



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

“Evaluación de la aplicación de micronutrientes durante el tratamiento de aguas residuales avícolas en fotobiorreactores operados con microalgas”

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

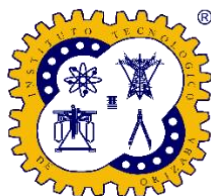
I.Q. Solmaría Mandi Pérez Guzmán

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Alejandro Alvarado Lassman



Orizaba, Veracruz, **10/marzo/2023**
Dependencia: **División de Estudios de**
Posgrado e Investigación
Asunto: **Autorización de Impresión**
OPCIÓN: I

C. SOLMARÍA MANDI PÉREZ GUZMÁN
Candidato(a) a Grado de Maestro(a) en:
CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA
P R E S E N T E.-

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros e Institutos Tecnológicos Federales del Tecnológico Nacional de México, de la Secretaría de Educación Pública, y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

"Evaluación de la aplicación de micronutrientes durante el tratamiento de aguas residuales avícolas en fotobiorreactores operados con microalgas".

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
CIENCIA - TÉCNICA - CULTURA®



Dr. CUAUHTÉMOC SÁNCHEZ RAMÍREZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



OG-13-F06



Av. Oriente 9 Núm.852, Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94370 Orizaba, Veracruz.
Tel: 01 (272)1105360 e-mail: dir_orizaba@tecnm.mx | technm.mx | orizaba.tecnm.mx



Orizaba, Veracruz, **15/febrero/2023**
Asunto: Revisión de trabajo escrito

C. CUAUHTÉMOC SÁNCHEZ RAMÍREZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
P R E S E N T E.-

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C.

SOLMARÍA MANDI PÉREZ GUZMÁN

La cual lleva el título de:

**Evaluación de la aplicación de micronutrientes durante el tratamiento de aguas residuales
avícolas en fotobiorreactores operados con microalgas.**

Y concluyen que se acepta.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
CIENCIA - TÉCNICA - CULTURAS

PRESIDENTE: DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS

SECRETARIO: DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN

VOCAL: MIQ. NORMA ALEJANDRA VALLEJO CANTÚ

VOCAL SUP.: MC. MARÍA ELENA GARCÍA REYES

FIRMA
FIRMA
FIRMA
FIRMA

TA-09-18



Av. Oriente 9 Num.852, Colonia Emiliano Zapata, C.P. 96320 Orizaba, Veracruz
Tel. 01 (222) 105360 e-mail: dir_orizaba@tecnm.mx | tecnm.mx | orizaba.tecnm.mx



Declaración de originalidad y cesión de derechos

Orizaba, Veracruz, el día 22 del mes de marzo del año 2023.

La que suscribe

C. Solmaría Mandi Pérez Guzmán

Declaro que esta tesis, que tiene una extensión de 108 cuartillas, ha sido escrita por mí y constituye el registro escrito del trabajo de la tesis titulada:

“Evaluación de la aplicación de micronutrientes durante el tratamiento de aguas residuales avícolas en fotobiorreactores operados con microalgas”

del programa: Maestría en Ciencias en Ingeniería Química bajo la asesoría y dirección del Dr. Juan Manuel Méndez Contreras y el Dr. Alejandro Alvarado Lassman y no ha sido sometida en ninguna otra institución previamente.

Todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal y, en los casos que así lo requieran, cuento con las debidas autorizaciones de quienes poseen los derechos patrimoniales. Por lo tanto, me hago responsable de cualquier litigio o reclamación relacionada con derechos de propiedad intelectual, exonerando de toda responsabilidad al Tecnológico Nacional de México campus Orizaba.

También declaro que, al presentar esta tesis, cedo los derechos del trabajo al Tecnológico Nacional de México campus Orizaba para su difusión, con fines académicos y de investigación, bajo las regulaciones propias de la institución

y que si existe algún acuerdo de confidencialidad de la información lo haré saber en forma escrita para que se omitan las secciones correspondientes.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y del director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: depi_orizaba@tecnm.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.



Solmaría Mandi Pérez Guzmán

Nombre y firma

DEDICATORIAS

A Dios, por su inmensa bondad y misericordia. Por acompañarme en el camino, incluso en los momentos más difíciles de mi vida. Bendito y alabado sea tu nombre, por siempre, Señor.

A mi papá Armando Pérez, por impulsarme y motivarme siempre a dar lo mejor de mí, por acompañarme en las madrugadas mientras escribía y por tener siempre listo un café caliente para darme fuerzas. Gracias por todo.

Gracias a mi mamá, Micaela Guzmán, a mi hermana Itzel y a Manuel por su apoyo y todo su amor, por darme siempre ánimos para seguir y no rendirme, además de su ejemplo de perseverancia. Por consentirme en cada ocasión posible. Gracias por tanto.

A mi compañero de vida, de aventuras, al amor de mi vida, Eduardo Hernández. Además de ser mi inspiración en el ámbito académico, siempre me motivas a ser la mejor y a superarme todos los días. Gracias por ser mi cómplice y acompañarme durante toda esta aventura, que ojalá y dure toda una vida. Gracias por todo tu amor, apoyo y paciencia incondicionales.

A mi abuela Tere y a mi tía Carmen, que siempre buscan darme ánimos con distintas muestras de amor hacía mi. Dios las bendiga.

A los buenos amigos que hice durante esta etapa, Diana, Itzel González, Itzel Díaz, Roger, Mimí, José Manuel, Merci, que siempre se mostraron dispuestos a brindarme ayuda cuando lo necesitaba y a animarme con sus malos chistes cuando el camino se veía complicado, y gracias a todos esos amigos que se mantienen a lo largo de los años, Joaquín, Aylin, Caro, que siempre estuvieron dispuestos a escucharme y apoyarme en todo sentido. Gracias por todo amigos! Ustedes son los mejores.

Y finalmente, gracias a todos los maestros y personas que en algún momento de mi vida me motivaron e impulsaron a seguir adelante y no desistir en el camino, Dr. Juan Manuel, Dra Ofelia, profesor José Cerón, don Rafael Delgado, don Alejandro Cortés. Gracias por su apoyo, amistad y todas las valiosas lecciones de vida.

Gracias a Dios por todo.

RECONOCIMIENTOS ACADÉMICOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por el otorgamiento de la beca con número de CVU 1103203 para realizar los estudios de maestría.

A todos los doctores que participaron durante el desarrollo de este trabajo, iniciando por el Dr. Juan Manuel Méndez Contreras, por abrirme las puertas de su laboratorio y darme su confianza para realizar la presente investigación, el Dr. Alejandro Alvarado Lassman, codirector, por su apoyo para llevar a cabo algunas etapas de experimentación, la M.I.Q. Norma Alejandra Vallejo Cantú y la M.C.I.Q. María Elena García Reyes por sus correcciones y aportaciones que contribuyeron a mejorar el escrito. A la Dra. Ofelia Landeta Escamilla por su amabilidad, presteza y atención durante todo el proceso de estudios.

A todos los maestros que me impartieron clases en la maestría: el Dr. Juan Manuel Méndez, la Dra. Ofelia Landeta, M.I.Q. Norma Vallejo, Dr. Alejandro Alvarado, Dra. Rosalía Cerecero, M.C.I.Q. María Elena García, Dra. Guadalupe Luna, Dr. Erick Rosas, Dr. Eusebio Bolaños. Gracias por su paciencia, apoyo y enseñanzas.

RESUMEN

EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE MICRONUTRIENTES DURANTE EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES AVÍCOLAS EN FOTOBIORREACTORES OPERADOS CON MICROALGAS

Elaborada por: I. Q. Solmaría Mandi Pérez Guzmán

Dirigida por: Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

En la actualidad, debido a los crecientes problemas ocasionados por la contaminación ambiental, se buscan alternativas de tratamiento a los diversos residuos generados por la industrias, que a su vez sean inocuos al propio ambiente. Uno de esos métodos alternos es el tratamiento de aguas residuales avícolas utilizando distintas cepas de microalgas. En el presente trabajo se utilizaron las especies *Chlorella spp* y *Spirulina maxima* y el objetivo fue mejorar el metabolismo algal utilizando diversas dosis de micronutrientes para la remoción de contaminantes orgánicos. La experimentación se llevó a cabo en dos fases, la de adaptación, para permitir que las microalgas se habituaran a las condiciones agresivas del sustrato contaminado y la de desarrollo, en la que se añadieron los micronutrientes, ambas etapas se llevaron a cabo en un tiempo de 21 días cada una.

Los micronutrientes empleados fueron CuSO_4 , ZnCl_2 , MnCl_2 y NaMoO_4 , preparados en tres dosis distintas, las cuales fungieron como único factor en el diseño experimental. Las variables de respuesta evaluadas fueron DQOs, pH, ST, STV, densidad celular y biomasa. Los resultados mostraron una disminución de más del 90% en la DQO en ambas especies y las tres dosis, además, se encontró que todas las dosis propiciaron el aumento de la densidad celular y por ende, la generación de biomasa. También se evaluaron turbidez y color en las muestras, donde se obtuvo una disminución arriba del 90% en todos los reactores, así como el aumento en la luminosidad. Todo lo anterior es indicativo de que las microalgas adicionadas con micronutrientes mejoran su desempeño en la remoción de contaminantes orgánicos.

ABSTRACT

EVALUATION OF MICRONUTRIENTS APPLICATION DURING POULTRY WASTEWATER TREATMENT IN PHOTOBIOREACTORS OPERATED WITH MICROALGAE

Elaborated by: Chem. Eng. Solmaría Mandi Pérez Guzmán

Advisor: PhD. Juan Manuel Méndez Contreras

At present, due to the growing problems caused by environmental pollution, treatment alternatives are sought for the various wastes generated by the industries, which in turn are harmless to the environment itself. One such alternative method is the treatment of poultry wastewater using different strains of microalgae. The present work used the species *Chlorella spp* and *Spirulina maxima*. The objective was to improve algal metabolism using various doses of micronutrients to remove organic contaminants. The experimentation was carried out in two phases, the adaptation phase, to allow the microalgae to get used to the aggressive conditions of the contaminated substrate, and the development phase, in which the micronutrients were added, both phases were carried out over a period of 21 days each one.

The micronutrients used were CuSO₄, ZnCl₂, MnCl₂, and NaMoO₄, prepared in three different doses, which served as the only factor in the experimental design. The response variables evaluated were CODs, pH, ST, STV, cell density, and biomass. The results showed a decrease of more than 90% in the COD in both species and the three doses, in addition, it was found that all the doses favored the increase in cell density and therefore, the generation of biomass. Turbidity and color were also evaluated in the samples, where a decrease of over 90% was obtained in all the reactors, as well as an increase in luminosity. All of the above indicates that microalgae added with micronutrients improve their performance in removing organic contaminants.

ÍNDICE

OBJETIVOS	3
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS	5
1.1 Las algas	5
1.2 Microalgas	6
1.2.1 Chlorella vulgaris	7
1.2.2 Chlorella sp.	8
1.2.3 Spirulina maxima	8
1.3 Metabolismo de las microalgas	9
1.3.1 Metabolismo del carbono	10
1.3.2 Metabolismo del nitrógeno	10
1.4 Sistemas de cultivo para la producción de microalgas	10
1.4.1 Técnicas de cultivo	10
1.4.2 Sistemas de cultivo	12
1.4.3 Métodos de cultivo	13
1.5 Parámetros que influyen en el desarrollo de las microalgas	14
1.5.1 Intensidad lumínica	14
1.5.2 Temperatura	14
1.5.3 Aireación	15
1.6 Micronutrientes	15
1.7 Fotobiorreactores	16
1.8 Modelo de Gompertz-Makeham	17
1.8 Ventajas del uso de las tecnologías de biorremediación con microalgas	18

1.8.1 Biorremediación	18
1.9 Eficiencia de remoción de contaminantes utilizando microalgas	19
1.9.1 Efluentes avícolas	21
1.9.2 Aguas residuales avícolas	22
1.9.3 Contaminantes emergentes	23
1.9.4 Gases de efecto invernadero (GEI)	26
1.9.5 Estrategias de disminución de GEI	27
1.10 Antecedentes	29
1.11 Avances	32
CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS	34
2.1 Recolección de la muestra	34
2.2 Caracterización del agua residual avícola.	35
2.2.1 Determinación de pH	35
2.2.2 Determinación de temperatura	36
2.2.3 Determinación de turbidez	36
2.2.4 Determinación de Demanda Química de Oxígeno	36
2.2.5 Determinación de fósforo total	37
2.2.6 Determinación de sólidos totales y sólidos totales volátiles	37
2.2.7 Determinación de nitrógeno total	38
2.2.8 Determinación de proteínas	38
2.2.9 Cuantificación de huevos de helminto	39
2.2.10 Cuantificación de coliformes fecales	39
2.3 Determinación de las condiciones óptimas de desarrollo y propagación de	

Chlorella spp y Spirulina maxima.	39
2.3.3 Condiciones generales de propagación	41
2.4 Adaptación de los fotobiorreactores a escala laboratorio para el tratamiento del efluente avícola	41
2.5 Determinación del efecto de los micronutrientes en el comportamiento de las microalgas para la remoción de compuestos orgánicos en las aguas residuales.	42
2.6 Cinéticas de crecimiento	43
2.7 Diseño experimental	43
CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
3.1 Recolección de la muestra	45
3.2 Caracterización fisicoquímica del efluente	46
3.3 Determinación de las condiciones adecuadas de propagación y desarrollo de las microalgas	48
3.3.1 Temperatura	48
3.3.2 Iluminación	48
3.3.3 Aireación	49
3.4 Determinación del efecto de los micronutrientes en el comportamiento de las microalgas para la remoción de compuestos orgánicos en las aguas residuales.	50
3.4.1 Chlorella spp.	50
3.4.2 Spirulina maxima	54
3.5 Parámetros cinéticos	58

3.6 Análisis de color	61
3.7 Turbidez	63
3.8 Análisis estadístico	66
ANEXO A	74
ANEXO B	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

LISTA DE TABLAS

1.1	Métodos de cultivo de microalgas	11
1.2	Estrategias de cultivo de microalgas	13
1.3	Cepas de microalgas y porcentajes de remoción de contaminantes	20
1.4	Tipos de residuos generados en el procesamiento avícola	21
1.5	Características fisicoquímicas del agua residual avícola	23
1.6	Ejemplos de contaminantes emergentes	24
1.7	Porcentajes de remoción de contaminantes emergentes por microalgas	25
1.8	Tasas de tolerancia y asimilación de CO ₂ por diversas cepas de microalgas	29
2.1	Análisis fisicoquímicos a evaluar en el agua residual	35
2.2	Dosis a evaluar de micronutrientes	42
2.3	Diseño experimental	43
3.1	Resultados de la caracterización fisicoquímica y microbiológica al agua residual	46
3.2	Parámetros cinéticos de <i>Chlorella spp.</i>	59
3.3	Parámetros cinéticos para <i>Spirulina maxima</i>	60
3.4	Resultados análisis estadístico en <i>Chlorella spp.</i>	66
3.5	Resultados análisis estadístico en <i>Spirulina maxima</i>	67

LISTA DE FIGURAS

1.1	Clasificación de las diversas especies de microalgas	5
1.2	Distintas especies de microalgas	6
1.3	<i>Chlorella vulgaris</i>	7
1.4	<i>Chlorella spp</i>	8
1.5	<i>Spirulina maxima</i>	9
1.6	Ejemplos de cultivos de microalgas en sistemas abiertos y cerrados	12
1.7	Fotobiorreactores	16
1.8	Efecto invernadero	27
1.9	Estrategias para la disminución de emisiones de CO ₂	28
2.1	Diagrama de flujo de la metodología del trabajo experimental	34
2.2	<i>Chlorella spp.</i>	40
2.3	<i>Spirulina maxima</i>	41
3.1	Agua residual avícola cruda	45
3.2	pH en cultivos de <i>Chlorella spp.</i>	50
3.3	Densidad celular en <i>Chlorella spp.</i>	51
3.4	Sólidos totales en <i>Chlorella spp.</i>	51
3.5	Sólidos totales volátiles en <i>Chlorella spp.</i>	52
3.6	DQO soluble en <i>Chlorella spp.</i>	53
3.7	Biomasa en <i>Chlorella spp.</i>	54
3.8	pH en cultivos de <i>Spirulina maxima</i>	55
3.9	Densidad celular en <i>Spirulina maxima</i>	55
3.10	Sólidos totales en <i>Spirulina maxima</i>	56
3.11	Sólidos totales volátiles en <i>Spirulina maxima</i>	56
3.12	DQO soluble en <i>Spirulina maxima</i>	57
3.13	Biomasa en <i>Spirulina maxima</i>	58
3.14	Gráficas ajustadas al modelo de Gompertz para el crecimiento de <i>Chlorella spp.</i>	59

3.15	Gráficas ajustadas al modelo de Gompertz para el crecimiento de <i>Spirulina maxima</i>	60
3.16	Resultados de luminosidad en ambas microalgas	61
3.17	Resultados de la coordenada “a” en ambas microalgas	62
3.18	Resultados de la coordenada “b” en ambas microalgas	63
3.19	Resultados de turbidez en ambas microalgas	63
3.20	Agua residual proveniente de la industria avícola	64
3.21	Algas cultivadas en agua residual avícola	65
3.22	Agua residual posterior al tratamiento con microalgas	65

NOMENCLATURA

Nomenclatura	Descripción
DQO	Demanda Química de Oxígeno
% m/m	Porcentaje masa masa
STV	Sólidos totales
ST	Sólidos totales volátiles
NMP	Número más probable
NTU	Nephelometric Turbidity Units
FBC	Feed Batch Cultivation
APBR	Air-Lift Photobioreactor
BCPBR	Bubble-Column Photobiorreactor
VTPBR	Vertical Tubular Photobioreactor
ATP	Adenosin Tri Fosfato

INTRODUCCIÓN

La desmedida generación de efluentes industriales contribuye al creciente problema de contaminación en el mundo. Aunado a esta situación, el incremento en la contaminación se debe a la permisividad de la normativa mexicana respecto a la descarga y procesamiento de aguas residuales de las industrias, además del desinterés de las empresas por cumplir la legislación ambiental. Se estima que una granja con capacidad de 13,000 aves por día produce alrededor de 140 toneladas de aguas residuales (Abdul-Aziz *et al.*, 2018). Estos efluentes tienden a ser vertidos en los mantos acuíferos circundantes sin un tratamiento previo, ya que esto último conlleva más gastos y, por ende, pérdidas económicas a las empresas. Por esas razones es importante buscar alternativas de uso y tratamiento a dichos residuos.

La composición química del agua residual avícola incluye, entre otras, sangre, mezclas complejas de grasas, proteínas, fibras y un alto DQO (Demanda Química de Oxígeno), DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno) y sólidos suspendidos totales (Azrina-Yaakob *et al.*, 2018). Lo anterior hace de dicho residuo un efluente altamente contaminante. Para reducir el impacto negativo que este fluido genera en el ambiente, se deben implementar tratamientos previos a su disposición final que sean fácilmente aplicables y económicos, por lo que la adaptación de un ecosistema a base de microalgas en los depósitos de efluentes son una opción viable y de bajo costo para el productor.

Por lo anteriormente descrito, es de importancia evaluar como se comportan las microalgas una vez que se les adicionan diversos micronutrientes, para saber si aumenta su eficiencia en cuanto a la eliminación de los componentes orgánicos contenidos en las aguas residuales de la industria avícola. Utilizando estos organismos eucariotas como un tratamiento alternativo a las aguas residuales puede contribuir a producir biomasa con un valor nutritivo más elevado, la cual puede ser utilizada posteriormente como suplemento en las mezclas alimenticias. Además, el descubrimiento de nuevos parámetros en el manejo y desarrollo de las microalgas es

de utilidad para ampliar el estado de arte y la información disponible respecto a usos alternativos de las microalgas.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la influencia de la adición de micronutrientes en la optimización del proceso de tratamiento de aguas residuales de origen avícola por medio de microalgas cultivadas en fotobiorreactores tipo airlift de alta eficiencia.

Objetivos Específicos

1. Caracterizar fisicoquímica y microbiológicamente el agua residual proveniente de una planta procesadora de aves.
2. Determinar las condiciones estables de desarrollo y propagación de las especies *Chlorella sp.* Y *Spirulina máxima*.
3. Adaptar la operación de micro fotobiorreactores operados con ambas microalgas para el tratamiento de agua residual de origen avícola.
4. Determinar el efecto de la dosis de micronutrientes en la eficiencia de remoción de compuestos orgánicos en fotobiorreactores operados con microalgas.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Las algas

Son seres vivos cuya clasificación taxonómica corresponde a la del reino protista, debido a que son organismos eucariotas unicelulares fotoautótrofos (Reimann *et al.*, 2020). Su clasificación filogenética indica que se dividen en procariotas y eucariotas, las cuales a su vez se subdividen en verde azuladas, diatomeas, verdes y cianófilas, de las que se desprenden distintas especies, como se observa en la Figura 1.1 (Yim *et al.*, 2021). Para fines prácticos, las macroalgas se clasifican en tres grupos: *Phaeophyta* (pardas), *Rhodophyta* (rojas) y *Chlorophyta* (verdes), y se encuentran tanto en océanos como en depósitos de agua dulce (Pérez-Madruga *et al.*, 2020).

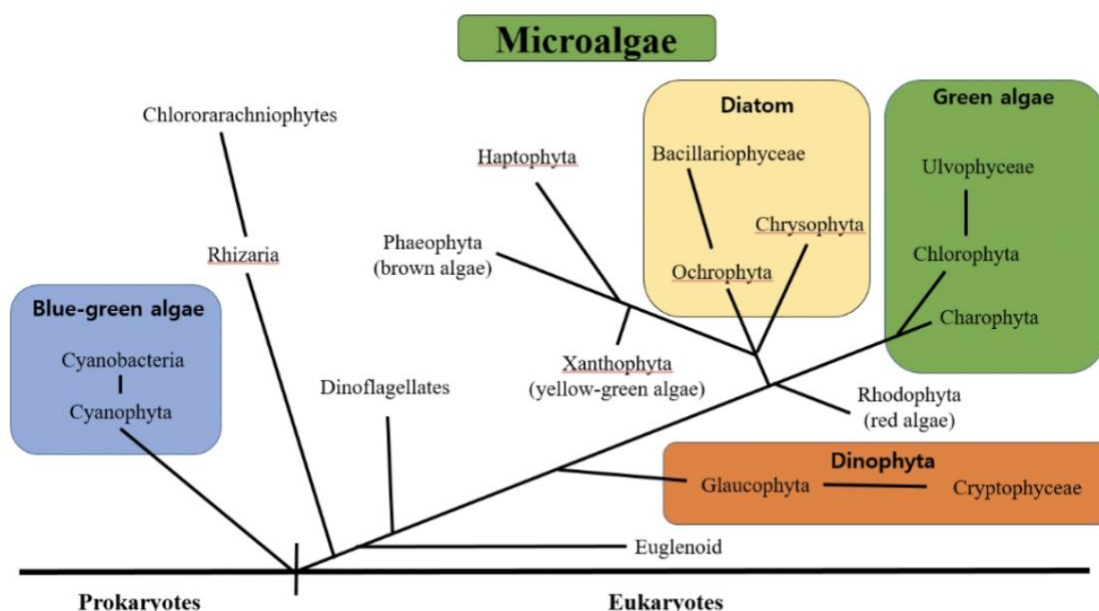


Figura 1.1 Clasificación de las diversas especies de microalgas

Si no se controlan de forma adecuada, las algas pueden consumir el oxígeno disponible en el agua del medio en el que se encuentran, ocasionando la muerte de la flora y fauna del ecosistema por hipoxia (Tiwari *et al.*, 2017).

