



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Orizaba

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

“Remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes durante el crecimiento de
Nannochloropsis oculata en aguas residuales avícolas”

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:

I.Q. EDWIN VITE SEGUNDO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS



ORIZABA, VERACRUZ, MEXICO

OCTUBRE 2024



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Orizaba
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, **2/octubre/2024**

Dependencia: División de Estudios de
Posgrado e Investigación
Asunto: Autorización de Impresión
Opción: I


C. Edwin Vite Segundo
Candidato a Grado de Maestro en
Ciencias en Ingeniería Química
PRESENTE.-

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos 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:

**"Remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes durante el crecimiento de
Nannochloropsis Oculata en aguas residuales avícolas".**

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®


Dra. Ofelia Landeta Escamilla
Jefa de la División de Estudios
de Posgrado e Investigación



OLE/NAVC

OC-13-F06



Av. Oriente 9 Núm.852, Colonia Emiliano Zapata. C.P. 94320 Orizaba, Veracruz.
Tel. 01 (272)1105360 e-mail: dir_orizaba@tecnm.mx tecnm.mx | orizaba.tecnm.mx





Orizaba, Veracruz, **20/agosto/2024**
Asunto: Revisión de trabajo escrito

C. DRA. OFELIA LANDETA ESCAMILLA
JEFA 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 C.

EDWIN VITE SEGUNDO

La cual lleva el título de:

**Remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes durante el crecimiento de
Nannochloropsis oculata en aguas residuales avícolas**

Y concluyen que se acepta.

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

PRESIDENTE: DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS

SECRETARIO: DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN

VOCAL: MIQ. NORMA ALEJANDRA VALLEJO CANTÚ

VOCAL SUP.: DR. ERIK SAMUEL ROSAS MENDOZA


FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA

TA-09-18



Declaración de originalidad y cesión de derechos

Orizaba, Veracruz, el día 7 del mes de octubre del año 2024.

El(la) que suscribe

C. Edwin Vite Segundo

Declaro que esta tesis, que tiene una extensión de 103 cuartillas, ha sido escrita por mí y constituye el registro escrito del trabajo de la tesis titulada

“Remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes durante el crecimiento de *Nannochloropsis oculata* en aguas residuales avícolas”

del programa: Maestría en Ciencias en Ingeniería Química, bajo la asesoría y dirección del (la) Dr. Juan Manuel Méndez Contreras 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/Instituto tecnológico de Orizaba.

También declaro que, al presentar esta tesis, cedo los derechos del trabajo al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de 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.



Edwin Vite Segundo
Nombre y firma

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a Dios, por iluminar mi camino guiándome con su luz divina y dándome la fortaleza necesaria para seguir adelante en momentos de incertidumbre y dolor.

A mis padres, por brindarme su confianza incondicional y enseñarme el valor de la perseverancia. Gracias por mostrarme que siempre hay que seguir adelante, sin importar cuán difícil pueda parecer el camino. Su amor, consejos y apoyo en cada situación han sido mi mayor fuente de inspiración y motivación. Son mis más grandes maestros, y su enseñanza continúa guiándome cada día. Los llevaré siempre en mi corazón.

A mi hermana, por estar a mi lado en cada decisión importante y por ser una constante fuente de motivación en mis estudios. Su apoyo y aliento han sido fundamentales para mantenerme enfocado y positivo durante este proceso.

A mi asesor, el Dr. Juan Manuel Méndez Contreras, por brindarme la oportunidad de realizar la maestría y por su confianza en mi capacidad para llevar a cabo este proyecto. Su orientación y sabiduría han sido esenciales para el éxito de este trabajo, y estoy profundamente agradecido por su apoyo y mentoría.

A mis compañeros de laboratorio (Itzel, Uriel, Cristina, Viviana, Joaquín, Diana, Roger y los demás), por brindarme su amistad, confianza, alegría y un apoyo incondicional durante toda la maestría.

Finalmente, a todas las personas que, de alguna manera, han influido en mi trayectoria académica y personal. Cada uno de ustedes ha aportado algo valioso a este viaje, y estoy eternamente agradecido por su contribución.

RECONOCIMIENTOS ACADEMICOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por el otorgamiento de la beca con número de CVU 1236990 para realizar los estudios de maestría.

Quiero agradecer a todas las personas que han contribuido al éxito de este proyecto. En primer lugar, le agradezco a mi asesor, el Dr. Juan Manuel Méndez Contreras, cuya orientación experta y apoyo constante han sido fundamentales para el desarrollo y la culminación de este trabajo. Su conocimiento y dedicación me inspiró a superar los desafíos y a alcanzar mis objetivos.

También deseo agradecer a los integrantes de mi comité que han influido profundamente en mi formación y en este proyecto: el Dr. Alejandro Alvarado Lassman, el Dr. Eric Samuel Rosas Mendoza y la M.I.Q. Norma Alejandra Vallejo Cantú. Sus enseñanzas y orientación han sido invaluableles.

Un agradecimiento especial a la Dra. Ofelia Landeta, la M.C.I.Q. María Elena García, la Dra. Guadalupe Luna Solano, quienes me brindaron conocimientos valiosos que me ayudaron a lo largo del proceso de experimentación. Sus aportaciones han enriquecido significativamente esta investigación y me han ayudado a perfeccionar este trabajo.

Les agradezco por su paciencia, comprensión y aliento incondicional durante toda la maestría.

RESUMEN

REMOCIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS Y NUTRIENTES DURANTE EL CRECIMIENTO DE *NANNOCHLOROPSIS OCULATA* EN AGUAS RESIDUALES AVÍCOLAS

Elaborado por: I. Q. Edwin Vite Segundo

Dirigida por: Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

El tratamiento de aguas residuales en fotobiorreactores operados con microalgas es una alternativa viable y eficiente para la remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos, así como la generación de productos de alto valor como las proteínas, carotenoides, pigmentos, ácidos grasos entre otros. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes en aguas residuales de origen avícolas durante el crecimiento de *N. oculata*. Los ensayos de crecimiento y remoción de contaminantes fueron desarrollados durante 21 días con una evaluación constante de fósforo total, nitrógeno total Kjeldahl, DQO total, DQO soluble, densidad celular, sólidos totales, sólidos totales volátiles, sólidos suspendidos totales, pH y biomasa. Antes de los ensayos, se sometió el agua residual avícola a un tratamiento térmico a 80 °C durante 1 hora, después, se caracterizó fisicoquímica y microbiológicamente. También se establecieron las condiciones de crecimiento y propagación de la microalga en el medio sintético Guillard's F/2. Los fotobiorreactores fueron operados en modo batch con concentraciones de inóculo de 5, 15 y 25% v/v. Finalmente los resultados mostraron que las muestras sin tratamiento eliminaron cerca del 94 % de la DQO soluble. Con un inóculo de 25 % v/v, el modelo de Gompertz obtuvo ($\mu_{max}=0.557$ días⁻¹ y $\lambda = 3.14$ días) y una calidad de biomasa superior (37.33 % de proteínas, 15.78 g/L de lípidos y 4.20 g/L de carbs), de igual forma las muestras con tratamiento lograron una remoción de la DQO soluble cercana al 93 % y el modelo de Gompertz se ajustó mejor al inóculo de 5 % v/v con una ($\mu_{max}=0.281$ días⁻¹ y $\lambda = 1.89$ días). No obstante, el inóculo de 25 % v/v produjo una mejor calidad de biomasa (42.39 % de proteínas, 24.38 g/L de lípidos y 4.66 g/L de carbs). Por lo tanto, las muestras con tratamiento térmico lograron mejor afinidad al proceso.

ABSTRACT

REMOVAL OF ORGANIC CONTAMINANTS AND NUTRIENTS DURING THE GROWTH OF *NANNOCHLOROPSIS OCULATA* IN POULTRY WASTEWATER

Prepared by: I. Q. Edwin Vite Segundo

Directed by: Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

The treatment of wastewater in photobioreactors operated with microalgae is a viable and efficient alternative for the removal of organic and inorganic contaminants, as well as the generation of high-value products such as proteins, carotenoids, pigments, fatty acids, among others. The objective of this research was to evaluate the removal of organic contaminants and nutrients in wastewater of poultry origin during the growth of *N. oculata*. The growth and contaminant removal tests were developed over 21 days with a constant evaluation of total phosphorus, total Kjeldahl nitrogen, total COD, soluble COD, cell density, total solids, total volatile solids, total suspended solids, pH and biomass. Prior to the trials, the poultry wastewater was subjected to heat treatment at 80 °C for 1 hour, after which it was characterized physicochemistry and microbiologically. The conditions for the growth and propagation of the microalgae in the synthetic medium Guillard's F/2 were also established. The photobioreactors were operated in batch mode with inoculum concentrations of 5, 15 and 25% v/v. Finally, the results showed that the untreated samples eliminated about 94% of the soluble COD. With an inoculum of 25 % v/v, the Gompertz model obtained ($\mu_{max} = 0.557 \text{ days}^{-1}$ and $\lambda = 3.14 \text{ days}$) and a higher biomass quality (37.33 % protein, 15.78 g/L lipids and 4.20 g/L carbs), in the same way the treated samples achieved a soluble COD removal close to 93 % and the Gompertz model was better suited to the inoculum of 5 % v/v with a ($\mu_{max} = 0.281 \text{ days}^{-1}$ and $\lambda = 1.89 \text{ days}$). However, the inoculum of 25 % v/v produced a better biomass quality (42.39 % protein, 24.38 g/L lipids and 4.66 g/L carbs). Therefore, the samples with thermal treatment achieved better affinity for the process.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABLAS	xiv
NOMENCLATURA	xvi
INTRODUCCIÓN	17
OBJETIVO GENERAL	19
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS	21
1.1 Aguas residuales.....	21
1.1.2 Aguas residuales avícolas	21
1.2 Tratamiento de aguas residuales	23
1.2.1 Tratamientos biológicos	24
1.3.1 Microalgas	26
1.3.2 <i>Nannochloropsis oculata</i>	27
1.3.3 Cultivo de <i>Nannochloropsis oculata</i>	30
1.4 Tratamiento de aguas residuales con microalgas	30
1.4.1 Remoción de nutrientes	31
1.4.2 Factores que influyen en el crecimiento de algas	34
1.3.3 Fotobiorreactores.....	36
1.5 Ácidos grasos poliinsaturados	37
1.5.1 Beneficios para la salud humana.....	39
1.5.2 AGP en <i>N. Oculata</i>	40
1.7 Modelos matemáticos para la remoción de contaminantes	41
1.8 Antecedentes	43
1.9 Avances.....	46

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
2.1 Obtención del agua residual avícola	50
2.1.1 Determinación de pH	50
2.1.2 Sólidos Totales.....	50
2.1.3 Sólidos Totales Volátiles	51
2.1.4 Sólidos Suspendidos Totales	51
2.1.5 Determinación de Demanda Química de Oxígeno.....	51
2.1.6 Nitrógeno total	52
2.1.7 Determinación de fósforo total	52
2.1.8 Carbohidratos	52
2.1.9 Lípidos	53
2.1.10 Proteínas	53
2.1.11 Coliformes fecales.....	53
2.1.12 <i>Salmonella spp</i>	54
2.1.13 Huevos de Helmintos.....	54
2.2 Obtención de la microalga	54
2.2.1 Propagación de la microalga	54
2.2.2 Conteo Celular	55
2.3 Modelación matemática de las cinéticas de remoción	56
2.3.1 Diseño de experimentos	57
2.4 Evaluación del agua.....	58
2.5 Evaluación de la biomasa obtenida.....	58
2.5.1 Determinación de ácidos grasos poliinsaturados	59
CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61

3.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual avícola	61
3.2 Propagación de la microalga <i>N. Oculata</i>	62
3.2.1 Crecimiento de <i>N. oculata</i> en Guillard's F/2	62
3.2.2 Comportamiento del pH en el medio Guillard's F/2	64
3.3 Cinéticas de crecimiento y remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos	65
3.3.1 Adaptación de <i>N. oculata</i> en agua residual avícola	65
3.3.2 Evaluación del pH	66
3.3.3 Sólidos totales	68
3.3.4 Sólidos totales volátiles.....	69
3.3.5 Evaluación de sólidos suspendidos totales.....	70
3.3.6 Remoción de la Demanda Química de Oxígeno	72
3.3.7 Remoción de la Demanda Química de Oxígeno soluble.....	73
3.3.8 Remoción del nitrógeno total	75
3.3.9 Evaluación del fósforo total	76
3.3.10 Evaluación de la Biomasa.....	77
3.4 Modelación Matemática	78
3.5 Evaluación del tratamiento del Agua residual avícola	88
3.6 Evaluación de la biomasa microalgal.....	90
CONCLUSIONES	94
RECOMENDACIONES	96
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1.1	Agua residual de la industria avícola	22
1.2	Especies de microalgas	27
1.3	<i>Nannochloropsis Oculata</i>	28
1.4	Estructura de la microalga	28
1.5	Proceso de producción de microalgas	31
1.6	Mecanismo de adsorción de fósforo por microalgas	34
1.7	Fotobiorreactor cerrado	36
1.8	Fotobiorreactor abierto tipo raceway	37
1.9	Biomasa de microalgas como alimento acuícola	40
1.10	Ácidos grasos poliinsaturados con mayor presencia en <i>N. Oculata</i>	41
2.1	Diagrama general de la metodología	49
2.2	Conteo en Cámara de Neubauer	54
3.1	Crecimiento de <i>N. oculata</i> en el Medio sintético Guillard's F/2	63
3.2	Comportamiento de <i>N. oculata</i> en el medio Guillard's F/2	64
3.3	Comportamiento del pH en el medio Guillard's F/2	64
3.3.1	Adaptación de <i>N. oculata</i> en ARA	65
3.3.2	Comportamiento del pH en ARA	67
3.3.3	Comportamiento de los ST en ARA con <i>N. oculata</i>	68
3.3.4	Comportamiento de los STV en ARA con <i>N. oculata</i>	69
3.3.5	SST de <i>N. oculata</i> en ARA	71
3.3.6	DQO de <i>N. oculata</i> en ARA	72
3.3.7	Fotobiorreactores al cabo de 21 días	73
3.3.8	DQO soluble en ARA	74
3.3.9	Remoción del nitrógeno en ARA	75
3.3.10	Remoción de fósforo total en ARA	76
3.3.11	Generación de biomasa en ARA	77

