A de <i>Chlorella</i> sp., obtenida en cada tratamiento.	40
Figura 7. Composición del medio de cultivo BG-11 (Atlas, 2010).	58
Figura 8. Observación microscópica de <i>Chlorella</i> sp., presente en el efluente del fotobiorreactor <i>airlift</i> .	59
Figura 9. Crecimiento de <i>Chlorella</i> sp., en aguas residuales procedentes del ramal 1 CINVESTAV (A. día 0 de crecimiento, B. día 7 de crecimiento).	60
Figura 10. Curva de calibración del crecimiento de <i>Chlorella</i> sp., y ecuación de la curva.	60

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Medio de cultivo BG-11.	58
Anexo B. Características del agua residual.	59
Anexo C. Resultados de la observación microscópica del efluente tratado con <i>Chlorella</i> sp.	59
Anexo D. Resultados del crecimiento de <i>Chlorella</i> sp., en el fotobiorreactor <i>airlift</i> .	60
Anexo E. Resultados de las determinaciones de biomasa y densidad óptica de <i>Chlorella</i> sp.	60
Anexo F. Resultados de las determinaciones analíticas de los diferentes tratamientos	61
Anexo G. Ecuaciones utilizadas para hallar peso seco, concentración de biomasa microalgal, concentración de consumo de nitrógeno y ortofosfato.	62

INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento natural indispensable para la vida, representa el 70% de la superficie de la Tierra (Agudelo, 2005). Sin embargo es un recurso limitado debido a diferentes factores como el incremento de la población, la disminución de los recursos hídricos y su uso diario en la actividades humanas, las cuales generan aguas residuales que causan un gran impacto ambiental al ser descargadas en los cuerpos de agua naturales contaminando los sistemas de agua superficiales, suelos y acuíferos por infiltración del agua contaminada, provocando la pérdida de la flora y fauna presentes en dichos ecosistemas. La presencia y acumulación de sustancias químicas orgánicas e inorgánicas dentro del agua residual que se descarga en los sistemas acuáticos naturales incrementan la concentración de fosfatos y nitratos dentro de estos sistemas, ocasionando una acelerada eutrofización de los mismos y como consecuencia se altera la demanda biológica de oxígeno con fuertes procesos de anoxia que afectan las poblaciones acuáticas y la salud humana (García, 2012).

Actualmente el tratamiento convencional de aguas residuales enfrenta el desafío de disminuir el exceso de nutrientes como el nitrógeno y fósforo a niveles aceptables según los valores de referencia estipulados en la legislación referente a las descargas de agua residual. Entre las tecnologías aplicadas en los procesos de depuración de aguas residuales se encuentran los tratamientos físicos, químicos y biológicos, que son utilizados dependiendo de la carga orgánica y los componentes que están presentes en estas aguas; los métodos físicos y químicos son los más utilizados a nivel mundial para disminuir el exceso de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo; estos métodos son costosos, poco efectivos y producen un impacto negativo en el ecosistema (Avila, 2015), impulsando el uso de nuevas tecnologías como: la ficorremediación, biotecnología que consiste en la utilización de cultivos mono específicos o consorcios de microalgas para la remoción, biotransformación y reutilización de contaminantes dentro del agua (Acurio *et al.*, 2015).

Las microalgas se han estudiado desde hace mucho tiempo, las primeras descripciones del empleo de microalgas en el tratamiento de aguas residuales, fue reportada por Oswald y Gotaas en 1957 quienes explican un sistema de tratamiento por lagunaje; desde entonces las microalgas han ido ganando atención, debido a su gran potencial en la asimilación de material orgánico e inorgánico presente en aguas residuales de origen urbano, industrial y agrícola (Hernández, 2010). Su capacidad de remoción de nitrógeno y fósforo presentes en efluentes se lleva a cabo mediante la incorporación de estos nutrientes a las moléculas orgánicas, en el caso del nitrógeno este proceso se lleva a cabo mediante la reducción de los nitritos y nitratos a amonio, lo cual ocurre en dos

pasos catalizados por las enzimas nitrito reductasa y nitrato reductasa; mientras que el fósforo es incorporado a los compuestos orgánicos a través de la fosforilación (Cai *et al.*, 2013).

El uso de microalgas como tratamiento biológico terciario es una buena alternativa para la eliminación de algunos nutrientes presentes en aguas residuales ya que los sistemas de microalgas requieren de poca energía, una fuente de carbono, luz solar y pequeñas cantidades de nutrientes del medio para generar biomasa y realizar el proceso de biorremediación de las aguas residuales (Acurio *et al.*, 2015), adicionalmente las microalgas presentan una alta tasa de crecimiento, la biomasa obtenida es potencialmente valiosa debido a que es una fuente de productos como proteínas, pigmentos, fertilizantes, alimentos para animales, etc., la producción de biomasa no es estacional, dado que puede ser cosechada por lotes casi todo el año (Mera, 2015).

Durante las siguientes décadas, diferentes especies de microalgas clorofitas, como *Chlorella pyrenoidosa*, *Desmodesmus quadricauda* *Chlamydomonas* sp., comenzaron a ser utilizadas para remover nutrientes de efluentes de todo tipo (Avila, 2015). *Chlorella* sp., y *Scenedesmus* sp., son microalgas comúnmente empleadas en el tratamiento de aguas residuales provenientes de plantas de tratamientos convencionales, aguas residuales industriales y residuos de animales (Andrade *et al.*, 2009).

Entre los sistemas de cultivo de microalgas empleados para el tratamiento de aguas residuales se utilizan los fotobiorreactores (Hernández, 2011), los cuales presentan una mayor productividad, fundamentalmente porque mejora la eficiencia de la fotosíntesis y la capacidad de fijación del CO₂, otra ventaja muy importante es su mayor facilidad para mantener un monocultivo sin contaminación por otras especies, lo que permite obtener un producto de pureza apta para su procesado en la industria (Santos *et al.*, 2014). Un género de microalga utilizada en fotobiorreactores es *Chlorella* sp., la cual presenta eficiencia en el tratamiento de afluentes contaminados (Cerón *et al.*, 2015).

El objetivo del presente trabajo es realizar una evaluación preliminar de la remoción de nitrógeno y ortofosfato presentes en aguas residuales del ramal 1 del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV- IPN) por *Chlorella* sp., en un fotobiorreactor *airlift* bajo diferentes flujos de aire y concentraciones de inóculo.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo general

Evaluar la remoción de nitrógeno total y ortofosfato de aguas residuales provenientes del ramal 1 del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional en México por *Chlorella* sp., en un fotobiorreactor *airlift*, bajo diferentes flujos de aire y concentraciones de inóculo.

1.2 Objetivos específicos

- Establecer la condición de flujo de aire y concentración de inóculo, dónde se obtiene mayor contenido de biomasa de *Chlorella* sp.
- Determinar las condiciones de flujo de aire y concentración de inóculo donde se logra una mayor remoción de nitrógeno total y ortofosfato por parte de *Chlorella* sp.
- Evaluar la producción de clorofila A de *Chlorella* sp., en cada uno de los tratamientos.

2 JUSTIFICACIÓN

EL Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional es un organismo público dedicado a la investigación científica en México, cuenta con 33 departamentos los cuales generan aguas residuales producto de todas las actividades de investigación realizadas en los laboratorios que conforman cada departamento; estas aguas son vertidas en cauces naturales sin ningún tratamiento, contaminando los cuerpos de agua, con compuestos nitrogenados y fosforados además de materia orgánica, metales, agentes patógenos, entre otros contaminantes que cambian las características físicas, químicas y microbiológicas del agua (Jiménez *et al.*, 2010), sobrecargando los cuerpos de agua, afectando su capacidad natural de depuración y alterando gravemente a los ecosistemas que dependen de ellos (Lahera, 2010).

Teniendo en cuenta que el principal efecto del vertimiento de aguas residuales ricas en nutrientes como el nitrógeno y fósforo es la eutrofización de corrientes naturales por el crecimiento acelerado de las algas y las plantas, que causa impactos ecológicos adversos como la reducción de la biodiversidad, sustitución de especies dominantes, aumento de la toxicidad del agua, de la turbidez, así como la disminución de la vida útil de los lagos (Caí *et al.*, 2013) y debido a que a los sistemas de tratamiento de aguas residuales convencionales generan costos elevados de construcción, operación y mantenimiento; además de las consecuencias ambientales negativas como el consumo de recursos no renovables, el uso de combustibles fósiles, plásticos, concreto y reactivos químicos con la consecuente generación de grandes cantidades de subproductos como el lodo (Zurita *et al.*, 2011). Razones por las cuales es necesario el uso nuevas tecnologías eficaces, de bajo costo que cuiden el medio ambiente para el tratamiento de aguas residuales, como la fitorremediación, una tecnología emergente que emplea microalgas para la remoción de contaminantes presentes en el agua (Sivasubramanian, 2016); usando como sistema óptimo para el cultivo de microalgas un fotobiorreactor *airlift*, debido a que posee varias ventajas, como el uso eficiente de la luz, una mejor capacidad de transferencia de masa, mayores velocidades superficiales gas-líquido, eliminación eficiente de oxígeno disuelto, mejor rentabilidad, mínimo riesgo de contaminación, fluidización de los sólidos, generación de esfuerzos cortantes bajos y uniformes lo que ayuda al crecimiento celular sin dañar o estresar al microorganismo (Cortés *et al.*, 2013). Estas propiedades les permiten alcanzar altas densidades de biomasa, lo que resulta en altas tasas de producción de microalgas (Yuan *et al.*, 2011).

En el presente trabajo se emplea un fotobiorreactor *airlift* para el cultivo de *Chlorella* sp., en aguas residuales, con el propósito de remover el nitrógeno y ortofosfato presentes en estas aguas. Por medio de esta tecnología eficiente y de bajo costo, se busca realizar un tratamiento biológico terciario de aguas residuales

para reducir la concentración de estos nutrientes, con el fin de evitar la contaminación y deterioro de los cuerpos de agua superficiales por el vertimiento de aguas residuales sin un tratamiento previo, de esta forma gozar de caudales que cumplan las necesidades básicas de la población y contribuyan con su crecimiento económico (De la Peña *et al.*, 2013). Además, esta biotecnología presenta otros beneficios ambientales importantes; oxigena los cuerpos de agua donde son vertidos los efluentes tratados, reduce los gases de efecto invernadero emitidos a la atmósfera (García *et al.*, 2014) y genera productos de alto valor comercial a partir de la biomasa microalgal (Silva *et al.*, 2015).

3 MARCO TEÓRICO

3.1 Bases legales

Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales, con el objeto de proteger su calidad y posibilitar sus usos.

3.2 Antecedentes

El tratamiento de aguas residuales con microalgas para la eliminación de nitrógeno y fósforo fue propuesto en la década de los cincuenta por Oswald y Gotaas en 1957. Uno de los filos más grandes de microalgas con una gran variedad de especies y una distribución geográfica amplia son las clorofitas, dentro de este filo se encuentra *Chlorella* sp., microalga utilizada en numerosos estudios, en los cuales ha demostrado ser eficaz en la eliminación de nitrógeno y fósforo a partir de diferentes corrientes de aguas residuales con una amplia gama de concentraciones. La eficiencia de remoción de nitrógeno y fósforo a partir del crecimiento de *Chlorella* sp., está en un intervalo de 8 a 100% (Cai *et al.*, 2013).

Chacón *et al.* (2004) evaluaron la remoción de amonio y fosfatos por *Chlorella* sp., y *Scenedesmus* sp., en aguas residuales provenientes de un sistema ubicado en la Universidad del Zulia en Venezuela, en el cual se obtuvo para ambas especies valores significativos en la densidad celular, contenido de clorofila, carotenoides y proteínas. Al final del experimento en todos los cultivos con agua residual se presentó una remoción total de amonio; mientras que la remoción máxima de fosfatos fue del 44.0% en agua residual esterilizada para *Chlorella* sp., y del 48.7% en agua residual no esterilizada para *Scenedesmus* sp.

Riuz *et al.* (2010) compararon el crecimiento de *Scenedesmus obliquus* y *Chlorella vulgaris*, con el fin de evidenciar su capacidad para eliminar nitrógeno y fósforo en cultivos discontinuos de aguas residuales urbanas; obteniendo como resultado un 80% de eliminación de amonio y un 53% de eliminación de fósforo en los cultivos con *Chlorella vulgaris* y un 96% de eliminación de amonio y un 55% de eliminación de fósforo con *Scenedesmus obliquus*.

Roa y Cañizares en el 2012 evaluaron la remoción de nitratos y fosfatos del medio de cultivo *Bold* utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado en alginato de calcio en un fotorreactor *airlift*, obteniendo una remoción del 60% de nitratos y del 47% de fosfatos en el día 8; por otro lado la mayor producción de clorofila A (6.5 mg/l) y carotenos (12.7 mg/L) se alcanzó en el día 2.