1.2 Microalgas

El empleo de técnicas que tienen como base el uso de microalgas para la limpieza de efluentes ha ganado popularidad debido a su factibilidad económica y técnica, ya que, además de limpiar las aguas residuales, posteriormente estos microorganismos pueden usarse como material biológico con múltiples aplicaciones en el ámbito industrial (Jiménez-Veuthey *et al.*, 2020).

Las microalgas son organismos unicelulares, fotosintéticos y de tamaño micrométrico, como se observa en Figura 1.2. Además, tienen la capacidad de desarrollarse en diversos ambientes, usualmente en suspensión en sustratos acuosos. Tienen la capacidad de utilizar residuos del medio (como el CO₂, macro y micronutrientes de efluentes residuales) para su desarrollo (Tebbani *et al.*, 2020).

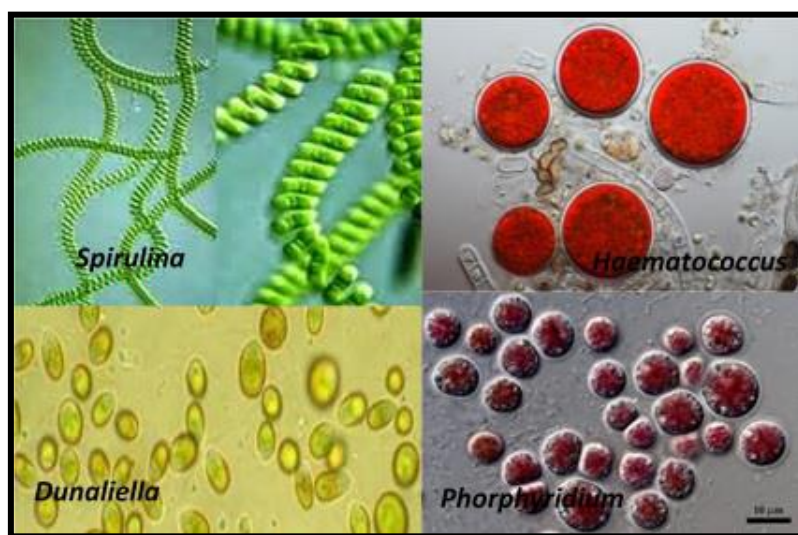


Figura 1.2 Distintas especies de microalgas

Las aplicaciones de las microalgas son diversas, tales como fuente de producción de biodiesel, biorremediación de aguas residuales y la disminución de gases tóxicos, además, la biomasa generada a partir de microalgas es de utilidad en la industria farmacéutica, medioambiental, alimenticia y en el sector de energías renovables (Sandoval-Herrera y Rubio-Fernández, 2016). La elección de la especie de microalga a utilizar depende del objetivo a alcanzar. Para el tratamiento de efluentes residuales

se utilizan las especies *Chlorella sp.*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum sp.* Y *Scenedesmus sp.* (Ummalya et al., 2019).

1.2.1 *Chlorella vulgaris*

Es una microalga de color verde brillante, de tamaño que oscila entre los 2 a 10 μm , de forma esférica, subesférica o elipsoidal y no cuenta con flagelos (Figura 1.3). Se compone de proteínas y aminoácidos, lípidos, carbohidratos, pigmentos, vitaminas y minerales. Su reproducción es asexual mediante división celular. Es la microalga más utilizada en el ámbito de investigación, en la acuicultura, producción de biocombustibles, como suplemento alimenticio humano y forrajero y en la agricultura, por su capacidad de captación de carbono y nitrógeno (Kai-Ru et al., 2020).

Ésta especie de alga es idónea para llevar a cabo el proceso de fitorremediación de aguas, gracias a que su pared celular tiene los grupos funcionales hidroxilo, carbonilo y nitrilo, los cuales permiten absorber los contaminantes y así reducir la cantidad presente, mejorando de ésta forma la calidad del agua (Narayanan et al., 2021).

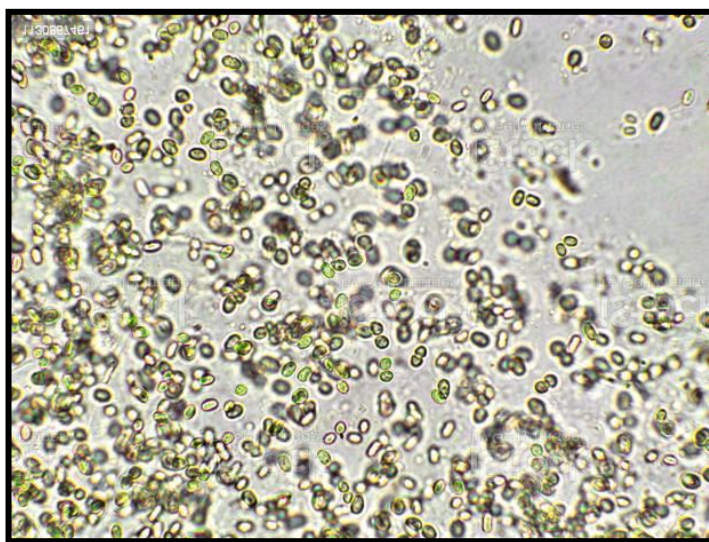


Figura 1.3 *Chlorella vulgaris*

1.2.2 *Chlorella sp.*

De forma general, este microorganismo contiene entre el 40 al 70 % de proteínas, de un 12 a 30 % de carbohidratos, una cantidad considerable de lípidos, entre el 4 al 20 %, de 8 a 14 % de carotenoides y cantidades variables de vitaminas y minerales (García-Vaquero, 2021). Las cantidades de éstos componentes pueden variar dependiendo las condiciones de cultivo en las que se desarrolle la microalga, como la temperatura, iluminación, calidad del sustrato y cantidad de CO₂ suministrado, entre otras. Este microorganismo requiere los micronutrientes Fe, Cu, Zn, Mn, B y Mo y los macronutrientes K, Mg, S, P y Cl para su adecuado crecimiento (Vacca-Jimeno *et al.*, 2017). La Figura 1.4 muestra la estructura morfológica de esta microalga.

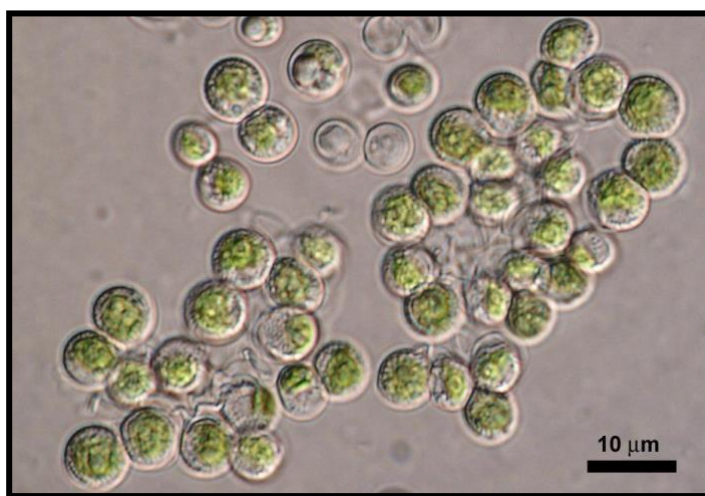


Figura 1.4 *Chlorella sp*

1.2.3 *Spirulina maxima*

El alga *Spirulina* es una cianobacteria acuática con capacidad fotosintética. Se conoce como cianobacterias a todas aquéllas algas que se caracterizan por tener un color verde azulado (Li y Liu, 2018), como se observa en la Figura 1.5. Aunque existen cerca de 60 especies, dos son de interés comercial, la *Spirulina platensis* y *Spirulina maxima*. También conocida como *Arthrospira maxima*, ésta clase puede encontrarse en

América central. Es rica en clorofila, ficocianina y beta carotenos, haciendo de la *Spirulina maxima* un súper alimento con alto valor nutricional (Ciju, 2017).

La *Spirulina maxima* se compone de la siguiente cantidad de minerales: 7.19 % de N, 1.29 % de P, 2.58 % de K, 0.91 % de Ca, 0.35 % de Mg, 93.60 mg/kg de Fe, 1.10 mg/kg de Cu, 24.60 mg/kg de Mn y 3.5 mg/kg de Zn, además de contar con vitaminas, esteroides y ácidos grasos poliinsaturados (Fleurence, 2021).

Esta especie de microalga constituye el 30 % de la producción de biomasa algal a nivel mundial, lo cual se debe a la facilidad que este microorganismo tiene para adaptarse y crecer en distintos medios, tales como aguas residuales, residuos y subproductos industriales. El uso de esta microalga, en conjunto con otros tratamientos de aguas, puede ayudar a solucionar la contaminación ambiental, generando, a la vez, un producto con valor agregado, lo que ofrece un beneficio ambiental, económico y social (Lim *et al.*, 2021).

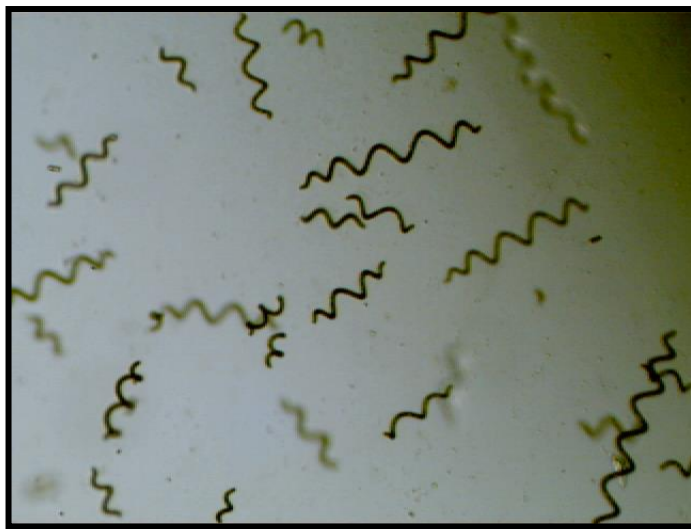


Figura 1.5 *Spirulina maxima*

1.3 Metabolismo de las microalgas

Mediante una serie de reacciones químicas, el metabolismo microalgal se encarga de asimilar los micronutrientes provenientes de las aguas residuales para promover el desarrollo de la biomasa. Se puede ver afectado por factores tales como la intensidad

de luz, el pH e incluso la temperatura del medio. A continuación, se describen tres de las rutas metabólicas más relevantes para el desarrollo de las microalgas.

1.3.1 Metabolismo del carbono

Se captura el CO₂ en el centro de reacción de las microalgas por la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa oxigenasa, también conocida como rubisco, que funciona como catalizadora en la etapa de asimilación y fijación, que produce glucosa-6-fosfato, posteriormente se lleva a cabo la fotorrespiración, que también es catalizada por el rubisco, para finalmente dar como resultado oligosacáridos y glucosa que son utilizados como energía por la misma microalga (Sun *et al.*, 2018).

1.3.2 Metabolismo del nitrógeno

El amonio, que se encuentra disponible en el medio, forma aminoácidos, los cuales requieren una estructura a base de carbonos con los cuales posteriormente se convierten en cetoácidos, liberando moléculas de ATP, necesaria para realizar la síntesis de más aminoácidos. La glutamina sintetasa se encarga de catalizar esta ruta metabólica, ya que puede incorporar fácilmente el amoníaco a las células de las algas por su gran afinidad con dicho compuesto (Enamala *et al.*, 2018).

1.4 Sistemas de cultivo para la producción de microalgas

La propagación de microalgas no se limita únicamente a fotobiorreactores escala laboratorio o piloto. Los sistemas y métodos de cultivo dependen principalmente de la aplicación que se dará a las algas, posteriormente se podrá elegir el funcionamiento y configuración para el biorreactor adecuado.

1.4.1 Técnicas de cultivo

Debido a los amplios usos que tienen las diversas especies de microalgas, se hace necesario el aumentar su producción. Por ello, se están desarrollando técnicas de cultivo que optimicen este proceso. Por ejemplo, investigaciones han demostrado que

se puede lograr hasta un 100% de remoción de contaminantes utilizando cultivos de varias especies sobre aguas residuales, así como la limpieza y depuración de estos efluentes usando microalgas cultivadas en medios fijos como alginato, quitosán o biofilms (Ruíz-Martínez, 2011).

Estas técnicas son novedosas y, por lo tanto, los avances en este rubro son pocos. En la Tabla 1.1 se desglosan dos de los métodos que pueden ser aplicados en el cultivo de microalgas.

Tabla 1.1 Métodos de cultivo de microalgas

Técnica	Descripción	Referencias
Co-cultivo	Más de una especie de microorganismo crece en el mismo medio, por lo que se debe tomar en cuenta que las especies a cultivar deben tener los mismos requerimientos de nutricionales. El desarrollo de microalgas con bacterias o levaduras genera una biomasa con grandes contenidos de exopolisacáridos, los cuales son necesarios para el desarrollo de los microorganismos en condiciones hostiles. La biomasa generada en co-cultivo cuenta con alta capacidad de biorremediación.	(Quijano <i>et al.</i> , 2017) (Magdouli <i>et al.</i> , 2016)
Inmovilización de microalgas	Este procedimiento puede asegurar que las sustancias metabólicas de las microalgas se difundan a través de una matriz de gel de polímero, durante la etapa de cosecha de biomasa. Esta técnica no es muy recomendable debido a que los costos del polímero y de la inmovilización son altos, aunque las microalgas inmovilizadas tienen mayor capacidad de recuperación de metales pesados y en la biorremediación de aguas residuales, a comparación de las microalgas en cultivos de medio libre.	(Razmig <i>et al.</i> , 2017) (Caldwell <i>et al.</i> , 2021)

1.4.2 Sistemas de cultivo

Las microalgas pueden ser sembradas en dos tipos de sistemas, los abiertos son los más utilizados para cultivar grandes cantidades de microalgas, ya que son fáciles de construir, de operar y no requieren mucha energía para su funcionamiento. El inconveniente es que son afectados por las condiciones climáticas, el calor influye en la evaporación del sustrato, lo que conlleva a la pérdida de nutrientes, además de que los contaminantes suspendidos en el ambiente también afectan el cultivo. Esto desemboca en una baja productividad de biomasa (Chen *et al.*, 2017). Ejemplos de sistemas abiertos de cultivo son lagos y tanques abiertos.

Por otro lado, también se puede llevar a cabo la propagación de microalgas en sistemas cerrados, que son mejor conocidos como fotobiorreactores. Estos sistemas se caracterizan por tener mayor control en sus condiciones de operación, no existe intercambio de materia entre el cultivo y el exterior, por lo que su productividad de biomasa es mayor. Sin embargo, dado que es necesario adicionar oxígeno y una cantidad específica de luz, la implementación de sistemas cerrados involucra mayores costos de operación (Pacheco *et al.*, 2020). En la Figura 1.6 se ejemplifican los cultivos de microalgas en sistemas abiertos y cerrados.

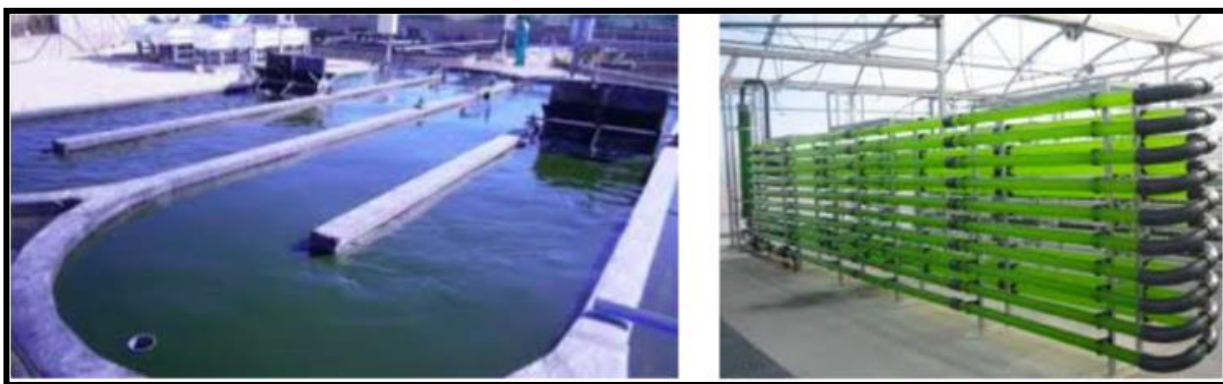


Figura 1.6 Ejemplos de cultivos de microalgas en sistemas abiertos y cerrados

La elección del sistema de cultivo dependerá del producto que se desea obtener de la biomasa microalgal, la disponibilidad del suelo y agua en el sitio donde se deseé

instalar el fotobiorreactor, así como la escala de producción de microalgas (Sánchez *et al.*, 2020).

1.4.3 Métodos de cultivo

A fin de estimular una mayor generación de biomasa algal, se debe adoptar una estrategia de cultivo que cubra los requerimientos existentes en el proyecto. En la Tabla 1.2 se describen tres sistemas de cultivo, batch o por lotes, semicontinuo y continuo.

Tabla 1.2 Estrategias de cultivo de microalgas

Estrategia	Descripción	Referencias
Batch	Se lleva a cabo en un sistema cerrado y no requiere demasiado control, por lo que es simple y de bajo costo operativo. No requiere que se renueve el medio de cultivo, pero la falta de aireación, los cambios en el pH o la contaminación pueden afectar e incluso colapsar el cultivo.	(Cánovas <i>et al.</i> , 2020)
Semicontinuo	El funcionamiento es similar al sistema de cultivo por lotes, pero en este caso el sustrato debe renovarse frecuentemente, y al mismo tiempo el efluente se remueve. Esta estrategia no es adecuada para las microalgas, ya que no se les puede proveer de suficiente luz, lo cual influye negativamente en el crecimiento algal.	(Zori <i>et al.</i> , 2017)
Continuo	El medio de cultivo debe ser reemplazado de manera constante, lo que ayuda a obtener mayor cantidad de biomasa. Este método es fácil de escalar a nivel industrial, además de ofrecer facilidad de operación en el cultivo. Los parámetros que deben tomarse en cuenta en la estrategia de cultivo continua son la dilución del medio de cultivo y la concentración de nitrógeno, dado que influyen significativamente en el crecimiento de las microalgas.	(Yuan <i>et al.</i> , 2020)

1.5 Parámetros que influyen en el desarrollo de las microalgas

Como cualquier otro organismo vivo, las microalgas también requieren ciertas condiciones estables para su crecimiento, tales como intensidad de radiación lumínica, temperatura, cantidad de oxígeno o CO₂ suministrado, pH y componentes químicos de los medios de cultivos. Cuando hay variaciones en tales condiciones esto puede conllevar a las microalgas a un estado de estrés, lo cual puede afectar la viabilidad de los cultivos de microalgas (Bermejo *et al.*, 2021). A continuación, se describen los factores de mayor impacto.

1.5.1 Intensidad lumínica

La luz es un factor de gran importancia en el crecimiento algal dado que influye directamente en el proceso de fotosíntesis. Se han reportado cambios en la biomasa y la estructura celular de las microalgas, ya que alcanzan un estado de estrés cuando estos microorganismos son expuestos a diversos espectros lumínicos e intensidades. Cuando se aumenta la intensidad de luz suministrada, la cantidad total de lípidos en la microalga disminuye, dado que a mayor radiación lumínica se forman especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales modifican la composición bioquímica de los cloroplastos, disminuyendo la síntesis de lípidos, que conforman mayoritariamente dichos cloroplastos (Bermejo *et al.*, 2021). Por ello no se recomiendan altas intensidades, a fin de no dañar las células algales.

1.5.2 Temperatura

Este factor influye de forma significativa en la actividad enzimática de las microalgas, lo que puede conllevar a cambiar su composición bioquímica, reduciendo su capacidad de crecimiento lo que termina con la muerte de tales microorganismos. Numerosas especies de microalgas, como la *Chlorella*, se catalogan como organismos mesofílicos, cuya temperatura óptima de desarrollo oscila entre los 20 a 30 °C (Legrand *et al.*, 2021). Exponer el cultivo a temperaturas mayores puede causar daños irreversibles a la pared celular, conduciéndolas a su posterior destrucción.

1.5.3 Aireación

El CO₂ necesario para la fotosíntesis puede ser suministrado mediante aireación. El aire puro contiene únicamente 0.03% de CO₂ (Mohsenpour y Willoughby, 2016), el cual se disuelve primero en el medio antes de ser metabolizado por la microalga (Zhuang *et al.*, 2018). Además de proveer CO₂, la aireación también se aplica para mezclar constantemente el medio dentro del fotobiorreactor, evitando así que las microalgas se adhieran a las paredes, se conglomeren o se precipiten, lo cual podría colapsar las células provocando su muerte (Pérez-García *et al.*, 2020).

1.6 Micronutrientes

El cultivo de microalgas requiere control en ciertos parámetros, como la temperatura del medio, la exposición a la luz y el pH. Además, para su desarrollo, las microalgas necesitan nutrientes simples como N, P y K, así como los micronutrientes B, Cu, Mn, Se, Mo, Co y V, y que son importantes para el crecimiento algal (Collahuazo-Reinoso y Araujo-Abad, 2019).

Las aguas residuales tienen, entre sus componentes químicos los elementos Fe, Zn, Ca, Mg, Mn y Cu (Radhakrishnan *et al.*, 2021), que son benéficos para la biota de los ecosistemas acuáticos en concentraciones traza (Cortés-Téllez *et al.*, 2018). Es por ello que se ha optado por cultivar microalgas en dichos efluentes, ya que, con el consumo de C, N, P, y los micronutrientes mencionados, se promueve el crecimiento de las microalgas (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017). El uso de residuos acuosos como fuente de micronutrientes para las algas es una alternativa de tratamiento, ya que se logra la reducción de carga contaminante al metabolizar los elementos traza contenidos (Cerón *et al.*, 2018), produciendo biomasa microalgal con un alto contenido en micro y macronutrientes, vitaminas y ficocianinas (Soto *et al.*, 2020), que posteriormente pueden ser utilizadas en diversos ámbitos.

1.7 Fotobiorreactores

Una de las ventajas de utilizar microalgas para el tratamiento de residuos es que su propagación es sencilla y económica, ya que no requieren grandes áreas de cultivo ni fertilizantes, además de que pueden usar como sustrato efluentes industriales (Sarma, et al., 2021). Aún así, se ha establecido que las microalgas necesitan ciertas condiciones para desarrollarse de forma óptima, tales como intensidad lumínica, temperatura, mezclado, pH y fuente de nutrientes (Anzola-Rodríguez y Laiton-Delgado, 2021). Es por ello que se han diseñado reactores con condiciones de operación controladas que permiten realizar diversos experimentos a los microorganismos en cuestión (Figura 1.7). Existen distintos tipos de fotobiorreactores, cuya arquitectura se encuentra en función de las propiedades de las microalgas a cultivar (Guzmán *et al.*, 2020).



Figura 1.7 Fotobiorreactores

De forma ideal, los fotobiorreactores deben tener un mezclado completo, sin zonas o volúmenes muertos, con un esfuerzo cortante hidrodinámico muy bajo para evitar la lisis de las células, así como una transferencia de masa óptima entre gas y líquido que permita tanto la absorción de CO_2 y la posterior liberación de O_2 (Benner, et al., 2022). Aunque la idealidad en fotobiorreactores es difícil de alcanzar en la realidad, dependiendo la escala de producción y las condiciones adecuadas para el

microorganismo se puede elegir entre los diversos tipos de reactores a fin de asegurar mayor eficiencia en el crecimiento de las microalgas.