3.4	Cinética de crecimiento de <i>N. oculata</i> en ARA sin tratamiento	79
3.4.1	Cinética de crecimiento de <i>N. oculata</i> en ARA con tratamiento	80
3.4.2	Remoción de la DQO soluble evaluado en las 3 concentraciones e inóculo: a) 5% v/v, b) 15% v/v y c) 25% v/v	82
3.4.3	Remoción del Fósforo total evaluado en las 3 concentraciones e inóculo: a) 5% v/v, b) 15% v/v y c) 25% v/v	83
3.4.4	Remoción del nitrógeno total evaluado en las 3 concentraciones e inóculo: a) 5 % v/v, b) 15 % v/v y c) 25 % v/v	83
3.4.5	Generación de biomasa microalgal evaluada en las 3 concentraciones e inóculo: a) 5% v/v, b) 15% v/v y c) 25% v/v	87
3.5	ARA sin tratamiento	89
3.5.1	ARA con tratamiento	90
3.6	Biomasa microalgal	92
3.7	Perfil de AGP de la biomasa en FTIR	93

LISTA DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1.1	Clases de algas con sus respectivas características (Tan <i>et al.</i> , 2020)	25
2.1	Parámetros Físicos, Químicos Y Microbiológicos	50
2.2	Macronutrientes Del Medio Guillard's F/2	54
3.1	Micronutrientes Del Medio Guillard's F/2	55
3.2	Evaluación del agua	57
3.3	Evaluación de la biomasa	58
3.3.1	Caracterización fisicoquímica y microbiológica	60
3.3.2	Crecimiento celular de <i>N. oculata</i> en agua residual avícola	65
3.3.3	Comportamiento del pH	66
3.3.4	Sólidos totales	68
3.3.5	Sólidos totales Volátiles	69
3.3.6	Sólidos Suspendedos Totales	70
3.3.7	Porcentaje de remoción de la DQO total	71
3.3.8	Remoción de la DQO soluble	73
3.3.9	Remoción del nitrógeno total	74
3.3.10	Remoción de fósforo total	75
3.3.11	Generación de biomasa microalgal	76
3.4	Parámetros cinéticos de <i>N. oculata</i> en ARA sin tratamiento	78
3.4.1	Parámetros cinéticos de <i>N. oculata</i> en ARA con tratamiento	80
3.4.2	Parámetros cinéticos de la remoción de la DQO soluble	81
3.4.3	Parámetros cinéticos de la remoción de fósforo total	83
3.4.4	Parámetros cinéticos de la remoción del nitrógeno total	85
3.4.5	Parámetros cinéticos de la biomasa	86
3.5.1	Caracterización del ARA sin tratamiento	88
3.6	Caracterización del ARA con tratamiento	89

3.7	Evaluación de la biomasa microalgal	91
-----	-------------------------------------	----

NOMENCLATURA

Nomenclatura	Descripción
ω -3 AG	Ácidos grasos omega-3
ADP	Adenosín difosfato
AGP	Ácidos grasos poliinsaturados
ARA	Agua residual avícola
ATP	Adenosín Trifosfato
CO ₂	Dióxido de carbono
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DHA	Ácido docosaheptaenoico
DQO	Demanda Química de Oxígeno
EPA	Ácido eicosapentaenoico
GEI	Gases de Efecto Invernadero
NMP	Número más probable
NTU	Unidad de turbidez nefelométrica
RUBISCO	Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa
SST	Sólidos suspendidos totales
ST	Sólidos totales
STV	Sólidos totales volátiles

INTRODUCCIÓN

La generación y descarga de aguas residuales de la industria avícola representa graves problemas ambientales y sociales en México. Estas aguas suelen contener grandes cantidades de heces, partículas de polvo, contaminantes orgánicos y microorganismos patógenos. Es por esto que se utilizan diversos tratamientos biológicos como los lodos activados y fangos biológicos que descomponen materia orgánica con microorganismos; los filtros biológicos y los reactores de lecho fluidizado usan medios sólidos o partículas en suspensión para tratar contaminantes; las lagunas de estabilización aplican un tratamiento natural en lagunas abiertas; y la digestión anaerobia descompone materia orgánica sin oxígeno, produciendo biogás (Ramalho *et al.*, 2021).

A pesar de estos avances, el tratamiento biológico convencional no siempre es suficiente para eliminar por completo todos los contaminantes presentes. Las aguas residuales avícolas (ARA) requieren una combinación de tratamientos biológicos y fisicoquímicos para lograr una calidad de agua adecuada para su descarga o reutilización (Sales-Pérez *et al.*, 2023).

Además, durante su tratamiento pueden generar subproductos intermedios no deseables como las emisiones de amoníaco, dióxido de carbono, metano y óxido nítrico, los cuales causan malos olores y generan una gran cantidad de lodos residuales que propician la contaminación atmosférica, por lo cual, se requieren alternativas sustentables capaces de tratar eficientemente los residuos generados (Vladić *et al.*, 2023).

Sin embargo, el tratamiento de aguas residuales en fotobiorreactores utilizando microalgas es una alternativa factible y eficaz para eliminar contaminantes orgánicos y generar productos secundarios. Actualmente varias especies de microalgas están siendo estudiadas, ya que son capaces de acumular compuestos lipídicos y tolerar ambientes extremos e incluso metales pesados (Muñiz *et al.*, 2019).

La microalga *Nannochloropsis oculata* es reconocida por su valor nutricional como una excelente fuente de proteínas, carbohidratos, lípidos y vitaminas, esta especie contiene cantidades elevadas de Ácidos grasos poliinsaturados (AGP), especialmente hasta un 40 % de ácido eicosapentaenoico (EPA) (Wan Razali *et al.*, 2022). Por otro lado, el alto contenido de AGP y su tolerancia a los cambios ambientales hace que *N. oculata* sea una alternativa para la generación de compuestos lipídicos con alto contenido de carotenoides y vitaminas, también es capaz de convertir hasta en un 60 % en peso seco de su biomasa en lípidos (León-Domínguez, 2022). En contraste, son precursores importantes de los eicosanoides, provocando una disminución de la coagulación de la sangre y un aumento del flujo sanguíneo (De Groot *et al.*, 2019).

En la presente investigación se evaluaron los parámetros cinéticos del crecimiento de *N. oculata* en ARA sin tratamiento y con tratamiento, así como la remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes presentes en dichas aguas. Finalmente, se evaluó el tratamiento del agua residual, también se produjeron y evaluaron las biomásas microalgales ricas en nutrientes y ácidos grasos poliinsaturados.

OBJETIVO GENERAL

Determinar los parámetros cinéticos y las condiciones recomendables del proceso de remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes en aguas residuales de origen avícola utilizando la microalga *Nannochloropsis oculata*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de las aguas residuales avícolas.
- Establecer las condiciones de crecimiento y propagación de la microalga *N. oculata*.
- Modelar matemáticamente las cinéticas de remoción de DQO, nitrógeno y fósforo, así como la producción de biomasa algal y ácidos grasos poliinsaturados.
- Determinar la calidad fisicoquímica y microbiológica del agua y la biomasa obtenida en las cinéticas de remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Aguas residuales

Las aguas residuales se generan debido a la variedad de sustancias que se encuentran en ella ya sea por labores domésticas o industriales. Contienen una gran variedad de sustancias, sobre todo, residuos fecales, detergentes, sustancias químicas, etc. Además, sufren descomposición, lo cual conlleva a un cambio en el color y la generación de malos olores debido a procesos que se dan en ambientes anaeróbicos, liberando metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2), amoníaco (NH_3^-), entre otros compuestos (Ramalho *et al.*, 2021).

Las repercusiones no se limitan a aspectos físicos y químicos, sino que también afectan la salud, ya que los reservorios de agua destinados al suministro de agua potable pueden contaminarse con desechos humanos o industriales, dando lugar a serios problemas epidemiológicos (Centeno *et al.*, 2019).

El incremento del consumo de agua ha hecho de la gestión del agua una prioridad. Por otro lado, en los países en vías de desarrollo el tratamiento inadecuado de las aguas residuales en algunas regiones ha intensificado la descarga inadecuada de aguas residuales en el medio ambiente y ha aumentado la contaminación de los recursos hídricos naturales (Fatima *et al.*, 2021). Actualmente se tiene la necesidad de abordar la gestión del tratamiento de las aguas residuales combinando aspectos hidrológicos, ambientales y sociales, con el uso de alternativas innovadoras, eficientes y sostenibles (Pérez *et al.*, 2022).

1.1.2 Aguas residuales avícolas

La agricultura y ganadería pueden producir una contaminación muy grave de las aguas de los ríos y los acuíferos, puesto que la combinación de estas sustancias es procedente de las labores de transformación de productos vegetales, o de los excrementos de los animales (Taimal-Cuaical, 2020).

La industria avícola se estructura en una cadena productiva que abarca varias fases como alimentación, engorde y beneficio. Cada una de estas fases posee procesos específicos diseñados para cumplir con sus requisitos particulares. En la fase de beneficio de la industria avícola, se incluyen diferentes etapas: la recepción de aves, el sacrificio y desplume, la línea de evisceración, el escurrido y el empaque (Márquez, *et al.*, 2020).

El principal recurso de esta industria es el agua que se utiliza al procesar al ave, desde su sacrificio hasta su empaquetado, la cantidad de agua por pollo oscila entre 8 a 12 L y dependerá de la infraestructura de la planta y tamaño del ave (Ortega y Rotta, 2019). Las fuentes hídricas se ven significativamente afectadas por el vertimiento de aguas residuales procedentes de la industria avícola, Dichas aguas contienen estiércoles, plumas, sangre, etc., son fuentes alternativas ricas en nitrógeno, fósforo, grasas y proteínas (INEGYCEI, 2020).



Figura 1.1 Agua residual de la industria avícola

Las aguas residuales contienen una gran concentración de materia orgánica que se cuantifica como DBO y DQO. El incorrecto tratamiento de estas aguas residuales puede causar graves problemas ambientales y de salud, como la desoxigenación de los ríos, contaminación de las aguas subterráneas, eutrofización y la propagación de

enfermedades transmitidas por el agua. Por esta razón, la industria avícola dispone de plantas de tratamiento de aguas residuales, como se muestra en la Figura 1.1, para mitigar estos impactos (Fatima *et al.*, 2021).

El ave desecha el nitrógeno hasta en un 30 % del total que se le suministra en forma de aminoácidos. Está presente en forma de ácido úrico que es producido en el hígado y de las proteínas no digeridas. Estos se mezclan con el material de la cama, donde existe microflora bacteriana como nitrosomonas y nitrococcus que convierte el amoníaco (NH_3) en nitritos (NO_2^-). Después las nitrobacterias convierten los nitritos en nitratos (NO_3^-). Estos procesos ocurren debido a la humedad y la presencia de enzimas, siendo la más significativa la ureasa, que facilita la producción de amoníaco y dióxido de carbono durante la descomposición (Cohuo-Colli *et al.*, 2016).

1.2 Tratamiento de aguas residuales

Las tecnologías de tratamiento de aguas residuales consisten en sistemas biológicos y fisicoquímicos, son seleccionadas en base a la composición del efluente residual y de los niveles de remoción necesarios, buscando además mejorar la eficiencia del tratamiento (Becerra-Moreno *et al.*, 2023).

La contaminación de las aguas crece cada día por el aumento de la población y demanda de productos, por lo que requiere de mayor atención en especial si consideramos que las industrias son especialmente responsables por liberar niveles elevados de sustancias tóxicas en el agua, las cuales se caracterizan por una carga orgánica significativa, altos niveles de DQO, DBO, sólidos suspendidos, nitrógeno orgánico, carbono orgánico total, amoníaco y elevada salinidad (Jacome-Pilco *et al.*, 2021).

En México, las pequeñas empresas y poblaciones enfrentan limitaciones significativas para el tratamiento de aguas residuales debido a los costos elevados y la falta de respaldo financiero del gobierno. Por esta razón, los sistemas de tratamiento ecológicos como las lagunas de oxidación y los humedales artificiales emergen como opciones más prácticas. Estos sistemas no solo tienen un bajo consumo de energía y

costos operativos reducidos, sino que también ofrecen una alta eficacia en la eliminación de contaminantes (Sandoval-Herazo *et al.*, 2020).

1.2.1 Tratamientos biológicos

El tratamiento biológico de aguas residuales puede utilizar métodos como la adsorción con carbón activado, el uso de adsorbentes o procesos químicos convencionales como la oxidación térmica, la cloración, la ozonización y el permanganato de potasio. Sin embargo, en ocasiones estos métodos resultan ineficaces debido a la toxicidad del agua a tratar, lo que complica alcanzar los límites máximos permisibles de contaminantes en la normatividad mexicana. (López-Ramírez *et al.*, 2021).

Los filtros percoladores y los lodos activados son los más utilizados en el tratamiento biológico aerobio ya que se lleva a cabo la bio-oxidación o bio-degradación de la materia orgánica biodegradable contenida en las mismas, la acción ocurre por el metabolismo de los microorganismos presentes en la biomasa (Menéndez-Gutiérrez, 2022). El objetivo principal es mantener niveles óptimos de oxígeno disuelto para facilitar la remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos presentes en el agua residual (Becerra-Moreno *et al.*, 2023).

1.3 Algas

Existen aproximadamente 9000 especies de macroalgas, estos organismos acuáticos multicelulares forman grandes colonias y realizan una de las mayores aportaciones de oxígeno al planeta; se estima que participan con cerca del 50 % de la fotosíntesis global. Actualmente el término alga se refiere a organismos que tienen células con núcleo (Eucariontes) y se excluyen las algas-verde azules pertenecientes al reino de las bacterias (*Phylum Cyanobacteria*). Las macroalgas más comúnmente utilizadas en la agricultura son las pardas (Pérez-Madruga *et al.*, 2020).

Tabla 1.1a Clases de algas con sus respectivas características (Tan *et al.*, 2020).