Recientemente Avila en el 2015 evaluó la capacidad de remoción de nitratos y fosfatos presentes en aguas residuales municipales por *Chlorella* sp y *Chlamydomonas* sp libres e inmovilizadas en discos de alginato de sodio al 4%; Obteniendo una remoción del 56% de nitratos; 75% de fosfato para *Chlorella* sp., y una remoción del 78% de nitratos y 84% de fosfatos para *Chlamydomonas* sp.

3.3 Agua residual

Las aguas residuales son aguas de composición variada, provienen de descargas de uso público urbano, doméstico, industrial, comercial, agrícola, pecuario, de las plantas de tratamiento, en general de cualquier uso, así como la mezcla de ellas (Riveros, 2013).

Los principales nutrientes que hacen parte de la composición química de las aguas residuales son el carbono, nitrógeno, oxígeno y fósforo, los cuales se encuentran en forma de compuestos orgánicos e inorgánicos. Los compuestos orgánicos constituyen la materia orgánica, de los cuales los asimilables por los organismos son llamados nutrientes orgánicos, por otro lado los compuestos inorgánicos están formados por diferentes elementos como el nitrógeno y el fósforo, de estos compuestos los asimilables por los organismos son llamados nutrientes inorgánicos (Perez, 2009).

Dependiendo del origen, las aguas residuales se pueden dividir en tres tipos principales.

Aguas residuales domesticas: son aguas originadas en las actividades humanas, como el lavado de platos, duchas, servicios sanitarios entre otros. Su calidad varía con respecto al nivel socioeconómico y cultural de las poblaciones.

Aguas residuales industriales: son aguas manipuladas en procesos industriales, su composición varía dependiendo del tipo de industria y materiales procesados en esa zona de captación.

Aguas residuales urbanas: son aguas residuales domesticas que pueden estar combinadas con aguas de escorrentía pluvial o con aguas de origen industrial que deben ser previamente tratadas para que cumplan con la calidad exigida para aguas vertidas en los sistemas de alcantarillado de tipo combinado (Acurio *et al.*, 2015).

Las aguas residuales representan un problema medioambiental serio, no solo por el vertimiento de estas aguas contaminadas a los cauces de los ríos, sino también por el poco aprovechamiento de esta agua para otros usos, ocasionando una pérdida económica (Duran, 2012).

3.3.1 Tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales consiste en una combinación de operaciones y procesos unitarios diseñados para reducir ciertos contaminantes del agua residual a un nivel aceptable, con el fin de preservar la salud pública, proteger los cuerpos de agua receptores y sus ecosistemas (Riveros, 2013).

Un sistema convencional de tratamiento de aguas residuales consta de cuatro niveles preliminar, primario, secundario y terciario.

Tratamiento preliminar o pretratamiento: busca disminuir los sólidos más gruesos como arenas, gravas, plásticos y otros materiales flotantes o en suspensión. Una línea de pretratamiento convencional consta de las etapas de desbaste, desarenado y desengrasado

Tratamiento primario: su objetivo es remover mediante operaciones físicas tales como tamizado y sedimentación, los sólidos suspendidos y un pequeño porcentaje de materia orgánica.

Tratamiento secundario: su propósito es eliminar la materia orgánica biodegradable así como los sólidos suspendidos mediante procesos químicos y biológicos, además uniformiza las cargas orgánicas para tratamientos posteriores.

Tratamiento terciario o avanzado: en este paso se remueven nutrientes como nitrógeno y fósforo, además de patógenos del efluente secundario mediante un proceso fisicoquímico que utiliza la precipitación, la filtración y la cloración para reducir drásticamente los niveles de nutrientes inorgánicos, especialmente los fosfatos del efluente final (Cabrera, 2014).

3.3.2 Límites máximos permisibles de nitrógeno y fósforo en descarga de agua residual tratada en cuerpos receptores

En la norma oficial mexicana NOM-001-ECOL-1996, se establece los límites máximos permisibles en las descargas de agua residual tratada en un rango de 15 a 60 mg/L para nitrógeno total y de 5 a 30 mg/L para fósforo total, lo cual depende del cuerpo receptor (ríos, aguas costeras, suelo, embalses naturales y artificiales). Desde el punto de vista ambiental es importante considerar la concentración final en el sistema receptor, donde valores de \geq de 0.2 mg/L de nitrógeno y \geq de 0.01

mg/L de fósforo indican contaminación por eutrofización en cuerpos de agua (Beltrán, 2014).

3.4 Eutrofización

La eutrofización es el crecimiento acelerado de algas y de plantas debido al enriquecimiento de los cuerpos de agua con nutrientes, especialmente compuestos de nitrógeno y fósforo (Tekile *et al.*, 2015). El efecto más evidente de la eutrofización es las floraciones densas de nocivo fitoplancton que reducen la claridad del agua y la calidad de la misma. Las altas tasas de fotosíntesis asociadas a la eutrofización agotan el carbono inorgánico disuelto y elevan el pH a niveles extremos durante el día, un pH elevado afecta las capacidades quimiosensoriales de los organismos al interferir en la percepción de señales químicas necesarias para su supervivencia. Además, al morir las densas floraciones de algas la descomposición microbiana agota el oxígeno disuelto, creando una zona de hipoxia carente de oxígeno para sostener la mayoría de los organismos y por consiguiente se produce la muerte de especies acuáticas (Chislock *et al.*, 2013).

3.5 Ficorremediación

La ficorremediación es una tecnología simple, económica y respetuosa con el medio ambiente, que emplea microalgas o macroalgas para la eliminación o la biotransformación de contaminantes presentes en aguas residuales (Rawat *et al.*, 2011). Su eficacia depende del tipo de efluente, contaminantes, temperatura o la incidencia lumínica en el medio, dado que estos factores afectan la producción y composición de la biomasa (Lafarga, 2012).

Esta tecnología tiene varias aplicaciones: la eliminación de nutrientes de las aguas residuales municipales y de efluentes ricos en materia orgánica mediante el uso de biosorbentes a base de microalgas, el tratamiento de aguas residuales ácidas, la fijación de CO₂, la degradación de xenobióticos y la detección de compuestos tóxicos con la ayuda de biosensores a base de algas (Rawat *et al.*, 2011).

El cultivo de microalgas es una de las mejores alternativas para la purificación y tratamiento biológico de aguas residuales, debido a que las microalgas pueden acumular y asimilar nutrientes, metales pesados, pesticidas, contaminantes orgánicos e inorgánicos y materia radioactiva en sus células; además, el proceso fotosintético que realizan las microalgas genera la oxigenación de las aguas

residuales (Gani *et al.*, 2015). Los principales géneros de microalgas utilizadas en el tratamiento de efluentes, se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Microalgas comúnmente utilizadas para el tratamiento biológico de efluentes (Lafarga, 2012).

Grupo	Géneros más representativos	% De aplicación
Diatomeas	<i>Cyclotella, Gomphonema, Nitzchia</i>	10
Flageladas	<i>Chlamydomonas, Euglena, Cryptomonas</i>	25
Algas verdes	<i>Ankistodesmus, Chlorella, Scenedesmus</i>	50
Algas verde- azules	<i>Anacystis, Anabaena, Oscillatoria</i>	15

3.5.1 Ventajas del uso de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales.

- Presentan una alta tasa de crecimiento.
- Tienen una mayor capacidad para captar el CO₂.
- Son capaces de crecer en un medio líquido marino o en aguas residuales, reduciendo el uso de agua dulce para su producción.
- Se utilizan para la biorremediación de aguas residuales municipales e industriales, en la remoción de nitrógeno y fósforo, la biomasa producida en estos procesos posee un valor agregado en la generación de coproductos o subproductos por ejemplo, proteínas, polisacáridos, pigmentos, biopolímeros, alimentos para animales, fertilizantes, etc.
- La producción de biomasa no es estacional y puede ser cosechada por lotes casi todo el año (Mera, 2015).

3.6 Microalgas

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos procariotas o eucariotas, pueden crecer rápidamente, vivir en condiciones extremas y adaptarse para almacenar o aumentar su eficiencia en la utilización de recursos; también son capaces de asumir muchos tipos de metabolismos (por ejemplo, heterótrofos,

autótrofos, mixotróficos y fotoheterotrófico) como respuesta a cambios en las condiciones ambientales. Las microalgas están presentes en los ecosistemas acuáticos y terrestres, lo que representa la gran variedad de especies que viven en una amplia gama de condiciones ambientales. Se estima que existen más de 50.000 especies, pero sólo un número limitado de alrededor de 30.000 se han estudiado y analizado (Mata *et al.*, 2010).

3.6.1 *Chlorella* sp.

Las microalgas de este género son algas verdes, con un tamaño de 2-10µm, ovoidales, no móvil y unicelular; presentan una pared celular delgada y cloroplastos en forma de copa, pueden crecer en condiciones autotróficas, heterotróficas o mixotróficas. Se reproducen de forma asexual, formándose en el interior de la célula madre de 4 a 8 células más pequeñas idénticas a ella llamadas autosporas, las cuales son liberadas por dehiscencia de la pared de la célula madre al alcanzar su tamaño máximo transformándose en nuevas *Chlorella* sp., al crecer (Acurio *et al.*, 2015).

Tabla 2. Taxonomía de *Chlorella* sp. (Méndez *et al.*, 2010).

Taxonomía	
Reino	Protista
División	Chlorophyta
Clase	Trebouxiophyceae
Orden	Chlorellales
Familia	Chlorellaceae
Genero	Chorella

Chlorella sp., fue el primer género en ser aislado y cultivado con fines de alimentación y obtención de metabolitos (Infante *et al.*, 2012), puesto que posee un elevado contenido en proteínas y otros nutrientes esenciales para el ser humano; su masa en peso seco contiene cerca de 45% de proteínas, 20% de lípidos, 20% de carbohidratos, 5% de fibra y un 10% de vitaminas y minerales (Lafarga, 2012). Este género ha sido empleado para el tratamiento biológico de aguas residuales, demostrando su efectividad en la remoción de nitrógeno, fósforo y metales; el cultivo por lote es el más utilizado a gran escala por su bajo riesgo de contaminación y fácil implementación. (Infante *et al.*, 2012).

3.6.2 Factores que influyen en el crecimiento de las microalgas

El crecimiento y la acumulación de metabolitos en las microalgas, pueden ser afectados por diferentes factores. Es importante determinar las condiciones óptimas de crecimiento, debido a que la tasa de rendimiento para un mismo género de microalgas puede ser diferente de acuerdo a su lugar de origen y a las condiciones ambientales en las que se desarrolle (Benavente *et al.*, 2012).

Nutrientes

Para el crecimiento de las microalgas, se debe proporcionar diferentes elementos como el carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, potasio, calcio, magnesio, hierro, azufre, fósforo, y elementos traza. El carbono, oxígeno e hidrógeno se obtienen a partir del agua y el aire, mientras que el nitrógeno, fósforo y potasio tienen que ser absorbidos del medio de cultivo. Durante el cultivo el nitrógeno y el fósforo juegan un papel importante en el control del crecimiento y la producción de lípidos en las microalgas (Zhu *et al.*, 2013).

Luz

Los organismos fotosintéticos sólo emplean la fracción del espectro de luz solar que es fotosintéticamente activa, es decir entre 350 y 700 nm. En la mayoría de las microalgas la fotosíntesis se ve saturada a niveles lumínicos que representan sobre el 30% de la radiación total que la Tierra recibe del Sol, esto supone alrededor de 1700 – 2000 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \text{ s}$. A partir de éste, los sistemas fotosintéticos receptores se ven dañados y la fotosíntesis se ve inhibida, lo que se conoce como foto inhibición (Martínez, 2012). La intensidad lumínica varía durante el crecimiento celular ya que a medida que aumenta la concentración celular, disminuye la cantidad de luz que recibe cada célula la manera de solucionar esto es mediante una buena agitación (Lafarga, 2012).

Oxígeno

El proceso de fotosíntesis realizada durante el día aumenta los niveles de oxígeno disuelto, pudiendo llegar a reducir la población de microalgas ya que muchas especies de microalgas no son capaces de sobrevivir en medios sobresaturados de oxígeno (para algunas el 120% de saturación de oxígeno, para otras el 200%). Además, la producción fotosintética de oxígeno en cultivos de alta densidad puede alcanzar hasta 40 mg/L, de modo que mediante la radiación adecuada pueden llegar a desarrollarse radicales de oxígeno, estos radicales libres son tóxicos para las células y causan daños en sus membranas. La presión parcial del oxígeno en

el cultivo puede disminuirse mediante aumento de la turbulencia y *stripping* de aire (transferencia de masa mediante la inyección de aire a través del agua) (Ruiz, 2011).