1.8 Modelo de Gompertz-Makeham

El modelo matemático de Gompertz-Makeham es una función sigmoideal asimétrica utilizada para definir el comportamiento dinámico en poblaciones, por ende, también es utilizado para modelizar los patrones de las enfermedades, crecimiento de organismos, entre otros (Medina-Mendieta, et al., 2020). Esta ecuación fue propuesta en 1825 por el matemático londinense Benjamín Gompertz en su trabajo *“On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of Life Contingencies”*, en el cual describió el comportamiento matemático del desarrollo de los organismos, mismo que se encuentra definido por una progresión matemática (Gompertz, 1825). Años más tarde, en 1873 el matemático y actuario inglés William Matthew Makeham añadió al modelo la constante de la edad (Makeham, 1873), lo cual hizo considerar que, además de la posibilidad de una muerte natural ocurrida con la consecuente resistencia a las enfermedades y al paso de los años, también existen los decesos accidentales o por azar, lo cual no tiene relación alguna con la edad del individuo (Mina-Valdés, 2020). La constante añadida por Makeham le dio el nombre de “Ley de mortalidad” a dicho modelo y es usado en la actualidad en los campos de demografía, biología evolutiva y en la ciencia actuarial (Costa de Souza, 2022).

La ecuación inicial relativa al modelo de Gompertz es la siguiente:

$$\frac{dy(t)}{t} = K y(t) \ln \left(\frac{A}{y(t)} \right) \quad (1.1)$$

Donde: $y(t)$ es el tamaño de la población en un tiempo t , A es el valor máximo de crecimiento, K corresponde al valor relativo a la tasa de crecimiento de la curva, suponiendo que $K > 0$. Después de resolver las derivadas y sustituir, el modelo de crecimiento de Gompertz queda de la siguiente forma:

$$y(t) = Ae^{-Be^{-Kt}} \quad (1.2)$$

En el que nuevamente $y(t)$ indica el tamaño de la población en tiempo t , A es el valor máximo de crecimiento, B corresponde al valor que indica si la curva se desplazará a la izquierda o derecha según los resultados obtenidos y la K es la tasa de crecimiento de la curva (Parra-Márquez, 2017).

1.8 Ventajas del uso de las tecnologías de biorremediación con microalgas

La creciente necesidad de satisfacer las exigencias de la vida diaria ha llevado a cometer excesos con los recursos naturales (Gómez-López, 2020). Es por ello que se requiere tomar medidas para subsanar las consecuencias ambientales que se han generado por dicha situación, aplicando tecnologías verdes que hacen uso de microorganismos para la eliminación de contaminantes, como es el caso de la biorremediación.

1.8.1 Biorremediación

Es un método de degradación de los contaminantes por medio de colonias de microorganismos (Ojeda-Morales y Juárez-Palacios, 2019). La biorremediación se puede llevar a cabo también con algas, hongos, plantas o sus enzimas, aprovechando su capacidad de metabolizar algunos contaminantes y usarlo para promover su propio desarrollo. Este procedimiento es apto para aplicarse en suelos, sedimentos, lodos, aguas superficiales, residuales, e incluso en los gases que emiten las industrias (Garzón *et al.*, 2017).

El tratamiento de aguas o biorremediación no es un procedimiento nuevo, sus orígenes se remontan a 1930, cuando Tausz y Donath propusieron la iniciativa de eliminar los contaminantes provenientes del petróleo en los suelos utilizando microorganismos (Tausz y Donath, 1930). Posteriormente, en 1967, un incidente con el buque petrolero “Torrey Canyon” produjo un derrame de 120,000 toneladas de crudo, con lo que se hizo urgente el aplicar técnicas de depuración que incorporaran tratamientos físicos y químicos (Cota-Ruiz *et al.*, 2019). Fue ahí donde se retomó la idea de Tausz y Donath

y se implementó el uso de microorganismos, dando origen formal a lo que se conoce actualmente como biorremediación.

El uso de microalgas y bacterias como tratamiento alternativo en las aguas residuales es viable, ya que no tienen costos operativos altos y tampoco hay generación de lodos (Menaar *et al.*, 2019). Las microalgas son capaces de desarrollarse en sustratos a base de aguas residuales, ya que los efluentes tienen alto contenido de nitrógeno y fósforo, elementos que son indispensables para el desarrollo de las microalgas. También, estos organismos vivos pueden asimilar metales pesados, los químicos que componen a los fármacos, así como absorben el CO₂ presente en el ambiente, disminuyendo así el impacto negativo que dicho residuo genera en la atmósfera (Geremia *et al.*, 2021). Una vez que las microalgas utilizan los residuos para nutrirse y desarrollarse, se pueden extraer las algas del medio de cultivo. Esta biomasa resultante es rica en contenido de pigmentos (clorofila, betacarotenos), enzimas (hidroxigenasa, anhidrasa carbónica, lipoxigenasa, nitrilasa, nitrogenasa, fosfatasa, acetil-coenzima A tiolasa) (Hernández *et al.*, 2017), azúcares y lípidos (Emparan *et al.*, 2019). La biomasa algal tiene diversas aplicaciones, tales como complemento alimenticio humano, suplemento forrajero, en la producción de papel, nutraceuticos, productos cosméticos naturistas, bioetanol, biodiesel, biochar, entre otras (Khan *et al.*, 2018).

1.9 Eficiencia de remoción de contaminantes utilizando microalgas

Las aguas residuales deben tener un tratamiento previo antes de su descarga a los cuerpos de agua. Los métodos más utilizados incluyen tratamientos fisicoquímicos como la filtración, electrocoagulación, oxidación por vía electroquímica y floculación (Rosales *et al.*, 2018), siendo el principal inconveniente de estos métodos los altos costos de operación.

Últimamente se ha sugerido la implementación de métodos biológicos, con las microalgas como agentes principales de remoción de compuestos metálicos y sales contaminantes. Estudios previos han demostrado que las microalgas de cepas *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Nostoc*, *Cladophora*, *Chlamydomonas*, *Spirulina*, *Anabaena*

y *Oscillatoria* pueden llegar a alcanzar altos niveles de remoción de sólidos totales disueltos, DQO, DBO₅, NO₃, NH₄ y PO₄⁻³ (Vela-García *et al.*, 2019).

En la Tabla 1.3 se describen algunas de las especies de microalgas utilizadas en biorremediación, los contaminantes que pueden eliminar y el porcentaje de remoción de alcanzado para diversos compuestos químicos en aguas residuales.

Tabla 1.3 Cepas de microalgas y porcentajes de remoción de contaminantes

Especie	Contaminante	Porcentaje de remoción	Referencia
<i>Scenedesmus sp.</i>	Colorante "Acid Blue" no. 161	69.83	(Tolfo da Fontoura <i>et al.</i> , 2017)
	Carbono orgánico total	50.78	
	Nitrógeno total	19.80	
<i>Tetraselmis sp.</i>	Fósforo total	97.64	(Pena <i>et al.</i> , 2020)
	Nitrógeno total	9.85	
	Carbono orgánico	33.58	
	DBO	20.68	
	DQO	56.70	
	Amonio	100	
<i>Spirulina sp.</i>	Cromo total	96.50	(Meneses-Barroso <i>et al.</i> , 2019)
<i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Pseudochlorella pringsheimii</i>	DQO	>60	(Saranya y Shanthakumar, 2019)
	Cromo total	>80	
	Amoniaco	>65	
	Fosfatos	>63	

Por otro lado, si se hace una comparación de los métodos de tratamiento de efluentes, los métodos biológicos presentan mayores ventajas, con una remoción de hasta 96.5% del cromo total, generación de menos de 10% en masa de residuos, y el microorganismo empleado (sea microalga, hongo o levadura) puede ser recuperado y

reutilizado. Los tratamientos físicos alcanzan a remover apenas el 16% de la totalidad del cromo, dejando un 5% de residuos, mientras que los procesos químicos, aunque pueden eliminar hasta el 99.6% de contaminantes, entre nitratos, nitritos, fósforos, sulfatos y cromo, producen más del 30% en residuos, entre ellos el mismo producto químico empleado en la remoción (Jacome-Pilco *et al.*, 2021). Por ello, los métodos de biorremediación son los más viables ya que producen un menor impacto ambiental. El continuo avance de la tecnología en la actualidad permite desarrollar nuevos productos con gran rapidez. Sin embargo, se ha dejado de lado el reflexionar que, junto con todos esos artículos novedosos, se generan grandes cantidades de contaminantes que causan efectos negativos en el ambiente. Los desechos industriales que pueden ser tratados por tecnologías con base en microalgas son los siguientes.

1.9.1 Efluentes avícolas

La industria del procesamiento de aves genera diversos tipos de residuos sólidos tales como heces, sustratos para cama y residuos de criadero. También se producen en gran cantidad desechos líquidos como la orina, sangre, grasas, restos de pesticidas usados en la desinfección, además del agua que se utiliza durante todo el proceso, desde el crecimiento y reproducción hasta la matanza de las aves (Singh *et al.*, 2018). En la Tabla 1.4 se muestran a detalle los tipos de residuos vertidos así como el uso que se da al agua en las distintas fases del procesamiento de aves, según lo reportado por Gonçalves *et al.*, (2016).

Tabla 1.4 Tipos de residuos generados en el procesamiento avícola

Etapas	Subproducto
Recepción	Heces, plumas. Agua para limpieza.
Sacrificio	Sangre. Agua para limpieza.
Escaldado - Desplumado	Plumas, sangre, grasa. Agua para limpieza.
Evisceración	Vísceras, sangre, grasa, pedazos pequeños de carne. Agua para limpieza.
Enfriamiento	Sangre, grasa, pedazos de carne. Agua para limpieza.
Clasificación, empaque y limpieza de la planta	Agua para limpieza.

El agua resultante es el objeto de interés en el presente trabajo y se describirá mayormente a continuación.

1.9.2 Aguas residuales avícolas

En la industria avícola se utiliza una gran cantidad de agua para escaldar, lavar, enfriar y limpiar tanto al animal como a los equipos. Se calcula que el consumo de agua por ave sacrificada oscila entre los 8 y 15 L (Rojas-Morales *et al.*, 2016). El líquido resultante es turbio, con alta carga de materia orgánica y sólidos suspendidos, aceites, grasas, fósforo y nitrógeno (Caldera *et al.*, 2017), y, si no se le da un tratamiento previo a la descarga, estos residuos son capaces de alterar la flora y fauna del ambiente circundante al lugar donde se vierte. En la Tabla 1.5 se enlistan y cuantifican las características fisicoquímicas de las aguas residuales de la industria avícola (Meiramkulova *et al.*, 2019).

Como contaminante secundario resultante de los efluentes avícolas se tienen los lodos residuales. Al igual que las aguas, se consideran un problema ambiental por su composición química, además de la dificultad que implica su caracterización y manejo (Amaya-Corredor *et al.*, 2019), por lo que tienen que implementarse técnicas de tratamiento adecuadas a la naturaleza del residuo.

Por ello, se han planteado en investigaciones científicas diversos métodos para llevar a cabo el tratamiento previo a la descarga de las aguas residuales avícolas, tales como la filtración, sedimentación, coagulación, aplicación de tratamientos biológicos, procesos avanzados de oxidación, adsorción con carbón activado e incluso la combinación de más de dos técnicas, lo que tiene como fin el eliminar ciertos contaminantes para alcanzar los estándares establecidos en las normativas (López-Vázquez *et al.*, 2017). Uno de los tratamientos alternativos propuestos es el uso de efluentes como sustrato para el crecimiento de las microalgas.

Tabla 1.5 Características fisicoquímicas del agua residual avícola

Parámetro	Desplumado	Evisceración	Enfriamiento	Unidades
pH	7.36	7.2	6.5	NA
Turbidez	49.7	98.5	167	FAU
Color	649	1371	1762	
Sólidos totales suspendidos	84	180	298	mg/L
Cloro libre	0.14	0.03	0.80	mg/L
Cloro total	0.11	0.07	6.57	mg/L
Nitritos	0.109	0.06	0.122	mg/L
Nitratos	18.5	8.30	24.5	mg/L
Fosfatos	5.00	5.06	1.79	mg/L
Nitrógeno amoniacal	1.28	2.27	0	mg/L
DQO	578	1162	1729	mg/L
DBO ₅	96.2	12.1	458.8	mg/L
Carbonatos	0	90	0	mg/L
Calcio	14	23.5	11	mg/L
Magnesio	2	16.5	26.5	mg/L

1.9.3 Contaminantes emergentes

Se define como contaminante emergente aquéllas sustancias químicas, producto de diversas actividades industriales, que se encuentran presentes en el ambiente desde concentraciones traza, por lo que usualmente pasan desapercibidos, pero que implican un gran riesgo a la salud humana e impactan negativamente al ambiente (Jacobo-Marín y Santacruz de León, 2021). Ejemplo de contaminantes emergentes son plaguicidas, fertilizantes, residuos de cosméticos y productos presentados en la Tabla 1.6.

Tabla 1.6 Ejemplos de contaminantes emergentes

Tipo de contaminante	Ejemplo	Referencia
Fármacos	• Analgésicos • Antibióticos • Antiepilépticos • Antidepresivos • Estrógenos	(Sandoval <i>et al.</i> , 2020)
Aditivos industriales	• Surfactantes • Desinfectantes • Humectantes	
Productos de uso diario	• Detergentes y suavizantes para ropa • Cremas • Shampoo y productos diversos para la higiene personal	
Retardantes de llama	• Tris cloro isopropil fosfato • Tris 2-cloro etil fosfato	
Drogas lícitas	• Cafeína • Nicotina	
Drogas ilícitas	• Anfetamina • Cocaína • Heroína • Metanfetamina	
Pesticidas	• Organoclorados • Organofosforados	

Ciertos contaminantes emergentes pueden ser depurados utilizando microalgas o un cultivo mixto, es decir, combinando biomasa algal con levaduras u hongos. Los procedimientos de biorremediación por microalgas son alternativas naturales ambientalmente seguras, ya que pueden aprovechar los nutrientes inorgánicos, tienen alta tolerancia a metales pesados y pueden crecer autotrófica y heterotróficamente (Vela-García *et al.*, 2019), lo que las hace atractivas a comparación de los métodos químicos convencionales. Para ejemplificar lo anterior, en la Tabla 1.7 se especifican

fármacos, la especie de microalga que tiene la capacidad eliminarlos, así como el porcentaje de remoción y la ruta metabólica de degradación.

Tabla 1.7 Porcentajes de remoción de contaminantes emergentes por microalgas

Fármaco	Cepa de microalga	Porcentaje de remoción	Ruta de eliminación	Referencia
Climbazol	<i>Scenedesmus obliquus</i>	88	Biodegradación	(Pan <i>et al.</i> , 2018)
Esteroides (testosterona)	<i>Chlorella vulgaris</i>	69.64	Sin determinar	(Fu <i>et al.</i> , 2019)
Carbamazepina	<i>Chaetoceros muelleri</i>	35.4	Bioadsorción	(Mojiri <i>et al.</i> , 2021)
Sulfametazina		33.1	Sin determinar	
Tramadol		36.5	Biodegradación	
Levofloxacin	<i>Chlorella vulgaris</i>	12	Biodegradación	(Xion <i>et al.</i> , 2017)
Ácido salicílico	<i>Chlorella sorokiniana</i>	98	Biocaptura	(Escapa <i>et al.</i> , 2017)
	<i>Coelastrella sp.</i>	78		
Orfenadrina	<i>Chlorella vulgaris</i>	100	Bioadsorción	(Gojkovic <i>et al.</i> , 2019)
	<i>Desmodesmus sp.</i>	75-82		
17 β-estadiol	<i>Nannochloris sp.</i>	60	Bioadsorción	(Bai y Acharya, 2016)
17 α-etinilestadiol		60	Biocaptura	
Triclosan	<i>Microcystis aeruginosa</i>	46	Fotodegradación	
Trimetoprima	<i>Dictyosphaerium sp.</i>	<4	Sin determinar	
Amoxicilina	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	77	Sin determinar	
Codeína	<i>Chlorella saccharophila</i>	42	Biodegradación y fotodegradación	(Sutherland y Ralph, 2019)
	<i>Coelastrella sp.</i>	87		
Ibuprofeno	<i>Navicula sp.</i>	60	Biocaptura y biodegradación	
	<i>Nannochloris sp.</i>	40		
Metoprolol	<i>Dictyosphaerium sp.</i>	99	Biodegradación	
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	97		
Paracetamol	<i>Chlorella sorokiniana</i>	41-69	Fotodegradación	
Tetraciclina	<i>Chlorella vulggaris</i>	69	Bioadsoción y fotodegradación	

Los contaminantes emergentes pueden acumularse en el agua y el suelo. Si no se eliminan del medio pueden ocasionar problemas de salud como resistencia en los patógenos microbianos, irritación en la piel, alergias, desarrollo de tumores, alteración en el funcionamiento de la hormona de la tiroides, cambios en las funciones reproductivas y el bloqueo de funciones hormonales diversas (Reinoso-Carrasco *et al.*, 2017).

1.9.4 Gases de efecto invernadero (GEI)

Se denominan gases de efecto invernadero (GEI) a una serie de compuestos gaseosos que forman parte de la atmósfera. Estos son necesarios para la vida en el planeta ya que son responsables de absorber la radiación infrarroja emitida por la tierra y reemitirla en forma de calor (Figura 1.8), aproximadamente 161 W/m^2 , con lo que se mantiene la temperatura del planeta a un nivel adecuado. La ausencia de los GEI haría que la tierra se congelara a una temperatura de $-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Robertson, 2014). Los gases más comunes presentes en la atmósfera incluyen el vapor de agua, clorofluorocarbonos (CFC's), hidrofluorocarbonos (HFC's), dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), ozono (O_3) y óxido nitroso (N_2O), aunque los investigadores indican que los gases que influyen en mayor grado al calentamiento global son el CO_2 , N_2O y CH_4 (Olaniyi *et al.*, 2019).

Los GEI tienen orígenes diversos, uno de ellos son las actividades antropogénicas o aquéllas realizadas por el ser humano en interacción con el medio ambiente, tales como la agricultura, todas las labores industriales de manufactura de productos o alimentos, ganadería, el uso de automóviles y aviones e incluso el proceso de respiración (Yoro y Daramola, 2020). Se dice que el sector ganadero contribuye en un 18% a la emisión de gases invernadero (Alayón-Gamboa *et al.*, 2018), y la agricultura un 20% (Sosa-Rodrigues y García-Vivas, 2019), por lo que estas actividades generan un impacto significativo en el medio ambiente.

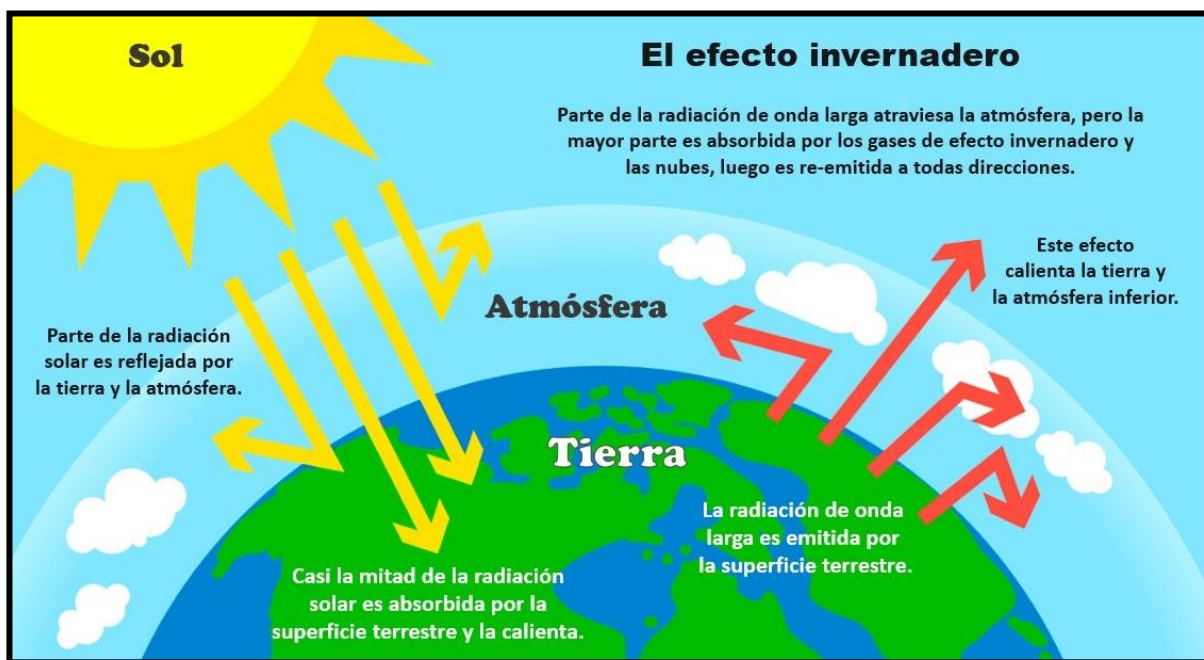


Figura 1.8 Efecto invernadero

1.9.5 Estrategias de disminución de GEI

A fin de minimizar las emisiones de gases de efecto invernadero, se propone la conversión y uso del dióxido de carbono y metano por medio de tecnologías de plasma, reducción fotocatalítica, metanización catalítica avanzada y reducción electroquímica (Hertwich *et al.*, 2019), mientras que para disminuir las emanaciones de CO₂ antropogénico, Jeffry *et al.*, (2021) plantean las estrategias indicadas en la Figura 1.9. Como se puede observar, la primera acción a realizar es utilizar combustibles que no sean de origen fósil, además de mejorar la eficiencia de los motores de los vehículos automotores para que consuman menor cantidad de combustibles o bien, soporten el uso de biocombustibles. La neutralidad del ciclo del carbono se refiere a promover la extracción de la misma cantidad de CO₂ que se genera por cierta actividad, con lo que se alcanzaría la huella cero del carbono. El almacenamiento biológico del carbono se obtiene en la reforestación, dado que plantas y árboles utilizan el CO₂ en los procesos de fotosíntesis, mientras que el almacenamiento geológico consiste en comprimir tal

gas e inyectarlo en formaciones rocosas profundas consideradas como seguras, para almacenarlo de forma permanente (Mariño-Martínez *et al.*, 2018).