Tipo de alga	Características	Ejemplo
Cyanobacteria	Las cianobacterias o algas verdeazuladas son bacterias gramnegativas que pueden sobrevivir en algunos de los hábitats más hostiles de la tierra. Algunas de ellas son conocidos por su capacidad de producir nitrógeno	<i>Prochlorococcus</i> , <i>Spirulina</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Cyanothece</i> , <i>Anabaena</i>
Glaucocystophytes	Las glaucofitas son algas eucariotas unicelulares relativamente poco comunes que contienen plástidos que son estructuralmente similares a las cianobacterias. Son uno de los descendientes del producto de la endosimbiosis temprana.	<i>Cyanophora</i> , <i>Glaucocystis</i> , <i>Peliaina</i> , <i>Gloeochaete</i>
Rhodophytes	Las rodófitas o algas rojas se componen principalmente de eucariotas fotosintéticos multicelulares. Se caracterizan por su distintivo color rojo debido a la presencia de pigmentos rojos como los ficobilisomas en su cloroplasto.	<i>Batrachospermum</i> , <i>Chroodactylon</i> , <i>Bangia</i> , <i>Cyanidium</i> , <i>Compsopogon</i>
Chlorophytes	Las clorofitas o algas verdes son eucariotas fotosintéticos que contienen clorofilas como sus principales pigmentos fotosintéticos.	<i>Haematococcus</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Dunaliella</i> , <i>Graesiella</i> , <i>Scenedesmus</i>
Charophytes	Los carófitos son principalmente algas terrestres y de agua dulce. En particular, tienen características similares a las plantas terrestres, lo que sugiere que los ancestros de los carófitos dieron origen a las plantas terrestres.	<i>Coleochaete</i> , <i>Micrasterias</i> , <i>Chara</i> , <i>Penium</i> , <i>Klebsormidium</i> .
Euglenoids	Los euglenoides son eucariotas flagelados unicelulares que exhiben características tanto animales como vegetales. La mayoría de los euglenoides son especies de agua dulce, mientras que algunas son especies marinas.	<i>Euglena</i> , <i>Discoplastis</i> , <i>Phacus</i> , <i>Colacium</i> , <i>Strombomonas</i>
Apicomplexans	Los apicomplejos son un grupo de parásitos intracelulares obligados que se encargan de causar diversas enfermedades en animales y humanos.	<i>Plasmodium</i> , <i>Toxoplasma</i> , <i>Cryptosporidium</i>

Tabla 1.1b Clases de algas con sus respectivas características (Tan *et al.*, 2020).

Tipo de alga	Características	Ejemplo
Dinoflagellates	Los dinoflagelados son una clase de protistas unicelulares y se caracterizan por sus núcleos relativamente grandes, plástidos de color marrón dorado y su método único de natación.	<i>Gymnodinium</i> , <i>Karenia</i> , <i>Dinophysis</i> , <i>Alexandrium</i>
Haptophytes	Las haptofitas son microalgas fotosintéticas unicelulares con su cloroplasto originado a partir de la endosimbiosis de algas rojas. Suele tener 2 flagelos iguales o desiguales que le permiten ser móvil.	<i>Chrysochromulina</i> , <i>Prymnesium</i> , <i>Pavlova</i> , <i>Diacronema</i>

1.3.1 Microalgas

Actualmente existen más de 50 000 especies de microalgas que habitan los océanos y aguas dulces (Pérez-Madruga, 2020). Estas microalgas son capaces de influir en los microbiomas del agua circundante mediante la competencia de nutrientes o a través de la simbiosis mutualista (Turkkul *et al.*, 2020). Las microalgas utilizan la clorofila para capturar la luz solar, absorbiendo principalmente las longitudes de onda en los colores violeta, azul, anaranjado, rojo y absorbiendo menos radiaciones en las longitudes de onda intermedias, como verde-amarillo-anaranjado. Existen varios tipos de clorofilas: a, b, c, d y e, siendo la clorofila "a" y "b" los pigmentos fotorreceptores más importantes. Estos pigmentos captan la luz emitida en las regiones del rojo y el azul debido a su estructura, lo que explica por qué algunas especies de microalgas aparecen verdes, como se observa en la Figura 1.2. Las clorofilas están compuestas por estructuras de dobles enlaces conjugados que les permiten absorber la luz visible eficientemente (Palacios-Sánchez, 2022).

Algunas especies de microalgas tienen la capacidad de utilizar materia orgánica como fuente de energía o carbono para crecer, y se clasifican en varias categorías según su metabolismo. Las fotoautótrofas emplean la energía solar para la fotosíntesis y obtienen carbono a partir de compuestos inorgánicos, mientras que las fotoheterótrofas utilizan la luz solar, pero adquieren carbono de compuestos orgánicos.

Las microalgas mixotróficas son capaces de llevar a cabo tanto procesos autótrofos como heterótrofos, utilizando la luz solar y la materia orgánica como fuentes de energía, y obteniendo carbono de compuestos orgánicos y dióxido de carbono. Por otro lado, las microalgas heterótrofas dependen exclusivamente de compuestos orgánicos para obtener tanto energía como carbono, permitiéndoles prosperar incluso en ausencia de luz (Sánchez-Sandoval, 2021).



Figura 1.2 Especies de microalgas

Actualmente, *Chaetoceros spp.*, *Nannochloropsis spp.*, y *Dunaliella spp.*, son especies de microalgas que se encuentran disponibles comercialmente y han sido utilizadas en la cadena de alimentos para ecosistemas marinos, en la industria farmacéutica, el consumo humano y en la agricultura (Pérez *et al.*, 2020).

1.3.2 *Nannochloropsis oculata*

El Género *Nannochloropsis* pertenece al Reino Chromista y al Filo Heterokontophyta, se caracteriza por ser una microalga unicelular de flotación libre, subesférica, de 2 a 3 micras de diámetro medio, inmóviles, desprovistas de flagelos y poseen un cromatóforo sencillo parietal de color verde pálido que ocupa gran parte de la célula como se muestra en la Figura 1.3 el citoplasma posee una gran acumulación de lípidos (Kannah *et al.*, 2021).

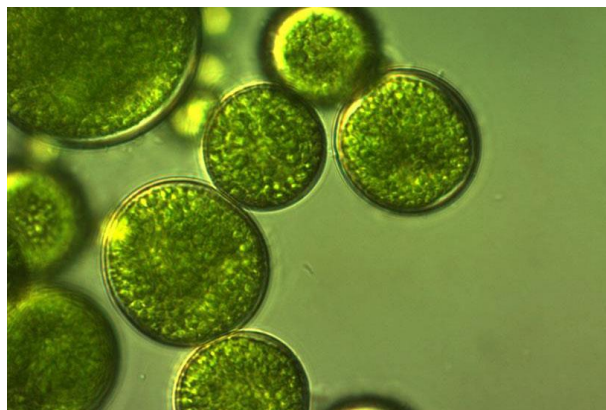


Figura 1.3 *Nannochloropsis Oculata*

La estructura celular está conformada por una bicapa: una pared interna de celulosa protegida por una capa externa de algaeno hidrófobo, caracterizada por su alta saturación y por contener hidrocarburos alifáticos de cadena larga con enlaces éter cruzados (Sánchez-Sandoval, 2021). Además, posee una capa interna con una vaina trilaminar basada en celulosa, como se ilustra en la Figura 1.4. Las paredes celulares están constituidas por algógenos, biopolímeros que muestran una notable resistencia a la hidrólisis ácida y alcalina, así como a la solubilización en soluciones acuosas y orgánicas. Estas paredes también contienen hidrocarburos alifáticos de cadena larga que pueden experimentar reacciones de reticulación, formando una red con enlaces éter (León-Domínguez, 2022).

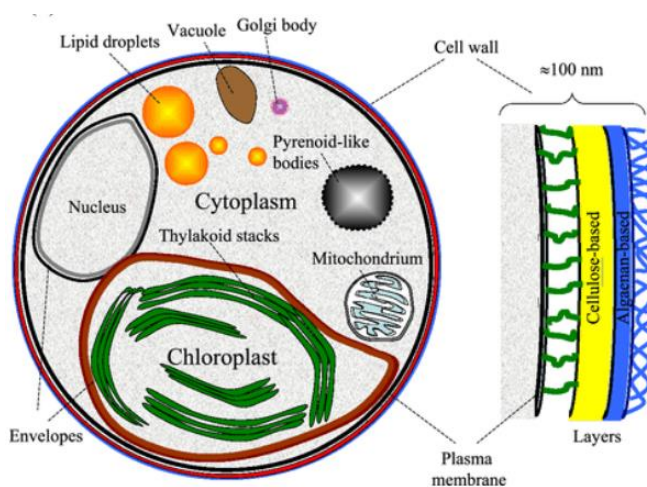


Figura 1.4 Estructura de la microalga

Posee clorofila a y carece de clorofila b y c, además de no tener flagelos y son fácilmente adaptables a condiciones ambientales diferentes y sus cloroplastos van del color amarillo al verde (Palacios-Sánchez, 2022). Esta microalga puede acumular altas concentraciones de pigmentos, incluyendo cantaxantina, astaxantina, zeaxantina y destaca especialmente por su elevada producción de violaxantina. Estudios recientes han mostrado que puede convertir hasta el 60% de su biomasa en peso seco en lípidos (León-Domínguez, 2022).

Esta microalga está compuesta en un 56.9 % de proteínas (en peso seco) y un 21.6 % de lípidos. Debido a esta composición, se está investigando su uso como fuente alimentaria potencial. La reducción de lípidos, que son propensos a la oxidación durante el almacenamiento, puede mejorar la producción de biodiésel de alta calidad (Amouzad *et al.*, 2019). Por su alto contenido en AGP ω -3, ácido palmítico y palmitoleico, se le considera como una materia prima prometedora. Adicionalmente, es una muy buena fuente para producir biodiésel (Pandeirada *et al.*, 2019).

El género ha sido clasificado por el *Joint Research Centre* como una buena fuente de EPA, para ser extraído y comercializado como suplementos nutricionales para la dieta humana (Bermúdez-Saúco, 2020). También ha sido ampliamente utilizada como una especie beneficiosa candidata para la tecnología de agua verde debido a su capacidad para absorber nutrientes y prevenir el crecimiento bacteriano patógeno (Ding *et al.*, 2021).

La eficiencia de *N. oculata* en la remoción del nitrógeno y fósforo presente en las aguas residuales se debe a que son nutrientes esenciales para la formación de biomasa. Por esta razón en los cultivos se aplican nutrientes para que influyan en la composición bioquímica de las células y la velocidad de crecimiento del cultivo, así como la producción de productos de alto valor (Tebbani *et al.*, 2020). Por lo tanto, es reconocida por su valor nutricional como una excelente fuente de proteínas, carbohidratos, lípidos y vitaminas ya que esta especie contiene cantidades elevadas de (AGP), especialmente (EPA), (DHA) y ácido araquidónico, se utiliza principalmente como alimento para moluscos y larvas de crustáceos, además, la composición bioquímica

de las microalgas juega un papel vital en el crecimiento y desarrollo exitoso de muchos peces marino (Wei *et al.*, 2021).

1.3.3 Cultivo de *Nannochloropsis oculata*

El medio estándar para el cultivo de microalgas con la formulación de Guillard (1962) es un mineral hidrosoluble para el cultivo de microalgas marinas. Las microalgas tienen requerimientos nutricionales que incluyen tanto macronutrientes (nitrógeno, fósforo, carbono, hidrógeno, etc.), así como micronutrientes (hierro, azufre, magnesio, potasio, zinc, entre otros) y vitaminas. Por ejemplo, la deficiencia de azufre, en particular, puede inhibir la síntesis de proteínas y afectar negativamente la actividad fotosintética (Tebbani *et al.*, 2020). Cada formulación dependerá de los requerimientos de la especie de microalga a propagar. El medio de cultivo Guillard's F/2 es uno de los medios más utilizados en el cultivo de microalgas, ya que proporciona todos los nutrientes esenciales para su desarrollo (Palacios-Sánchez, 2022).

1.4 Tratamiento de aguas residuales con microalgas

Las microalgas y cianobacterias, han despertado el interés por ser muy eficientes en remoción de contaminantes en distintas aguas residuales, además tienen la capacidad de adsorber metales pesados. Gracias a su supervivencia en cualquier agua residual son objeto de estudio para usarlos como fuente nutricional, adicionalmente la biomasa de las microalgas puede ser utilizada para la extracción de varios bio-productos de alto valor en la industria y salud (Becerra-Moreno *et al.*, 2023).

Las microalgas poseen una notable capacidad ficorremediadora que permite la biotransformación de contaminantes en medios líquidos o gaseosos. Esto se debe a su rápido crecimiento, capacidad para tolerar condiciones extremas y producción de altos niveles de componentes celulares valiosos. La biomasa algal captura los contaminantes, que pueden ser recuperados mediante la cosecha de las algas. Es por ello que los sistemas de cultivo tienen dos propósitos principales: la eliminación de contaminantes y la producción de biomasa con fines comerciales. Entre las especies de microalgas más empleadas en los procesos de biorremediación de aguas

residuales se *Scenedesmus sp*, *Chlorella sp.*, *Ch. vulgaris*, *Tetraselmis sp.*, *Pseudochlorella sp.* y *P. pringsheimii*, debido a su alta eficiencia en la remoción de contaminantes. Además, estas microalgas retienen componentes químicos como sulfatos y cloruros, lo que contribuye a niveles elevados de materia orgánica (Jacome-Pilco *et al.*, 2021).

1.4.1 Remoción de nutrientes

Las microalgas pueden mantener la síntesis de lípidos, incluso cuando se presenta una deficiencia de nutrientes en el medio de cultivo o bajo condiciones de estrés ocasionadas por la reducción de otros factores o constituyentes celulares. La estructura de sus células posee componentes lipídicos, por tanto, la fracción lipídica rica en AGP es mayor respecto a los peces. Los lípidos participan en ellas en numerosas funciones celulares, incluyendo el almacenamiento de energía, estructura e integridad de la membrana celular, fotosíntesis, metabolismo y señalización entre células (White *et al.*, 2019).

La síntesis celular de las microalgas incluye tres componentes fundamentales (carbono, nitrógeno y fósforo), que también son nutrientes cruciales para el crecimiento de la biomasa ilustrada en la (Figura 1.5). La fotosíntesis de las microalgas se ve afectada por la morfología, la calidad de los nutrientes y la especie. La relación de los macronutrientes y micronutrientes es uno de los factores importantes que influyen en la acumulación de biomasa y la productividad de los componentes de valor añadido (Giuliano-Regonesi, 2023).