Temperatura

La temperatura óptima varía entre cada especie, por lo general está entre 28°C y 35°C. La productividad microalgal aumenta conforme aumenta la temperatura hasta su temperatura óptima; por encima de ésta, se aumenta la fotorrespiración reduciendo la productividad global (Park *et al.* 2011). La temperatura puede alterar el coeficiente de velocidad de reacciones biosintéticas (Martínez, 2012).

Agitación

La agitación es un parámetro indispensable debido a que produce un movimiento en el medio de cultivo, generando una distribución homogénea de las células y de los nutrientes evitando la existencia de zonas muertas y los fenómenos de sedimentación, además, evita la formación de gradientes de nutrientes o incluso de productos o subproductos del proceso como el oxígeno. Favorece también la homogenización de la temperatura del reactor; por otro lado la velocidad de agitación es importante, ya que una velocidad muy elevada puede producir mucha fricción en las células y provocar su ruptura, en cambio una velocidad muy baja puede no conseguir la homogeneidad necesaria (Lafarga, 2012).

pH

El pH influye en la forma química como se encuentran algunos nutrientes y en la alcalinidad del medio. El pH en la mayoría de cultivos de microalgas se encuentra entre 7 y 9 con un rango óptimo 8.2-8.7. El control de pH se consigue mediante aireación, inyección controlada de CO₂ o la adición de ácidos o bases (Malgas, 2013).

3.7 Proceso biológico de remoción de nitrógeno y fósforo

El nitrógeno es un nutriente crítico requerido en el crecimiento de todos los organismos. El nitrógeno orgánico se encuentra en una variedad de sustancias biológicas tales como péptidos, proteínas, enzimas, clorofilas, moléculas de transferencia de energía (ADP, ATP) y materiales genéticos (ARN, ADN). El nitrógeno orgánico se deriva de fuentes inorgánicas incluyendo nitrato (NO₃), nitrito (NO₂), ácido nítrico (HNO₃), amonio (NH₄⁺), amoníaco (NH₃) y el gas nitrógeno (N₂). Las microalgas juegan un papel clave en la conversión de nitrógeno

inorgánico a su forma orgánica a través de un proceso llamado asimilación. Para que las algas realicen el proceso de asimilación, requieren de nitrógeno inorgánico en las formas de nitrato, nitrito y de amonio. Como se muestra en la Figura 1, la translocación del nitrógeno inorgánico ocurre a través de la membrana plasmática, seguido por la reducción de nitrógeno oxidado y la incorporación de amonio en aminoácidos. El nitrato y el nitrito se someten a reducción con la ayuda de las enzimas nitrato reductasa y nitrito reductasa respectivamente. La enzima nitrato reductasa utiliza la forma reducida de la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) para transferir dos electrones, dando como resultado la conversión de nitrato en nitrito. El nitrito se reduce en amonio por la ferredoxina reductasa (Fd) con la transferencia de un total de seis electrones en la reacción. Por lo tanto, todas las formas de nitrógeno inorgánico se reducen en última instancia en amonio antes de ser incorporado en aminoácidos dentro del fluido intracelular, finalmente utilizando el glutamato (Glu) y trifosfato de adenosina (ATP), la glutamina sintasa facilita la incorporación del amonio en el aminoácido glutamina (Cai *et al.*, 2013).

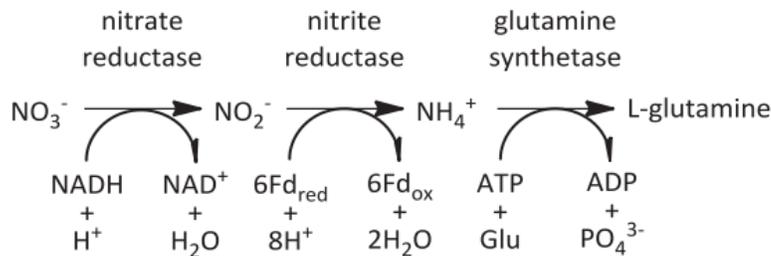


Figura 1. Esquema simplificado de la asimilación de nitrógeno inorgánico (Cai *et al.*, 2013).

El fósforo es también un factor clave en el metabolismo energético de las algas y se encuentra en los ácidos nucleicos, lípidos, proteínas y en el metabolismo intermedio de carbohidratos. Los fosfatos inorgánicos juegan un papel significativo en el crecimiento celular y el metabolismo de las algas. Durante el metabolismo de las algas el fósforo, preferiblemente en las formas de H_2PO_4 y HPO_4^{2-} , se incorpora a los compuestos orgánicos a través de la fosforilación, muchos de los cuales implican la generación de ATP a partir de adenosin difosfato (ADP), acompañado por una forma de aporte de energía. La entrada de energía puede provenir de la oxidación de sustratos respiratorios, del sistema de transporte de electrones de las mitocondrias o en el caso de la fotosíntesis de la luz. Los fosfatos son transferidos por el transporte energizado a través de la membrana plasmática de la célula de las microalgas. No sólo las formas inorgánicas de fósforo son utilizadas por las microalgas, algunas variedades de algas son capaces de utilizar el fósforo que se encuentra en ésteres orgánicos para el crecimiento. La eliminación de fósforo en las aguas residuales no sólo se rige por la absorción en la célula, sino también por las condiciones externas tales como el pH y el oxígeno disuelto. El fósforo no puede existir en un estado gaseoso, por lo

tanto el fosfato se precipita como resultado de pH elevado y alta concentración de oxígeno disuelto (Cai *et al.*, 2013).

3.8 Sistemas de cultivo de microalgas

Para la producción de microalgas se emplean sistemas de cultivo abierto o sistemas cerrados denominados fotobiorreactores (Ugwu *et al.*, 2008). La principal diferencia entre estos sistemas es la exposición de las algas al medio ambiente, ya que en los sistemas abiertos la biomasa está expuesta a las condiciones del medio externo, mientras que en los sistemas cerrados presentan poco o ningún contacto con el medio externo (Cai *et al.*, 2013).

Los sistemas de cultivo abiertos comprenden tanto medios naturales (lagunas y estanques) como artificiales con variedad de diseños. Los sistemas de cultivo cerrados denominados fotobiorreactores, presentan una amplia variedad de diseños: reactores planos o en placas agitados mediante burbujeo; reactores tubulares, verticales u horizontales con agitación por burbujeo y reactores anulares (Hernández y Labbé, 2014). La comparación de los sistemas de cultivo de microalgas abiertos y cerrados se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Ventajas y desventajas de los sistemas abiertos y cerrados (Durán, 2012).

Parámetro	Abierto	Cerrado
Riesgo de contaminación	Extremadamente alto	Bajo
Espacio requerido	Alto	Bajo
Pérdidas de agua	Extremadamente alto	Casi ninguno
Perdidas de CO ₂	Alto	Casi ninguno
Calidad de biomasa	No susceptible	Susceptible
Variabilidad de las especies	Poca variabilidad	Alto. Muchas especies
Flexibilidad de operación	Cambios de producción bajos	Ningún problema a los cambios
Control de proceso	Bajos	Alto
Estandarización	Sin posibilidad	Posible
Dependencia del clima	Alto	Muy bajo
Periodo de puesta en marcha	Largo 6-8 semanas	Corto 2-4 semanas
Concentración de la biomasa	0.1-0.2 g/l	2-8 g/l
Eficiencia de los procesos de tratamientos correctores	Bajo	Alto

3.9 Reactor *Airlift*

Para el cultivo de las microalgas existen equipos especializados llamados reactores. Se considera que el reactor *airlift* es uno de los más utilizados, por sus ventajas frente a otros reactores como una mejor capacidad de transferencia de masa, mayores velocidades superficiales gas-líquido, patrones de flujo bien definidos, mejor rentabilidad, mínimo riesgo de contaminación, efectiva fluidización de los sólidos, generación de esfuerzos cortantes bajos y uniformes lo que ayuda al crecimiento celular sin dañar o estresar al microorganismo (Cortés, 2013).

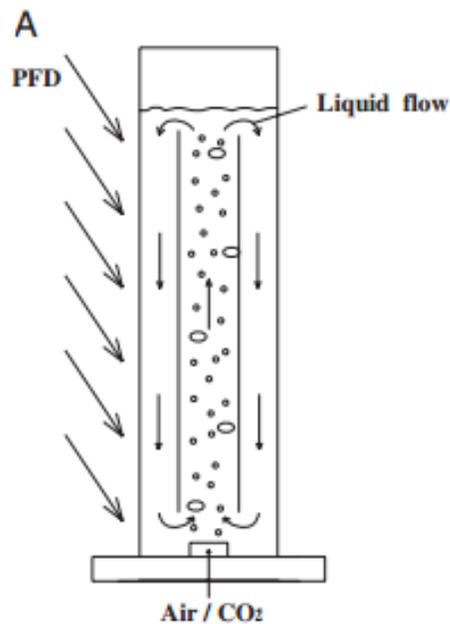


Figura 2. Esquema de un fotobiorreactor *airlift*, PFD (Densidad del flujo de fotones) (Xu *et al.*, 2009).

Como se muestra en la figura 2, un reactor *airlift* consiste en un sistema cerrado llevado a cabo en un recipiente cilíndrico que presenta dos zonas distintas, la zona ascendente y la zona descendente. En la zona ascendente se inyecta gas, el cual origina una disminución de la presión favoreciendo la recirculación del fluido en el reactor, circulación que trae como consecuencia la fluidificación de las partículas que contienen la biomasa. El diseño de este reactor es simple y fácil de construir, además presenta un patrón de flujo definido y una necesidad baja de energía que los hace muy atractivos para el tratamiento de las aguas residuales (Martínez, 2013).

4 METODOLOGÍA

4.1 Microalga

Para este estudio se utilizó una cepa de *Chlorella* sp., proporcionada por el laboratorio del Dr. Rodolfo Reyna Velarde, cultivada en medio líquido BG-11 (Atlas, 2010) (ver anexo A), en un fotobiorreactor *airlift* tipo plano con capacidad de 6 litros, en el cual se procedió a mantener durante dos meses y quince días; para esto se tomaron 2L de inóculo del cultivo puro y se le adicionó 4L del medio BG-11, este procedimiento se realizó cada siete días; cada montaje requirió desechar el contenido y lavar el fotobiorreactor para introducir nuevamente el inóculo y el medio de cultivo.

4.2. Medio de cultivo

Como medio de cultivo se empleó aguas residuales provenientes del ramal 1 del CINVESTAV-IPN. Para realizar cada tratamiento se recolectó 2 L de agua residual cada viernes en la tarde al finalizar el tratamiento montado en un bidón con capacidad de 4L, las características fisicoquímicas del agua residual se observan en el Anexo B.

4.3 Diseño experimental

Con el fin de evaluar la influencia del flujo del aire y la concentración del inóculo de *Chlorella* sp., en el proceso de remoción de nitrógeno total y ortofosfato de aguas residuales del ramal 1 del CINVESTAV; se realizó un diseño factorial 2^2 , en el cual se empleó un número menor de corridas, donde se estudian dos variables, cada una con dos niveles (Montgomery, 1991).

En este trabajo se realizaron cuatro tratamientos sin replicas biológicas o técnicas.

A continuación en la tabla 4 se observan los valores de los niveles menor (-1) y mayor (1) de cada una de las variables utilizadas.

Tabla 4. Variables del diseño factorial 2².

Variables	Niveles	
	-1	1
Flujo de aire	1.5 L/min	2.5 L/min
Concentración del inóculo	10%	30%

(Fuente el autor)

En la tabla 5 se observan los cuatro tratamientos del diseño experimental 2², para los cuales se empleó diferentes muestras de agua residual del ramal 1 del CINVESTAV, variando el flujo de aire y la concentración del inóculo entre el nivel menor y mayor según el tratamiento a realizar.

Tabla 5. Diseño factorial 2² (Montgomery, 1991).

Tratamiento	Flujo de aire (L/min)	Concentración de inóculo %(v/v)
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1

4.4 Montaje y operación del fotobiorreactor

Para el primer tratamiento se empleó 10% (200 mL) de inóculo de *Chlorella* sp., y se adicionó un volumen de agua residual (1800 mL) para completar los 2L del volumen operativo del fotobiorreactor *airlift*, con un flujo de aire de 1.5 L/min. Este tratamiento tuvo un lapso de 7 días, con un fotoperiodo de 12 horas y una intensidad de luz incidente promedio en el fotobiorreactor de 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ medida con el equipo PAR Quantum sensor *Skye*.

Los tres tratamientos restantes se realizaron en las mismas condiciones variando los niveles de flujo de aire (1.5 y 2.5 L/min) y la concentración del inóculo (10%,30%), de acuerdo a los niveles establecidos para cada tratamiento. El montaje del fotobiorreactor se observa en el Anexo D.

4.5 Determinación de la biomasa microalgal

La determinación de la biomasa microalgal, se realizó en base a la ecuación obtenida en la curva de calibración, a partir de los valores de la densidad óptica y el peso seco (ver anexo E).