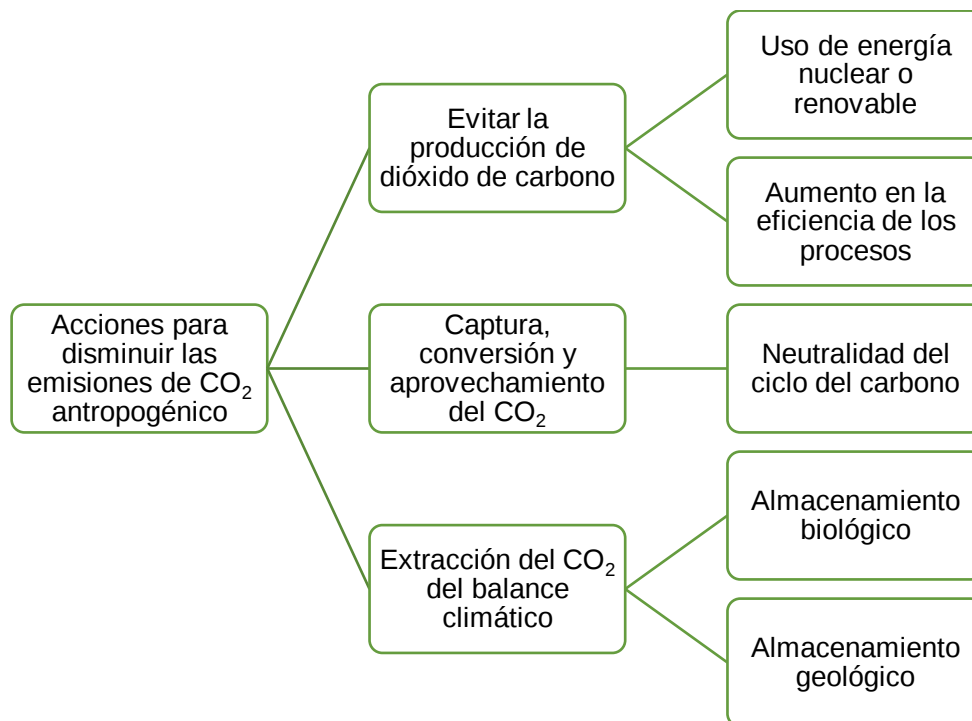


Figura 1.9 Estrategias para la disminución de emisiones de CO₂

Dado que los procesos de biorremediación con microalgas son más eficientes, prácticos y menos costosos, se han hecho pruebas con diversas especies algales para verificar sus tasas de asimilación y tolerancia al dióxido de carbono en diferentes sistemas de cultivo, tal como se desglosa en la Tabla 1.8.

Una vez que las microalgas absorbieron el CO₂ presente en el ambiente y lo aprovecharon para su desarrollo, las microalgas están listas para ser cosechadas, y la biomasa resultante tiene amplios usos en el sector industrial, por su composición química (Molazadeh *et al.*, 2019).

Tabla 1.8 Tasas de tolerancia y asimilación de CO₂ por diversas cepas de microalgas

Especie de microalga	Tolerancia de CO ₂	Tasa de asimilación de CO ₂ (g/L/d)	Sistema de cultivo	Referencia
<i>Chlorella sp.</i>	40	0.097	FPBR	(Prasad et al., 2021)
<i>Chlorella vulgaris</i>	18	2.22	BCPBR	
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	10	0.26	EF	
<i>Desmodesmus sp.</i>	100	1.58	FBC	
<i>Anabaena sp.</i>	10	1.01	BPR	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	10	0.28	EF	
<i>Botryococcus brauni</i>	10	-	-	

Los gases de efecto invernadero, al igual que los contaminantes emergentes pueden ser mitigados con métodos biológicos a base de microalgas. Se prefieren estos microorganismos ya que tienen la capacidad de capturar hasta 50 veces más el CO₂ que las plantas terrestres y los árboles, una biomasa algal de 1 Kg puede fijar hasta 1.83 Kg de CO₂, además, su tasa de crecimiento es muy elevada, ya que pueden duplicar su población en periodos de tan solo 3.5 h, y los periodos de cosecha son de 1 a 10 días (Brunet-Ramos et al., 2021).

1.10 Antecedentes

Terán-Hilares et al., (2021) encontraron, mediante la caracterización físicoquímica del agua residual avícola, que este residuo tiene grandes cantidades de materia orgánica y nutrientes, los cuales requieren un tratamiento antes de su descarga final, por lo que implementó un proceso de precipitación ácida con H₂SO₄ y posteriormente la utilizaron como sustrato de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* en sistemas por lotes y continuos, como un método alternativo para el tratamiento del efluente. Se concluyó que con la precipitación ácida se redujo el pH de entre 6 a 7 a un valor de 4, y con la acción de las microalgas en el sobrenadante, la DQO se eliminó en un 83 %. Todo

este procedimiento fue llevado a cabo en un fotobiorreactor de tubo concéntrico. Además, se determinó que este tipo de tratamiento de efluentes es factible económica y ambientalmente, debido a que la biomasa que se obtiene del proceso puede tener un uso como biocombustible o en la industria de la salud.

Thoré *et al.*, (2021) con sus experimentos lograron establecer las diluciones, entre agua residual avícola y agua corriente o medio de cultivo estándar, que mejoran el desarrollo de una especie de microalga *Chlorella*, hallando que con una proporción 50-50, se incrementa de 83 a 113 % la generación de biomasa, mientras que, si se esteriliza el agua residual previo a su uso, y se usa en un 25 o 50 % de volumen en dilución con el sustrato estándar, el crecimiento algal aumenta entre 36 a 118 %. Si se usa el agua residual esterilizada sin diluir o se utiliza agua corriente en este experimento, no existe ninguna mejora en el comportamiento microalgal. Finalmente, después de 22 días, se obtuvo un total de entre 0.8 – 1.9 g/L de biomasa con un alto contenido de macronutrientes y baja composición de metales pesados, por lo que cumple con los estándares requeridos para ser usada como suplemento alimenticio.

Rodríguez-Ramírez *et al.*, (2020) utilizaron el agua residual de una industria avícola de la región, y demostraron que sus altos contenidos de sólidos suspendidos totales, sólidos totales, fósforo y nitrógeno son ideales como macronutrientes para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*, la cual tiene como función la bioremediación de dicho efluente. También, comprobaron que durante el cultivo de la microalga debe haber constante inyección de CO₂ y de agua residual. El primero tiene como objetivo disminuir el pH del medio, mientras que el líquido debe adicionarse para incrementar la generación de microalgas.

Martínez-Romero *et al.*, (2018) utilizaron la especie de microalga *Spirulina maxima* en la eliminación de fósforo en aguas residuales, utilizando fotobiorreactores en el proceso. Encontraron que, con una concentración del 100 % de efluente residual como sustrato, se logró un apropiado rendimiento de biomasa en 12 días, como un total de

8.72 g/L, así como la remoción del 80.15 % de la DQO y un 67.47 % de fósforo en la muestra utilizada, con lo que se alcanzan los límites establecidos por la SEMARNAT para esos indicadores. También, se demostró que usando aguas residuales incentivan el desarrollo y producción de la biomasa, por lo que es una alternativa viable en el tratamiento de los residuos líquidos industriales.

Hernández-Lepe *et al.*, (2018) realizaron una caracterización química parcial del alga *Spirulina maxima*, misma que mostró una ausencia de coliformes, levaduras, mohos y bacterias aerobias mesófilas, por lo que es apta para el consumo humano. Su contenido de metales pesados es de 0.11 ppm de Pb, 0.002 ppm de Cd, 0.04 ppm de As, 1.54 ppm de Zn, cantidades que se encuentran dentro de los límites permisibles. En cuanto a las macromoléculas, se encontró un total de 65 % de proteína, 9 % de cenizas, 9 % de humedad, 1 % de lípidos y 16 % de carbohidratos. De igual forma, se cuantificó la cantidad de fitoquímicos antioxidantes, resultando en los fenoles 4.9 mg ácido gálico/g, 0.9 mg de catequinas/g, 17.1 g de betacaroteno/g y 41.9 mg/g de clorofila. Con los resultados anteriores se concluyó que la *Spirulina maxima*, además de tener la capacidad de biorremediación de aguas contaminadas, es un antioxidante excelente y un suplemento nutritivo completo debido al contenido de fitoquímicos y nutrientes esenciales que la componen.

Hosseinizand *et al.*, (2017) establecieron algunos parámetros de composición química de la microalga *Chlorella vulgaris*. Son ricas en proteínas, vitaminas del grupo B, ácido ascórbico y vitamina E y minerales como Ca, Fe, P, K. Contienen entre un 2 a 3 % de clorofila y carotenoides. Pueden tolerar altas temperatura de cultivo, es decir, hasta 40 °C. En la caracterización bioquímica realizada en este trabajo, la *C. vulgaris* presentó un contenido total del 10.63 % de lípidos, 11.56 % de proteínas, 26.18 % de carbohidratos, 59.17 % de C, 28.44 % de O₂, 8.20 % de H₂, 1.85% de N₂ y un 0.26 % de S. Concluyeron que las características fisicoquímicas de la biomasa algal pueden ser conservadas incluso a una temperatura de secado de hasta 80 °C.

1.11 Avances

Caballero-García *et al.*, (2019) desarrollaron y propusieron estrategias novedosas de operación de fotobiorreactores para optimizar, además del desarrollo, la producción de pigmentos y micronutrientes de las microalgas de la especie *Chlorella spp.* y *Spirulina máxima*. En la caracterización fisicoquímica de ambos organismos se encontró que tienen un alto contenido en los macronutrientes tales como carbohidratos, lípidos, proteínas, además del pigmento clorofila a y b. Se estableció que la dosis recomendable para el crecimiento adecuado de *Chlorella spp.* fue de 1.5 mL/L de sustrato Bold Basal y, para la *Spirulina máxima*, de 150 % de medio UTEX. Se concluyó que las mejores condiciones a escala laboratorio para la absorción de CO₂ fueron 4,000 lux de intensidad lumínica con un 2 % v/v de CO₂, el cual fue provisto por un reactor de digestión anaerobia de lodos fisicoquímicos. Con dichos parámetros, se logró un porcentaje de CO₂ consumido de 91.92 % v/v con una producción de biomasa del 2.18 g/L, demostrando así que los fotobiorreactores tipo airlift son los más adecuados para efectuar la digestión anaerobia de lodos a fin de disminuir los gases de efecto invernadero que se producen en la combustión de biogás.

El trabajo de investigación anteriormente descrito contribuye al presente como una guía de parámetros y condiciones adecuadas a implementar para mejorar las técnicas de cultivo de microalgas, con la finalidad de optimizar la depuración de aguas residuales avícolas con el consiguiente incremento en la generación de biomasa algal, que puede ser procesada y aprovechada posteriormente en diversos campos industriales.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

Para efectuar de forma satisfactoria el presente trabajo de investigación se llevarán a cabo las etapas descritas en la Figura 2.1.

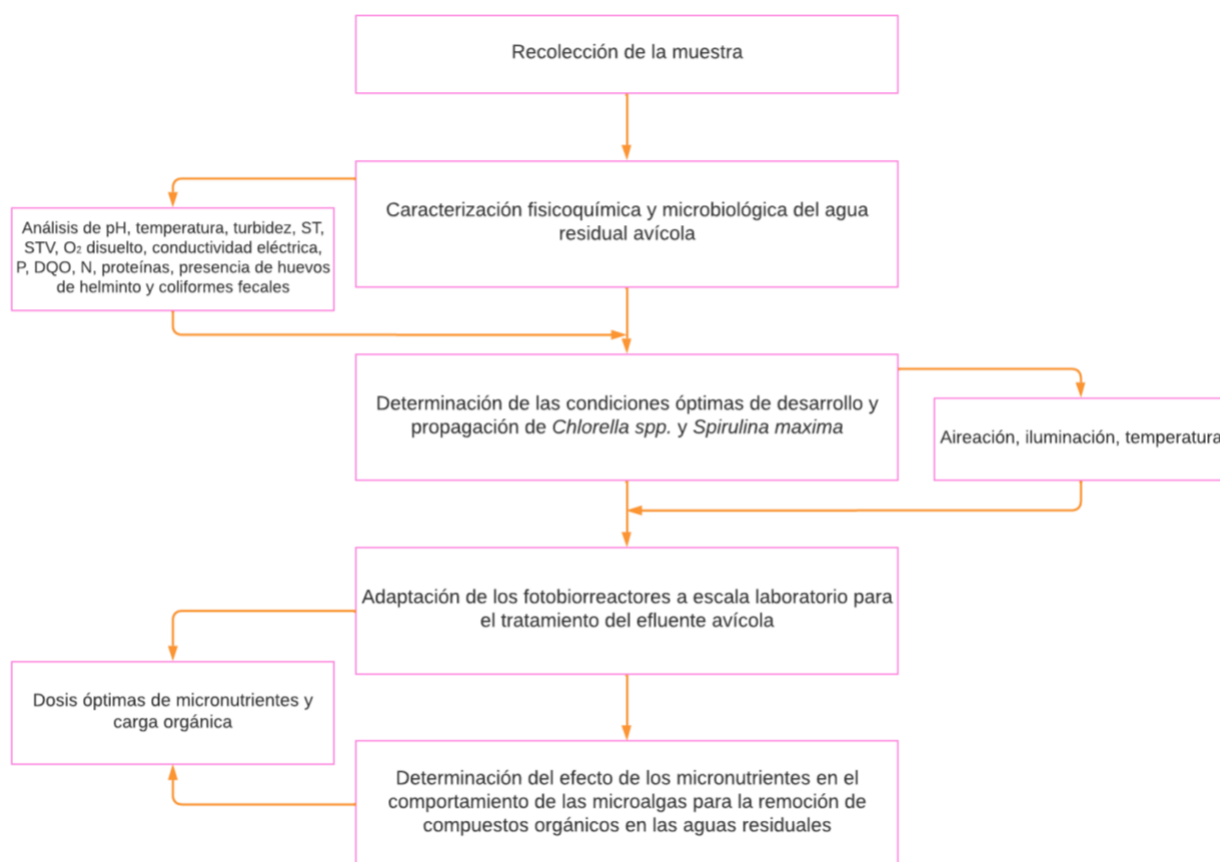


Figura 2.1 Diagrama de flujo de la metodología del trabajo experimental

2.1 Recolección de la muestra

El agua residual avícola fue muestreada de una industria procesadora de aves ubicada en la región de Orizaba-Córdoba. Posteriormente se almacenó en el laboratorio de Ambiental II perteneciente a la División de Estudios de Posgrado del Instituto Tecnológico de Orizaba.

2.2 Caracterización del agua residual avícola.

Los análisis fisicoquímicos y los parámetros microbiológicos a cuantificar en el agua residual junto con las Normas Oficiales Mexicanas a emplear son los descritos en la Tabla 2.1. Cada una de las determinaciones se realizó por triplicado para disminuir el porcentaje de error.

Tabla 2.1 Análisis fisicoquímicos a evaluar en el agua residual

Análisis físicos	Norma Mexicana
pH	NMX-AA-008-SCFI-2016
Temperatura	NMX-AA-007-SCFI-2013
Turbidez	NMX-AA-038-SCFI-2001
Sólidos Totales y Sólidos Volátiles	NMX-AA-034-SCFI-2015
O ₂ disuelto	NMX-AA-012-SCFI-2001
Conductividad eléctrica	NMX-AA-SCFI-2000
Análisis Químicos	Norma Mexicana
Fósforo Total	NMX-AA-029-SCFI-2001
DQO	NMX-AA-030/1-SCFI-2012
Nitrógeno total	Micro Kjeldahl
Proteínas	Micro Kjeldahl
Análisis Microbiológicos	Norma Mexicana
Huevos de helminto	NMX-AA-113-SCFI-2012
Coliformes fecales	NMX-AA-042-SCFI-2015

2.2.1 Determinación de pH

El análisis se basa en determinar la actividad de los iones hidrógeno mediante el potencial generado en milivolts usando un electrodo de vidrio estándar y uno de

referencia. Se utilizó un potenciómetro marca Jenway® modelo 3310 y la lectura se hizo de acuerdo al método establecido en la Norma Oficial Mexicana 008-SCFI.

2.2.2 Determinación de temperatura

Para este análisis se introdujo el bulbo de un termómetro dentro de la muestra, se esperó unos segundos a que se estabilizara y posteriormente se tomó la lectura indicada. Se utilizó un termómetro de mercurio graduado de -20 a 50 °C marca Brixco®. Este análisis se fundamenta en la dilatación de las moléculas de mercurio con el aumento de la temperatura (Marini, et al., 2018).

2.2.3 Determinación de turbidez

Se realizó por el método de nefelometría utilizando un turbidímetro marca Hatch® modelo 2100Q. En la celda se depositaron 15 mL de muestra a temperatura ambiente, la cual posteriormente se introdujo en el equipo y finalmente se tomó la lectura en unidades de turbidez nefelométrica (Nephelometric Turbidity Unit, NTU). El método nefelométrico mide la intensidad de radiación lumínica dispersa generada por un haz de luz que atraviesa una suspensión particulada. La cuantificación de turbidez se lleva a cabo dado que la dispersión de luz es proporcional a la concentración de partículas en la muestra (March-Rosselló, 2017).

2.2.4 Determinación de Demanda Química de Oxígeno

Este análisis se basa en la cantidad de oxígeno consumida para la oxidación química de la materia orgánica en el agua residual en presencia de dicromato de potasio que actúa como oxidante fuerte en un medio acidificado por H₂SO₄ (Buitrón-Méndez, et al., 2019). Se puede realizar la determinación de DQO total y DQO soluble. En la primera se utiliza la muestra pura homogeneizada, mientras que en la soluble, se separa en analito por medio de centrifugación y se hace uso únicamente de la fracción líquida. Se hizo uso del micrométodo colorimétrico 5220 D *Standard method*. Inicialmente se puso la muestra en la placa de digestión Hatch® durante 2 horas, y

posteriormente, para el cálculo de la DQO se utilizó el espectrofotómetro marca Hatch® que se ajustó a 620 nm, se hizo la curva de calibración de 0 a 1,500 mg/L y finalmente se leyó la muestra resultante de la digestión.

2.2.5 Determinación de fósforo total

Se llevó a cabo con el método colorimétrico 4500-PB. Consiste en realizar la digestión de la muestra con ácido sulfúrico y nítrico para oxidar la materia orgánica y provocar de esa forma la liberación de fósforo en forma de ortofosfato, el cual se cuantifica por medio de espectrofotometría a 880 nm, y el resultado se reporta en unidades de mg/L.

2.2.6 Determinación de sólidos totales y sólidos totales volátiles

El principio utilizado en este análisis es el gravimétrico, en el cual mediante pesadas exactas se cuantifica cierto analito. Por su precisión, es considerado un método absoluto (Pickering, 2021)de. Para cuantificar los sólidos totales de la muestra, esta debe llevarse a evaporación, y posteriormente a calcinación para determinar los sólidos totales volátiles, haciendo un pesado al finalizar cada uno de los procedimientos. La fórmula para el cálculo de sólidos totales es la siguiente:

$$\%ST = \frac{P_3 - P_1}{P_2} \times 100 \quad (2.1)$$

Donde: P_1 es el peso constante del crisol vacío (g), P_2 es el peso de la muestra (g) y P_3 es el crisol a peso constante + muestra seca (g).

La fórmula para el cálculo de sólidos totales volátiles es la siguiente:

$$\%STV = \frac{P_3 - P_4}{P_3 - P_1} \times 100 \quad (2.2)$$

Donde: P_1 es el peso constante del crisol vacío (g), P_2 es el peso de la muestra (g), P_3 es el crisol a peso constante + muestra seca (g) y P_4 es el crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada (g).

2.2.7 Determinación de nitrógeno total

Se cuantificó según lo indicado en el método SM 4500-Norg B. Se puso en medio ácido la muestra, posteriormente se sometió a digestión con catalizador de selenio a fin de que los compuestos orgánicos nitrogenados presentes en la muestra se conviertan a la forma de nitrógeno amoniacal. Después, se hizo la destilación de la muestra digerida y el destilado se tituló con una solución de H_2SO_4 .

Para hacer el cálculo del nitrógeno total se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% N = \frac{G \times N \times 0.014}{M} \times 100. \quad (2.3)$$

Donde: G es la cantidad de ácido que se utilizó en la titulación (mL), N es la normalidad del ácido con el cual se tituló, M es el peso de la muestra en el matraz (g) y 0.014 son los miliequivalentes del nitrógeno.

La digestión ácida de la muestra forma sulfato de amonio, que en presencia de una base se vuelve amoníaco, el cual se destila y titula para cuantificar el nitrógeno en el analito (Lanza, et al., 2016).

2.2.8 Determinación de proteínas

Este análisis se hizo con base en el resultado obtenido de la determinación de nitrógeno. No hizo falta realizar otro procedimiento, las proteínas se calcularon utilizando la siguiente ecuación:

$$\% P = \% N \times F \quad 2.4$$

Donde: $\% N$ es el nitrógeno cuantificado ($\% m/m$) y F es el factor de conversión. En el caso de aguas el valor es de 6.25.

Las proteínas contienen un 16% de nitrógeno, por ello, el factor 6.25 presupone esta relación entre nitrógeno-proteínas y otorga una estimación adecuada del contenido protéico de una muestra (Gavidia-Valencia, et al., 2020).

2.2.9 Cuantificación de huevos de helminto

Esta determinación se hizo con base en la NMX-AA-SCFI-2012. Se dejó precipitar la muestra durante un día y posteriormente se filtró en un tamiz de 170 μm . Finalmente, se identificó si había presencia de huevos de helminto en la muestra con una revisión del resultante de los filtrados en el microscopio.

2.2.10 Cuantificación de coliformes fecales

Se llevó a cabo con el método establecido en la NOM-113-SSA1-1994, la cual se hace a partir de los tubos positivos de la prueba presuntiva. El fundamento de este análisis se basa en la capacidad de las bacterias para fermentar lactosa y producir gas a una temperatura de incubación de 35 °C por 24 h, posteriormente se hizo el cálculo y el resultado se dio en NMP/100 ml.

2.3 Determinación de las condiciones óptimas de desarrollo y propagación de *Chlorella spp* y *Spirulina maxima*.

Cada una de las especies de microalgas utilizadas en el presente trabajo se deben adaptar a ciertas condiciones de operación para que puedan desarrollarse de manera óptima, a fin de mantenerlas en fase exponencial de crecimiento para su posterior inoculación en los fotobiorreactores operados con medio de cultivo y agua residual. Tales parámetros se describen a continuación.

2.3.1 Microalga *Chlorella spp*

La muestra de microalga dulce de especie *Chlorella* (Figura 2.2) se obtuvo del Centro de Estudios Técnicos del Mar (C.E.T. Mar 07) ubicado en Veracruz, donde se cultiva

de forma continua el un área de nombre “cuarto húmedo”, que se encuentra provisto de aire acondicionado, temperatura de $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y lámparas de luz fluorescente que brindan iluminación las 24 horas del día.

Según el *Culture Collection of Algae and Protozoa* (CCAP), el medio de cultivo adecuado para el desarrollo de la *Chlorella spp* es el bold basal modificado con triple cantidad de nitrógeno y vitaminas (3N-BBM+V). La metodología y los reactivos para su preparación se listan en el Anexo A.



Figura 2.2 *Chlorella spp*.

2.3.2 Microalga *Spirulina maxima*

La microalga de especie *Spirulina* (Figura 2.3) se consiguió de la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV). El acrónimo de esta especie es CDBB A-1484 y su aislador fue M. Lefevre en 1963.

Para el cultivo adecuado de esta especie, el CINVESTAV recomienda utilizar el medio UTEX, que se prepara con los reactivos y procedimiento indicados en el Anexo B.

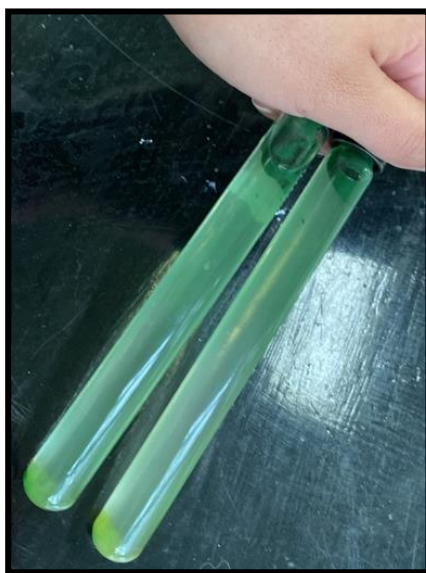


Figura 2.3 *Spirulina maxima*

2.3.3 Condiciones generales de propagación

Para sembrar y propagar las microalgas de ambas especies se utilizaron microfotobiorreactores a escala laboratorio, con las condiciones de operación de temperatura, luz y aireación utilizadas en los trabajos de investigación desarrollados por Martínez-Romero *et al.* (2018) y Caballero-García *et al.* (2019), en donde se indica que la temperatura ambiente es idónea para la operación de los reactores. El flujo de aire aplicado mediante una bomba es suficiente para suministrar CO₂ y al mismo tiempo mantener en agitación a los microorganismos, la iluminación se llevó a cabo en periodos de 12 h de luz y sombra usando para este fin una lámpara LED de 20 W, de luz fría y de 2,500 lux de intensidad. La alimentación a cada fotobiorreactor para cada una de las cepas se llevó a cabo cada 30 días.