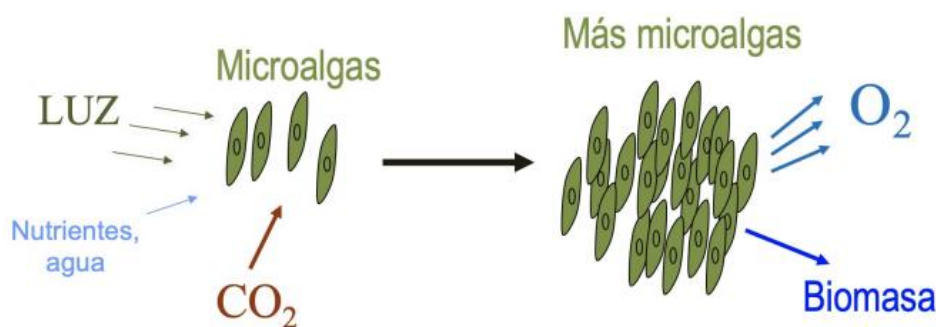


Figura 1.5 Proceso de producción de microalgas

Biofijación del dióxido de carbono

Las microalgas pueden utilizar dióxido de carbono (CO_2) o iones bicarbonato (HCO_3^-) como fuentes de carbono, y su preferencia varía según la especie y sus mecanismos biológicos. Algunas, como ciertas especies del género *Chlorella sp.*, prefieren el CO_2 gaseoso por su capacidad para captarlo directamente y fijarlo eficientemente. Otras, como algunas del género *Scenedesmus sp.* o *Nannochloropsis sp.*, están adaptadas para usar bicarbonato, especialmente en entornos con bajas concentraciones de CO_2 libre (Tebbani *et al.*, 2020).

El carbono es un macronutriente esencial que forma parte de los carbohidratos en las microalgas, los cuales pueden ser estructurales, como en la pared celular, o de reserva, como en los cloroplastos, especialmente en condiciones de limitación de nutrientes o saturación de luz. Gracias a la enzima anhidrasa carbónica pueden acumular hasta 20 veces más carbono inorgánico del medio y del CO_2 atmosférico. Este proceso contribuye a que el carbono represente el 50 % de la biomasa de las microalgas. La adición de CO_2 en los cultivos mediante aireación facilita la mezcla del cultivo, previene la sedimentación celular, mejora la exposición de las células a la luz, nutrientes y optimiza el intercambio de gases entre el medio de cultivo y el aire (Sánchez-Sandoval, 2021).

Nitrógeno

El nitrógeno puede presentarse en forma de urea, amonio, nitrato, nitrito, nitrógeno molecular y óxidos de nitrógeno. El contenido de nitrógeno está presente en las principales vías metabólicas de las microalgas alrededor del 7 % (Tebbani *et al.*, 2020), es esencial ya que ayuda a sintetizar las proteínas, lípidos y carbohidratos, por lo que al agotarse comienza a disminuir el crecimiento celular, debido a que no se almacena en el interior celular. Sin embargo, en exceso puede disminuir el crecimiento celular (Sánchez-Sandoval, 2021). Una técnica eficaz para incrementar el contenido lipídico de las microalgas es disminuir el nitrógeno, ya que las condiciones de cultivo deficientes en nitrógeno pueden producir lípidos dobles en comparación con el medio suficiente en nitrógeno (Yaakob *et al.*, 2021).

Oxígeno

La aplicación de oxígeno en los cultivos de microalgas debe ser cuidadosamente controlada, ya que concentraciones elevadas pueden inhibir la fijación de carbono por la enzima ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCo). Esta enzima es crucial para convertir CO₂ inorgánico en carbono orgánico. En condiciones de estrés, la degradación de RuBisCo en microalgas puede, sin embargo, permitir que el crecimiento celular continúe (Palacios-Sánchez, 2022).

Fósforo

El fósforo desempeña la formación de ácidos nucleicos, la fotosíntesis, transferencia de energía y en las membranas celulares constituidas por fosfolípidos, facilitando así la división celular. También influye en el crecimiento y contenido nutricional de las células (Yaakob *et al.*, 2021). La escasez de fósforo puede tener un impacto considerable en el crecimiento de las microalgas (Sánchez-Sandoval, 2021).

Aumentar adecuadamente la concentración de fósforo es beneficioso para el desarrollo de microalgas y la acumulación de lípidos debido a que algunas microalgas pueden usarlo para producir ésteres orgánicos. Las microalgas hacen que el fósforo convierta ADP en ATP a través de la fosforilación, que también puede precipitar fosfato a través de la adsorción celular o la regulación del pH, como se muestra en la Figura 1.6. Además, el aumento en la fosforilación de proteínas podría explicar el mayor consumo de fosfato bajo condiciones de acidificación (Giuliano-Regonesi, 2023).

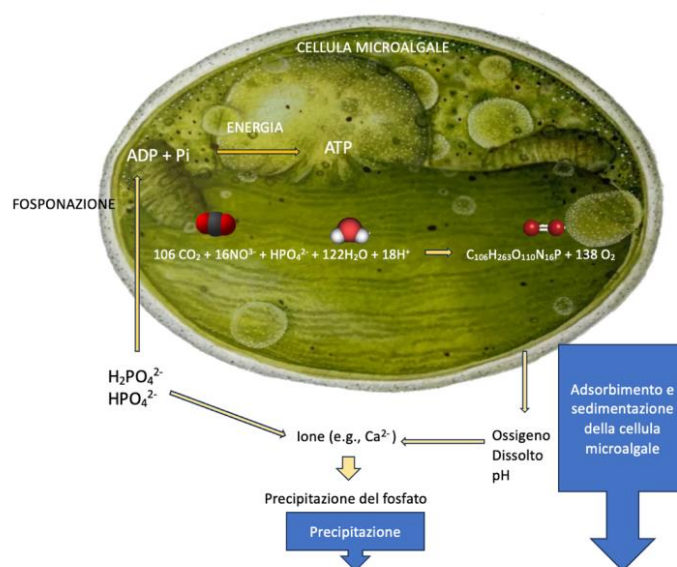


Figura 1.6 Mecanismo de adsorción de fósforo por microalgas

1.4.2 Factores que influyen en el crecimiento de algas

Un cultivo eficaz depende de diversos parámetros ambientales, biológicos y físicos en relación con las características de cada microalga:

Luz

La luz es esencial para la conversión en biomasa, ya que el crecimiento de las microalgas mejora progresivamente con una adecuada exposición e intensidad lumínica. La agitación constante se utiliza para asegurar que la luz alcance tanto las áreas oscuras como las iluminadas, con el fin de prevenir la fotoinhibición (Muñoz *et al.*, 2021).

pH

La estricta relación con la concentración de CO_2 disuelto en el medio de cultivo, cuando el CO_2 es significativo puede producir la acidificación del medio ambiente e inhibir el crecimiento de las microalgas (Tebbani *et al.*, 2020). Las microalgas, a través de la fotosíntesis, alcalinizan el medio de cultivo hasta niveles que no pueden ser compensados por la neutralización del CO_2 , debido al equilibrio del buffer de

bicarbonato. Además, la tasa respiratoria de las microalgas también contribuye a acidificar el medio. (Muñiz *et al.*, 2019).

Temperatura

La temperatura, relacionada con la luz, provoca cambios en la estructura celular de las microalgas, y un incremento en la temperatura puede causar un aumento en el volumen celular. Las microalgas toleran temperaturas entre 15 °C y 26 °C, con una concentración celular óptima alrededor de 23 °C, aunque esto puede variar según la especie. Además, un aumento en la temperatura afecta el metabolismo de la fijación de CO₂ (Tebbani *et al.*, 2020).

Salinidad

La salinidad afecta negativamente el crecimiento y desarrollo de las microalgas, y el estrés inducido por cambios en la salinidad está asociado con un aumento en la generación de especies reactivas de oxígeno. La combinación de radiación UV-B y estrés por salinidad también conduce a una inhibición del crecimiento. Además, niveles elevados de salinidad reducen la eficiencia de biorremediación de bacterias y microalgas (Parsy *et al.*, 2020).

El estrés por baja salinidad en algas puede perturbar la homeóstasis celular, causando diferencias en la concentración de iones externos e internos, especialmente Na⁺ y Cl⁻. Esto resulta en un influjo de agua hacia la célula, lo que aumenta el volumen celular y provoca la salida de iones (Aguiar, 2016).

Agitación

La uniformidad del medio de cultivo es esencial para asegurar una máxima productividad de biomasa y una eficiente capacidad de captura de CO₂ (Tebbani *et al.*, 2020). Sin embargo, una agitación excesiva puede provocar cizallamiento de las células, resultando en daños irreversibles en su estructura y afectando el crecimiento y la producción de metabolitos (Santos-García, 2019).

1.3.3 Fotobiorreactores

En el diseño de un fotobiorreactor, la captación de luz y una mezcla eficiente son fundamentales para mantener la concentración de biomasa en niveles óptimos. La producción de biomasa es compleja y crítica debido a la influencia de numerosos factores en el funcionamiento del sistema. El control de procesos es esencial para garantizar una producción efectiva (Guzmán *et al.*, 2021).

Fotobiorreactores cerrados

En estos sistemas, el cultivo se mantiene aislado del entorno externo, lo que protege a las microalgas de posibles contaminaciones externas. Existen varios diseños de fotobiorreactores, como paneles planos, columnas de burbujeo y tubulares, ilustrados en la Figura 1.7. Los fotobiorreactores tubulares se componen de dos secciones principales: la columna de burbujeo, que se encarga de la aireación y el control de temperatura, y el lazo o receptor solar, donde las microalgas circulan a través de una bomba de impulsión. En esta última sección, las microalgas se exponen a la radiación solar para llevar a cabo la fotosíntesis (Guzmán *et al.*, 2021).



Figura 1.7 Fotobiorreactor cerrado

Los fotobiorreactores abiertos son grandes estanques de poca profundidad diseñados para asegurar una distribución uniforme de la luz solar en toda el área, como los fotobiorreactores tipo "raceway" (ver Figura 1.8). Estos sistemas constan de tres partes

principales: un foso subterráneo de aproximadamente 2 metros de profundidad para la inyección de gases, un canal en forma de U que actúa como receptor solar, por donde circulan las microalgas para captar la radiación solar y realizar la fotosíntesis (Guzmán *et al.*, 2021).

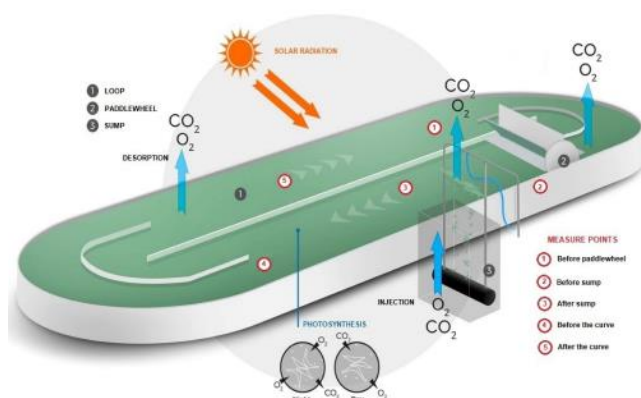


Figura 1.8 Fotobiorreactor abierto tipo raceway

En cultivos continuos de fotobiorreactores (PBR), la dilución y la concentración son factores clave que influyen en el crecimiento de las microalgas (Yuan *et al.*, 2020).

Por otro lado, en un sistema cerrado como el reactor tipo Batch, el control del proceso es menos exigente, lo que facilita su operación y reduce los costos. En estos sistemas, no es necesario renovar el medio de cultivo, aunque la aireación, el pH y la posibilidad de contaminación pueden impactar el rendimiento del cultivo (Cánovas *et al.*, 2020).

En el cultivo utilizando un reactor semicontinuo o en operación por lotes alimentados repetidamente, se combina el enfoque de los reactores por lotes con el de los sistemas continuos. En este tipo de operación, el sustrato se renueva con frecuencia y el efluente se elimina de manera regular (Zori *et al.*, 2017).

1.5 Ácidos grasos poliinsaturados

La principal dificultad en la industria relacionada con microalgas radica en la degradación de la pared celular y la extracción de los ácidos grasos de interés. Estos procesos son costosos y representan un desafío para la producción en masa de productos viables. Diferentes métodos de extracción pueden influir en la recuperación

de distintos tipos de ácidos grasos, permitiendo obtener mayores cantidades de ácidos grasos saturados, monoinsaturados o poliinsaturados (Brennan *et al.*, 2020).

Por años, se ha intentado modificar las robustas estructuras celulares, que están compuestas por celulosa, polisacáridos, proteínas y lípidos, debido a la dificultad de realizar extracciones efectivas mediante tratamientos mecánicos y químicos sin alterar los compuestos lipídicos. Se han empleado métodos convencionales como la extracción Soxhlet y la degradación química para superar estos desafíos (Zghaibi *et al.*, 2019). No obstante, este método convencional requiere altas temperaturas que pueden deteriorar los AGP. Estas desventajas han llevado a la búsqueda de métodos de extracción alternativos que empleen productos químicos menos agresivos y que puedan romper de manera eficiente las células de microalgas (Goh *et al.*, 2019).

Los AGP han atraído el interés de los nutricionistas debido a sus efectos antitrombóticos. Este interés comenzó con la observación de que las poblaciones inuit presentaban una protección destacada contra las enfermedades cardiovasculares, atribuida a su alta ingesta de EPA proveniente de una dieta rica en pescado crudo (Zanella *et al.*, 2020).

Durante el crecimiento de microalgas, los ácidos grasos producidos se incorporan en diacilglicerol polares, que incluyen diversas clases de glicolípidos y fosfolípidos. Estos lípidos polares, como los glicolípidos y fosfolípidos, son esenciales para la formación de membranas plastidiales y no plastidiales en las células vegetales (Matsui *et al.*, 2020). Por lo tanto, la extracción de lípidos polares debe realizarse durante la fase de crecimiento de las microalgas. Investigaciones recientes han demostrado que los glicolípidos en las microalgas están compuestos por ácidos grasos de dieciséis y dieciocho átomos de carbono (AGP), destacando los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y el ácido α -linolénico. Estos compuestos se encuentran en las membranas de los tilacoides y cloroplastos, donde desempeñan un papel crucial en la fotosíntesis, la señalización y la regulación celular (White *et al.*, 2019).