4.5.1 Determinación de la biomasa por densidad óptica (O.D)

Para determinar la densidad óptica se tomó diariamente una muestra de 2 mL de cultivo a la cual se le midió la absorbancia a una longitud de onda de 680 nm en un espectrofotómetro *Shimadzu UV-1800* (Wang *et al.*, 2013).

4.5.2 Determinación de la biomasa por peso seco (W/V)

Para determinar el peso seco se filtró un volumen del cultivo a través de un filtro de jeringa de 0,45 μm de poro, previamente secado en horno durante 24 horas, atemperado en un desecador y pesado.

Los filtros con células se secaron en horno a 60°C durante 24 horas, se atemperaron y se pesaron en una balanza analítica. El peso seco de las células se determinó por diferencia y se dividió entre el volumen filtrado (miligramos de biomasa por litro de cultivo) (Garcia, 2014).

4.6 Monitoreo del pH, temperatura y saturación de oxígeno del cultivo

Se realizó monitoreo del pH, temperatura (°C), y porcentaje de saturación de oxígeno (% OD) diariamente con el multiparámetro *Hanna HI9328*, esta metodología se realizó para cada uno de los cuatro tratamientos.

4.7 Determinaciones analíticas

Para estimar la remoción de nitrógeno total y ortofosfato, así como la producción de clorofila A por parte de *Chlorella* sp., en los cuatro tratamientos, se siguieron detalladamente los procedimientos descritos a continuación.

4.7.1 Determinación de Nitrógeno Total (Método 10072)

La determinación de nitrógeno total se realizó en el día 0, 2, 4 y 7 del cultivo por el método (kit) 10072 *HACH*, siguiendo las recomendaciones del fabricante, se procedió a agregar el reactivo de persulfato al tubo de ensayo, que contenía el reactivo de hidróxido, luego se le adicionó 0.5 mL de la muestra previamente filtrada, en el caso del blanco se utilizó 0.5 mL de agua desionizada (incluida en el kit), los tubos se taparon y se agitaron vigorosamente por 30 segundos.

Posteriormente se colocaron en un reactor *HACH DRB 200*, el cual se encontraba a 105°C por 30 minutos; pasado este tiempo los tubos se sacaron y enfriaron a temperatura ambiente, a cada tubo se le adicionó el reactivo A (metabisulfito de sodio) y se agitó por 30 segundos dejando reaccionar por 3 minutos, después se adicionó el reactivo B (indicador) y se agitó por 15 segundos, reaccionando por 2 minutos.

De los tubos tratados anteriormente se tomó 2 mL y se depositaron en tubos que contenían el reactivo C (ácido cromotrópico), se invirtieron 10 veces, se dejaron reposar por 5 minutos y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro *protective cover DR 2800*.

El fundamento de esta prueba es una digestión con persulfato alcalino donde se convierte todas las formas de nitrógeno en nitrato, posteriormente se añade metabisulfito de sodio después de la digestión para eliminar las interferencias de óxido de halógeno. Nitrato luego reacciona con el ácido cromotrópico bajo fuerte condiciones ácidas para formar un color amarillo.

4.7.2 Determinación de Ortofosfato (Método 8114)

La determinación de ortofosfato se realizó en el día 0, 2, 4 y 7 del cultivo por el método 8114 *HACH*, empleando tubos de ensayo a los que se les adicionó 10 mL de muestra previamente filtrada y 0,5 ml de reactivo vanado-molíbdeno, en el caso del blanco se utilizó 10 mL de agua destilada, se homogenizó y dejó reaccionar por 7 minutos, pasado el tiempo, se midió la absorbancia en el espectrofotómetro *protective cover DR 2800*.

4.7.3 Determinación del contenido de clorofila A

Se tomó 5 mL del cultivo y se centrifugó a 3600 rpm por 15 minutos, se descartó el sobrenadante y se adicionó 5 mL de metanol al 90%, posteriormente se agitaron los tubos para resuspender el pellet y se llevaron a baño maría a 70°C por 10 minutos, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y luego se refrigeraron a 4°C por 24 horas. Pasado este tiempo se centrifugó nuevamente en las mismas condiciones y se recuperó el sobrenadante.

Se realizó la lectura de cada una de las muestras a una densidad óptica de 665 y 750 nm empleando como blanco metanol al 90% (Amavizca, 2014). Este análisis se realizó al final de cada tratamiento.

La concentración de clorofila se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Clorofila A (mg/L)} = 13.9 * (D.O_{665} - D.O_{750}) * \frac{U}{V}$$

Donde:

U: volumen final de metanol

V: volumen de la muestra

D.O₆₆₅: densidad óptica a 665nm

D.O₇₅₀: densidad óptica a 750nm

5 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Meses	Agosto												Septiembre																													
Tiempo de duración	Semana 1				Semana 2				Semana 3				Semana 4				Semana 5				Semana 6				Semana 7																	
Actividades	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s
Revisión bibliográfica	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Mantenimiento del cultivo de <i>Chlorella</i> sp.				■						■						■						■						■						■						■		
Montaje del diseño experimental																			■	■	■	■	■	■																		
Montaje del fotobiorreactor																			■	■	■	■	■	■																		
Aplicación de los tratamientos																																										
Monitoreo de pH, temperatura y saturación de oxígeno																																					■	■	■	■	■	■
Determinación de nitrógeno y ortofosfato																																										
Determinación de clorofila A																																										
Análisis de resultados																																										
Informe final																																										
Sustentación																																										

Meses	Octubre												Noviembre																																			
Tiempo de duración	Semana 8				Semana 9				Semana 10				Semana 11				Semana 12				Semana 13				Semana 14				Semana 15																			
Actividades	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s
Revisión bibliográfica	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Mantenimiento del cultivo de <i>Chlorella</i> sp.				■						■						■						■						■						■						■						■		
Montaje del diseño experimental																																																
Montaje del fotobiorreactor																																																
Aplicación de los tratamientos	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Monitoreo de pH, temperatura y saturación de oxígeno	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Determinación de nitrógeno y ortofosfato				■						■						■						■						■						■						■						■		
Determinación de clorofila A				■						■						■						■						■						■						■						■		
Análisis de resultados																																																
Informe final																																																
Sustentación																																																

Meses	Diciembre																	
Tiempo de duración	Semana 16				Semana 17				Semana 18									
Actividades	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s	L	M	Mc	J	V	s
Revisión bibliográfica																		
Mantenimiento del cultivo de <i>Chlorella</i> sp.																		
Montaje del diseño experimental																		
Montaje del fotobiorreactor																		
Aplicación de los tratamientos																		
Monitoreo de pH, temperatura y saturación de oxígeno																		
Determinación de nitrógeno y ortofosfato																		
Determinación de clorofila A																		
Análisis de resultados																		
Informe final																		
Sustentación																		

6 RESULTADOS

Para realizar el proceso de remoción de nitrógeno total y ortofosfato en aguas residuales, se utilizó a *Chlorella* sp., debido a su fácil cultivo y capacidad de asimilar estos compuestos. Para esto se siguió la metodología planteada, presentando a continuación los resultados obtenidos.

6.1 Determinación de la biomasa microalgal

La biomasa microalgal posee un alto valor comercial, según su composición química puede convertirse en fuente productora de fertilizantes, alimento para animales, además se puede emplear en la industria química, biomedicina y farmacología (Andrade *et al.*, 2009). Debido a los diferentes usos de la biomasa microalga en este estudio se determinó su concentración en cada tratamiento, las cuales se puede observar en la figura 3; estos datos, fueron obtenidos a partir de la ecuación derivada de la curva de calibración (ver Anexo E).

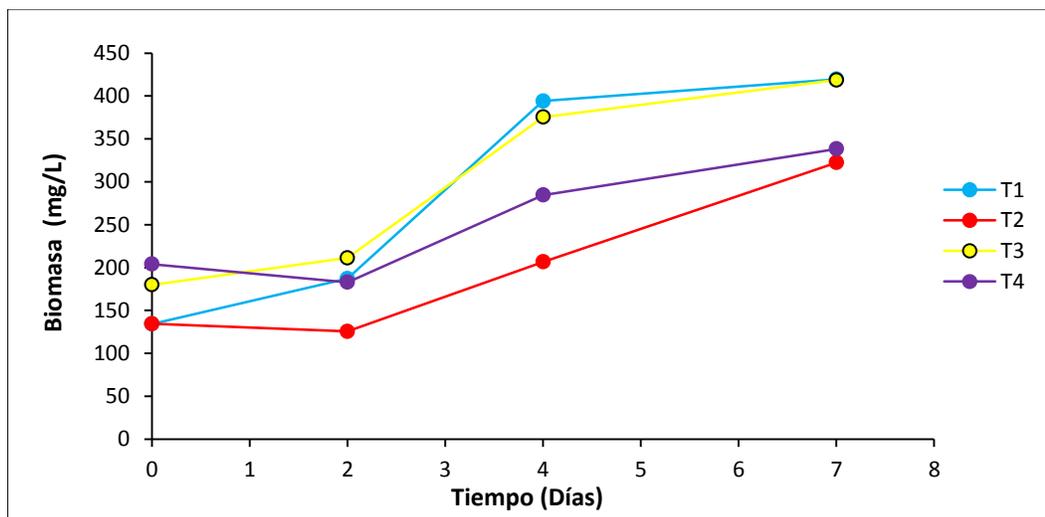


Figura 3. Biomasa de *Chlorella* sp en mg/L en los diferentes tratamientos (Fuente el autor).

Los resultados muestran el comportamiento de *Chlorella* sp., en agua residual durante los siete días de cada tratamiento, en el cual se observó que la mayor concentración de biomasa obtenida, se presentó en los tratamientos T1 y T3.

6.2 Monitoreo del pH, temperatura y porcentaje de saturación de oxígeno en los cultivos.

Factores como la temperatura, pH, porcentaje de saturación de oxígeno entre otros, influyen en el crecimiento de las microalgas, es por eso que en este estudio se monitorean estos parámetros bajos los cuales se desarrolla el cultivo microalgal.

Tabla 6. Valores de temperatura, pH y porcentaje de saturación de oxígeno obtenidos en cada tratamiento.

Día	Tratamiento 1			Tratamiento 2			Tratamiento 3			Tratamiento 4		
	T (°C)	pH	(%) OD									
1	25.85	10.00	99.0	22.89	10.09	97.7	25.23	10.09	98.1	21.32	10.36	85.5
2	25.63	10.02	98.9	23.46	10.30	94.6	25.01	10.15	94.1	25.64	9.81	89.7
3	24.36	10.05	97.3	23.04	10.49	92.5	24.97	10.16	93.0	19.12	10.28	82.6
4	23.49	10.07	96.6	23.56	10.55	91.6	24.51	10.18	91.6	22.64	10.19	85.2
7	24.53	10.08	95.2	21.66	10.35	90.5	24.57	10.31	90.7	19.44	10.39	83.7

(Fuente el autor)

En la tabla 6 se aprecian los valores de los diferentes parámetros examinados a lo largo de los siete días de cultivo. Para la temperatura estos se encuentran en un rango entre 19 y 25°C, para el pH entre 9.81 y 10.39, para el porcentaje de saturación de oxígeno un rango de 83.7 a 99.0.

En esta tabla también se aprecia que los datos del tratamiento 4, enmarcados en rojo para el caso de la temperatura, fluctúan considerablemente entre cada medición; así mismo se destacan los valores del porcentaje de saturación de oxígeno (% OD).

6.3 Concentración de nitrógeno y ortofosfato en el efluente tratado con *Chlorella* sp.

Con el fin de evidenciar la capacidad de *Chlorella* sp., de remover el nitrógeno y ortofosfato presentes en aguas residuales; se determinó la concentración de estos nutrientes en el agua residual del ramal 1 del CINVSTAV tratada con *Chlorella* sp.

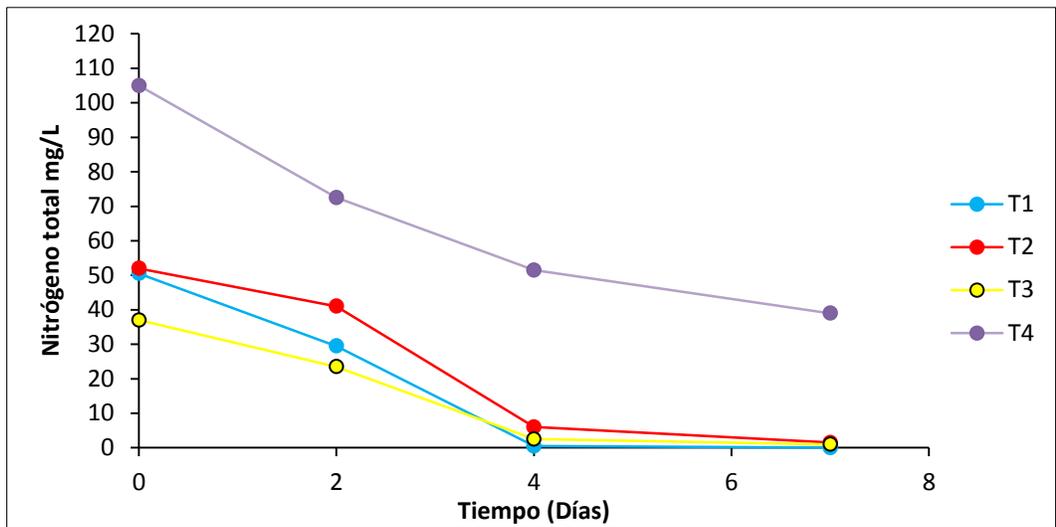


Figura 4. Concentración de nitrógeno total en mg/L en los diferentes tratamientos (Fuente el autor).