2.4 Adaptación de los fotobiorreactores a escala laboratorio para el tratamiento del efluente avícola

Dada la naturaleza del residuo a tratar, se deben conservar las condiciones de temperatura, luminosidad y aireación óptimos y que fueron previamente descritos para

maximizar la remoción de materia orgánica contaminante en el efluente. Para la adaptación de ambas especies de microalgas en el agua residual avícola se hizo el cálculo de la carga orgánica volumétrica, que se tomó como el nivel medio, y a partir de ahí se establecieron valores equidistantes para determinar los niveles bajo y alto para el diseño experimental que se aplicará en la operación de los microfotobiorreactores. Los fotobiorreactores se operaron en modo batch, por lo que únicamente se administrará una carga orgánica única al inicio de la cinética.

Para la carga orgánica inicial únicamente se considera la del agua residual, sin contar la que pueda aportar el inóculo.

2.5 Determinación del efecto de los micronutrientes en el comportamiento de las microalgas para la remoción de compuestos orgánicos en las aguas residuales

Para que las microalgas se desarrollen de forma óptima, debe añadirse la dosis adecuada de nutrientes, ya que un desbalance podría afectar a los microorganismos, lo que se puede expresar en una disminución del crecimiento e incluso que el mismo se detenga. Los micronutrientes utilizados son cobre, manganeso, molibdeno y zinc. Para los micronutrientes Zn, Mn y Mo se emplearon las cantidades indicadas por Ghafari *et al.*, (2016), mientras que para Cu se utilizó lo indicado por Hamed *et al.*, (2017) y que se muestran en la Tabla 2.2, dosis que se demostró son subletales e incrementaron el crecimiento celular y el contenido lipídico de las microalgas.

Tabla 2.2 Dosis a evaluar de micronutrientes

Dosis	Micronutriente (en g/L)			
	ZnCl ₂	MnCl ₂	NaMoO ₄	CuSO ₄
I	0.0025	0.006	0.006	0.01
II	0.005	0.012	0.012	0.02
III	0.01	0.024	0.024	0.04

Para establecer las dosis 1 y 3 se eligieron cantidades equidistantes de la media que es la cantidad óptima recomendada de micronutrientes.

Se prepararon todos los micronutrientes en solución para posteriormente ser añadidos de acuerdo a la dosis que corresponde a la corrida experimental.

En cuanto a la carga orgánica proveniente del agua residual avícola que se usará como sustrato para el crecimiento algal, se utilizará únicamente la carga media de la total, correspondiente a 2.879 g/L de DQO.

2.6 Cinéticas de crecimiento

Para adaptar el desarrollo de las microalgas en el agua residual y determinar la dosis recomendada de micronutrientes se hicieron cinéticas de crecimiento celular en fotobiorreactores de plástico de 1000 mL con volumen útil de 500 mL, los cuales se mantuvieron en operación semicontinua por un periodo de 21 días para la adaptación de las cepas microalgales y posteriormente otros 21 días para el desarrollo celular, añadiendo diario 10 mL de agua residual avícola y extrayendo la misma cantidad de los fotobiorreactores. Las condiciones de temperatura, aireación e intensidad lumínica descritas en el apartado de “condiciones generales de operación” se mantuvieron para el desarrollo de los puntos 2.4 y 2.5.

2.7 Diseño experimental

Para la adaptación de las microalgas en el agua residual y eficientar su crecimiento con la adición de micronutrientes se utilizó un diseño experimental unifactorial con seis respuestas y dos réplicas. El factor a considerar es la dosis de micronutrientes evaluada en tres niveles, como se observa en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3 Diseño experimental

Factor	Niveles		
	Bajo	Medio	Alto
Dosis micronutrientes	I	II	III

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente capítulo describe los resultados obtenidos en la etapa de experimentación de acuerdo a lo establecido en la metodología, a fin de cumplir los objetivos generales y particulares y encontrar la concentración adecuada de micronutrientes que mejoren el metabolismo de las microalgas para eficientar el proceso de remoción de compuestos orgánicos en aguas residuales de origen avícola.

3.1 Recolección de la muestra

Una vez que se obtuvo la muestra de agua residual de la industria avícola (Figura 3.1), se llevó al Laboratorio de Ambiental II, donde se almacenó en recipientes de plástico limpios y a una temperatura de 4 °C, la cual es apta para evitar toda aquella actividad biológica que pueda provocar la descomposición de la muestra, permitiendo de esa forma realizar todas las actividades de experimentación.



Figura 3.1 Agua residual avícola cruda

3.2 Caracterización fisicoquímica del efluente

Los resultados de las determinaciones fisicoquímicas y microbiológicas realizadas al agua residual de origen avícola se muestran en la Tabla 3.1. El pH concuerda con el valor de 6.13 reportado por Basitere *et al.*, (2019). Como se puede observar, la muestra es ligeramente ácida, lo cual es ocasionado por la suplementación del alimento de las aves con diversos ácidos orgánicos, los cuales son usualmente añadidos en el agua de bebida (Ángel-Isaza *et al.*, 2019). La temperatura de salida del efluente es similar a la ambiental, y la NOM-001-SEMARNAT-2021 establece como límite máximo permisible 35 °C, por lo que esta agua se encuentra dentro de los límites establecidos en la normatividad mexicana para su descarga en cuerpos de agua.

Tabla 3.1 Resultados de la caracterización fisicoquímica y microbiológica al agua residual

Análisis	Resultado	Unidades
pH	6.04	
Temperatura	25	°C
DQO soluble	5,578.17	mg/L
ST	0.78415	% m/m
STV	77.6089	% m/m
Turbidez	952	NTU
O ₂ disuelto	1.50	mg/L
Saturación de O ₂	19.10	%
Conductividad eléctrica	0.830	mS/cm
Fósforo total	0.0004958	mg/L
Nitrógeno total Kjeldahl	0.19	%
% Proteínas	1.19	%
Huevos de helminto	No se encontró	
Coliformes totales	1.1x10 ¹¹	NMP / 100 mL

En cuanto a la DQO, el resultado obtenido es cercano al indicado por Yaakob *et al.*, (2018) de 5,422.25 mg/L. Es bien sabido que la DQO indica la cantidad de materia

orgánica contenida en la muestra, por lo que, en el caso del agua residual avícola, la presencia de materia fecal, sangre y grasa pueden incrementar este valor (Meiramkulova, et al., 2022). El efluente avícola tiene una alta turbidez, como lo confirma el resultado obtenido por Caldera *et al.*, (2017) de 1,100 NTU. Este parámetro es consecuencia de la presencia de los mismos compuestos contaminantes orgánicos que elevan la DQO del agua residual. El resultado del oxígeno disuelto concuerda con el hallado por Oyewale *et al.*, (2018) de 1.2 mg/L. Este factor y la saturación indican la cantidad de oxígeno disponible para las diversas especies de flora y fauna en los ambientes acuáticos, pero se debe tener en cuenta que la mayoría de tales especies necesitan al menos 5 mg/L o una saturación de 80 a 120 % de O₂ para sobrevivir (Bozorg-Haddad *et al.*, 2021). Por lo anterior, se puede deducir que verter el agua residual en los mantos acuíferos resultaría nocivo para la biota de tal ecosistema. En cuanto al fósforo contenido en la muestra, la cantidad encontrada es inferior a los 120 mg/L reportados por De Moraes-Pinto *et al.*, (2015). Tal variación puede deberse a los tratamientos previos a la disposición final que llevan a cabo las procesadoras de aves a su agua residual. El fósforo en aguas servidas es el que ocasiona la eutrofización o el crecimiento excesivo de algas y plantas macrófitas en los cuerpos receptores, que con la densidad de las raíces posteriormente impedirán la incidencia de la luz del sol dentro del agua lo que finalmente provoca que los peces no se puedan desarrollar y las plantas acuáticas no realicen la fotosíntesis adecuadamente (Bunce *et al.*, 2018). Ya que la mayoría de los parámetros están fuera de los valores máximo permisibles, el efluente debe ser procesado antes de su descarga final. Usualmente, se emplean tratamientos tales como la floculación con aire disuelto (DAF), para eliminar aceites, grasas y contaminantes cuyas partículas sean pequeñas (Sánchez, et al., 2017), así como sedimentación, coagulación, biodegradación o filtración (Terán-Hilares, et al., 2021), que, si bien son técnicas ampliamente usadas, no retiran en su totalidad patógenos o contaminantes microparticulados (Phoon, et al., 2020). Por ello, de igual manera se puede revalorizar tal residuo dándole usos alternativos, por ejemplo, a partir de los lodos avícolas se puede fabricar un carbón activado para el aprovechamiento de su materia orgánica, así como la eliminación total de microorganismos patógenos

(Rojas-Morales, et al., 2016). También, aplicando ciertas cepas de microalgas, se puede llevar a cabo la biorremediación del agua residual, lo que contribuiría a disminuir su DQO y contenido en metales pesados, generando una biomasa algal con gran contenido en nutrientes (Oliveira, et al., 2018).

3.3 Determinación de las condiciones adecuadas de propagación y desarrollo de las microalgas

3.3.1 Temperatura

Aunque la elección de la temperatura adecuada dependerá del tipo de cepa microalgal a utilizar, este es un parámetro que juega un papel importante en el desarrollo de las microalgas, si se aumenta o disminuye fuera del rango tolerado por estos microorganismos puede haber una disminución de la biomasa o muerte celular en el cultivo. En el presente trabajo, las dos cepas de microalgas se cultivaron a temperatura ambiente, ya que, como indican Barten *et al.*, (2020), la mayoría de las microalgas de interés industrial crecen en un rango de 20 a 30 °C, por lo que se les denomina organismos mesófilos.

3.3.2 Iluminación

A diferencia de Sánchez-Borroto *et al.*, (2019), quienes utilizaron lámparas fluorescentes de 36 W que irradiaban 2,000 lux de intensidad lumínica continua, en esta investigación se usaron lámparas LED de luz fría de 20 W y 2,500 lux. Para la mayoría de las especies de microalgas es recomendable utilizar luz roja en un espectro de onda entre 600 y 700 nm, el cual es el óptimo para favorecer su crecimiento, ya que el pigmento más abundante en diversas cepas microalgales es la clorofila, que puede absorber más fácilmente la longitud de onda emitida por la luz roja (Wang *et al.*, 2014). Por otro lado, la intensidad de luz adecuada para el desarrollo de las microalgas oscila en el rango de 26 a 400 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Para hacer la conversión de lux a esta unidad hay que tener en cuenta la siguiente consideración: 250 lux emitidos por

una lámpara halógena de tungsteno incandescente equivalen a $5 \mu\text{mol}$ de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ o $1 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$, mientras que la misma cantidad de luxes en una lámpara fluorescente blanca fría equivalen a $3.5 \mu\text{mol}$ de fotones $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ o $0.763 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ (Maltsev *et al.*, 2021), por lo que haciendo la conversión con los parámetros usados en el presente trabajo, se tiene que la lámpara fluorescente de luz blanca fría de 2,500 lux emite una intensidad de $35 \mu\text{mol}$ de fotones $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ o $7.63 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$. Con el resultado anterior, se puede observar que la intensidad utilizada en esta investigación está dentro del rango óptimo de intensidad lumínica. En cuanto a los periodos de luminosidad, es recomendable que existan etapas de luz y sombra, ya que la oscuridad es necesaria para llevar a cabo el ciclo de Calvin-Benson, por el cual se reduce el CO_2 y se producen gliceraldehído, ADP, NADP y otras moléculas orgánicas encargadas de proporcionar energía a las células de las microalgas (Dogutan y Nocera, 2019). Aunque son usualmente aplicados los ciclos de 12:12 h de luz y sombra, investigaciones recientes indican que los lapsos adecuados de iluminación constan de 16 h de luz y 8 de sombra, utilizando lámparas fluorescentes de $200 \mu\text{mol}$ de fotones $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ de intensidad (Whitton *et al.*, 2019).

3.3.3 Aireación

En su investigación, para obtener resultados óptimos en la biorremediación de aguas residuales urbanas utilizando una cepa de *Chlorella*, Ye *et al.*, (2018) hicieron uso de reactores batch con un flujo de aire de entre 0.1 a 0.4 L/min, que difiere con el flujo empleado en el presente trabajo, de 1.5 L/min. La cantidad de aire suministrado dependerá del tipo, forma y volumen del biorreactor a emplear y de la cepa de microalga utilizada (Daneshvar *et al.*, 2021), ya que su deficiencia puede conllevar a la formación de grumos por la precipitación de la biomasa, y el exceso de aireación conlleva una fuerza de corte mayor que puede ocasionar lisis en la pared celular, lo cual finalmente disminuirá la tasa de crecimiento celular (Wang y Lan, 2018).

3.4 Determinación del efecto de los micronutrientes en el comportamiento de las microalgas para la remoción de compuestos orgánicos en las aguas residuales.

Para fomentar el correcto desarrollo de las microalgas se añadieron tres dosis de micronutrientes, a fin de evaluar si había un mejoramiento en el metabolismo algal así como la dosis más adecuada para cada cepa microalgal. Los resultados por cepa se describen a continuación.

3.4.1 *Chlorella spp.*

El primer parámetro evaluado en los cultivos de *Chlorella spp.* fue el pH. En la Figura 3.2 se puede observar que se mantiene un valor constante hasta la adición de micronutrientes en el día 21, donde se aprecia un aumento para las tres dosis y posteriormente se mantiene estable hasta el fin del proceso.

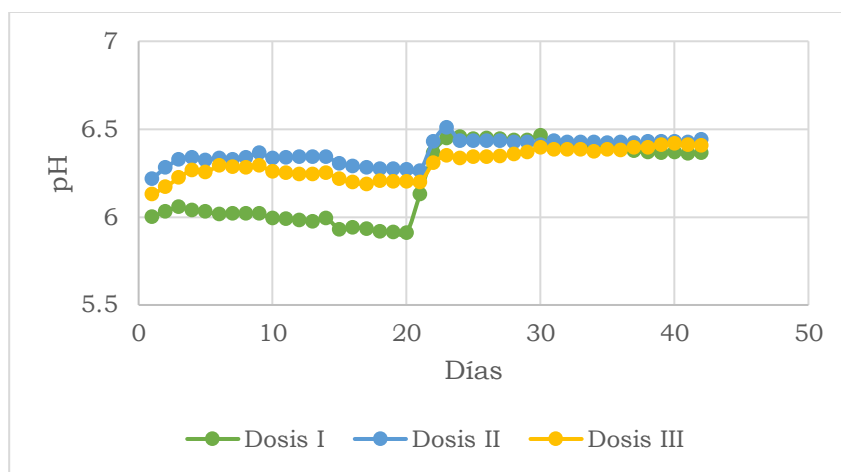


Figura 3.2 pH en cultivos de *Chlorella spp.*

La microalga de especie *Chlorella* crece de forma adecuada en un medio que tenga un pH entre 7 y 8 (Ramos *et al.*, 2018), por lo que la adición de micronutrientes fomentará el crecimiento algal.

Para el análisis de crecimiento algal mediante la cuantificación de la densidad celular de los cultivos, la dosis 1 presentó menor cantidad de células como se puede observar en la Figura 3.3, mientras que en la dosis 3 hubo un mayor crecimiento celular. Las

soluciones de metales traza u oligoelementos contribuyen al mejoramiento de los procesos biológicos o metabólicos efectuados por organismos fotosintéticos (Rodríguez *et al.*, 2018), uno de ellos es el crecimiento celular. Además, es importante recalcar que el ciclo de vida de la especie algal *Chlorella* dura aproximadamente 8 días (Malagón-Micán *et al.*, 2020), por lo que la adición de micronutrientes contribuyó a la prolongación del ciclo de vida.

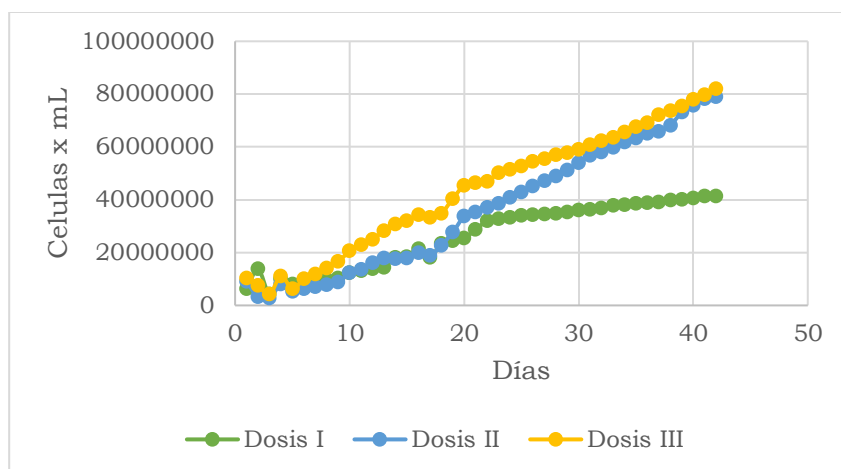


Figura 3.3 Densidad celular en *Chlorella spp*

Los sólidos totales en las tres dosis presentaron una tendencia a disminuir de forma gradual hasta llegar a niveles muy bajos, como se observa en la Figura 3.4. En los fotobiorreactores, los sólidos totales se componen de biomasa algal, así como diversos fragmentos sólidos provenientes del agua residual.

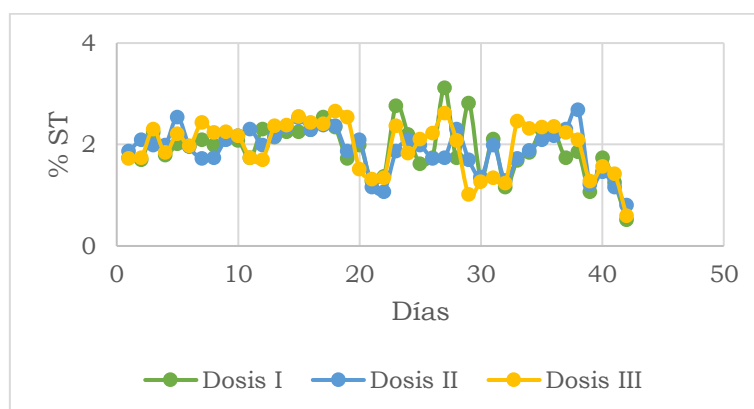


Figura 3.4 Sólidos totales en *Chlorella spp.*

Al igual que los sólidos totales, los volátiles presentan un comportamiento similar en las tres dosis aplicadas, con tendencia a la disminución en los días finales del proceso (Figura 3.5). Los sólidos totales volátiles corresponden a una fracción de la materia orgánica contenida en una muestra (Geddes *et al.*, 2014), por ello, la disminución de estos indica que se está llevando a cabo la remoción de materia orgánica.

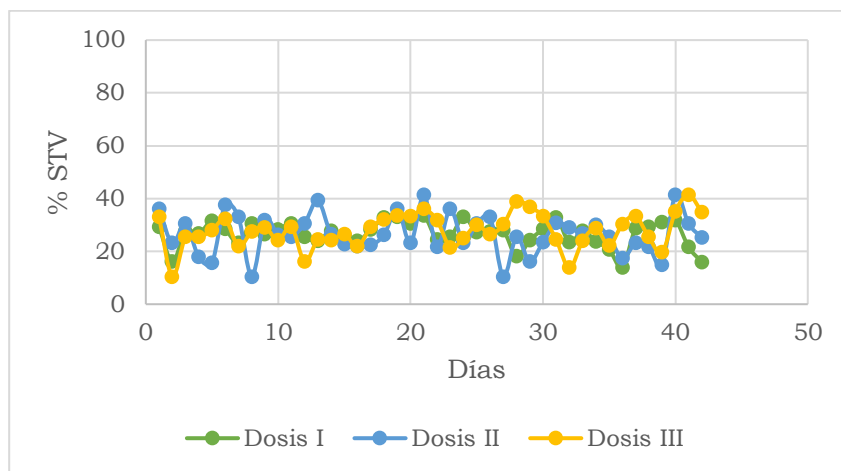


Figura 3.5 Sólidos totales volátiles en *Chlorella spp.*

En el caso de la DQO soluble, en la gráfica de la Figura 3.6 se observa que a lo largo de los 42 días de proceso hubo una remoción en la carga orgánica contenida en los microfotobiorreactores, alcanzando valores muy pequeños después de la adición de los micronutrientes. Según los resultados obtenidos, se puede obtener mediante cálculos la eficiencia de remoción de DQO del sistema, que resulta ser de al menos el 96% para la dosis 3, 99.14% en la dosis 2 y 98% en la dosis 1.

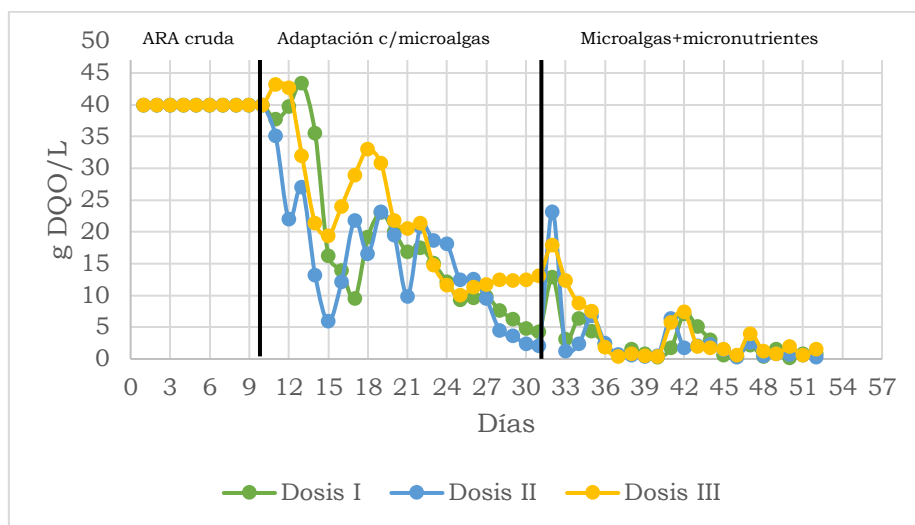


Figura 3.6 DQO soluble en *Chlorella spp.*

La DQO inicial tuvo un valor de 39.95 g/L. En la gráfica se muestran los tres pasos del proceso: los fotobiorreactores conteniendo únicamente agua residual, posteriormente la etapa en la que se añaden microalgas para el tratamiento del agua residual y finalmente la adición de micronutrientes a los cultivos algales, donde se logra la mayor remoción de materia de carácter orgánico.

Es importante mencionar que las microalgas no llevan a cabo el proceso de remoción de DQO en los residuos, sino las bacterias aerobias presentes en el efluente las cuales generan CO₂ el cual posteriormente es aprovechado en la fotosíntesis por la microalga (Gutiérrez-Casiano *et al.*, 2022).