Constituyen entre el 15 % y el 35 % de la masa celular de las algas en base seca. Estos lípidos pueden ser aislados de la biomasa celular utilizando diversos métodos

que emplean solventes, como cloroformo, metanol y hexano (Manisali *et al.*, 2019). Debido a su naturaleza anfipática su estructura posee una región polar y otra no polar (Fernández-García, 2019). También pueden satisfacer las demandas de las industrias cosmética y nutracéutica al ofrecer productos sostenibles derivados de microalgas que sustituyan los fosfolípidos obtenidos de la soja y los huevos (Manisali *et al.*, 2019).

La estructura de los ácidos grasos incluye ácidos orgánicos monocarboxílicos que forman parte de triglicéridos o existen como ácidos grasos libres. Estos ácidos grasos se caracterizan por una cadena hidrocarbonada anfipática que termina en un grupo metilo. Los ácidos grasos saturados son ácidos carboxílicos de cadena larga que no presentan dobles enlaces entre sus átomos de carbono. Se encuentran predominantemente en los lípidos, raramente en forma libre, y a veces esterificados al glicerol. A diferencia de los ácidos grasos insaturados, los saturados no contienen dobles enlaces entre sus átomos. Las microalgas, por su parte, tienen la capacidad de ajustar los niveles de AGP para modificar el estado físico y fisiológico de las membranas celulares, adaptándose así a condiciones de baja temperatura y alta salinidad (Matsui *et al.*, 2020). El EPA y el DHA son los ácidos grasos omega-3 más importantes de la nutrición humana, estos compuestos se encuentran en los lípidos marinos (Bach *et al.*, 2020).

1.5.1 Beneficios para la salud humana

Los AGP omega-3 se consideran esenciales para los humanos porque no pueden sintetizarlos internamente; esto se debe a que los mamíferos carecen de las enzimas delta-12 y delta-15 desaturasa, que son responsables de añadir dobles enlaces en las posiciones ω -3 y ω -6. Por lo tanto, es necesario obtener estos ácidos grasos a través de la dieta, siendo así considerados ácidos grasos esenciales (Fernández-García, 2019). Además, las fuentes de ácidos grasos monoinsaturados y omega-3 pueden actuar como coadyuvantes en la prevención de diversas enfermedades (Reinoso, 2019).

Los avances en estos estudios han demostrado que los ácidos grasos omega-3 son cruciales para el desarrollo neurológico durante el embarazo y la lactancia, así como

para la salud cardiovascular. Además, estos ácidos grasos son precursores importantes de los eicosanoides, que ayudan a reducir la coagulación sanguínea y a aumentar el flujo sanguíneo (De Groot *et al.*, 2019).

El DHA, por su parte, actúa como precursor de ciertos ácidos behénicos, que tienen efectos antiinflamatorios, y de neuroprotectinas, que protegen las neuronas y contribuyen a un desarrollo cognitivo óptimo (Fernández-García, 2019).



Figura 1.9 Biomasa de microalgas como alimento acuícola.

Son una fuente de numerosos compuestos beneficiosos que ayudan a prevenir problemas metabólicos asociados con el envejecimiento. Sin embargo, solo unas pocas especies o derivados están aprobados para su uso en la dieta humana en forma de biomasa, como se ilustra en la Figura 1.9. Entre estas, se da prioridad a las especies del género *Nannochloropsis*, debido a su idoneidad para el cultivo intensivo y su alto contenido en AGP, especialmente EPA, así como en antioxidantes y algunas vitaminas (Zanella *et al.*, 2020).

1.5.2 AGP en *N. Oculata*

En los últimos años, se ha descubierto que la especie *Nannochloropsis sp.* contiene grandes cantidades de lípidos neutros, los cuales pueden ser producidos y extraídos para fabricar materias primas destinadas a nutraceuticos, aditivos alimentarios y biocombustibles. Debido a su complejidad y abundancia en estructuras lipídicas, esta

especie ha captado una creciente atención por parte de los investigadores (Brennan *et al.*, 2020).

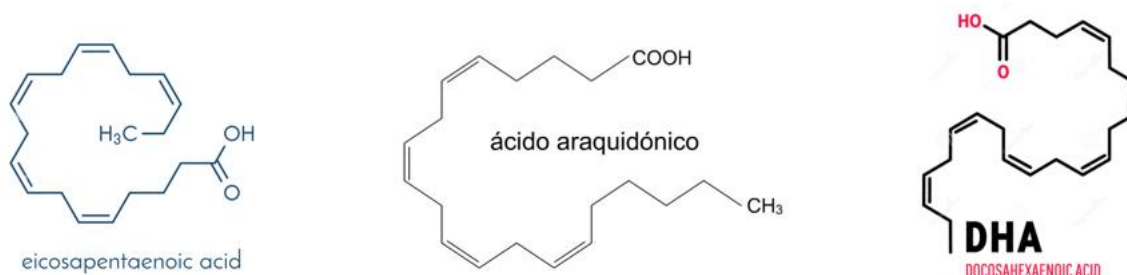


Figura 1.10 Ácidos grasos poliinsaturados con mayor presencia en *N. Oculata*

La Figura 1.10 muestra los 3 AGP que han recibido mayor atención durante el crecimiento de *N. oculata*. Estos ácidos AGP son derivados del metabolismo del ácido alfa-linolénico (n-3) y han demostrado tener efectos beneficiosos significativos, especialmente en el ámbito clínico, con una relevancia particular en el desarrollo y el envejecimiento (Gómez *et al.*, 2020).

1.7 Modelos matemáticos para la remoción de contaminantes

El modelo cinético de Gompertz es una función sigmoidea empleada como un modelo matemático para series temporales. Este modelo es altamente efectivo para predecir la producción de biogás en procesos de digestión anaerobia en modo discontinuo. Varios estudios han evaluado diferentes modelos cinéticos y han encontrado que el modelo de Gompertz modificado (Ecuación 1.1) proporciona uno de los mejores ajustes para los datos de producción de biogás o metano a lo largo del tiempo en procesos anaeróbicos discontinuos (Rincón *et al.*, 2021).

$$y = a * e^{-e^{\left(\frac{b*c}{a}\right)*(c-z)+1}} \quad (\text{Ecuación 1.1})$$

El modelo cinético desarrollado por Baranyi y Roberts en 1994, descrito en la (Ecuación 1.2), es ampliamente utilizado para modelar el crecimiento microbiano. Este modelo se basa en una cinética de primer orden con una tasa máxima de crecimiento (μ_{max}), que varía según las condiciones ambientales y la fase del crecimiento de la

población. Durante la fase exponencial, la tasa de crecimiento alcanza su valor máximo. En contraste, durante las fases de adaptación y estacionaria, la tasa se ajusta mediante coeficientes que varían entre cero y uno (Garre-Pérez, *et al.*, 2016).

$$\frac{dN}{dt} = \alpha(t) * \mu_{max} * \gamma(t) * N(t) \quad (\text{Ecuación 1.2})$$

En este modelo, la fase de adaptación se conceptualiza mediante una sustancia ficticia $P(t)$ que actúa como un factor limitante. El crecimiento de esta sustancia se ajusta a la cinética de Michaelis-Menten, según lo indicado en la (Ecuación 1.3).

$$\alpha(t) = \frac{P(t)}{K_p + P(t)} = \frac{\frac{P(t)}{K_p}}{1 + P(t)/K_p} = \frac{Q(t)}{1 + Q(t)} \quad (\text{Ecuación 1.3})$$

El modelo propuesto por McKellar en 2001 representa una sofisticada extensión del modelo que él había introducido en 1997. En este enfoque original, la población total $N(t)$ se segmenta en dos subpoblaciones independientes, sin intercambio de células entre ellas. La primera subpoblación, denominada $N_G(t)$, se mantiene constante a lo largo del proceso, sin experimentar crecimiento. En contraste, la segunda subpoblación $G(t)$, exhibe una dinámica de crecimiento descrita por la ecuación log-logística (Ecuación 1.4).

$$\frac{dG}{dt} = \mu_{max} \left[1 - \frac{G(t)}{N_{max}} \right] * G(t) \quad (\text{Ecuación 1.4})$$

El modelo incorpora la transferencia de la población, asumiendo que, en el momento de la inoculación, todos los microorganismos se integran en la población. En este contexto, $G(t)$ representa el proceso de transición de las células hacia esta población. La variable $G(t)$ actúa como un indicador del estado fisiológico de cada célula y decrece de manera lineal, tal como se define en la (Ecuación 1.5).

$$\frac{dp_i}{dt} = -\mu_{max} \quad (\text{Ecuación 1.5})$$

1.8 Antecedentes

Hamzelou *et al.* (2023), analizaron como diferentes métodos de extracción de proteínas afectan las propiedades nutricionales y fisicoquímicas de *Nannochloropsis oculata*. Compararon tampones de extracción de grado alimenticio y no alimentario, así como tres métodos de ruptura celular: batido con perlas, sonicación de sonda y una combinación de ambos. Utilizaron espectrometría de masas para identificar las proteínas y alérgenos potenciales en los extractos de grado alimenticio. Los métodos adicionales de procesamiento celular no lograron mejorar significativamente el contenido proteico de los extractos. No obstante, identificaron cinco proteínas alergénicas potenciales en los extractos de grado alimenticio de *N. oculata*, las cuales mostraron una notable similitud con las proteínas encontradas en los peces. Esto implica una desventaja para las personas alérgicas al pescado, ya que podrían no poder consumir productos derivados de *N. oculata*.

Minhas *et al.* (2023), examinaron cómo distintas intensidades de luz y fotoperiodos afectan la producción de lípidos, biomasa y luteína. Cultivaron las microalgas *Dunaliella tertiolecta* y *N. oculata* durante 23 días en medios de sal marina F/2, bajo dos intensidades de luz y diferentes regímenes fotoperiódicos a 25 °C. Para *N. oculata*, el medio F/2 demostró una mayor productividad en términos de lípidos y luteína, con valores de 15.69 mg/L/d y 0.279 mg/L/d respectivamente. Los parámetros de cultivo a escala de laboratorio y los costos asociados con los medios de cultivo destacaron la viabilidad de adaptar estos medios para la producción a gran escala.

Moreno *et al.* (2023), llevaron a cabo un estudio sobre el tratamiento de aguas residuales de un centro de procesamiento avícola utilizando *Moringa oleifera*. Se realizaron pruebas con agua sin tratar y con agua tratada con extractos de moringa a diferentes concentraciones (10 mg/L, 15 mg/L y 20 mg/L), todas tomadas de las pozas del centro. El propósito era evaluar la eficacia de los extractos en la eliminación de DBO₅, DQO, SST, coliformes, amoníaco, aceites y grasas. Los resultados revelaron una notable eficacia en la reducción de estos contaminantes y una mejora significativa en la calidad del agua.

Vladić *et al.* (2023), investigaron el uso de extracción en agua subcrítica para recuperar compuestos de alto valor de la microalga *Tetrademus obliquus* tras el tratamiento de aguas residuales de aves de corral. El estudio evaluó varios parámetros, incluyendo nitrógeno total, fosfatos, DQO y metales. Los resultados mostraron que *T. obliquus* logró eliminar un 77 % de nitrógeno total, un 50 % de fosfatos, un 84 % de DQO y entre un 48 % y un 89 % de metales, cumpliendo con los límites establecidos por la legislación.

Razali *et al.* (2022), realizaron un estudio biotecnológico enfocado en maximizar la producción de EPA en *N. oculata*. Su enfoque incluyó la remodelación de la síntesis de EPA mediante mutagénesis aleatoria y la implementación de un método de selección basado en inhibidores químicos. Para potenciar la producción de EPA, los investigadores emplearon el metano sulfonato de etilo como agente mutagénico y aplicaron una presión selectiva mediante dos inhibidores enzimáticos del metabolismo lipídico: cerulenina y galvestina-1. Además, abordaron la accesibilidad para mejorar la extracción, lo cual impulsó la adopción de estrategias adicionales para optimizar la síntesis de EPA en microalgas marinas.

Sousa *et al.* (2022), analizaron los extractos lipídicos obtenidos de *Nannochloropsis oculata*, cultivada tanto a temperatura constante como bajo estrés térmico para aumentar el contenido de EPA. Caracterizaron y evaluaron varias bioactividades de estos extractos, incluyendo sus propiedades antioxidantes, citotóxicas, adipolíticas, antihepáticas (contra la esteatosis) y antiinflamatorias. Los resultados indicaron que aplicar estrés térmico modulado puede potenciar los efectos beneficiosos para la salud de los extractos lipídicos de *Nannochloropsis oculata*, sugiriendo así su uso seguro en la formulación de nuevos productos alimenticios.

Méndez *et al.* (2020), evaluaron la concentración celular y la biomasa seca en tres especies de microalgas marinas: *Chlorella vulgaris*, *N. oculata* y *Tetraselmis striata*. El estudio abarcó diversas fases del cultivo, incluyendo el cepario, inicial, intermedia y masiva. Los resultados mostraron que la concentración celular (en células/mL) era mayor en *N. oculata*, seguida por *C. vulgaris* y *T. striata*, con *N. oculata* superando a

T. striata en un factor de 7.63. En cuanto a la biomasa, el orden fue *C. vulgaris* > *T. striata* > *N. oculata*, con una diferencia de 1.32 g. Se concluyó que *Chlorella vulgaris* presenta la mayor ventaja para su uso en acuicultura en comparación con las otras dos especies.

Amouzad *et al.* (2019), investigaron un método para elaborar pasta de microalgas a partir de *N. oculata* y evaluar el impacto de añadir vitaminas C y E para prolongar la vida útil durante el almacenamiento a 4 °C. La pasta de microalgas fue tratada con una mezcla de estas vitaminas al 0.1 % en peso. Los resultados mostraron un aumento en los ácidos grasos saturados y monoinsaturados, mientras que los AGP disminuyeron durante el almacenamiento ($P < 0.05$). Las vitaminas C y E demostraron ser efectivas como conservantes para la pasta de microalgas cuando se usan por separado, pero no en combinación.