En la figura 4 se muestra la concentración de nitrógeno total en función del tiempo durante 7 días; dónde se observa la disminución progresiva de las concentraciones iniciales de nitrógeno total en las muestras estudiadas usando a *Chlorella* sp. Contrastando con la legislación vigente, las concentraciones finales de nitrógeno total (ver Anexo F), obtenidas en los cuatro tratamientos se encuentran dentro de los límites permitidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996 para aguas residuales.

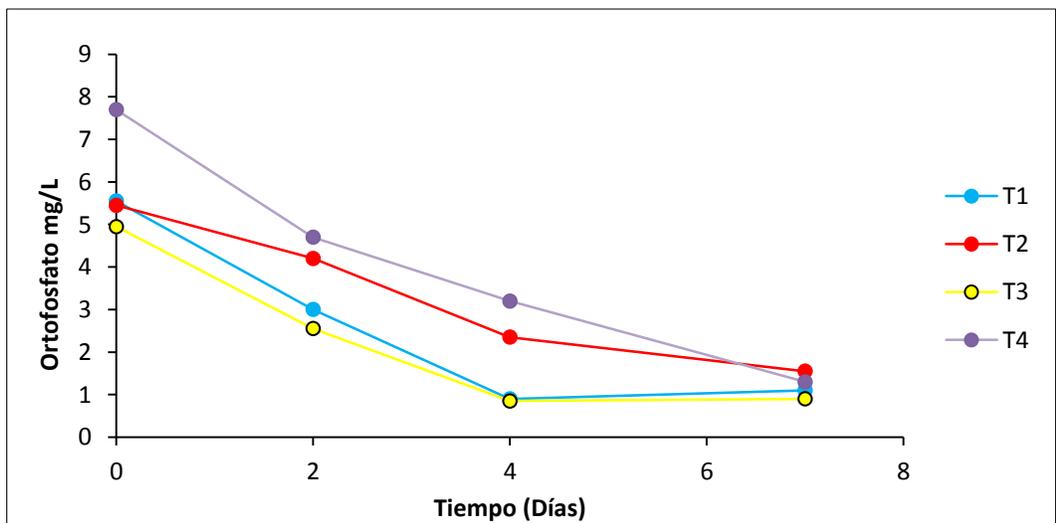


Figura 5. Concentración de ortofosfato en mg/L en los diferentes tratamientos (Fuente el autor).

La figura 5, muestra el comportamiento de la concentración del ortofosfato a lo largo de los 7 días del estudio en los cuatro tratamientos realizados, donde se observa una notable disminución de las concentraciones iniciales de ortofosfato. Se destaca que el tratamiento 2, presentó la concentración final más alta en este estudio. Los valores empleados en la elaboración de esta gráfica se muestran en el anexo F.

6.3.1 Unidades de reducción de nitrógeno y ortofosfato

Las unidades de reducción de nitrógeno y ortofosfato estimados y presentados en la tabla 7, muestran una mayor remoción de nitrógeno y ortofosfato en el tratamiento 4.

Tabla 7. Unidades de reducción de nitrógeno y ortofosfato obtenidos en los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Unidades en (mg/L) reducidas	
	Nitrógeno Total	Ortofosfato
1	50.5	4.45
2	50.5	3.9
3	36	4.05
4	66	6.4

(Fuente el autor)

6.4 Concentración de clorofila A en *Chlorella* sp.

La clorofila posee un alto valor comercial, debido a que proporciona una amplia gama de productos que son usados en la industria alimenticia, salud, medicina humana y alimentación animal (Hernández y Labbé, 2014); recientemente en investigaciones se destaca el uso de la clorofila en aplicaciones de nanofotónica (Aalto University, 2013). Como resultado del proceso del tratamiento de aguas residuales con *Chlorella* sp., se determinó las concentraciones de clorofila A, descritas a continuación.

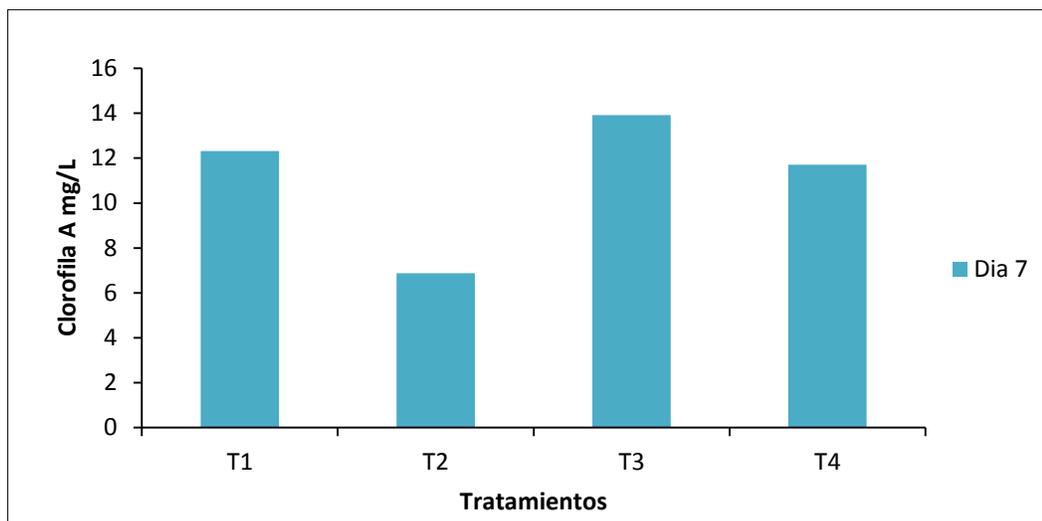


Figura 6. Concentración de clorofila A de *Chlorella* sp., obtenida en cada tratamiento (Fuente el autor).

En la figura 6 se contempla la concentración de clorofila A de *Chlorella* sp., al final de cada tratamiento, notándose una mayor concentración de este pigmento (ver Anexo F), en el tratamiento 3.

6.5 Correlación entre la concentración de consumo de nutrientes y la concentración de productos obtenida.

La tabla 8 muestra que a mayor concentración de nitrógeno y ortofosfato bajo flujos de aire altos se obtiene una buena concentración de clorofila A, por otro lado a menor concentración de estos nutrientes y flujos de aire bajo hay un mayor rendimiento de clorofila A de *Chlorella* sp.

Tabla 8. Correlación entre el consumo de nitrógeno-ortofosfato y la concentración obtenida de biomasa-clorofila A.

Tratamiento	Concentración de consumo (mg/L)		Concentración final (mg/L)	
	Nitrógeno	Ortofosfato	Biomasa	Clorofila A
1	50.5	4.45	419.55	12
2	50.5	3.9	322.38	6.88
3	36	4.05	418.55	13.92
4	66	6.4	338.38	11.71

(Fuente el autor).

7. DISCUSIÓN

En el tratamiento de aguas residuales se ha implementado en gran medida el uso de *Chlorella* sp (Wang *et al.*; 2013), debido a que es una microalga que presenta una alta productividad y fácil adaptación en condiciones de laboratorio (Mora *et al.*, 2005). Los resultados obtenidos en los tratamientos realizados en este estudio muestran que el tratamiento 1 llevado a cabo bajo un flujo de aire de 1.5 L/min y una concentración de inóculo de 10%, presentó una concentración de biomasa de 419.55 mg/L, una reducción de nitrógeno de 50.5 mg/L y de ortofosfato de 4.45 mg/L, finalmente una concentración de clorofila A de 12 mg/L, resultados que evidencian la influencia de bajos flujos de aire en el desarrollo y aumento de la biomasa de *Chlorella* sp., debido a que en bajas tasas de aireación se aumenta el tiempo de retención de gas, que conduce a un aumento de interfaz entre el CO₂ y las células microalgales generando el uso de este gas por las microalgas (Fan *et al.* 2007), así como un mayor aprovechamiento de los nutrientes y de la luz. En cuanto a la remoción de nutrientes obtenida en este tratamiento este proceso se vio influenciado por la concentración inicial de nutrientes y la disponibilidad de los mismos, además de factores físicos tales como la intensidad de luz, la temperatura y el flujo de aire (Abdel *et al.*, 2012), bajo los cuales se desarrolló este tratamiento, favoreciendo el crecimiento de *Chlorella* sp., y por ende una buena absorción de nitrógeno y ortofosfato, lo cual concuerda con Abdel *et al.* (2012) quienes afirman que a mayor crecimiento microalgal, se aumenta la eficiencia en la eliminación de nutrientes por parte de las mismas, finalmente el contenido de clorofila se vio afectado por la densidad celular.

En cuanto al tratamiento 2 realizado bajo un flujo de aire de 2.5 L/min y una concentración de inóculo del 30% presentó una baja concentración de biomasa de 322.38 mg/L, una reducción de nitrógeno de 50.5 mg/L y de ortofosfato 3.9 mg/L, además, de una concentración de clorofila A de 6.88 mg/L. Estos resultados se deben al alto flujo de aire empleado en este ensayo, el cual genera una mayor turbulencia que ocasiona daño celular por el aumento en la velocidad superficial del gas, provocando una disminución en la concentración de biomasa obtenida. Por otro lado en este tratamiento se obtuvo una baja remoción de ortofosfato que se puede atribuir a la acumulación de fósforo intracelular realizado por *Chlorella* sp., resultado que concuerda con lo reportado por Hernández. (2004) quien atribuye la baja remoción de fósforo a una acumulación de este nutriente a nivel intracelular, por otra parte este tratamiento estuvo sometido a condiciones de estrés, como el estrés mecánico generado por el flujo de aire alto, que redujo el contenido de clorofila en la biomasa microalgal según lo informado por Markou y Nerantzis (2013).

Por otro lado el tratamiento 3 realizado bajo un flujo de aire de 1.5 L/min y una concentración de inóculo de 30% presentó una buena concentración de biomasa de 418.55 mg/L, una reducción de 36 mg/L de nitrógeno y de 4.05 mg/L de ortofosfato, una concentración de clorofila A de 13.92 mg/L. Estos resultados se pueden atribuir al nivel de flujo de aire empleado en este tratamiento que influyó positivamente en el desarrollo de *Chlorella* sp., debido a que en bajas tasas de aireación se generan burbujas de mayor tamaño que minimiza el daño por cizallamiento a las células, optimiza la transferencia de masa y produce un mejor crecimiento de *Chlorella* sp. La buena concentración de clorofila A está relacionada con la alta concentración de microalgas obtenida, debido a que mayor concentración de células se obtiene mayor concentración de clorofila, a esto se suma lo afirmado por Halim y Danquah (2013), dónde el contenido de clorofila, va a estar influenciado por la especie de microalga, su ciclo de vida y las condiciones de cultivo así como la composición del medio, la disponibilidad de nutrientes, temperatura, intensidad de iluminación, relación del ciclo luz/oscuridad y la tasa de aireación.

Por último el tratamiento 4 realizado bajo un flujo de aire de 2.5 L/min y una concentración de 30% presentó una baja concentración de biomasa de 338.38 mg/L, una reducción de 66 mg/L de nitrógeno y de 6.4 mg/L de ortofosfato, y finalmente una concentración de clorofila A de 11.71 mg/L, lo cual indica que altos flujos de aire disminuyen el crecimiento de *Chlorella* sp., debido al daño celular provocado por el esfuerzo de corte generado en este flujo de aire. En cuanto a la remoción de nutrientes, para este tratamiento se obtuvo una buena reducción de la concentración inicial de nitrógeno y ortofosfato, debido a la influencia de diferentes factores como el pH, la intensidad de luz y la concentración de nutrientes, los cuales favorecieron el proceso de absorción realizado por *Chlorella* sp., y la consecuente generación de una buena concentración de clorofila A.