En el tratamiento de aguas residuales con microorganismos tales como la algas microscópicas es importante evaluar la generación de biomasa, misma que se ve influenciada por el cultivo de las microalgas en el agua residual avícola (Tan *et al.*, 2018). Como se observa en la Figura 3.7, las tres dosis de micronutrientes contribuyen en igual medida a la generación de biomasa algal, ya que no se observan diferencias significativas entre dosis.

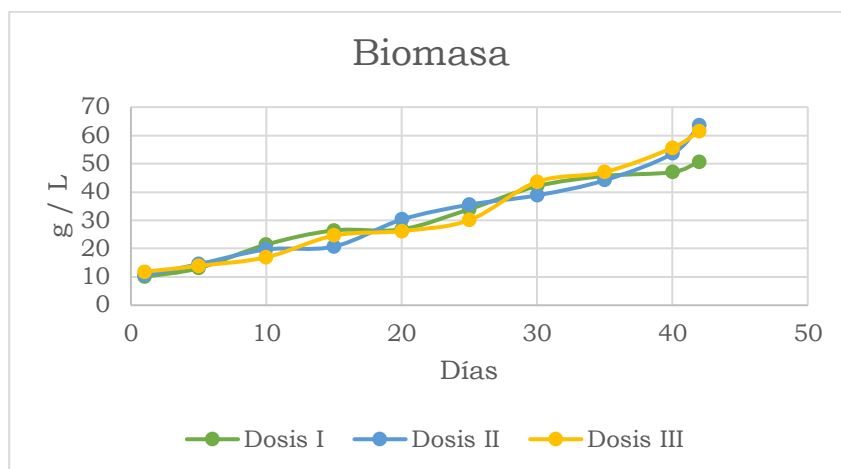


Figura 3.7 Biomasa en *Chlorella spp.*

La dosis I fue la que menor cantidad de biomasa presentó, con un total de 50.73 g/L, mientras que la dosis II tuvo 61.53 g/L y la dosis III 63.52 g/L. El cultivo de microalgas en agua residual, y el uso de micronutrientes influyen y mejoran el crecimiento y producción de biomasa algal (Gonçalves *et al.*, 2018).

Los rendimientos de biomasa en relación a la DQO removida son los siguientes: 1.039 g biomasa / g DQO removida para la dosis I, 1.335 g biomasa / g DQO removida en la dosis II y 1.296 g biomasa / g DQO removida para la dosis III.

3.4.2 *Spirulina maxima*

La cepa algal de *Spirulina* presentó un descenso en el valor del pH a partir de la adición de los micronutrientes en el día 21, como se aprecia en la Figura 3.8. Este resultado es similar al obtenido con el alga *Chlorella*, y se observa que los oligoelementos tienden a neutralizar al medio. La baja del pH en el cultivo de *Spirulina* puede deberse a la generación de CO₂ durante el proceso, ya que hay una relación entre estos dos factores: a mayor cantidad de dióxido de carbono, el valor de pH tenderá a disminuir (Hudson *et al.*, 2020), teniendo como base científica la Ley de Henry.

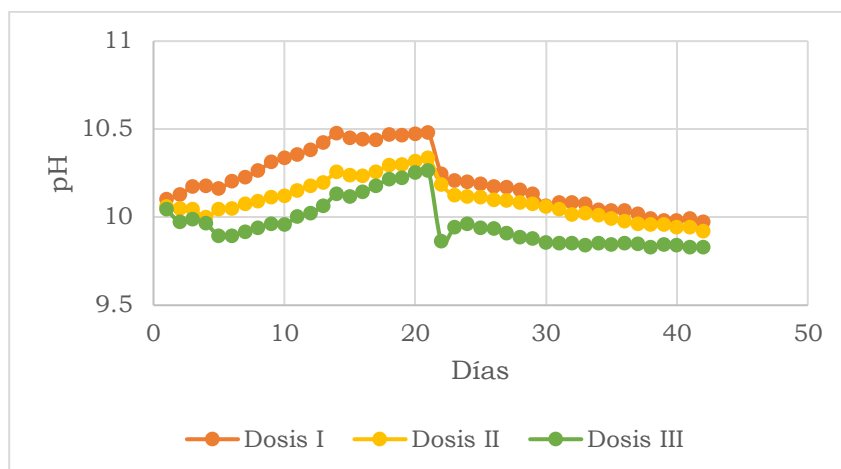


Figura 3.8 pH en cultivos de *Spirulina maxima*

La *Spirulina maxima* presentó mayor crecimiento celular en la dosis 1, como se puede observar en la Figura 3.9. La dosis 3 presentó menor eficiencia en cuanto a la generación de células algales y la dosis 2 tuvo un resultado intermedio entre las dos anteriores.

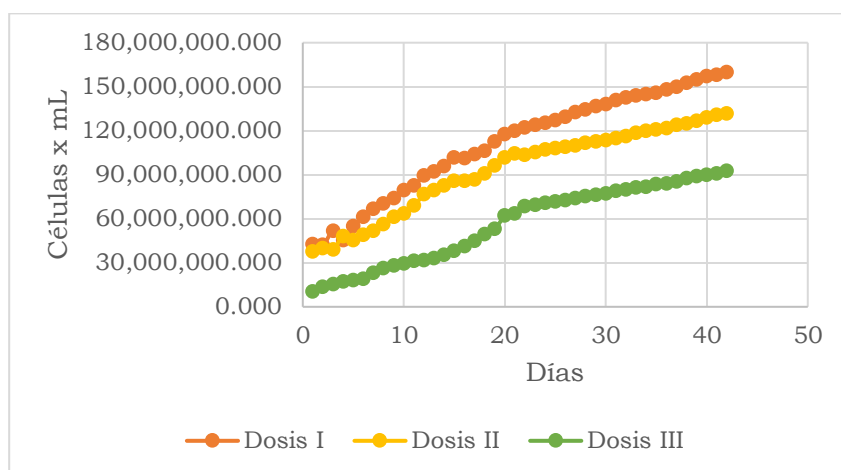


Figura 3.9 Densidad celular en *Spirulina maxima*

Es importante mencionar que esta especie presenta mayor absorción de metales traza en medios con pH de 7 (Gómez-Merchán, 2018), y al someter los cultivos a un nivel de basicidad mayor los micronutrientes no favorecen el crecimiento celular.

La cantidad de sólidos totales es en general mínima para todos los cultivos, y aún así, con la adición de micronutrientes, los sólidos disminuyeron al final del tiempo del

procesos en las tres dosis. A comparación de la *Chlorella*, se puede apreciar que esta cepa presentó menor cantidad de sólidos totales (Figura 3.10).

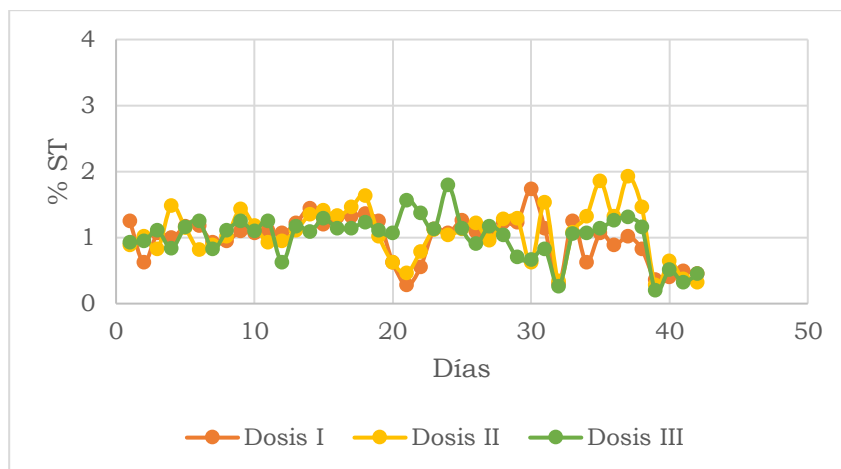


Figura 3.10 Sólidos totales en *Spirulina maxima*

Los sólidos totales volátiles se presentan en mayor cantidad en las cepas de *Spirulina*, como indica la Figura 3.11, por lo que se puede inferir que tales cultivos tienen mayor concentración de materia orgánica a diferencia de los reactores de *Chlorella spp.*

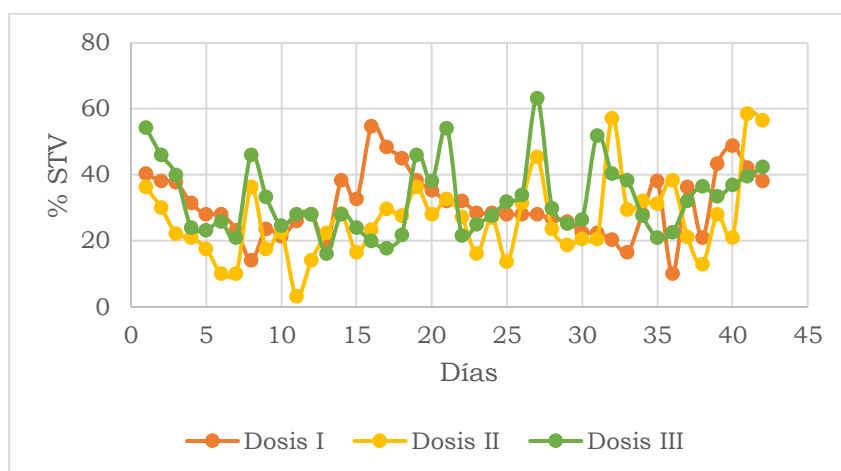


Figura 3.11 Sólidos totales volátiles en *Spirulina maxima*

En cuanto a la carga orgánica, este parámetro presentó un descenso en las tres dosis (Figura 3.12). Hubo aumento en la DQO el día 21 mismo en que se adicionaron los micronutrientes. Se alcanzaron porcentajes de remoción de DQO del 88% para la dosis 1, del 94% para la dosis 2 y del 98% para la dosis 3.

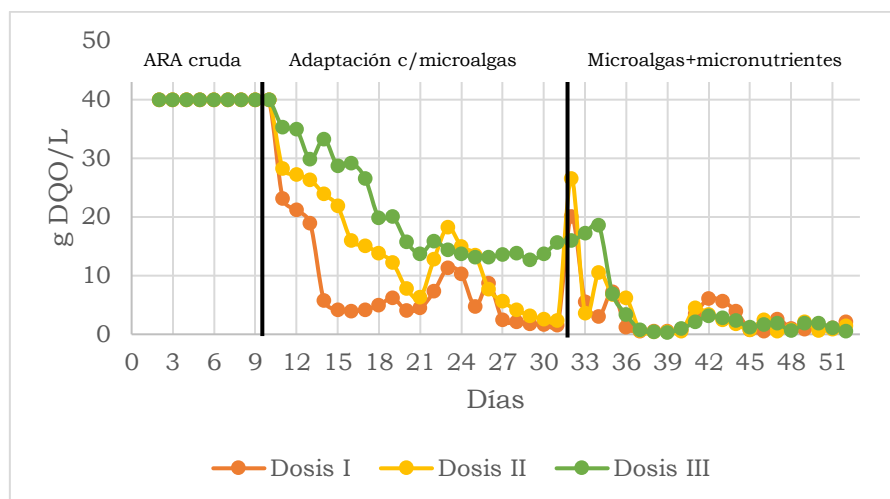


Figura 3.12 DQO soluble en *Spirulina maxima*

Al igual que con la especie algal anterior, en esta cepa se siguió el procedimiento de adicionar primero el agua residual cruda a los fotobiorreactores, posteriormente agregando *Spirulina* a cada uno para el tratamiento del efluente y seguido de añadir las diversas dosis de micronutrientes para mejorar el metabolismo algal y contribuir a la remoción de la carga orgánica.

El resultado de biomasa para la cepa de *Spirulina maxima* se puede observar en la Figura 3.13. Las tres dosis favorecen la producción de biomasa, aunque en la dosis III se tuvo un resultado más bajo, con un total de 76.66 g/L, mientras que la dosis I y II tuvieron resultados muy similares, de 91.02 g/L y 93.73 g/L, respectivamente. Se ha demostrado que la adición de micronutrientes inorgánicos (tales como Fe, Mg, Mn) en cultivos algales ayudan al desarrollo celular, producción de lípidos y almacenamiento de carbonhidratos, proteínas, pigmentos y carotenoides en las microalgas (Suastes-Rivas *et al.*, 2020).

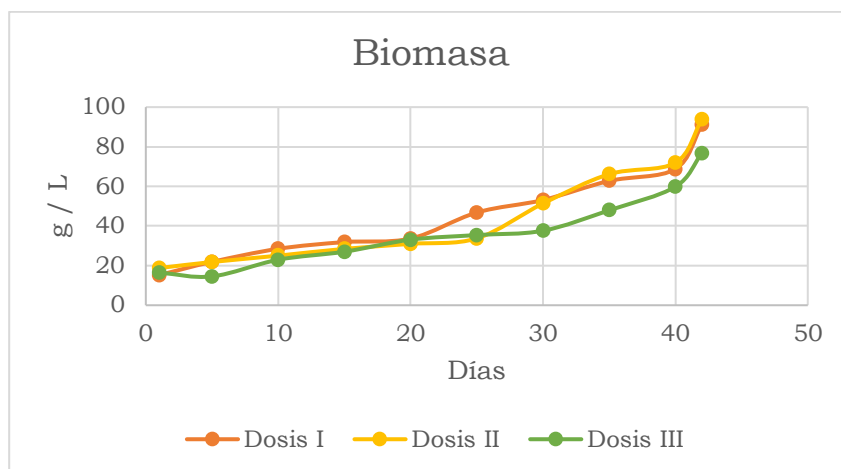


Figura 3.13 Biomasa en *Spirulina maxima*.

En cuanto a los rendimientos biomásicos en relación a la cantidad de materia orgánica removida, se tuvieron los siguientes resultados: para la dosis I, por cada gramo de DQO removida se generaron 2.001 g de biomasa, en la dosis II se produjeron 1.946 g biomasa / g DQO removida y finalmente en la dosis III se obtuvieron 1.524 g biomasa / g DQO removida.

3.5 Parámetros cinéticos

La ecuación de Gompertz utilizada para modelar el crecimiento de las microalgas fue la siguiente:

$$Y = a * \exp(-\exp(b - c * T)) \quad (3.1)$$

Donde Y indica el crecimiento celular en función al tiempo, a es la población máxima, b es el resultado de multiplicar la velocidad específica de crecimiento por la fase de latencia entre la población máxima más uno, y el parámetro c es la tasa de retardo. Las ecuaciones de Gompertz obtenidas para cada una de las dosis fueron las siguientes:

$$Y = 0.8455 * \exp(-\exp(1.263 - 0.1221 * 42)) \quad (3.2)$$

$$Y = 0.9067 * \exp(-\exp(2.326 - 0.1757 * 42)) \quad (3.3)$$

$$Y = 0.8303 * \exp(-\exp(1.995 - 0.1723 * 42)) \quad (3.4)$$

Mediante los modelos anteriores se obtuvieron los parámetros cinéticos correspondientes a la población máxima, fase lag, duración de fase de latencia y tiempo de generación, además de sus correspondientes gráficas de los cuales se desglosan en la Tabla 3.2 para *Chlorella spp.*

Tabla 3.2 Parámetros cinéticos de *Chlorella spp.*

	a	b	c	μm	λ	G	R ²	Suma de cuadrados
Dosis I	0.8455	1.263	0.1221	0.103236	2.153972	6.71423	99.58%	0.01281
Dosis II	0.9067	2.326	0.1757	0.159307	7.546955	4.35101	99.11%	0.03379
Dosis III	0.8303	1.995	0.1723	0.143061	5.774811	4.845127	99.12%	0.03007
Desviación Estándar	0.03302094	0.4441414	0.024505	0.023556	2.244381	1.017759		

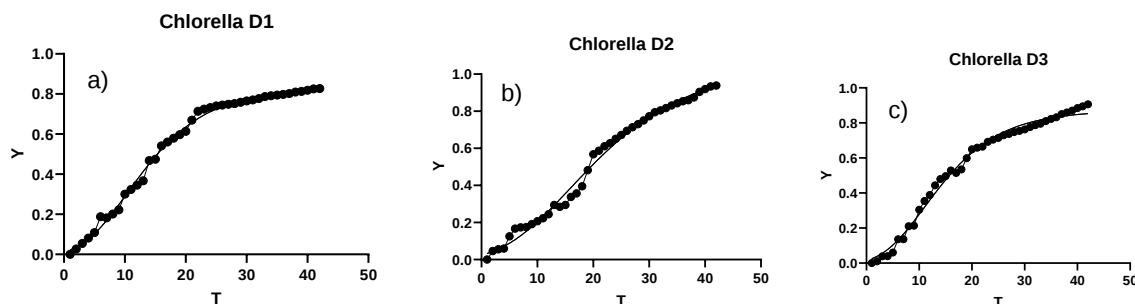


Figura 3.14 Gráficas ajustadas al modelo de Gompertz para el crecimiento de *Chlorella spp.*

La dosis II, modelada en la Ecuación 3.3 y mostrada en la Figura 3.14 b) alcanzó una población máxima mayor a comparación de las otras dos dosis, sin embargo, el cultivo con la dosis I, Ecuación 3.2 y Figura 3.14 a), tuvo una fase de latencia menor, iniciando primero la fase exponencial. Finalmente, el tiempo de generación fue mayor en la dosis I, alcanzando un tiempo de 6 días, mayor en casi 2 días a la dosis II y III. Por ende, la mejor dosis para el crecimiento algal es la I. El grado de ajuste del modelo de Gompertz para cada una de las dosis fue el siguiente: para la dosis I del 99.58%, dosis II el 99.11% y para la dosis III 99.12%.

En cuanto a la *Spirulina maxima*, los modelos matemáticos hallados para una de las dosis de micronutrientes son los siguientes:

$$Y = 0.8297 * \exp(-\exp(1.111 - 0.1371 * 42)) \quad (3.5)$$

$$Y = 0.5532 * \exp(-\exp(0.225 - 0.1428 * 42)) \quad (3.6)$$

$$Y = 0.9621 * \exp(-\exp(0.9275 - 0.1148 * 42)) \quad (3.7)$$

Los diversos parámetros obtenidos se enuncian en la Tabla 3.3 y las gráficas de crecimiento se observan en la Figura 3.14. También, se muestran las gráficas correspondientes al crecimiento microbiano de acuerdo a cada una de las dosis aplicadas.

Tabla 3.3 Parámetros cinéticos para *Spirulina maxima*

	a	b	c	μm	λ	G	R ²	Suma de cuadrados
Dosis I	0.8297	1.111	0.1371	0.110682	0.832084	6.2625116	98.67%	0.01571
Dosis II	0.5532	0.225	0.1428	0.078997	5.42717	8.774353	98.96%	0.01216
Dosis III	0.9621	0.9275	0.1148	0.110449	0.63153	6.275717	98.92%	0.03304
Desviación Estándar	0.17035297	0.381834	0.011635	0.014882	2.2149288	2.673296		

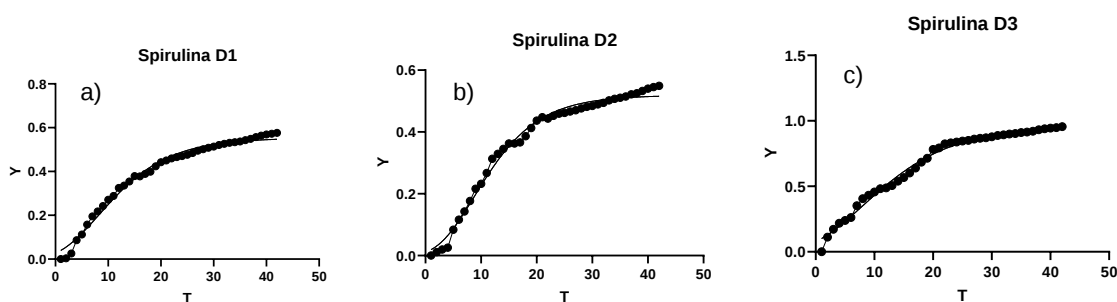


Figura 3.15 Gráficas ajustadas al modelo de Gompertz para el crecimiento de *Spirulina maxima*

En este caso, la máxima población alcanzada fue en los reactores adicionados con la dosis III, plasmada en la Ecuación 3.7 y Figura 3.15 c), mientras que las dosis I y II

presentaron poblaciones máximas menores. Para el tiempo de generación, este es similar en las dosis I y III y la tasa de crecimiento fue menor en la dosis II (Ecuación 3.6), aunque el tiempo de generación mayor lo obtuvo la dosis II, con 8 días. Con lo anterior, se puede determinar que la mejor dosis para la mejora del desarrollo celular en *Spirulina maxima* es la III (Figura 3.15 c) ya que tarda menos días en alcanzar la población máxima. Los coeficientes de correlación para cada una de las dosis en esta cepa fueron: en la dosis I, 98.67%, la dosis II de 98.96% y la dosis III un 98.92%.

3.6 Análisis de color

Los resultados de los tres parámetros de color evaluados en ambas especies de microalgas se pueden observar en las siguientes imágenes. La figura 3.16 a) muestra el comportamiento de la luminosidad en la cepa *Chlorella spp.* Se puede observar que en los primeros días de proceso este valor tiende a aumentar hasta mantenerse en valores constantes de 40 unidades en las tres dosis.

En cuanto a la cepa de *Spirulina maxima*, la dosis II presenta valores menores generales de luminosidad, seguida de la dosis III. La que mostró resultados más altos fue la dosis I, teniendo como valor final 43.06.

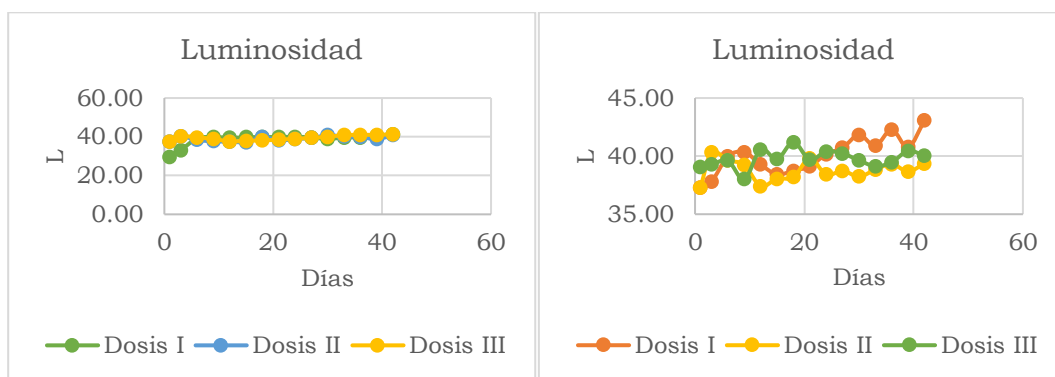


Figura 3.16 Resultados de luminosidad en ambas microalgas

Las lecturas de luminosidad y su tendencia al incremento indican que las muestras van volviéndose más claras conforme el proceso de depuración biológica va avanzando (Owens *et al.*, 2019).

El comportamiento de la coordenada *a* en la *Chlorella spp* (Figura 3.17 a)) fue casi similar en las tres dosis, presentándose lecturas en el rango de 0.20 a 0.40 unidades, mientras que en la cepa de *Spirulina maxima* esta coordenada tuvo resultados más bajos, entre 0.40 a 0.04. Dado que este eje indica la tonalidad entre el rojo y verde, se puede interpretar que ambas muestras tienen una muy ligera tendencia hacia el rojo, que puede deberse a que el agua residual entre sus componentes tiene sangre de las aves procesadas (Ngoben *et al.*, 2022).