Moha-Leon *et al.* (2019), llevaron a cabo un estudio para mejorar el contenido lipídico de *N. oculata* utilizando radiación ultravioleta (UV) y quizalofop. Expusieron las microalgas a radiación UV en diferentes momentos y densidades, y seleccionaron las colonias que sobrevivieron al tratamiento con quizalofop-p-etilo. Como resultado, identificaron dos cepas que sobrevivieron al quizalofop-p-etilo y una cepa adicional que sobrevivió en condiciones de cultivo estándar. Este enfoque logró que la cepa seleccionada mostrara un incremento en el crecimiento, así como un aumento en el contenido de lípidos totales y ácidos grasos.

Polly *et al.* (2019), realizaron la extracción y caracterización de ácidos grasos omega-3 esenciales de *N. oculata*, su enfoque incluyó el cultivo de microalgas, la extracción de lípidos utilizando hexano y la caracterización de estos mediante técnicas como el análisis infrarrojo, la cromatografía en capa fina y la determinación del índice de yodo. Los resultados indicaron que el aceite extraído de las microalgas era muy similar al aceite de pescado comercial, aunque sin el característico olor a pescado. Esto sugiere que el aceite de microalgas podría ser una alternativa alimentaria viable, ofreciendo una fuente de omega-3 que podría ser especialmente beneficiosa para los vegetarianos.

Thi *et al.* (2019), investigaron la actividad biológica de *N. oculata*, centrando su estudio en la identificación de compuestos de AGP. Encontraron que los ácidos palmíticos, oleico y araquídico eran los predominantes en el aceite de esta microalga. Además, el extracto de acetato de etilo mostró una destacada actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Pseudomonas aeruginosa*. También se evaluó la citotoxicidad de los compuestos aislados en líneas celulares de cáncer.

1.9 Avances

Gutiérrez-Casiano, (2023), llevó a cabo un estudio sobre el tratamiento de ARA, enfocándose en la reducción de DQO y nitrógeno en fotobiorreactores para identificar las condiciones óptimas de operación. Utilizando los lípidos extraídos, produjo biodiésel mediante transesterificación enzimática con lipasa de *Candida antarctica*. Los mejores resultados se lograron a 35 °C, con un 1 % en peso de enzima y una relación molar aceite-metanol de 1:6, alcanzando un rendimiento del 83.3 % en 8 horas de reacción. El tratamiento con *Chlorella vulgaris* redujo eficazmente las concentraciones de materia orgánica y nitrógeno, además de demostrar que la intensidad de la luz tiene un impacto significativo en la densidad celular y en la producción de proteínas, pigmentos y lípidos. La combinación de bacterias con *Chlorella vulgaris* en las aguas residuales mejoró la degradación de materia orgánica y nitrógeno, generando CO₂ que las microalgas utilizaron como fuente de alimento, liberando así oxígeno disuelto.

Pérez-Guzmán, (2023), realizó un estudio centrado en la optimización del metabolismo de *Chlorella spp.* y *Spirulina maxima* mediante el uso de diversas dosis de micronutrientes para la eliminación de contaminantes orgánicos. El análisis incluyó parámetros como Demanda Química de Oxígeno (DQO), pH, sólidos totales (ST), sólidos totales volátiles (STV), densidad celular y biomasa. Los resultados indicaron una reducción superior al 90 % en la DQO para ambas especies en todas las dosis aplicadas. Además, se observó que todas las dosis de micronutrientes favorecieron el aumento de la densidad celular, lo que a su vez mejoró la producción de biomasa.

realizo un estudio sobre algas para optimizar el metabolismo de *Chlorella spp.* y *Spirulina maxima*, utilizando diversas dosis de micronutrientes para la remoción de contaminantes orgánicos. Evaluó parámetros como DQO, pH, ST, STV, densidad celular y biomasa, y encontró una disminución superior al 90 % en la DQO para ambas especies y todas las dosis empleadas. Además, se observó que todas las dosis contribuyeron al aumento de la densidad celular y, por ende, a la producción de biomasa.

Caballero-García, (2019), desarrolló estrategias para la operación de fotobiorreactores e identificó las condiciones ideales para maximizar la producción de pigmentos y nutrientes a partir de las microalgas *Chlorella spp.* y *Spirulina maxima*. Durante un período de 60 días, utilizó un fotobiorreactor tipo airlift a escala piloto, con un suministro del 2 % v/v de CO₂ procedente de un generador eléctrico acoplado a un proceso de digestión anaerobia de lodos fisicoquímicos. Los resultados indicaron que los fotobiorreactores tipo airlift son adecuados para complementar las tecnologías de digestión anaerobia de lodos fisicoquímicos, mejorando así la eficiencia del proceso.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

En la Figura 2.1 se presenta el diagrama de la metodología que se llevara a cabo en la presente investigación. Consistirá principalmente en la determinación de los parámetros cinéticos y las condiciones recomendables del proceso de remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes en aguas residuales de origen avícola utilizando la microalga *Nannochloropsis oculata*.

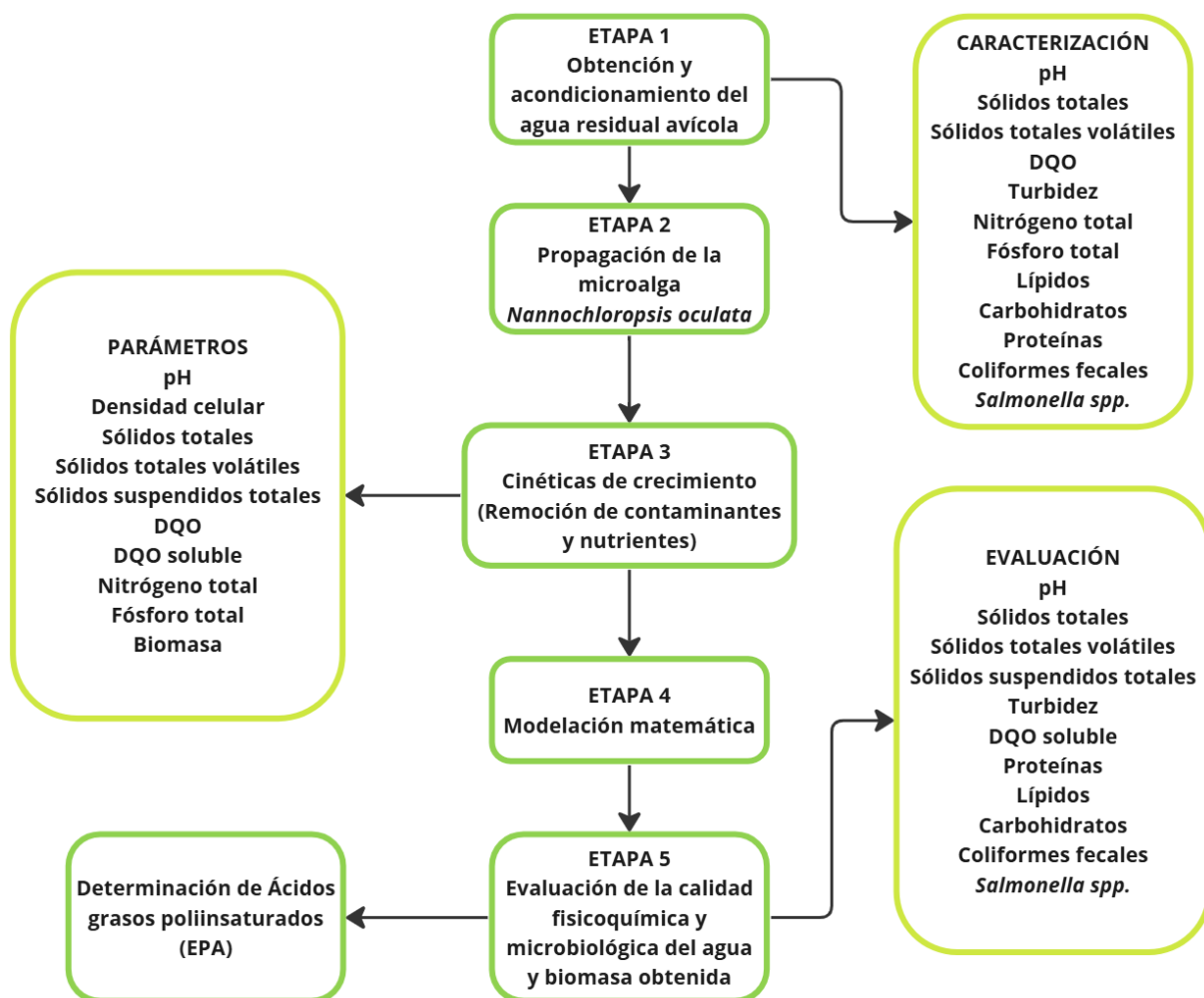


Figura 2.1 Diagrama general de la metodología.

2.1 Obtención del agua residual avícola

El ARA se obtuvo de la Planta Procesadora de Aves San Antonio, localizada en el Municipio de Fortín de las Flores, Veracruz, el muestreo se realizó conforme a la norma mexicana de aguas residuales NMX-AA-003-1980. Posteriormente se almacenó en el laboratorio de Ambiental II perteneciente a la División de Estudios de Posgrado del Instituto Tecnológico de Orizaba. La Tabla 2.1 describe los parámetros evaluados.

Tabla 2.1 Parámetros físicos, químicos y microbiológicos

Físicos	Método	Unidad
pH	Potenciométrico	--
Sólidos Totales	2540 G, Standard Methods	mg/L
Sólidos Volátiles	2540 G, Standard Methods	mg/L
Sólidos Suspendidos Totales	NMX-AA-034-SCFI-2001	mg/L
DQO	MX-AA-030/1-SCFI-2012	mg/L
Químicos	Método	Unidad
Nitrógeno Total	4500-NTK C, SM.	mg/L
Fósforo Total	Método 4500-PB 4	mg/L
Lípidos	Extracción Soxhlet	g/L
Carbohidratos	Antrona-sulfúrico	g/L
Proteínas	Método Kjeldahl	%
Microbiológicos	Método	Unidad
Coliformes Fecales	NOM-004-SEMARNAT-2002	NMP/100 mL
<i>Salmonella Spp.</i>	NOM-004-SEMARNAT-2002	NMP/100 mL
Huevos De Helmintos	NOM-004-SEMARNAT-2002	HH/g ST

2.1.1 Determinación de pH

Se utilizó un potenciómetro y la lectura se hizo de acuerdo al método establecido en la Norma Oficial Mexicana 008-SCFI.

2.1.2 Sólidos Totales

Los Sólidos Totales son la materia residual una vez que se evapora y seco la muestra a 105 °C, la determinación se realizó mediante la técnica gravimétrica descrita en el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999).

El cálculo se realizó utilizando la Ecuación 2.1.

$$mgP/L = \left(\frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \right) 1000000 \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Donde: P1 = Peso del crisol a peso constante (g).

P2 = Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra antes de evaporación (g).

P3 = Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco (g)

2.1.3 Sólidos Totales Volátiles

Esta técnica analítica se realizó de acuerdo con el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999), y los mg/L se calcularon utilizando la Ecuación 2.2.

$$mg/L = \left(\frac{P_3 - P_4}{P_2} \right) 1000000 \quad (\text{Ecuación 2.2})$$

Donde:

P1 = Peso del crisol a peso constante (g).

P3 = Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco (g).

P4 = Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada (g).

2.1.4 Sólidos Suspendidos Totales

Son los sólidos y materia orgánica en suspensión y/o coloidal, que se retienen en el elemento filtrante, esta técnica se realizó con la técnica descrita en NMX-AA-034-SCFI-2001 y los mg/L se calcularon mediante la Ecuación 2.3.

$$mg/L = \left(\frac{P_2 - P_1}{v} \right) 1000000 \quad (\text{Ecuación 2.3})$$

2.1.5 Determinación de Demanda Química de Oxígeno

Se realizó la determinación de DQO total donde se utilizó la muestra pura mientras que para DQO soluble la muestra se centrifugo a 5000 rpm para separar la fase solida de la fracción liquida la cual se utilizó para la determinación. Se llevo a cabo bajo el método MX-AA-030/1-SCFI-2012.

2.1.6 Nitrógeno total

El nitrógeno total se determinó con la técnica analítica del método 4500-NTK C de la APHA-AWWA-WPFC (1999).

Se estima utilizando la Ecuación 2.4.

$$\% N = \left(\frac{G * N * 0.014}{M} \right) 100 \quad (\text{Ecuación 2.4})$$

Donde:

G = mL de solución gastados en la titulación.

N = normalidad de la solución en la titulación.

M = peso de la muestra (g).

El valor de 0.014 corresponde a los mili equivalentes de nitrógeno

2.1.7 Determinación de fósforo total

Se llevó a cabo con el método colorimétrico (4500-PB 4). Digestión con ácido sulfúrico-ácido nítrico) con ayuda de una curva de calibración para encontrar los mg de fósforo y después calcular los mg/L mediante la ecuación:

$$mgP/L = \frac{(mgP * 1000)}{v} \quad (\text{Ecuación 2.5})$$

2.1.8 Carbohidratos

Se realizó con el método Antrona-sulfúrico para cuantificar el contenido de carbohidratos mediante una reacción colorimétrica, los carbohidratos forman un complejo colorido con el reactivo antrona y el ácido sulfúrico. Se realizó una curva de calibración para obtener una ecuación que permitió determinar los g/L de carbohidratos mediante la comparación de la absorbancia medida.

2.1.9 Lípidos

El contenido de grasas y aceites se determinó con el método 5520-E de la APHA-AWWA-WPFC (1999) extracción Soxhlet.

El cálculo para obtener la cantidad de grasas presentes en la muestra, se realiza mediante la Ecuación 2.6.

$$\frac{mg}{L} \text{grasa} = \frac{(M_2 - M_1) 10^6}{V} \quad (\text{Ecuación 2.6})$$

Donde:

M1: peso del matraz a peso constante.

M2: peso del matraz con la muestra seca.

V: volumen obtenido del filtrado, en litros.

2.1.10 Proteínas

Las proteínas se determinaron mediante el método Kjeldahl, y con la ecuación 2.7.

$$\% P = \% N * F \quad (\text{Ecuación 2.7})$$

Donde:

% N: porciento de nitrógeno

F: factor de conversión (6.25)

2.1.11 Coliformes fecales

Se utilizó el método descrito en la NOM-003-SEMARNAT-1997. Esta norma establece los procedimientos para determinar los parámetros microbiológicos en aguas residuales. Para ello se inóculo la muestra en un medio de cultivo, incubo y se observó el crecimiento de los microorganismos.