Con respecto a los parámetros monitoreados en este estudio como la temperatura, pH y porcentaje de saturación de oxígeno; los tratamientos T1 y T3 presentaron una temperatura promedio de $\approx 24^{\circ}\text{C}$ (± 0.75), mientras que los tratamientos T2 y T4 mostraron valores de 22.92 y 21.63 $^{\circ}\text{C}$ respectivamente, siendo estas últimas las temperaturas más bajas de los cuatro tratamientos. Este factor pudo influenciar la concentración de biomasa microalgal en los tratamientos T2 y T4, debido a que el proceso de división celular y el incremento en el volumen celular de las microalgas dependen de la intensidad de luz y la temperatura a la cual se exponga a la microalga (Amavizca, 2014); donde las mayores densidades celulares de *Chlorella* sp., se obtuvieron en temperaturas de 25-30 $^{\circ}\text{C}$ según estudios realizados por Mora *et al.* (2005) e Infante *et al.* (2012). Cabe resaltar que el proceso de división celular se da en horas de la noche, tiempo en el cual se presenta un descenso de las temperaturas que ralentiza el proceso de división celular y afecta la concentración de biomasa obtenida.

El pH de los tratamientos T1, T2 y T3 se mantuvo constante en 10 a lo largo de los siete días de cultivo, por otro lado los valores de pH obtenidos en el tratamiento T4, fluctuaron entre 9.81 y 10.39, presentándose en el día 2 el valor más bajo; sin embargo los días posteriores el pH se estabilizó sobre 10 hasta culminado el ensayo. Tang *et al.* (2011) afirman que estos valores de pH se deben a que la actividad fotosintética realizada por las microalgas, genera un efecto sobre el equilibrio de especies carbonatadas en el agua, reduciendo la concentración de protones H^+ , causando el incremento del pH; en cultivos de alto rendimiento su efecto es lo suficientemente potente como para superar la capacidad de neutralización de agentes tampón exógenos, por otra parte Ramírez y Fernández. (2015); afirman que la alcalinidad del medio se da por la absorción iónica del medio y la bioquímica metabólica de la célula. Este factor es muy importante puesto que afecta la regulación de la biomasa, la tasa de fotosíntesis, la disponibilidad de fósforo para las microalgas y la competencia con otras especies (Ramírez y Fernández, 2015).

La disponibilidad de oxígeno en el medio de cultivo mostró valores entre 90.5 – 99.0 % en los tratamientos T1, T2 y T3, mientras que el tratamiento T4 mostró valores más bajos entre 82,6 - 89,7%, estas concentraciones de oxígeno en el medio están dadas por el proceso fotosintético realizado por las microalgas, debido a que a partir del CO_2 y luz del ambiente producen en el medio O_2 , que afecta la productividad microalgal si se encuentra en niveles de saturación $> 200\%$ (Hernández y Labbé, 2014), debido a que a una radiación de luz adecuada se forman radicales libres tóxicos para las células (Malgas, 2013). Según lo anterior y con base en los niveles de oxígeno obtenidos en cada tratamiento, este parámetro no influyó en la concentración de biomasa producida en los tratamientos 1-4, debido a que los porcentajes de oxígeno disuelto en el medio están por debajo del nivel de saturación.

Los resultados obtenidos en este trabajo, donde se evaluó la influencia de la aireación y la concentración de inóculo inicial sobre la remoción de nitrógeno y ortofosfato, producción de biomasa y clorofila A, evidenció que un flujo de aire menor (1.5 L/min) influye de forma directa y positiva sobre la productividad de *Chlorella* sp., dado que se obtiene mayores concentraciones de biomasa (T1:419.55 mg/L), así como en gran medida la remoción de nitrógeno y ortofosfato (T1:50.5 mg/L- 4.45 mg/L) en el medio evaluado.

De este estudio se sugiere que el flujo del aire, condicionó independientemente del inóculo, el desarrollo y la productividad de *Chlorella* sp., afectando un parámetro importante como la temperatura “factor no controlado” que promueve u optimiza el crecimiento y productividad, ya que lo obtenido mostró que entre más cerca de la

temperatura óptima (25-30°C) Mora *et al.* (2005) e Infante *et al.* (2012), se ven mejores respuestas que al estar la temperatura por debajo de la óptima; además esta indicó que puede ser un condicionante a la hora de producir biomasa, reducir el nitrógeno, ortofosfato; así como en la producción de clorofila A por *Chlorella* sp.; dado que los cambios en la temperatura también pueden causar alteraciones en muchas de las rutas metabólicas, incluyendo la biosíntesis de los carotenoides, así como cambios en la eficiencia de absorción asociada a una variación en el tamaño celular y alteración en pigmentos fotosintéticos relacionado con la temperatura, el cual tiene una tendencia general de aumentar la clorofila A a temperaturas elevadas hasta los niveles óptimos en cada especie de microalgas (Hu, 2013).

Se debe tener en cuenta que la luz y el control de la temperatura son importantes para el crecimiento de algas Brand *et al.*, (2013), en temperaturas no óptimas, se requiere más carbono y nutrientes para producir una célula, en la misma tasa de crecimiento; así también, las bajas temperaturas inducen la acumulación celular de polioles y aminoácidos o derivados de aminoácidos como solutos compatibles, que podrían contribuir a la sensibilidad o tolerancia de microalgas a la refrigeración (Hu, 2013).

Cabe resaltar que el flujo de aire en este estudio influyó en las variables de respuesta evaluadas debido a que según Contreras *et al.* (2003), afirman que a niveles mayores de turbulencia, el crecimiento microalgal se ve disminuido drásticamente, debido al aumento en la velocidad superficial del gas que causa un posible daño celular producido por el esfuerzo de corte. Se conoce que el exceso en la agitación mecánica es causa de turbulencia, que puede originar daños permanentes en la estructura celular afectando el crecimiento y la producción de metabolitos. Adicionalmente en los sistemas *airlift*, el mayor aporte de energía y por consiguiente la mayor fuente de cizallamiento, son las velocidades creadas por la entrada neumática del gas en la columna de elevación; altas velocidades en el burbujeo y la disminución del tamaño de las burbujas, han demostrado reducir el crecimiento celular (Falinski, 2009).

8 CONCLUSIONES

La producción de biomasa se vio influenciada por altos flujos de aire y bajas temperaturas, que ocasionan estrés sobre el crecimiento de *Chlorella* sp, evidenciado en una menor concentración final de biomasa obtenida.

Una condición que favoreció el crecimiento de *Chlorella* sp., fue el flujo de aire a 1.5 L/min donde se generan burbujas de mayor tamaño que minimizan el daño celular resultando en una mayor concentración de biomasa, sin embargo no se observó influencia de la concentración del inóculo en la concentración final de biomasa obtenida.

Los mejores resultados se observaron en el tratamiento 4, en el cual se obtuvo altas unidades de reducción de nitrógeno y ortofosfato de 66 mg/L y 6.4 mg/L respectivamente, así como buen rendimiento de clorofila A con una concentración de 11.71 mg/L.

El rendimiento de clorofila A por parte *Chlorella* sp., se ve influenciado por la concentración de nutrientes presentes en el medio de cultivo, así como por la concentración de biomasa obtenida debido a que a mayor concentración de nitrógeno y ortofosfato hay mayor crecimiento de *Chlorella* sp., y por ende se obtiene una mayor concentración de clorofila.

9 RECOMENDACIONES

Realizar replicas de cada tratamiento ejecutado en este estudio con el fin de demostrar la reproducibilidad de los tratamientos y proporcionar seguridad en los resultados.

Emplear una misma muestra de agua residual para realizar todos los tratamientos del diseño experimental.

Ajustar a una misma densidad celular el inóculo empleado en cada tratamiento, con el fin de que todos los tratamientos inicien con una misma concentración celular.

Evaluar otras variables como el pH y la temperatura con el fin de evidenciar la variable con mayor influencia en el proceso de remoción de nitrógeno y ortofosfato.

10 GLOSARIO

Aguas residuales: son aguas provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarios, domésticos en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas. Compuestas por contaminantes orgánicos e inorgánicos, tanto en suspensión como disueltos, materia fecal de humanos o de animales y microorganismos patógenos.

Contaminantes: son aquellos compuestos que se presentan en las descargas de aguas residuales y que pueden ser removidos o estabilizados mediante tratamientos convencionales. Un ejemplo de estos son los aceites, materia flotante, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales, demanda bioquímica de oxígeno y fósforo total.

Coproductos: son los productos principales de un proceso, también reciben el nombre de productos primarios, productos principales o productos conjuntos. No necesariamente tienen que ser productos por completo distintos; se puede incluir a los productos similares de calidad diferente que resultan de un mismo proceso.

Cuerpo receptor: son corrientes, depósitos naturales de agua, presas, causes, zonas marinas o bienes nacionales donde se descargan aguas residuales, así como los terrenos en donde se infiltran o inyectan dichas aguas.

Dehiscencia: apertura, por lo general espontánea, de una estructura o parte de un órgano.

Eutrofización: es el aumento de nutrientes en el agua, especialmente de los compuestos de nitrógeno o de fósforo, que provoca un crecimiento acelerado de algas y especies vegetales superiores; ocasionando trastornos no deseados en el equilibrio entre los organismos presentes en el agua y en la calidad del agua a la que afecta. Representando una amenaza grave a largo plazo para la salud y el funcionamiento de los ecosistemas hídricos de todo el mundo.

Ficorremediación: es una biotecnología que emplea macroalgas o microalgas para la remoción o biotransformación de contaminantes presentes en el agua, se basa en la capacidad de dichos organismos fotosintéticos para metabolizar nitrógeno, fósforo, varios ácidos orgánicos y metales pesados. Se considera una

biotecnología ambiental pertinente ya que contribuye al uso sustentable de los recursos naturales con un impacto positivo en el ambiente.

Fósforo: es un nutriente esencial para el crecimiento de los organismos ya que satisface los requerimientos de fósforo de todos los organismos y se necesita en niveles mucho más bajos que el nitrógeno. Las formas en que se puede encontrar en las aguas residuales son ortofosfato, polifosfato y fosfato orgánico. Al igual que el nitrógeno es responsable de la producción de procesos de eutrofización.

Fotobiorreactor: es un sistema desarrollado para la producción de microorganismos fotosintéticos que impiden que el cultivo tenga contacto con el aire atmosférico. Se construyen de materiales transparentes como vidrio y policarbonato con el fin de permitir el paso de la radiación lumínica necesaria para los procesos fotosintéticos que se dan en su interior. Pueden ser diseñados para que su iluminación sea por métodos artificiales, luz solar, o por ambas.

Microalgas: son organismos microscópicos con dos tipos de estructura celular (procariotas y eucariotas), se encuentran en ambientes marinos o de agua dulce, pueden ser fotoautótrofos para lo cual solo requieren de la presencia de luz y CO₂ para multiplicarse, o en el otro extremo, pueden ser heterótrofas, requiriendo de compuestos orgánicos más complejos para su nutrición. Sin embargo, se ha identificado una gama amplia de combinaciones de estas modalidades de supervivencia, ya que existen microalgas fotoheterótrofas (requieren de luz y de la presencia de compuestos orgánicos) y mixótrofas (pueden crecer indistintamente en forma autótrofa o heterótrofa, dependiendo de las condiciones del medio ambiente).

Nitrógeno: es un nutriente esencial para el crecimiento de los organismos, su limitación puede producir cambios en la composición bioquímica de los organismos y reducir sus tasas de crecimiento; en altas concentraciones el nitrógeno es un contribuyente especial para el agotamiento del oxígeno y la eutrofización de las aguas receptoras. El nitrógeno total está compuesto por nitrógeno amoniacal, nitritos, nitratos y nitrógeno orgánico.

Recurso hídrico: sistema geográficamente definido, del cual forman parte las aguas superficiales y subterráneas, junto con todas sus características físicas, químicas y biológicas.

Stripping por aire: proceso de transferencia de masa que aumenta la volatilización de los compuestos presentes en el agua, se produce mediante la inyección de aire a través del agua mejorando así la transferencia de masa entre las fases aire y agua.

Subproductos: producto incidental que resulta del proceso de elaboración, fabricación o extracción de un producto principal. Estos pueden venderse en el mismo estado en el que se produjeron inicialmente o someterse a procesamiento adicional antes de venderlos.

11 BIBLIOGRAFÍA

AALTO UNIVERSITY. Chlorophyll harnessed for use in nanophotonic applications. [En línea]. (2013). Citado 3 de diciembre 2015. Disponible en: http://www.aalto.fi/en/current/current_archive/news/2013-08-30/

ABDEL RAOUF, N.; AI HOMAIDAN, A.A. y IBRAHEEM, I.B.M. Microalgae and wastewater treatment. En: Saudi Journal of Biological Sciences. Vol.; 19. No. 3. (2012); pp. 257–275.

ACURIO MENDEZ, S. P. y ARCINIEGAS, SOLARTE K. N. Evaluación de la remoción de nitritos y nitratos en muestras de agua del río San Pedro Cantón Rumiñahui por microalgas clorofitas. Quito, 2015. Trabajo de titulación (Ingenierías en biotecnología de los recursos naturales). Universidad politécnica salesiana.