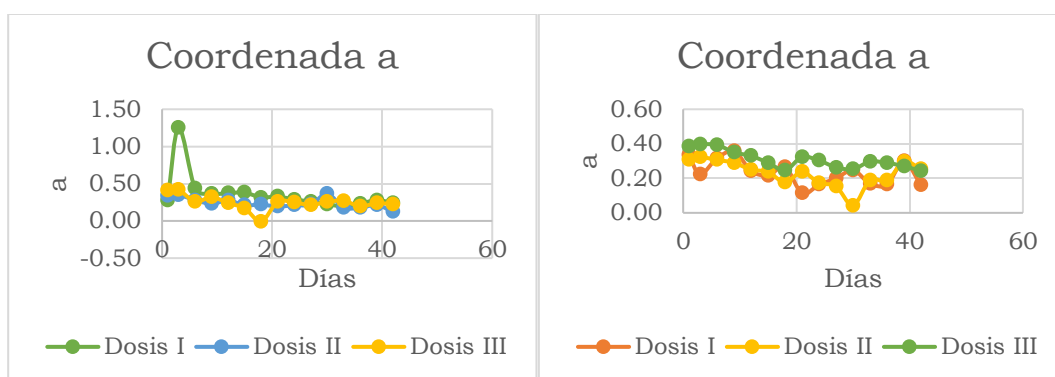


Figura 3.17 Resultados de la coordenada “a” en ambas microalgas

Posteriormente los valores disminuyen hasta casi llegar al valor cero, que indica cercanía a la tonalidad blanca en las muestras.

En cuanto al eje *b*, en la Figura 3.18 se puede notar que en ambas especies los resultados están dados en números negativos, lo cual es indicador de una tendencia al tono azul (Gómez-Polo *et al.*, 2023). En el caso de la *Spirulina maxima* (Figura 3.18 b)), se puede observar que se presentaron valores más negativos que en la especie *Chlorella*, lo cual es consistente ya que a la variedad de las *Spirulinas* se les considera algas verde-azuladas, por ello se les denomina cianófitas (Fernández-Honores *et al.*, 2019).

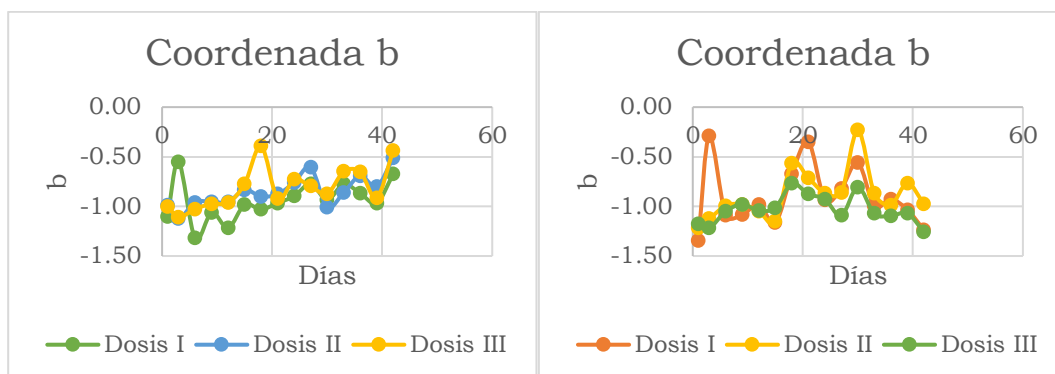


Figura 3.18 Resultados de la coordenada “b” en ambas microalgas

3.7 Turbidez

Los resultados de la evaluación de este parámetro para ambas variedades de microalga se muestran en la Figura 3.19. El inciso a) indica los valores para *Chlorella spp.*, y se aprecia que en las tres dosis se logró una remoción de turbidez muy evidente. En la dosis I, se inició el proceso con un valor de 248 NTU, finalizando con 11.82 NTU, en la dosis II fue de 385 NTU a 16.17, mientras que en la dosis III la primer lectura de turbidez fue de 234 NTU, concluyendo la corrida con un total de 21.27 NTU. Con los valores anteriores se tiene que los porcentajes de remoción son los siguientes: 95.23% en la dosis I, 95.8% para la II y finalmente 90.91% en la dosis III.

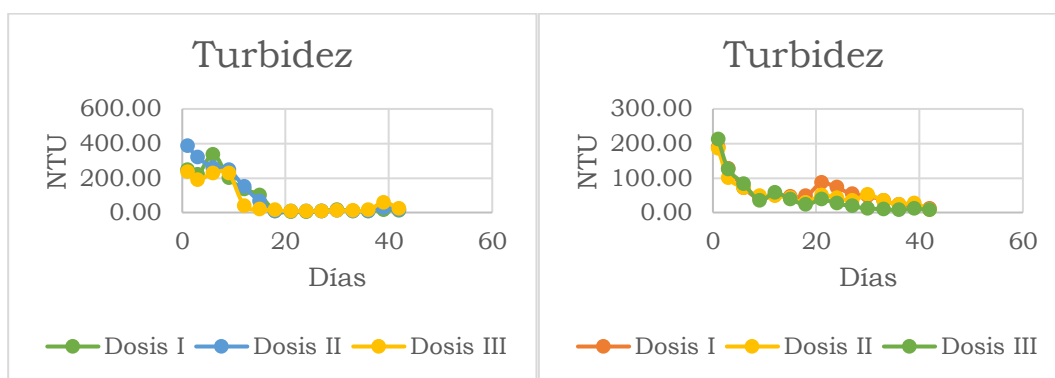


Figura 3.19 Resultados de turbidez en ambas microalgas

En el caso de la especie *Spirulina maxima* (Figura 3.19 b)) de igual manera se observa una notoria remoción de turbidez para todas las dosis y corridas. En la dosis I la lectura inicial fue de 189.33 NTU y la final de 11.60 NTU, en la II se empezó con 184.33 NTU

para terminar con 6.89 NTU, mientras que la tercera dosis presentó valores de 212.33 NTU y 7.07 NTU. Con base en lo anterior, los porcentajes de remoción para cada dosis son: 93.87% para la dosis I, 96.26% para la II y 96.67% para la última dosis de micronutrientes.

Los resultados de turbidez son consistentes con los de la DQOs, ya que la disminución de turbidez en una muestra se debe a la degradación de materia orgánica presente en forma de sólidos en suspensión (Gillpavas *et al.*, 2017).

Finalmente, en las siguientes imágenes se muestra cómo se fue llevando a cabo el tratamiento de las aguas residuales y su resultado final. La Figura 3.20 ilustra la calidad del agua residual recién muestreada de la planta procesadora, con gran cantidad de partículas en suspensión así como materia orgánica que le confieren al efluente gran turbidez.

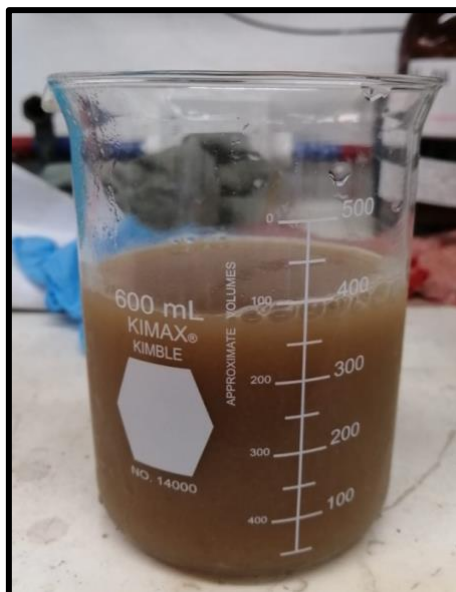


Figura 3.20 Agua residual proveniente de la industria avícola

En la Figura 3.21 se muestra la inoculación de algas de especie *Spirulina maxima* y *Chlorella spp* en el efluente avícola. Todos los fotobiorreactores se prepararon con la misma cantidad de agua residual y microalga.



Figura 3.21 Algas cultivadas en agua residual avícola

Finalmente, en la Figura 3.22 se puede percibir que las partículas que le otorgaban la turbidez y la coloración oscura al agua residual ya no se encuentran en la muestra, debido a que fueron aprovechadas por las microalgas y las bacterias aerobias durante el proceso de depuración y limpieza del efluente, generando como producto final una biomasa algal rica en nutrientes.

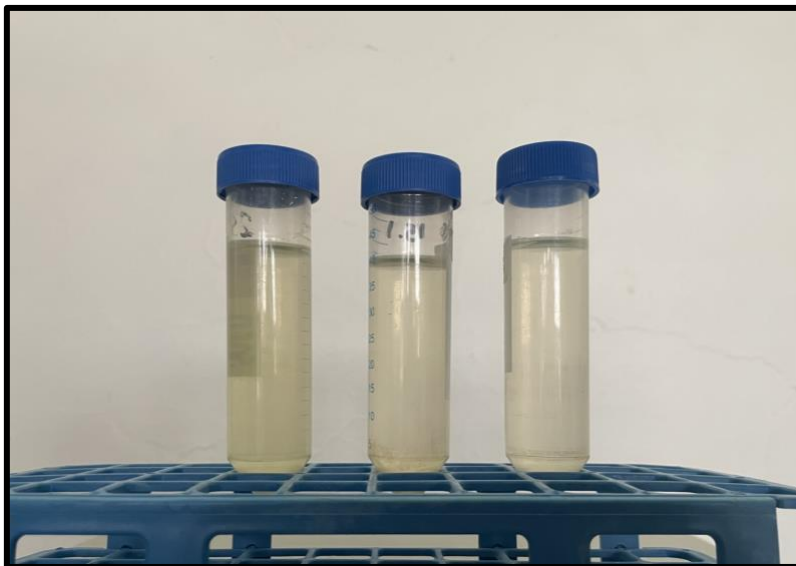


Figura 3.22 Agua residual posterior al tratamiento con microalgas

3.8 Análisis estadístico

Para la *Chlorella spp*, se encontró que ninguna de las respuestas (densidad celular, pH, DQO, sólidos totales y volátiles) fue estadísticamente significativa. La densidad celular tuvo como valor p 0.917, para pH el resultado fue $p=0.073$, la DQOs resultó en $p=0.803$, los sólidos totales tuvieron un p -value de 0.325 mientras que en los volátiles fue de $p=0.166$.

De acuerdo a la comparación de medias por Tukey (Tabla 3.4) ninguno de los análisis de respuesta tuvo diferencia entre las mismas, ya que todas las variables comparten la misma letra “a”, lo cual concuerda con el estadístico realizado.

Tabla 3.4 Resultados análisis estadístico en *Chlorella spp*.

Dosis	DQO (g/L)	ST (% m/m)	STV (%m/m)	Densidad celular (Cel/mL)	pH	Biomasa (g/L)
I	617.83 ^(a)	0.867633 ^(a)	39.2767 ^(a)	63213333 ^(a)	6.34 ^(a)	50.73 ^(a)
Desviación estándar	305.98	0.3576	14.21	20495582.2	0.06	19.18
II	909.5 ^(a)	0.594833 ^(a)	19.5767 ^(a)	68246667 ^(a)	6.46 ^(a)	63.5267 ^(a)
Desviación estándar	634.08	0.27	1.93	17513106.2	0.02	4.24
III	1055.33 ^(a)	0.442 ^(a)	37.25 ^(a)	70846667 ^(a)	6.40 ^(a)	61.5633 ^(a)
Desviación estándar	902.86	0.06	9.00	17456342.4	0.01	18.76

Los valores que no comparten una letra son significativamente diferentes

En el caso de *Spirulina maxima*, los resultados del ANOVA mostraron que tampoco hay ninguna respuesta significativa estadísticamente, ya que todas dieron como resultado un p -value >0.05 . En la densidad celular se tuvo que $p=0.924$, para el pH $p=0.066$, DQOs tuvo un $p=0.845$, los sólidos totales tuvieron un $p=0.518$ y los totales volátiles de $p=0.093$.

Tabla 3.5 Resultados análisis estadístico en *Spirulina maxima*

Dosis	DQO (g/L)	ST (% m/m)	STV (%m/m)	Densidad celular (Cel/mL)	pH	Biomasa (g/L)
I	1034.67 ^(a)	0.416133 ^(a)	36.2133 ^(a)	132763333 ^(a)	10.0867 ^(a)	91.02 ^(a)
Desviación estándar	907.62	0.0073	20.78	33387131.6	0.14	4.12
II	1263.83 ^(a)	0.3242 ^(a)	67.0167 ^(a)	120296667 ^(a)	9.9267 ^(a)	93.7367 ^(a)
Desviación estándar	1141.46	0.19	5.35	30793974.9	0.10	54.03
III	1638.83 ^(a)	0.4725 ^(a)	33.9867 ^(a)	130280000 ^(a)	9.71 ^(a)	76.6667 ^(a)
Desviación estándar	1048.72	0.08	10.27	34751786.5	0.12	31.78

Los valores que no comparten una letra son significativamente diferentes

De igual forma, en la comparación de medias por Tukey se aprecia que todos los valores comparten la misma letra, como se observa en la Tabla 3.5, por ende, ninguna de las dosis influye significativamente en los cultivos de ninguna de las dos cepas algales.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

- El suministro de agua residual a los microfotobiorreactores en forma semicontinua permitió dividir el proceso en dos etapas: la de adaptación de las microalgas al sustrato residual y posteriormente la fase de desarrollo. Esto mismo sirvió para tener un mayor control en la cuantificación de los parámetros de respuesta evaluados.
- El agua residual avícola, según la evaluación fisicoquímica y microbiológica realizada, es un efluente con alto potencial contaminante y con capacidad de alterar el ecosistema si es vertido en forma discriminada al ambiente.
- La convivencia entre microalgas y bacterias aerobias tiene un efecto sinérgico en la remoción de materia orgánica contaminante en los residuos líquidos industriales.
- Ambas etapas del proceso tuvieron una duración de 21 días. En la adaptación únicamente se trabajaron los fotobiorreactores con sustrato residual y microalga, y en la segunda etapa se añadieron las distintas dosis de micronutrientes a cada reactor.
- La adición de micronutrientes a los cultivos microalgales presentó un mejoramiento a los siguientes parámetros:

- Para la *Chlorella spp.* la dosis III aumentó la densidad celular, mientras que las tres dosis mostraron disminución de sólidos totales y volátiles. En la DQO, se incrementó la remoción de materia orgánica, ya que se pasó de tener eficiencias de 88.59% al 98% para la dosis I, de 94.01% al 99.14 para la dosis II y de 69.9% a 96% para la dosis III.
- En *Spirulina maxima*, la dosis I tuvo un mayor aumento de la densidad celular. Las tres dosis mostraron una disminución de sólidos totales y aumento en la biomasa algal. La remoción de DQO aumentó, en la dosis II pasó de 91.81% al 94% y de 55.58% a 98% en la dosis III, aunque disminuyó la eficiencia en la dosis I, pasando de 93.21% a 88%.
- En cuanto a los parámetros de color, la luminosidad se incrementó conforme transcurría el proceso. La coordenada “a” en ambas cepas y en las tres dosis iba disminuyendo, lo cual también es indicativo de cercanía a la tonalidad blanca en las muestras, mientras que la coordenada “b” mostró cambios de acuerdo al tipo de alga, es decir, mayor en *Spirulina*, por su tendencia hacia el color azul, y menor en *Chlorella*.
- La turbidez disminuyó considerablemente en ambas cepas. En el caso de *Chlorella*, la dosis I tuvo una remoción de 95.23%, la dosis II de 95.8% y la dosis III de 90.91%. Por otra parte, para la especie *Spirulina*, la remoción fue de 93.87% en la dosis I, 96.26% en la dosis II y 96.67% para la dosis III.
- En cuanto al rendimiento de producción de biomasa, los resultados obtenidos fueron los siguientes: en la cepa de *Chlorella spp*, la dosis I generó 1.039 g de biomasa, la dosis II, 1.335 g biomasa, mientras que la dosis III 1.296 g biomasa.

En la especie *Spirulina maxima* los rendimientos fueron de 2.001 g biomasa en la dosis I, 1.946 g biomasa en la dosis II y 1.524 g biomasa en la dosis III. Los anteriores resultados son dados en g biomasa sobre g DQO removida. Lo anterior demostró que la dosis que mostró mejor desempeño a la remoción de materia orgánica y mayor generación de biomasa fue la dosis II para *Chlorella* y la dosis I para *Spirulina*.

- El análisis estadístico mostró que para ambas cepas, ninguna de las dosis produce cambios estadísticamente significativos en los parámetros de respuesta, es decir, las tres dosis darán buenos resultados, con ligeras variaciones entre sí.
- Por otro lado, el análisis de resultados con el modelo de Gompertz indica que la dosis que tiene mayor tiempo de generación de células y que permite alcanzar una población máxima mayor es la II para *Chlorella spp* y la III para *Spirulina maxima*.
- Con base en todo lo anterior, se concluye que los micronutrientes sí influyen de forma satisfactoria en el metabolismo de las microalgas para la remoción de materia orgánica del agua residual de origen avícola.

RECOMENDACIONES

Todos los resultados obtenidos en este trabajo marcan el origen a nuevas investigaciones a fin de complementar el estudio y las aplicaciones de las microalgas en la remoción de contaminantes en efluentes industriales. Por todo lo anterior, se hacen las siguientes sugerencias:

- Utilizar distintos niveles de cargas orgánicas para el cultivo de las microalgas, así como realizar variaciones a las cargas a fin de estudiar el comportamiento de tales microorganismos.
- Hacer el análisis fisicoquímico a la biomasa microalgal al inicio y al final del proceso para observar los cambios en las células y así saber cuáles pueden ser las futuras aplicaciones de la materia algal obtenida.
- Hacer el escalamiento del proceso a nivel planta piloto.

ANEXOS

ANEXO A

Metodología para la preparación de medio Bold Basal según la *Culture Collection of Algae and Protozoa*.

Este medio se conforma por los 10 reactivos indicados a continuación, los cuales se deben agregar uno por uno procurando disolverlos por completo antes de añadir el siguiente reactivo.

Una vez que se agregaron todos los componentes, la solución madre debe aforarse a 1 L y esterilizarse en autoclave a 121 °C por 15 min.

Componente / Solución stock	Cantidad para 1 L de solución stock	Cantidad por L de medio de cultivo	Concentración final en el medio
NaNO ₃	25 g	30 mL	8.82 mM
CaCl ₂ * 2 H ₂ O	2.5 g	10 mL	0.17 mM
MgSO ₄ *3 H ₂ O	7.5 g	10 mL	0.03 mM
K ₂ HPO ₄ * 3 H ₂ O	7.5 g	10 mL	0.43 mM
KH ₂ PO ₄	17.5 g	10 mL	1,29 mM
NaCl	2.5 g	10 mL	0.43 mM
Solución stock de metales o solución P-IV (UTEX)	(Ver preparación abajo)	6 mL	
Vitamina B ₁ (Tiamina)	(Ver preparación abajo)	1 mL	
Vitamina B ₁₂ (Cianocobalamina)	(Ver preparación abajo)	1 mL	

NOTA: Las soluciones stock tienen una duración de 18 meses siempre y cuando se conserven en refrigeración y no se produzca un precipitado. Las vitaminas pueden conservarse congeladas por 2 o 3 años.

Para la preparación de la solución stock de metales traza se deben añadir uno a uno los reactivos, esperando la disolución de cada uno antes de agregar el siguiente.

Una vez preparada, se debe aforar a 1L y posteriormente se esteriliza a 121 °C durante 15 min en el autoclave. Esta solución se debe almacenar en refrigeración.

Componente	Cantidad para 1 L	Concentración final en el medio
Na ₂ EDTA	0.75 g	2 mM
FeCl ₃ * 6 H ₂ O	97.0 mg	0.36 mM
MnCl ₂ * 4H ₂ O	41.0 mg	0.21 mM
ZnCl ₂ * 6 H ₂ O	5.0 mg	0.037 mM
CoCl ₂ * 6 H ₂ O	2.0 mg	0.0084 mM
Na ₂ MoO ₄ * 2 H ₂ O	4.0 mg	0.017 mM

Para la preparación de la solución de vitamina B1 se disolvieron 0.12 gr de clorhidrato de tiamina en 100 ml de H₂O destilada, posteriormente se esterilizó la solución a 121 °C por 15 minutos y se almacenó a temperatura de congelación.

Para la solución de vitamina B12, se disolvió 0.1 gr de cianocobalamina en 100 ml de H₂O destilada, para después esterilizar la disolución en autoclave a 121 °C por 15 min y finalmente se congeló.

ANEXO B

ANEXO B

Formulación para realizar el medio de cultivo Utex según las indicaciones del CINVESTAV.

Este medio se conforma por 9 reactivos más una solución tampón de micronutrientes Chu y una solución stock de metales traza.

Los componentes deben adicionarse en el orden indicado, con agitación continua. Al finalizar la preparación se debe aforar a 1 L y esterilizar el autoclave. El medio Utex puede conservarse durante 18 meses siempre y cuando se mantenga en refrigeración.

Componente	Cantidad para 1 L
NaHCO ₃	16.8 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
NaNO ₃	2.5 g
K ₂ SO ₄	1 g
NaCl	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.04 g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01 g
EDTA	0.08 g
Sol. A	1 mL
Sol. B	1 mL

La solución de micronutrientes Chu o tampón A se prepara disolviendo los reactivos indicados a continuación aforando a 1 L y posteriormente llevando a esterilización tal mezcla.

Componente	Cantidad
H ₃ BO ₃	2.85 g
MnCl ₂	1.81 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222 g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.39 g
Co (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.079 g
Agua destilada	1 L

La solución tampón B o disolución de metales traza se prepara con las seis siguientes sustancias, las cuales igualmente deben ser añadidas una por una agitando continuamente. Posteriormente se afora a 1 L y se esteriliza en el autoclave.

Componente	Cantidad para 1 L	Concentración final en el medio
Na ₂ EDTA	0.75 g	2 mM
FeCl ₃ * 6 H ₂ O	97.0 mg	0.36 mM
MnCl ₂ * 4H ₂ O	41.0 mg	0.21 mM
ZnCl ₂ * 6 H ₂ O	5.0 mg	0.037 mM
CoCl ₂ * 6 H ₂ O	2.0 mg	0.0084 mM
Na ₂ MoO ₄ * 2 H ₂ O	4.0 mg	0.017 mM

Todas las soluciones aquí indicadas se conservan por un periodo de 18 meses siempre y cuando se esterilicen y se conserven en refrigeración. Si durante ese tiempo se forma un precipitado, entonces se debe desechar la solución y preparar nueva para ser utilizada en el medio de cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cánovas, F. M., Lüttge, U., Leuschner, C. & Risueño, M. C., 2020. Progress in Botany. Springer. Switzerland.
- Caldera, Y., Sánchez, M. & Gutiérrez, E., 2017. Calidad física de aguas residuales de una industria avícola en un sistema de flotación por aire disuelto con coagulantes. *Revista Tecnocientífica URU*, **13**(2), pp. 57-66.
- Caldwell, G. S. y otros, 2021. Immobilizing microalgae and cyanobacteria as biocomposites: new opportunities, to intensify algae biotechnology and bioprocessing. *Energies*, **14**(2566).
- Caballero-García, M., Méndez-Contreras, J. M. & Cortés-Robles, G., 2019. Desarrollo de estrategias de operación de fotobiorreactores para la producción de pigmentos y nutrientes a partir de microalgas. Tesis de doctorado. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba.
- Lanza, J. G., Churión, P. C. & Gómez, N., 2016. Comparación entre el método Kjeldahl tradicional y el método Dumas automatizado (N cube) para la determinación de proteínas en distintas clases de alimentos. *Saber*, **28**(2).
- Legrand, J., Arthu, A. & Pruvost, J., 2021. A review on photobioreactor design and modelling for microalgae production. *Reaction Chemistry and Engineering*, **7**(6): 1134-1151.
- Chen, Y. y otros, 2017. Integration of waste valoration for sustainable production of chemicals and materials via algal cultivation. Topics in Current Chemistry. Volumen 375.
- Li, D. & Liu, S., 2018. Sensors in Water Quality Monitoring. Water Quality Monitoring and Management. Academic Press. Pekin
- Costa de Souza, F., 2022. Closed-form expressions to Gompertz-Makeham life expectancies: a historical note. *Revista Brasileira de Estudos de População*, **39**(1): 1-12.