Se verifico el valor del NMP correspondiente, con la siguiente fórmula:

$$NMP = \frac{NMP \text{ tablas} * 10}{\text{mayor numero inoculado}} \quad (\text{Ecuación 2.8})$$

2.1.12 *Salmonella spp*

Se utilizó el método descrito en la NOM-003-SEMARNAT-1997.

Se obtiene el código formado por el número de tubos positivos y el valor NMP se verifica correspondiente con la ecuación anterior.

2.1.13 Huevos de Helminetos

Esta determinación se hizo con base en la NOM-004-SEMARNAT-2002, con el fin de proteger la salud pública y el medio ambiente. El proceso incluye tomar una muestra representativa, preparar y concentrar la muestra mediante técnicas de flotación o centrifugación, y examinarla bajo un microscopio para contar e identificar los huevos de helminetos. La cantidad de huevos se reporta en unidades de peso o volumen de la muestra, asegurando así un manejo seguro y conforme a las regulaciones ambientales.

2.2 Obtención de la microalga

La microalga de agua salada *N. oculata*, se obtuvo comercialmente del Banco de cultivos Biológicos de México y América Latina (Algae Bank).

2.2.1 Propagación de la microalga

Su propagación se realizó mediante el medio sintético Guillard's F/2 en fotobiorreactores con un volumen útil de 900 ml, cerrados y mantenidos a una temperatura de 24-30 °C, con ciclos de luz-oscuridad 12-12 horas y una línea de burbujeo constante. Las condiciones generales del Medio de cultivo Guillard's F/2 son; temperatura óptima de 25 °C, pH 6.8 \pm 0.2 luz blanca, intensidad lumínica alta: 3000 lx, fotoperiodo 12:12, y aireación por burbujeo.

Tabla 2.2 Macronutrientes Del Medio Guillard's F/2

Componentes	g/L
NaNO₃	0.80
CaCl₂ 2H₂O	0.025
KH₂PO₄	0.05
MgSO₄ 7H₂O	0.50
NaCl	27.00

En la Tabla 2.2 se muestra la relación de macronutrientes y en la Tabla 2.3 la relación de la solución estéril de micronutrientes (metales traza).

Tabla 2.3 Micronutrientes Del Medio Guillard's F/2

Componentes	g/L
H₃BO₃	2.80 x10 ⁻³
MnCl₂	1.80 x10 ⁻³
ZnSO₄ 7H₂O	0.20 x10 ⁻³
Na₂MoO₄ 2H₂O	0.40 x10 ⁻³
CuSO₄ 5H₂O	0.08 x10 ⁻³
CO(NO₃)₂ 5H₂O	0.05 x10 ⁻³

2.2.2 Conteo Celular

Para la cuantificación celular del crecimiento de *N. oculata* se empleó la cámara Neubauer (Figura 2.2), el conteo se realizó para el cuadro central de Neubauer y se aplicó para el cálculo de la densidad celular en microalgas la Ecuación 2.7.

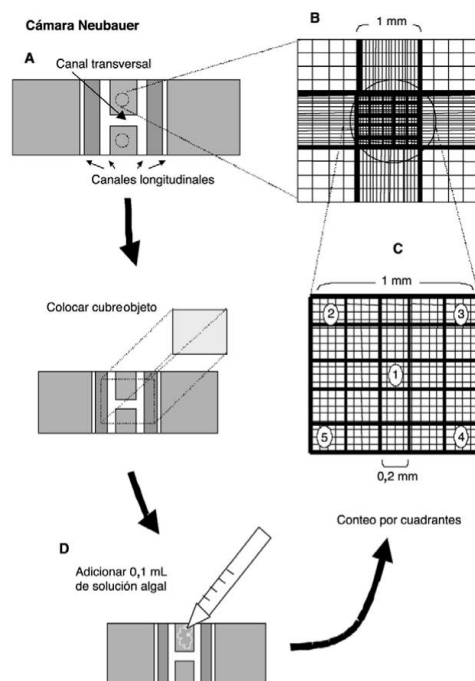


Figura 2.2 Conteo en Cámara de Neubauer

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} \cdot 250\,000}{\text{número de cuadros}} \quad (\text{Ecuación 2.9})$$

2.3 Modelación matemática de las cinéticas de remoción

Se utilizarán tres modelos matemáticos con los cuales se obtendrán los parámetros cinéticos. Los parámetros cinéticos μ_{max} , K_s , $Y_{X/S}$, $Y_{P/S}$ y λ (tiempo de lag o acondicionamiento) se determinarán con el modelo de Gompertz y modelo de Gompertz modificado,

$$N(t) = A \exp(-\exp(-k_G(t - T_i))) \quad (\text{Ecuación 2.10})$$

$$\ln(N(t)) = B + (A - B) \exp(-\exp(-K_s(t - T_i))) \quad (\text{Ecuación 2.11})$$

en la cual para obtener

$$b = \ln(c), c = \exp(b),$$

$$b = k_G \cdot T_i, T_i = b/k_G,$$

$$c = \exp(k_G T_i), T_i = \ln(c)/k_G \text{ y } \mu_{max}$$

Se calculará el cociente de K_s/e y a su vez $\lambda = T_i - \frac{1}{K_s}$

$N(t)$ = Concentración celular al tiempo

A = Concentración celular asintótico a medida que el tiempo disminuye

B = asíntota inferior

T_i = Tiempo de inflexión (h)

La ecuación de Monod se puede utilizar para sistema discontinuos, relacionando la velocidad máxima de crecimiento con la concentración del sustrato limitante, expresándose la siguiente forma:

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} \quad (\text{Ecuación 2.12})$$

Donde μ es la velocidad específica de crecimiento (h^{-1}), μ_{max} la velocidad específica máxima de crecimiento (h^{-1}), S la concentración de sustrato (g/L) y K_s la constante de saturación (g/L). Los valores de μ_{max} y K_s se obtienen a partir de graficar $1/\mu$ y $1/S$ considerando datos experimentales.

2.3.1 Diseño de experimentos

Se empleo un diseño unifactorial del cual se montaron 3 fotobiorreactores con porcentajes de 5, 15 y 25 % de inóculo a cada uno se le hicieron 3 duplicados, con el fin de obtener 12 cinéticas de crecimiento y poder disminuir el error, los datos se registraron durante 21 días.

2.4 Evaluación del agua

El agua obtenida del proceso de remoción de contaminantes, se evaluó fisicoquímica y microbiológicamente de acuerdo con la Tabla 4.

Tabla 2.4. Evaluación del agua

Parámetros	Unidad
pH	-
Sólidos totales	mg/L
Sólidos volátiles	mg/L
SST	mg/L
DQO	mg/L
DQO soluble	mg/L
Fósforo total	mg/L
Lípidos	g/L
Carbohidratos	g/L
Proteínas	%
Conteo celular	Células/mL
Coliformes fecales	NMP/100mL
Salmonella Spp.	NMP/100mL

2.5 Evaluación de la biomasa obtenida

La biomasa microalgal obtenida después de la centrifugación, separación y secado, se evaluó conforme a la Tabla 2.5.

Tabla 2.5. Evaluación de la biomasa

Parámetros	Unidad
Carbohidratos	g/L
Proteínas	%
Lípidos	g/L
Biomasa	g/L
Coliformes fecales	NMP/g ST

2.5.1 Determinación de ácidos grasos poliinsaturados

La espectroscopia infrarroja es una técnica analítica que examina la interacción de la radiación infrarroja con la materia, permitiendo la identificación y caracterización de sustancias químicas. Para el EPA, una molécula omega-3 crucial en numerosos procesos biológicos, esta técnica resulta útil para analizar su estructura y conformación.

El espectro IR del ácido EPA exhibe absorciones distintivas en varias regiones, lo que ayuda a identificar las vibraciones moleculares vinculadas a su estructura química. Además, al combinarse con métodos de reconocimiento de patrones, como la transformada de Fourier, facilita un análisis más detallado y preciso del EPA. Los espectros IR obtenidos mediante FTIR pueden ser analizados con algoritmos de reconocimiento de patrones para identificar y cuantificar el EPA en diversas mezclas o muestras.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual avícola

Una vez recolectada la muestra, se realizó el acondicionamiento y caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual avícola, con el propósito de conocer sus propiedades y composición. Se le dio un tratamiento térmico al agua residual avícola de 80 °C, durante 1 hora con el fin de disminuir los contaminantes biológicos y mantener el pH similar a la muestra sin tratamiento, para que el inóculo no tenga complicaciones para crecer en el medio de cultivo (ARA).

Tabla 3.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica

Parámetros físicos	Unidades	Sin tratamiento	Con tratamiento
pH	--	7.48	7.88
Sólidos totales	mg/L	4078.12	4596.34
Sólidos totales volátiles	mg/L	3776.36	4568.71
Sólidos suspendidos totales	mg/L	1962.5	2825
Turbidez	NTU	>1800	>1800
Conductividad eléctrica	mV	10	15
Parámetros químicos	Unidades	Sin tratamiento	Con tratamiento
DQO	mg/L	3883.66	4565.33
DQO soluble	mg/L	1959.8	2134.8
Fósforo Total	mg/L	431.92	366.58
Lípidos	mg/L	242.4	198.2
Carbohidratos	g/L	0.11	0.085
Nitrógeno Total	mg/L	2600	2700
Proteínas	%	1.67	1.73
Parámetros microbiológicos	Unidades	Sin tratamiento	Con tratamiento
Coliformes Fecales	NMP/100mL	1.1x10 ⁹	7.5x10 ⁴
<i>Salmonella Spp.</i>	NMP/100mL	4.3x10 ⁴	9x10 ²
Huevos de helmintos	HH/g	NA	NA

En la Tabla 3.1 se muestran los parámetros evaluados en el ARA, en donde el pH de la muestra cruda es de 7.48 y 7.88 para la tratada, Basitere *et al.* (2019), reportaron un pH de 7.24, por lo que el pH se encuentra ligeramente por encima del rango de 6 a 9 establecido en la NOM-001-SEMARNAT-2021. Los sólidos suspendidos totales son de 1962.5 mg/L estando muy por encima de los límites máximos permisibles, sin embargo, Basitere *et al.* (2019), reportaron 1654 mg/L en aguas residuales avícolas. La DQO total es de 3883.66 mg/L y es similar a los 2446.6 mg/L reportado por Caldera *et al.* (2019).

El fósforo total es de 431.92 mg/L muy por encima a lo reportado por Sánchez *et al.* (2019), que fue de 20.9 mg/L. Los coliformes fecales son de 1.1×10^9 NMP/100mL están por debajo a lo reportado por Meiramkulova *et al.* (2020), que fue de 1.12×10^{11} NMP/100mL. El ARA con tratamiento tiene valores ligeramente más elevados, sin embargo, a pesar de que no cumplen con los límites máximos permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-2021, ambas muestras contienen macronutrientes esenciales para ser un medio de cultivo ideal en el crecimiento de la microalga *N. oculata*.

3.2 Propagación de la microalga *N. Oculata*

Se utilizó el Medio sintético Guillard's F/2, ya que tiene una naturaleza predominantemente inorgánica y la facilidad como medio de mantenimiento de cultivos axénicos. Para ello, se calculó una relación de acuerdo a las especificaciones del medio de 21.18 g de macronutrientes en 1000 mL de agua destilada. Posteriormente se adiciona 1 mL de solución de micronutrientes. Se ajustó el pH a 7 utilizando ácido acético y NaOH. Después se esterilizó y se incubó en proporción 1:1 con la microalga pura, bajo las condiciones indicadas de la especie durante 7 días.

3.2.1 Crecimiento de *N. oculata* en Guillard's F/2

Se adicionaron 50 mL de *N. oculata* pura y 50 mL de Medio Guillard's F/2 en un fotobiorreactor a burbujeo constante y se ajustó la intensidad lumínica a 3000 lx aproximadamente con ayuda de un luxómetro. La alimentación se realizó cada 7 días con una proporción 1:1, hasta obtener el volumen suficiente para realizar las cinéticas de crecimiento.

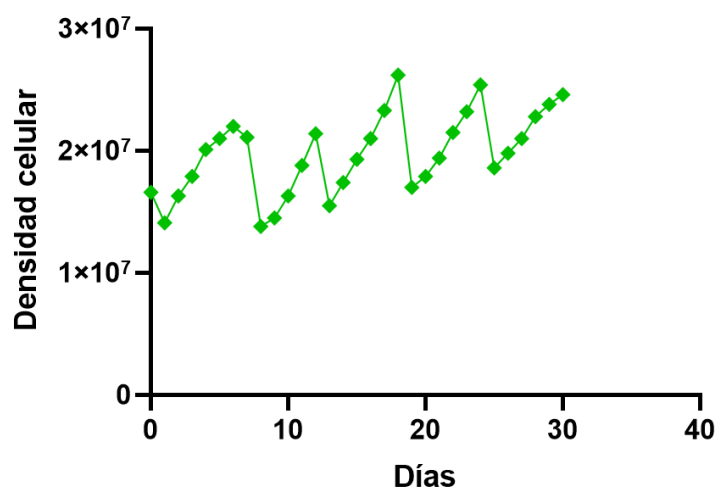


Figura 3.1 Crecimiento de *N. oculata* en el Medio sintético Guillard's F/2

La Figura 3.1 muestra el comportamiento de *N. oculata* en el medio sintético durante 30 días, en el día 0 la densidad inicial fue de 1.66×10^7 cel/mL, al día siguiente la densidad celular disminuyó debido a que la microalga entro en la fase de adaptación, después el crecimiento celular aumento exponencialmente hasta el día 7, donde se observó el máximo crecimiento celular y a partir del día 8 empezó la fase de mortandad de la microalga, ya que se agotaron los macronutrientes y micronutrientes del medio sintético. Por lo tanto, se decidió alimentar el fotobiorreactor cada 7 días con el medio sintético Guillard's F/2 para aprovechar el máximo crecimiento celular.

La Figura 3.2 muestra la comparación del crecimiento celular donde la densidad celular máxima fue de 2.46×10^7 cel/mL en el día 30, así como el color verde similar a lo reportado por Osorio *et al.* (2020). Donde obtuvieron una densidad celular de 5×10^7 cel/mL en un periodo de 23 días. En el inciso a se muestra el conteo de las microalgas en el día 1 mientras que en el inciso b se ilustran las microalgas en el día final.