AGUDELO C, R. M. El agua, recurso estratégico del siglo XXI. En: Rev. Fac. Nac. Salud Pública. Vol.; 23. No.1. (2005).

AMAVIZCA VALDES, E. A. Evaluación del efecto remoto por bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BCPC) sobre la microalga *Chlorella vulgaris*. La paz, baja california sur, 2014. Tesis de maestría (Maestro en ciencias). Centro de investigaciones biológicas del Noreste, S.C.

ANDRADE R, C. E.; VERA B, A. L., CÁRDENAS L, C. H. y MORALES A, E. D. Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. En: Téc. Ing. Univ. Zulia. Vol.; 32. No. 2. (2009); pp. 126-134.

ASLAN, S. y KAPDAN, L. K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. En: Ecological Engineering. Vol.; 28. No 1. (2006); pp. 64–70.

ATLAS RONALD, M. Handbook of microbiological media. 4 ed. Boca Raton: CRC Press, p. 2010. 2043. ISBN 978-1-4398-0406-3.

AVILA PELTROCHE, J. G. J. Evaluación de la remoción de nitratos y fosfatos a nivel laboratorio por microalgas libres e inmovilizadas para el Tratamiento Terciario de Aguas Residuales Municipales. Lima, Perú, 2015. Tesis profesional (Licenciado en Biología). Universidad Ricardo Palma.

BELTRAN ROCHA, J. C. Desarrollo de un proceso de remoción de nutrientes de efluentes eutróficos por un consorcio de microalgas nativas de nuevo león, México cultivadas en un nuevo fotobiorreactor. 2014. Tesis de maestría (Maestría

en ciencias con orientación en Química Analítica Ambiental). Universidad Autónoma de nuevo León.

BENAVENTE VALDÉS, J. R.; MONTAÑEZ, J. C.; AGUILAR, C. N.; MÉNDEZ ZAVALA, A. y VALDIVIA, B. Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. En: Acta Química Mexicana. Vol.; 4, No. 7. (2012).

BOONCHAI RAWIWAN, Gyu Tae Seo.; RANG PARK, Da y SEONG, Yeol Chung. Microalgae Photobioreactor for Nitrogen and Phosphorus Removal from Wastewater of Sewage Treatment Plant. En: International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics. Vol.; 2. No. 6. (2012).

BRAND, J.; ANDERSEN, R. A. y NOBLES, D. R. (2013). Maintenance of Microalgae in Culture Collections. En: Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, Second Edition. Edited by Amos Richmond and Qiang Hu. John Wiley & Sons, Ltd. Published. (2013); pp. 80-89.

CABRERA CABRERA, M. A. y PULLA TENEMAZA, M. F. línea base para el aprovechamiento de microalgas de sistemas de tratamiento de agua residual. Ecuador. 2014. Tesis profesional (Ingeniero Civil). Universidad de Cuenca.

CAI, T.; PARQUE, S.Y. y LI, Y. La recuperación de nutrientes a partir de corrientes de aguas residuales de microalgas: situación y perspectivas. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. Vol.; 19. (2013); pp. 360–369.

CHACÓN, C.; ANDRADE, C. y CÁRDENAS, C. Uso de chlorella sp., y scenedesmus sp., en la remoción de nitrógeno, fósforo y dco de aguas residuales urbanas de maracaibo, venezuela. En: Boletín del centro de investigaciones biológicas. Vol.; 38. No. 2. (2004).

CERÓN HERNÁNDEZ, V. A.; MADERA PARRA, C. A. y PEÑA VARÓN, M. Uso de lagunas algales de alta tasa para tratamiento de aguas residuales. En: Ingeniería y Desarrollo. Vol.; 33. No.1. (2015).

CHISLOCK, M. F.; DOSTER, E.; ZITOMER, R. A. y WILSON, A. E. Eutrophication: Causes, Consequences, and Controls in Aquatic Ecosystems. En: *Nature Education Knowledge*. Vol.; 4. (2013).

CONTRERAS FLORES, C.; PEÑA CASTRO, J. M.; FLORES COTERA, L. B. y CAÑIZARES VILLANUEVA, R. O. Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. En: Interciencia. Vol.; 28. No 8. (2003); pp. 450-456.

CORTÉS CONDE, F. F.; RUBIO FERNÁNDEZ, D. y GÓMEZ ESPINOSA, E. M. Análisis comparativo de modelos hidrodinámicos y cinéticos para fotobiorreactores airlift. En: Iteckne. Vol.; 10. No. 1. (2013); pp. 57-66.

DE LA PEÑA, M. E.; DUCCI, J. y ZAMORA, V. Tratamiento de aguas residuales en México. Biblioteca Felipe Herrera del Banco Interamericano de Desarrollo. (2013). México.

DURAN POZO, O. Producción de biomasa algal en un fotobiorreactor para la depuración aguas residuales. 2012. Tesis de especialización. Universidad Politecnica Catalunya.

FALINSKI, K.A. Effects of different aeration conditions on isochrysis galbana (t-iso) ccmp 1324 in a bench-scale photobioreactor. 2009. Tesis de maestria (En Ciencias). Cornell University.

FAN, L. H.; ZHANG, Y. T.; CHENG, L. H.; ZHANG, L.; TANG, D. S. y CHEN, H. L. Optimization of carbon dioxide fixation by *Chlorella vulgaris* cultivated in a membrane-photobioreactor. En: Chem Eng Technol. Vol.; 30. No. 8. (2007); pp.1094–1099.

GANI P.; SUNAR, N. M.; PERALTA, H. M.; LATIFF A, A. A.; KALTHSOM PARJO, U. y AB RAZAK, A. R. Phycoremediation of Wastewaters and Potential Hydrocarbon from Microalgae: A Review. En: Adv. Environ. Biol. Vol.; 9. No. 20. (2015); pp. 1- 8.

GARCÍA CUBERO, R. Producción de biomasa de microalgas rica en hidratos de carbono acoplada a la eliminación fotosintética de CO₂. España. 2014. Tesis doctoral. Instituto de bioquímica vegetal y fotosíntesis. Universidad de Sevilla.

GARCIA GOZALBES, C. C.; ARBIB, Z. y PERALES VARGAS MACHUCA, J. A. Cinéticas de crecimiento y consumo de nutrientes de microalgas en aguas residuales urbanas con diferentes niveles de tratamiento. En: Tecnología y Ciencias del Agua. Vol.; 6. No. 1. (2014); pp. 49-68.

GARCIA TRUJILLO, Z. M. Comparación y evaluación de tres plantas acuáticas para determinar la eficiencia de remoción de nutrientes en el tratamiento de aguas residuales domésticas. Lima, Perú. 2012. Tesis profesional (Ingeniero Sanitario). Universidad Nacional de Ingeniería.

HALIM, R Y DANQUAH, M.K, (2013). Bioprocess Development for Chlorophyll Extraction from Microalgae. En: J.W Lee. (Ed.), Advanced Biofuels and Bioproducts (pp.807-832). New York: © Springer Science+Business Media.

HERNÁNDEZ PÉREZ, A. y LABBÉ, J. I. Microalgas, cultivo y beneficios. En: Rev. biol. mar. oceanogr. Vol.; 49. No. 2. (2014); pp. 157-173.

HERNÁNDEZ, REYES, B. M. Remoción de ortofosfato y amonio de agua residual municipal por tres cultivos libres e inmovilizados de microalgas. México, 2010. Tesis de especialización (Biotecnología). Universidad autónoma metropolitana.

HERNÁNDEZ SÁNCHEZ, J.P. Evaluación de un sistema de microalgas y bacterias para la eliminación de nutrientes de las aguas residuales domésticas, 2004. Tesis de maestría (ciencias). Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas Cicimar. Instituto Politécnico Nacional, La Paz B.C.S.

HERNÁNDEZ, SÁNCHEZ, I. Tratamiento de aguas residuales para aporte a central térmica de ciclo combinado. Leganés, 2011. Tesis profesional (ingeniero industrial). Universidad Carlos III de Madrid.

HU, Qiang. (2013). Environmental Effects on Cell Composition. EN: Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, Second Edition. Edited by Amos Richmond and Qiang Hu. John Wiley & Sons, Ltd. Published 2013. 114-122.

INFANTE, C.; ANGULO, E.; ZÁRATE, A.; Z FLÓREZ, J.; BARRIOS, F. y ZAPATA, C. Propagación de la Microalga *chlorella sp.*, en cultivo por lote: cinética del crecimiento celular. En: Avances en Ciencias e Ingeniería. Vol.; 3. No. 2. (2012); pp. 159-164.

JIMÉNEZ CISNEROS, B.; TORREGROSA y ARMENTIA M.L., ABOITES, AGUILAR, L. El agua en México: cauces y encauces. Academia Mexicana de Ciencias. México. (2010).

LAFARGA POYO, T. Aspectos prácticos de la producción de microalgas: objetivos y necesidades. Almería, 2012. Tesis de maestría (Máster en Informática Industrial). Universidad de Almería.

LAHERA RAMÓN, V. Infraestructura sustentable: las plantas de tratamiento de aguas residuales. En: Quivera. Vol.; 12. No. 2. (2010); pp. 58-69.

MALGAS. Aplicaciones de las microalgas: estado de la técnica. [En línea]. (2013). Citado 08 noviembre 2015. Disponible en: <http://www.ast-ingenieria.com/guia-malgas-1>.

MARKOU, G. y NERANTZIS, E. 2013. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. Biotechnol. Adv. 31, 1532e1542.

MARTÍNEZ GARCÍA, L. Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas. Tesis doctoral. (2012). Universidad de León.

MARTÍNEZ ORTA, F. Sedimentabilidad de un lodo nitrificante en dos tipos de reactores y en presencia de materia orgánica. 2013. Tesis de doctorado. Universidad autónoma metropolitana.

MASOJÍDEK, J.; VONSHAK, A.; y TORZILLO G. 2010. Chlorophyll Fluorescence Applications in Microalgal Mass Cultures. En: D.J. Suggett *et al.* (Eds.), Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications, Developments in Applied Phycology 4, New York © Springer Science+Business Media B.V.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A. y CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. Vol.; 14. (2010); pp. 217–232.

MENDEZ, L.; ALBARRACIN, I.; CRAVERO, M. y SALOMON, R. Crecimiento de *Scenedesmus quadricauda* en efluentes cloacales de la ciudad de Trelew, Chubut, Argentina. En: CONICET. (2010); pp. 5-6.

MONTGOMERY, D. C. Diseño y análisis de experimentos. México, D.F. Grupo Editorial Iberoamérica S.A. (1991). pp. 241.

MORA, R.; MORONTA, R.; ORTEGA, J. y MORALES, E. Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella* sp., aislada de la Represa de Tulé, Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela. En: revista Ciencia. Vol.; 12. (2005); pp. 2-9.

MERA, PROAÑO, S.E. Optimización del proceso de centrifugación para separar biomasa proveniente de microalgas. Quito, 2015. Tesis profesional (Ingeniería Química). Universidad central del Ecuador.

METHOD 10071. Nitrogen, Total. Hach Company. Edition 10. Hach DOC316.53.01086. [En línea]. (2014). Citado 22 Septiembre 2015. Disponible en: www.hach.com/asset-get.download.jsa?id.

METHOD 8048. Reactive Phosphorus, (Orthophosphate). Hach Company. Edition 9. Hach DOC316.53.01119. [En línea]. (2014). Citado 22 Septiembre 2015. Disponible en: www.hach.com/asset-get.download.jsa?id.

NOM-001-ECOL-1996, Norma oficial mexicana. Los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario oficial de la federación el 23 de abril del 2003.

OSWALD, W.J. y GOTAAS, H.B., Photosynthesis in sewage treatment. En: Transactions of American Society of Civil Engineers. Vol.; 122. No. 1. (1957); pp. 73- 122.

PARK, J.; CRAGGS, R y SHILTON, A. Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond. En: Water Research. Vol.; 45. (2011); pp. 6637-6649.

PEREZ GARCIA, R. O. Eliminacion de nutrientes para el tratamiento biologico de agua residual usando un sistema inmovilizado microalga-bacteria en crecimiento autotrofico, heterotrofico y mixotrofico. La paz, B.C.S., 2009. Tesis (Maestro en Ciencias). Centro de Investigaciones Biologicas del Noroeste,S.C.

RAWAT, I.; RANJITH KUMAR, R.; MUTANDA, T. y BUX, F. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. En: Applied Energy. Vol.; 88. (2011); pp. 3411–3424.

RIVEROS, OLIVARES, B. Tratamiento de aguas residuales municipales en la ciudad de México. México, 2013. Tesis profesional (Ingeniero Civil). Universidad nacional autónoma de México.