- Cota-Ruiz, K., Núñez-Gastelúm, J. A., Delgado-Rios, M. & Martínez-Martínez, A., 2019. Biorremediación: actualidad de conceptos y aplicaciones. *Biotecnia*, **21**(1): 37-44.
- Ángel-Isaza, J., Mesa-Salgado, N. & Narváez-Solarte, W., 2019. Ácidos orgánicos, una alternativa en la nutrición avícola: una revisión. *Medicina Veterinaria y Zootecnia*, **14**(2): 45-58.
- Alayón-Gamboa, J. A. y otros, 2018. Estrategias de mitigación de gases de efecto invernadero en la ganadería. *Agro Productividad*, **11**(2): 9-15.
- Amaya-Orozco, N. A., 2021. Automatización de un fotobiorreactor airlift para la disminución en la concentración de CO₂ proveniente de una emisión obtenida por pirólisis de biomasa lignocelulósica. Bogotá.
- Bai, X. & Acharya, K., 2016. Removal of trimethoprim, sulfamethoxazole and triclosan by the green alga *Nannochloris* sp.. *Journal of Hazardous Materials*, **315**(1): 70-75.
- Barten, R., Wijffels, R. & Barbosa, M., 2020. Bioprospecting and characterization of temperature tolerant microalgae from Bonaire. *Algal Research*, **50**(1).
- Basitere, M. y otros, 2019. Performance evaluation and kinetic parameter analysis for static granular bed reactor (SGBR) for treating poultry slaughterhouse wastewater at mesophilic condition. *Water Practice & Technology*, **14**(2): 259-268.
- Benner, P. y otros, 2022. Lab-scale photobioreactor systems: principles, applications and scalability. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, **45**(1): 791-813.
- Bermejo, E., Filali, R. & Taidi, B., 2021. Microalgae culture quality indicators: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, **41**(4): 457-473.
- Bozorg-Haddad, O., Delpasand, M. & Loáiciga, H., 2021. 10 - Water quality, hygiene and health. Economical, Political, and Social Issues in Water Resources. Elsevier. Tehran.
- Brunet-Ramos, S. C., Jiménez-Hernández, J., Pedraza-Garciga, J. & López-González, L. M., 2021. Consorcios de microalgas-bacterias para la purificación biológica de biogás. *Tecnología Química*, **41**(2).

- Buitrón-Méndez, G., Reino-Sánchez, C. & Carrera-Muyo, J., 2019. Manual técnico sobre tecnologías biológicas aerobias aplicadas al tratamiento de aguas residuales industriales. CYTED. Barcelona
- Bunce, J. T. y otros, 2018. A Review of Phosphorus Removal Technologies and Their Applicability to Small-Scale Domestic Wastewater Treatment Systems. *Frontiers in Environmental Science*, **6**(1).
- Daneshvar, E. y otros, 2021. Insights into upstream processing of microalgae: A review. *Bioresource Technology*, Volumen 329.
- De Moraes-Pinto, L. A. y otros, 2015. Aspectos ambientais do abate de aves: Uma revisão. *UNINGÁ Review*, **22**(3): 44-50.
- Dogutan, D. K. & Nocera, D. G., 2019. Artificial Photosynthesis at Efficiencies Greatly Exceeding That of Natural Photosynthesis. *Accounts of Chemical Research*, **52**(11): 3143-3148.
- Emparan, Q., Harun, R. & Danquah, M. K., 2019. Role of phycoremediation for nutrient removal from wastewaters: a review. *Applied Ecology and Environmental Research*, **17**(1): 889-915.
- Enamala, M. K. y otros, 2018. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction and numerous applications of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 94(1): 49-68.
- Escapa, C. y otros, 2017. Paracetamol and salicylic acid removal from contaminated water by microalgae. *Journal of Environmental Management*. **203**(1): 799-806.
- Fernández-Honores, A. M., Alvítez-Izquierdo, E. & Rodríguez-Rodríguez, E. F., 2019. Taxonomía e importancia de "*spirulina*" *Arthrospira jenneri* (Cyanophyceae: Oscillatoriaceae). *Arnaldoa*. **26**(3).
- Fu, M. y otros, 2019. The Bioaccumulation and Biodegradation of Testosterone by *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **16**(7).
- García-Vaquero, M., 2021. Food applications. En: C. M. Galanakis, ed. *Microalgae: Cultivation, Recovery of Compounds and Applications*. Academic Press. London.

- Garzón, J. M., Rodríguez-Miranda, J. P. & Hernández-Gómez, C., 2017. Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Revista Universidad y Salud*. **19**(2): 309-318.
- Gavidia-Valencia, J. G. y otros, 2020. Determinación del factor de conversión de nitrógeno a proteína en huevos de *Coturnix coturnix* L. (codorniz japonesa). *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. **39**(6): 705-711.
- Geddes, L., Kunihiro, K. & Turner, E., 2014. Simplified procedures for water examination. American Water Works Association. Denver.
- Geremia, E., Ripa, M., Catone, C. M. & Ulgiati, S., 2021. A Review About Microalgae Wastewater Treatment for Bioremediation and Biomass Production - A New Challenge for Europe. *Environments*. **8**(136).
- Ghafari, M., Rashidi, B. & Haznedaroglu, B. Z., 2016. Effects on macro and micronutrients on neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae. *Biofuels*, **9**(2): 147-156.
- Gilpavas, E., Arbeláez-Castaño, P. E., Medina-Arroyave, J. D. & Gómez-Atehortua, C. M., 2017. Tratamiento de aguas residuales de la industria textil mediante coagulación química acoplada a procesos Fenton intensificados con ultrasonidos de baja frecuencia. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. **34**(1): 157-167.
- Gojkovic, Z., Lindberg, R. H., Tysklind, M. & Funk, C., 2019. Northern green algae have the capacity to remove active pharmaceutical ingredients. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **170**(1): 644-656.
- Gompertz, B., 1825. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of Life Contingencies. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. **115**(1): 513-583.
- Gonçalves, A. L., Pires, J. C. M. & Simões, M., 2018. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*. **24**(2): 403-415.
- Gómez-López, I., 2020. Desarrollo Sostenible. Elearning.
- Gómez-Merchán, L. J., 2018. Uso de *Spirulina platensis* en la bioadsorción de metales pesados presentes en aguas residuales industriales. *Boletín Semillas Ambientales*, **12**(1): 58-65.

- Gómez-Polo, C. y otros, 2023. Colour Changes of Acetal Resins (CAD-CAM) In Vivo. *Applied Sciences*. **13**(1).
- Gutiérrez-Casiano, N., Hernández-Aguilar, E., Alvarado-Lassman, A. & Méndez-Contreras, J. M., 2022. Removal of carbon and nitrogen in wastewater from a poultry processing plant in a photobioreactor cultivated with the microalga *Chlorella vulgaris*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. **57**(7): 620-633.
- Hamed, S. M., Selim, S., Klöck, G. & AbdElgawad, H., 2017. Sensitivity of two green microalgae to copper stress: Growth, oxidative and antioxidants analyses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **144**(1): 19-25.
- Hernández, E., Lobato-Benítez, C. & Hernández, C. A., 2017. Algal enzymes, biotechnological potential uses: A review. *Cymbella*. **3**(1): 1-15.
- Hertwich, E. y otros, 2019. Material efficiency strategies to reducing greenhouse gas emissions associated with buildings, vehicles and electronics - a review. *Environmental Research Letters*. **14**(4).
- Hudson, R., de Graaf, R., Rodin, M. S. & Sojo, V., 2020. CO₂ reduction driven by a pH gradient. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **117**(37): 22873-22879.
- Jacobo-Marín, D. & Santacruz de León, G., 2021. Contaminantes emergentes en el agua: Regulación en México, principio precautorio y perspectiva comparada. *Revista de Derecho Ambiental*. **15**(1): 51-75.
- Jacome-Pilco, C. y otros, 2021. Microalgas en el tratamiento de aguas residuales generadas en industrias de curtiembres. *Ciencias Ambientales*. **14**(2): 47-55.
- Jeffry, L. y otros, 2021. Greenhouse gases utilization: a review. *Fuel*. **301**(1).
- Khan, M. I., Shin, J. H. & Kim, J. D., 2018. The promising future of microalgae: current status, challenges and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed and other products. *Microbial Cell Factories*. **17**(36): 2-21.
- Malagón-Micán, M. L. & Suárez-Chaparro, M. Y., 2020. Influencia en la concentración inicial de *Chlorella vulgaris* y CO₂ en la producción de lípidos. *Revista Lasallista de Investigación*. **17**(1): 59-69.

- Maltsev, Y., Maltseva, K., Kulikovskiy, M. & Maltseva, S., 2021. Influence of Light Conditions on Microalgae Growth and Content of Lipids, Carotenoids and Fatty Acids Compositions. *Biology (Basel)*. **10**(10).
- Magdouli, S., Brar, S. K. & Blais, J. F., 2016. Co-culture for lipid production: Advances and challenges. *Biomass Bioenergy*. **92**(1): 20-30.
- Makeham, W. M., 1873. On the Integral of Gompertz's Function for expressing the Values of Sums depending upon the contingency of life. *Journal of the Institute of Actuaries and Assurance Magazine*. **17**(5): 305-327.
- March-Rosselló, G. A., 2017. Métodos rápidos para la detección de la resistencia bacteriana a antibióticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. **35**(3): 182-188.
- Marini, S., Grigioni, L. & Oliva, A., 2018. Física IV. UNR. Rosario:
- Mariño-Martínez, J. E. & Moreno-Reyes, L. E., 2018. Posibilidades de captura y almacenamiento geológico de CO₂ (CCS) en Colombia - caso Tauramena (Casanare). *Boletín de Geología*. **40**(1): 109-129.
- Martínez-Romero, A. G., Alvarado-Lassman, A., Vallejo-Cantú, N. A. & Méndez-Contreras, J. M., 2018. Producción de biomasa de *Spirulina máxima* en la remoción de fósforo presente en aguas residuales porcícolas. *Revista del Centro de Graduados e Investigación*. **33**(73): 368-382.
- Medina-Mendieta, J. P., Cortés-Cortés, M. E. & Cortés-Iglesias, M., 2020. Ajuste de curvas de crecimiento poblacional aplicadas a la COVID-19 en Cuba. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. **19**(1).
- Meiramkulova, K. y otros, 2022. Assessing the Influence of Electrode Polarity on the Treatment of Poultry Slaughterhouse Wastewater. *Molecules*. **27**(3).
- Menaa, F. Z., Arbib, Z. & Perales, J. A., 2019. Urban wastewater photobiotreatment with microalgae in a continuously operated photobioreactor: Growth, nutrient removal kinetics and biomass coagulation-flocculation. *Environmental Technology*. **40**(1): 342-355.
- Meneses-Barroso, Y. M., Patiño-Mantilla, P. & Betancur, J., 2019. Remoción de cromo en aguas residuales industriales mediante el uso de biomasa de *Spirulina sp.*,

- sedimentación primaria y precipitación química. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. Bogotá-Colombia. **10**(1): 141-152.
- Mina-Valdés, A., 2020. Ley de mortalidad mexicana. Funciones de supervivencia.. *Estudios demográficos y urbanos*. **21**(2).
- Molazadeh, M. y otros, 2019. The Use of Microalgae for Coupling Wastewater Treatment with CO₂ Biofixation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **7**(1).
- Mohsenpour, S. F. & Willoughby, N., 2016. Effect of CO₂ aeration on cultivation of microalgae in luminiscent photobioreactors. *Biomass and Bioenergy*. **85**(1): 168-177.
- Mojiri, A. y otros, 2021. Removal of Pharmaceutical Micropollutants with integrated Biochar and Marine Microalgae. *Microorganisms*. **9**(1).
- Ngoben, P. V. y otros, 2022. Poultry Slaughterhouse Wastewater Treatment Using an Integrated Biological and Electrocoagulation Treatment System: Process Optimisation Using Response Surface Methodology. *Sustainability*. **14**(9561).
- Olaniyi, O. A., Olutimehin, I. O. & Funmilayo, O., 2019. Review of climate change and its effects on Nigeria ecosystem. *International Journal of Environmental and Rural Development*. **3**(3): 92-100.
- Oliveira, A. C., Barata, A., Bautista, A. P. & Gouveia, L., 2018. *Scenedesmus obliquus* in Poultry Wastewater Bioremediation. *Environmental Technology*, **40**(28): 3735-3744.
- Ojeda-Morales, M. E. & Juárez-Palacios, I. E., 2019. Biorremediación mejorada con preoxidación química de suelos arcillosos contaminados con petróleo. *Journal of Basic Sciences*. **5**(15): 82-93.
- Owens, B. F. y otros, 2019. Genome-Wide Association Study and Pathway-Level Analysis of Kernel Color in Maize. *G3 (Bethesda)*. **9**(6): 1945-1955.
- Oyewale, A. T. y otros, 2018. Impact Assessment of Poultry Discharge on the Physico-Chemical and Microbiological Water Quality of OlosuruStream in Ikire, Southwestern Nigeria. *Journal of Water Resource and Protection*. **10**(11): 1061-1082.
- Pacheco, D., Rocha, A. C., Pereira, L. & Verdelhos, T., 2020. Microalgae Water Bioremediation: Trends and Hot Topics. *Applied Sciences*. **10**(1886).

- Pan, C. G., Peng, F. G. & Ying, G. G., 2018. Removal biotransformation and toxicity variations of climbazole by freshwater algae *Scenedesmus obliquus*. *Environmental Pollution*. **240**(1): 534-540.
- Parra-Márquez, J. C., 2017. Análisis del comportamiento del Modelo de Crecimiento de Gompertz en la predicción del crecimiento de la economía de Argentina, Bolivia, Chile y Perú. *Estudios de Economía Aplicada*. **35**(2): 443-464.
- Pena, A. C., Agustini, C. B., Trierweiler, L. F. & Gutterres, M., 2020. Influence of period light on cultivation of microalgae consortium for the treatment of tannery wastewaters from leather finishing stage. *Journal of Cleaner Production*. **263**(1).
- Pérez-García, A. J. y otros, 2020. Efecto de las condiciones de iluminación-aireación de fotobiorreactores de columna en cultivos de *Chlorella vulgaris*. *Journal of Energy, Engineering, Optimization and Sustainability*. **4**(1): 29-42.
- Pérez-Madruga, Y., López-Padrón, I. & Reyes-Guerrero, Y., 2020. Las algas como alternativa natural para la producción de diferentes cultivos. *Cultivos Tropicales*. **41**(2).
- Phoon, B. L. y otros, 2020. Conventional and emerging technologies for removal of antibiotics from wastewater. *Journal of Hazardous Materials*. **400**(1).
- Pickering, W. F., 2021. Química Analítica Moderna. Reverté. New South Wales.
- Prasad, R. y otros, 2021. Role of Microalgae in Global CO₂ Sequestration: Physiological Mechanism, Recent Development, Challenges and Future Prospective. *Sustainability*. **13**(61).
- Quijano, G., Arcila, J. S. & Buitrón, G., 2017. Microalgal-bacterial aggregates: Applications and perspectives for wastewater treatment. *Biotechnology Advances*. **35**(1): 772-781.
- Ramos, R. & Pizarro, R., 2018. Crecimiento y capacidad de biorremediación de *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cultivada en aguas residuales generadas en el cultivo del pez dorado *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. **53**(1).
- Razmig, K. y otros, 2017. Light transfer in agar immobilized microalgae cell cultures. *HAL Open Science, Elsevier*. **198**(1): 81-92.

- Reimann, R. y otros, 2020. Classification of dead and living microalgae *Chlorella vulgaris* by bioimage informatics and machine learning. *Algal Research*. **48**(1).
- Reinoso-Carrasco, J. C., Serrano-Delgado, C. Y. & Orellana-Cobos, D. F., 2017. Contaminantes emergentes y su impacto en la salud. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*. **35**(2): 55-59.
- Robertson, P., 2014. Soil Greenhouse Gas Emissions and Their Mitigation. Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. Academic Press. California.
- Rodriguez, I. B. & Ho, T. Y., 2018. Trace Metal Requirements and Interactions in *Symbiodinium kawagutii*. *Frontiers in Microbiology*. **9**(142).
- Rojas-Morales, J. L., Gutiérrez-González, E. C. & Colina-Andrade, G. J., 2016. Obtención y caracterización de carbón activado obtenido de lodos de plantas de tratamiento de agua residual de una industria avícola. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*. **17**(4): 453-462.
- Rosales, A. G., Rodríguez, C. D. & Ballen-Segura, M., 2018. Remoción de contaminantes y crecimiento del alga *Scenedesmus sp.* en aguas residuales curtiembres, comparación entre células libres e inmovilizadas. *Ingeniería y Ciencia*. **14**(28).
- Ruíz-Martínez, A., 2011. Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Tesis de licenciatura. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Sánchez-Borroto, Y. y otros, 2019. Evaluación de las condiciones experimentales básicas para la producción de biomasa a partir de la microalga *Chlorella vulgaris*. *Afinidad*. **76**(1): 63-69.
- Sánchez, J., Loaíña, J., Agualongo, M. & Espinoza, K., 2020. Técnicas de cultivo y métodos de extracción de ácidos grasos a base de microalgas a beneficio de la humanidad. *Agroindustrial Science*. **10**(3): 319-328.
- Sánchez, M., Caldera, Y. & Gutiérrez, E., 2017. Eficiencia de coagulantes durante el tratamiento de aguas residuales de la industria avícola en un sistema de flotación. *Impacto Científico*. **12**(1): 201-214.

- Sandoval, J. A., Morales-Granados, M. A. & Rubio, D., 2020. Breve revisión del uso de microalgas para la remoción de contaminantes emergentes en aguas residuales. *Gestión y Ambiente*. **23**(1): 127-137.
- Saranya, D. & Shanthakumar, S., 2019. Green microalgae for combined sewage and tannery effluent treatment: Performance and lipid accumulation potential. *Journal of Environmental Manage.* **241**(1): 167-178.
- Sarma, S. y otros, 2021. Valorization of microalgae biomass into bioproducts promoting circular bioeconomy: a holistic approach of bioremediation and biorefinery. *3 Biotech.* **11**(378): 1-29.
- Sosa-Rodrigues, B. A. & García-Vivas, Y. S., 2019. Emisión de gases de efecto invernadero en el suelo bajo el uso de abonos verdes. *Agronomía Mesoamericana*, **30**(3): 767-782.
- Suastes-Rivas, J. K., Hernández-Altamirano, R., Mena-Cervantes, V. Y. & Chairez, I., 2020. Simultaneous Optimization of Biomass and Metabolite Production by a Microalgae-Yeast Co-culture Under Inorganic Micronutrients. *BioEnergy Research*, **13**(1): 974-985.
- Sun, H. y otros, 2018. High-value biomass from microalgae production platforms: strategies and progress based on carbon metabolism and energy conversion. *Biotechnology for biofuels*. **11**(227).
- Sutherland, D. & Ralph, P., 2019. Microalgal bioremediation of emerging contaminants - Opportunities and challenges. *Water Research*. **164**(1).
- Tan, X. B. y otros, 2018. Enhanced lipid and biomass production using alcohol wastewater as carbon source for *Chlorella pyrenoidosa* cultivation in anaerobically digested starch wastewater in outdoors. *Bioresource Technology*. **247**(1): 784-793.
- Tausz, J. & Donath, P., 1930. Über die Oxydation des Wasserstoffs und der Kohlenwasserstoffe mittels Bakterien. *Journal*. **190**(3): 141-168.
- Terán-Hilares, R. y otros, 2021. Promising physicochemical technologies for poultry slaughterhouse wastewater treatment: A critical review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. **9**(2).

- Tiwari, P. K., Misra, A. K. & Venturino, E., 2017. The role of algae in agriculture: a mathematical study. *Journal of Biological Physics*. **43**(2): 297-314.
- Tolfo da Fontoura, J. y otros, 2017. Defatted microalgal biomass as biosorbent for the removal of Acid Blue 161 from tannery effluent. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. **5**(1) 5076-5084.
- Vela-García, N., Guamán-Burneo, M. C. & González-Romero, N. P., 2019. Biorremediación eficiente de efluentes metalúrgicos mediante el uso de microalgas de la amazonia y de los andes del Ecuador. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. **35**(4): 917-929.
- Vela-García, N., Guamán-Burneo, M. C. & González-Romero, N. P., 2019. Biorremediación eficiente de efluentes metalúrgicos mediante el uso de microalgas de la amazonia y de los andes del Ecuador. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. **35**(4).
- Wang, C. & Lan, C. Q., 2018. Effects of shear stress in microalgae - A review. *Biotechnology Advances*. **36**(4): 986-1002.
- Wang, S., Stiles, A., Guo, C. & Liu, C., 2014. Microalgae cultivation in photobioreactors: An overview of light characteristics. *Engineering in Life Sciences*. **14**(1): 550-559.
- Whitton, R. y otros, 2019. Influence of light regime on the performance of an immobilised microalgae reactor for wastewater nutrient removal. *Algal Research*. **44**(1).
- Xion, J. Q., Kurade, M. & Jeon, B. H., 2017. Biodegradation of levofloxacin by an acclimated freshwater microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Chemical Engineering Journal*. **313**(1): 1251-1257.
- Yaakob, M. A., Mohamed, R. M. S. R., Al-Gheeti, A. A. S. & Kassim, A. H. M., 2018. Characteristics of Chicken Slaughterhouse Wastewater. *Chemical Engineering Transactions*. **63**(1): 637-642.
- Ye, J. y otros, 2018. Operation optimization of a photo-sequencing batch reactor for wastewater treatment: Study on influencing factors and impact on symbiotic microbial ecology. *Bioresource Technology*. **252**(1): 7-13.

Yim, J. H., Seo, Y. B., Kim, S. M. & Jeon, Y. J., 2021. Recent Research Trends of Cryopreservation Technology Based on Microalgae *Chlorophyta*. Journal of Life Science. **31**(10):960-968.

Yoro, K. O. & Daramola, M. O., 2020. CO₂ emission sources, greenhouse gases and the global warming effect. Advances in Carbon Capture. Woodhead Publishing. Shiraz

Yuan, S. y otros, 2020. Modeling microalgae growth in continuous culture: parameters analysis and temperature dependence. Energy. **195**(1).

Zhuang, L. L. y otros, 2018. The characteristics and influencing factors of the attached microalgae cultivation: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, **94**(1):1110-1119.

Zori, A. N., Ragab, S. W., Mekawi, M. I. & Mostafa, O. A., 2017. Comparison between batch, fed-batch, semi-continuous and continuous techniques for bio-ethanol production from a mixture of egyptian cane and beet molasses. Egyptian Sugar Journal. **9**(1): 89-111.