ROA, PARRA, A. L., CAÑIZARES, VILLANUEVA, R. O. Biorremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado. En: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. Vol.; 10. No. 1. (2012); pp. 71-79.

RUIZ MARIN, A.; MENDOZA, G.; ESPINOSA, L. y STEPHENSON, T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. En: Bioresource Technology. Vol.;101. No. 1. (2010); pp. 58–64.

RUIZ, MARTÍNEZ, A. Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. 2011. Tesis de maestría (ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente). Universidad politécnica de valencia.

SÁNCHEZ, ALAVEZ, Y. Acoplamiento de un sistema de micorremediación y ficorremediación para el tratamiento de agua residual municipal. México, D.F., 2015. Tesis de maestría. Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

SANTOS, A. M., GONZÁLEZ, ARECHAVALA, Y., MARTÍN, SASTRE, C. Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. [En línea]. (2014). Citado 04 noviembre 2015. Disponible en: http://www.revista-anales.es/web/n_24/pdf/seccion_13.pdf.

- SILVA, N, F.P., GONÇALVES, A.L., MOREIRA, F.C., SILVA, T.F.C.V., MARTINS, F.G., ALVIM FERRAZ, M.C.M., BOAVENTURA, R.A.R., VILAR, V, J.P. y PIRES, J, C.M. Towards sustainable microalgal biomass production by phycoremediation of a synthetic wastewater: A kinetic study. En: *Algal Research*. Vol.; 11. (2015); pp. 350–358.
- SIVASUBRAMANIAN, V. Chapter 17 Phycoremediation and Business Prospects. En *MNV Prasad Bioremediation and Bioeconomy*. (2016); pp. 421–456.
- TAFUR ALVAREZ, J. E., ESTRADA PALENCIA, LL. Tratamiento de aguas residuales in vitro por medio de la microalga *Chlorella sp.* en el municipio de Barrancabermeja, Colombia. En: *Revista CITECSA*. Vol.; 6. No 10. (2015).
- TANG, D.; HAN, W.; LI, P.; MIAO, X. y ZHONG, J. CO₂ Biofixation and Fatty Acid Composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in Response to Different CO₂ Levels. En: *Bioresource technology*. Vol.; 102. No. 3. (2011).
- TEKILE, A. y KIM, J. Mini-review on river eutrophication and bottom improvement techniques, with special emphasis on the Nakdong River. En: *Journal of Environmental Sciences*. Vol.; 30. No. 1. (2015); pp. 113–12.
- UGWU, C.U.; AOYAGI, H. y UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. En: *Bioresource Technology*. Vol.; 99. (2008); pp. 4021–4028.
- WANG, C.; YU, X.; LV, H. y YANG, J. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater by the green alga *Chlorella sp.* En: *Journal of Environmental Biology*. Vol.; 34. (2013); pp. 421-425.
- XU, L.; WEATHERS, P. J.; XIONG, X. R. y LIU, C. Z. Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities. En: *Eng. Life Sci*. Vol.; 9. No. 3. (2009); pp. 178–1.
- YUAN, X.; KUMAR, A.; SAHU, A. K. y ERGAS, S. J. Impact of ammonia concentration on *Spirulina platensis* growth in an airlift photobioreactor. En: *Bioresource Technology*. Vol.; 102. (2011); pp. 3234–3239.
- ZHU, J.; RONG, J. y ZONG, B. Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel. En: *Chinese Journal of Catalysis*. Vol.; 34. (2013); pp. 80–100.
- ZURITA MARTÍNEZ, F.; CASTELLANOS HERNÁNDEZ, O. A. y RODRÍGUEZ, SAHAGÚN, A. El tratamiento de las aguas residuales municipales en las comunidades rurales de México. En: *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. No.1. (2011); pp. 139-150.

ANEXOS

Anexo A. Medio de cultivo BG-11.

BG 11 Medium
(Medium BG 11 for Cyanobacteria)

Composition per liter:

Agar	10.0g
NaNO ₃	1.5g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075g
K ₂ HPO ₄	0.04g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.036g
Na ₂ CO ₃	0.02g
Citric acid.....	6.0mg
Ferric ammonium citrate.....	6.0mg
EDTA disodium salt.....	1.0mg
Trace metal mix A5	1.0mL

pH 7.1 ± 0.2 at 25°C

Trace Metal Mix A5:
Composition per liter:

H ₃ BO ₃	2.86g
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81g
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.39g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079g
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.049g

Figura 7. Composición del medio de cultivo BG-11 (Atlas, 2010).

Preparación de mezcla de metales traza

En un erlenmeyer con un 1L de agua destilada se adicionan los componentes y se homogenizan.

Preparación de medio

Los componentes se adicionaron y mezclaron en 1L de agua destilada, la solución se llevó a ebullición y posteriormente autoclavo durante 15 min a 15 psi de presión y 121 °C.

Nota: a este medio no se le adicionó agar.

Anexo B. Características del agua residual

Tabla 9. Características fisicoquímicas del agua residual empleada en este estudio (Sánchez, 2015).

Característica	Valor
DQO Total	343.33 ± 8.82 mg /L
DQO Soluble	280 ± 17.64 mg /L
Fósforo Total	9.60 ± 0.83 mg /L
Nitrógeno Total	95.33 ± 4.04 mg/L
Sólidos sedimentables	0.2 mL/L
Sólidos totales	1146.67 ± 38.97 mg/L
Sólidos totales volátiles	264.17 ± 22.17 mg/L
Sólidos suspendidos totales	70.92 ± 3.44 mg/L
Sólidos suspendidos volátiles	5.42 ± 5.42 mg/L
pH	7.5
Conductividad eléctrica	1.658 ± 0.206 ms/cm
Cuenta Bacteriana (24h)	6.3 x 10 ⁵ UFC/ml

Anexo C. Resultados de la observación microscópica del efluente tratado con *Chlorella* sp.

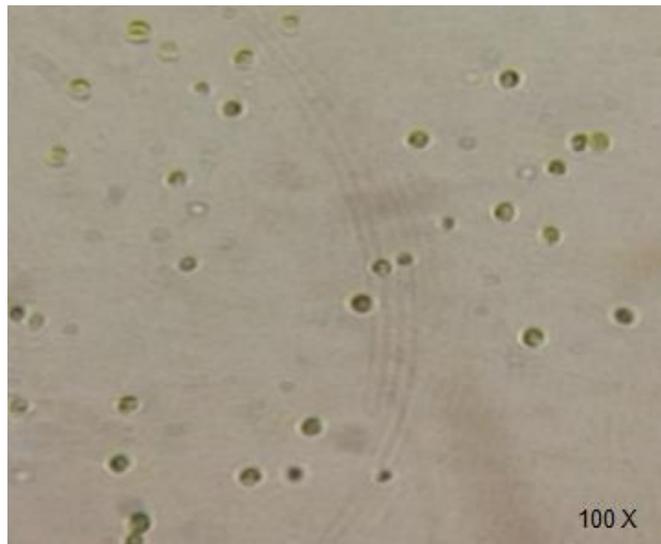


Figura 8. Observación microscópica de *Chlorella* sp., presente en el efluente del fotobiorreactor *airlift* (Fuente el autor).

Anexo D. Resultados del crecimiento de *Chlorella* sp., en el fotobiorreactor airlift.

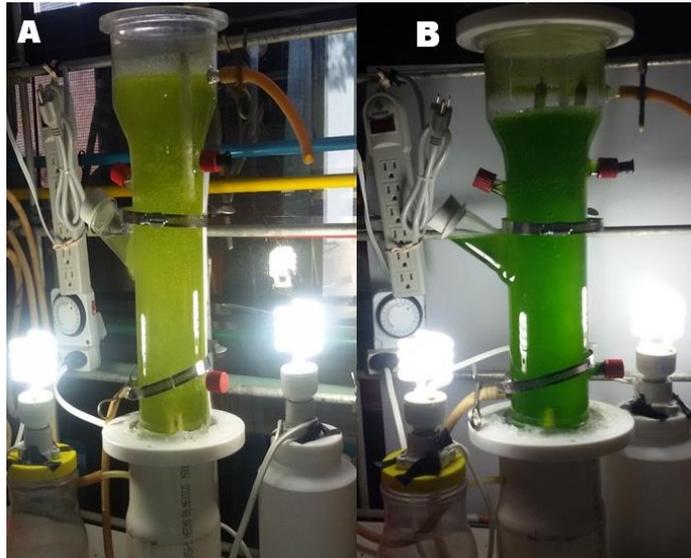


Figura 9. Crecimiento de *Chlorella* sp., en aguas residuales procedentes del ramal 1 del CINVESTAV (A. día 0 de crecimiento, B. día 7 de crecimiento) (Fuente el autor).

Anexo E. Resultados de las determinaciones de peso seco y densidad óptica de *Chlorella* sp.

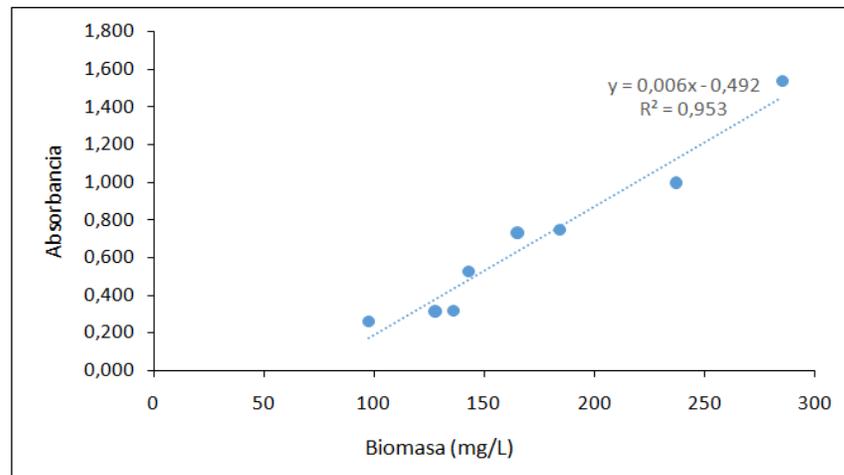


Figura 10. Curva de calibración del crecimiento de *Chlorella* sp., y ecuación de la recta (Fuente el autor).

Anexo E. Resultados de las determinaciones de peso seco y densidad óptica de *Chlorella* sp. (continuación)

Tabla 10. Valores de peso seco y densidad óptica empleados en la elaboración de la curva de calibración.

Peso seco (mg/L)	Densidad óptica
97.436	0.261
127.5	0.314
135.897	0.316
142.857	0.524
164.865	0.732
184	0.749
236.842	0.998
285	1.537

(Fuente el autor).

Tabla 11. Biomasa obtenida en los días 0, 2, 4, 7 de cada tratamiento.

Día	Biomasa mg/L			
	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4
0	134.33	134.55	179.94	204
2	187.11	125.5	211,33	182.88
4	394.11	206.66	375.44	248.5
7	419.55	322.38	418.55	338.38

(Fuente el autor).

Anexo F. Resultados de las determinaciones analíticas de los diferentes tratamientos.

Tabla 12. Valores de nitrógeno total y ortofosfato en mg/L, obtenidos en los días 0, 2, 4 y 7 de cada tratamiento.

Día	Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Tratamiento 4	
	N _T (mg/L)	Ortofosfato (mg/L)						
0	50.5	5.55	52	5.45	37	4.95	105	7.7
2	29.5	3	41	4.2	23.5	2.55	72.5	4.7
4	0.5	0.9	6	2.35	2.5	0.85	51.5	3.2
7	0	1.1	1.5	1.55	1	0.9	39	1.3

(Fuente el autor).

Tabla 13. Concentración de clorofila A obtenida al final de cada tratamiento.

Día	Clorofila A (mg/L)			
	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4
7	12	6.88	13.92	11.71

(Fuente el autor).

Anexo G. Ecuaciones utilizadas para hallar peso seco, concentración de biomasa microalgal, concentración de consumo de nitrógeno y ortofosfato.

1. Peso seco

$$\text{Peso seco (mg/L)} = \left(\frac{P_f - P_i}{v} \right) * \left(\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right) * \left(\frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} \right)$$

P_f: peso final

P_i: peso inicial

V: volumen filtrado

2. Concentración de biomasa microalgal

$$\text{Biomasa (mg/L)} = \left(\frac{D.O. + 0.492}{0.006} \right)$$

D.O.: densidad óptica

3. Concentración de consumo de nitrógeno en (mg/L)

$$(\text{mg/L}) \text{Consumo de nitrógeno} = [N_i] - [N_f]$$

[N_i]: concentración de Nitrógeno inicial

[N_f]: concentración de Nitrógeno final

4. Concentración de consumo de ortofosfato en (mg/L)

$$(mg/L) \text{ Consumo de ortofosfato} = [Pi] - [Pf]$$

[Pi]: concentración de ortofosfato inicial

[Pf]: concentración de ortofosfato final