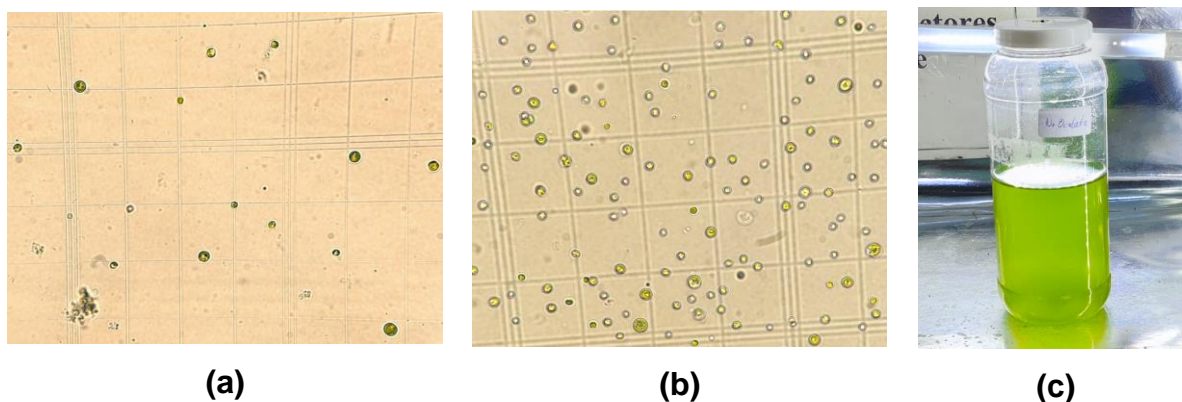


Figura 3.2 Comportamiento de *N. oculata* en el medio Guillard's F/2

3.2.2 Comportamiento del pH en el medio Guillard's F/2

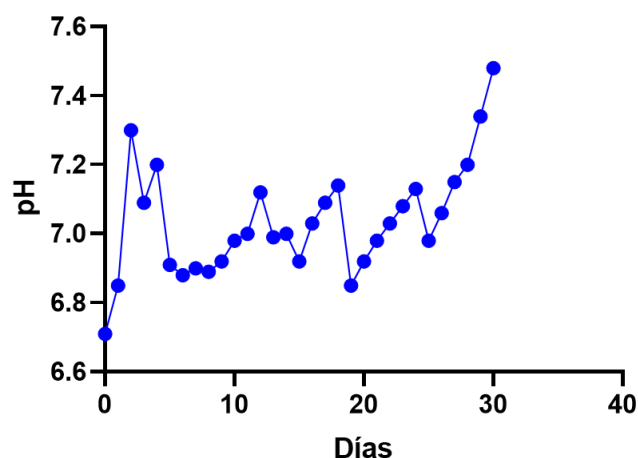


Figura 3.3 Comportamiento del pH en el medio Guillard's F/2

Se mantuvo un pH neutro ya que se ajustaba el medio sintético antes de alimentar al fotobiorreactor. En la Figura 3.3 se observa el comportamiento del pH durante 30 días, el pH inicial fue de 6.71 y finalizó en 7.48. Cada fase de adaptación es directamente proporcional al crecimiento de *N. oculata*, ya que por la influencia de la fotosíntesis las microalgas son capaces de alcalinizar el medio de cultivo a niveles muy elevados (Muñiz R. 2019).

3.3 Cinéticas de crecimiento y remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos

La microalga cultivada en el medio Guillard's F/2 fue previamente concentrada por centrifugación a 2000 rpm durante 1 minuto, asegurando que todos los experimentos comenzaran con una concentración de inóculo similar. Para los ensayos de remoción de contaminantes y nutrientes se montaron fotobiorreactores para las muestras sin tratamiento y las muestras con tratamiento con sus respectivas réplicas en modo Batch, con concentraciones v/v de 5 %, 15 % y 25 % de inóculo (*N. oculata*) y el resto de ARA (medio de cultivo) hasta tener un volumen de 600 mL, la determinación de los parámetros: pH, densidad celular, sólidos totales, sólidos totales volátiles, DQO total y DQO soluble se realizaron durante 21 días. Mientras que sólidos suspendidos totales, nitrógeno total, fósforo total y biomasa se determinaron cada 3 días.

3.3.1 Adaptación de *N. oculata* en agua residual avícola

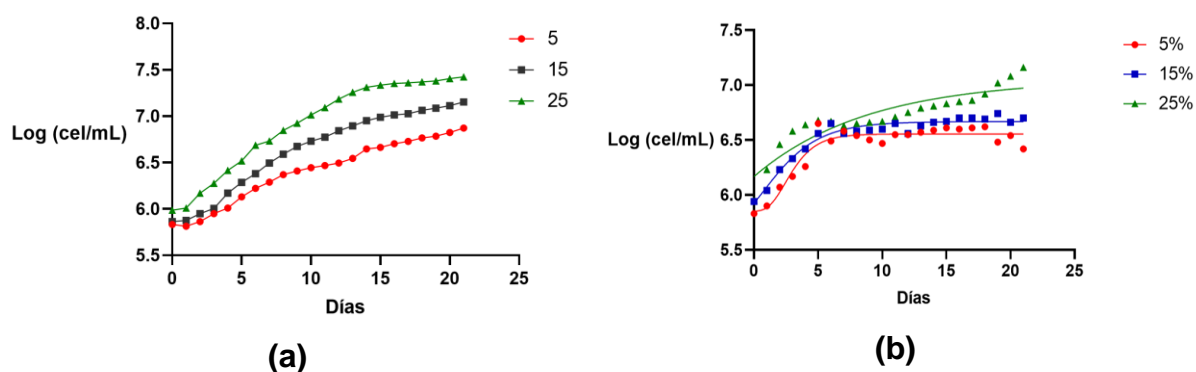


Figura 3.3.1 Adaptación de *N. oculata* en ARA

La Figura 3.3.1 (a) muestra la fase de adaptación para la muestra sin tratamiento durante los primeros 7 días para después crecer exponencialmente, mientras que en el inciso b, se observa que los inóculos con tratamiento empiezan la fase estacionaria en el día 6 y se prolonga hasta el día 18, incluso los inóculos de 5 y 15 % entran en la fase de mortandad en el día 19, provocada por el consumo de nutrientes para que *N. oculata* lograra sobrevivir y continuar creciendo según Jacome-Pilco *et al.*, (2021).

La Tabla 3.3.1 indica que las muestras con tratamiento tuvieron menor densidad celular comparada a las muestras sin tratamiento, a pesar de esto lograron adaptarse más rápido en el ARA. El inóculo de 25 % sin tratamiento presentó un crecimiento celular mayor llegando a una densidad celular máxima de 2.65×10^7 similar a lo reportado por Wan-Razali *et al.*, (2022), que obtuvieron una densidad máxima de 2×10^7 en un medio sintético F/2. El análisis estadístico indica que la desviación estándar de las muestras sin tratamiento es mayor lo que hace notar una diferencia de medias, de esta manera los inóculos de 25 % obtuvieron un mayor crecimiento en el medio de cultivo (ARA) estadísticamente, sin embargo, las muestras con tratamiento estuvieron por debajo comparadas a las no tuvieron tratamiento térmico.

Tabla 3.3.1 Crecimiento celular de *N. oculata* en agua residual avícola

Muestra	Inóculo % v/v	Densidad celular inicial (cel/mL)	Densidad celular final (cel/mL)	Desviación estándar
Sin tratamiento	5	6.8×10^5	7.44×10^6	± 1701889
	15	7.3×10^5	1.42×10^7	± 1737546
	25	9.7×10^5	2.65×10^7	± 2343751
Con tratamiento	5	6.8×10^5	2.64×10^6	± 70000
	15	8.75×10^5	4.98×10^6	± 65000
	25	8.81×10^5	1.03×10^7	± 1028750

3.3.2 Evaluación del pH

La Figura 3.3.2 muestra el comportamiento del pH desde el segundo día para todas las muestras y se mantiene hasta el día 21. Los inóculos sin tratamiento se mantuvieron constantes como se muestra en la gráfica (a), comparado al incremento de pH que tuvieron las muestras con tratamiento cada día como se observa en la gráfica (b). Este fenómeno fue causado por la disminución de CO_2 y la acción de la fotosíntesis que provocó la alcalinización del medio de cultivo (ARA), ya que el pH

depende de la concentración de CO₂ disuelto en el medio de cultivo que está presente en diferentes formas de carbono en el agua residual avícola Tebbani *et al.*, (2020).

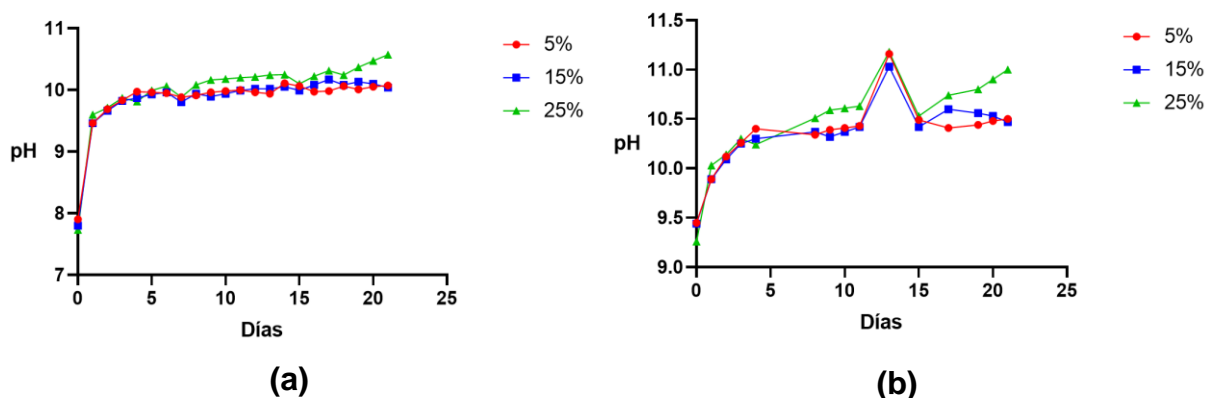


Figura 3.3.2 Comportamiento del pH en ARA

En la Tabla 3.3.2 se muestran los pH iniciales y finales para cada inóculo, de acuerdo con la desviación estándar, al ser cercana a cero para algunos inóculos no existe una diferencia entre las medias por lo tanto estadísticamente no hay diferencia significativa. Sin embargo, los inóculos de 25 % obtuvieron un pH ligeramente mayor, a pesar de ello estos datos son mayores a lo que reportó Wan-Razali *et al.*, (2022). Ya que propagaron la microalga *N. oculata* utilizando un medio sintético y controlaron el pH hasta mantenerlo en 8.5 para lograr una mutación de en la microalga *N. oculata* y aumentar el contenido de EPA.

Tabla 3.3.2. Comportamiento del pH

Muestra	Inóculo % v/v	pH inicial	pH final	Desviación estándar
Sin tratamiento	5	7.45	10.07	±0.0252
	15	7.44	10.04	±0.0666
	25	7.26	10.57	±0.1102
Con tratamiento	5	7.9	10.50	±0.0306
	15	7.8	10.47	±0.0458
	25	7.73	11.00	±0.1000

3.3.3 Sólidos totales

La Figura 3.3.3 muestra la variación de los sólidos totales durante el crecimiento de las microalgas, mostrando 2 gráficos distintos. La gráfica (a) representa las muestras sin tratamiento, donde los sólidos totales se mantienen en un rango constante debido a la baja concentración de sólidos en el agua residual; sin embargo, se observan fluctuaciones causadas por la aglomeración de las microalgas con las moléculas en el agua, influenciadas por el crecimiento de las microalgas. En contraste, la gráfica (b) muestra las muestras que recibieron tratamiento, permitiendo comparar cómo este tratamiento impacta el comportamiento de los sólidos totales en comparación con las muestras no tratadas.

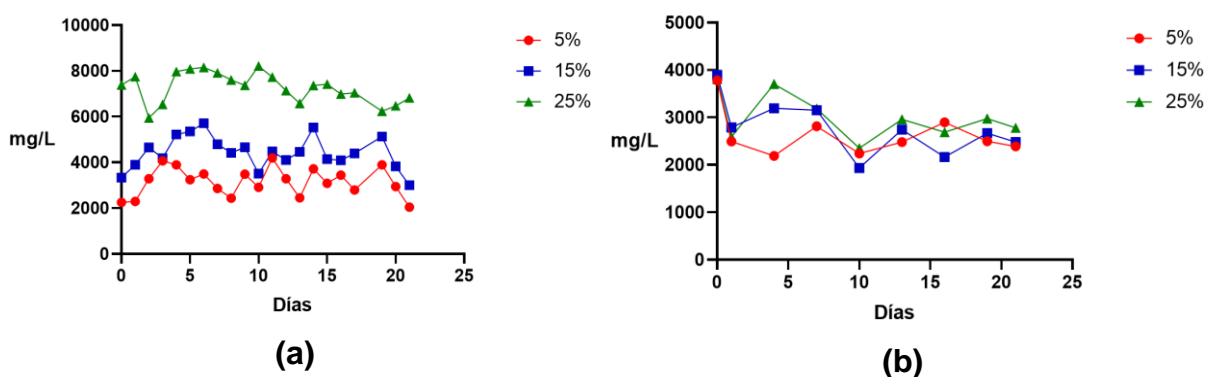


Figura 3.3.3 Comportamiento de los ST en ARA con *N. oculata*

Se monitoreo el comportamiento de los ST en el medio de cultivo durante el crecimiento de *N. oculata*. En la Tabla 3.3.3 se pueden observar que todas las muestras experimentaron una disminución de ST, ya que las microalgas consumieron los compuestos orgánicos e inorgánicos presentes.

Cabe destacar que las muestras que recibieron tratamiento mostraron una mayor disminución de ST, siendo el inóculo de 5 % el más eficaz, logrando una remoción del 36 % de los ST. Estos resultados se pueden comparar con Gutiérrez-Casiano, (2023), quien reportó una remoción del 47 % de ST en el ARA tras el tratamiento durante las cinéticas de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*.

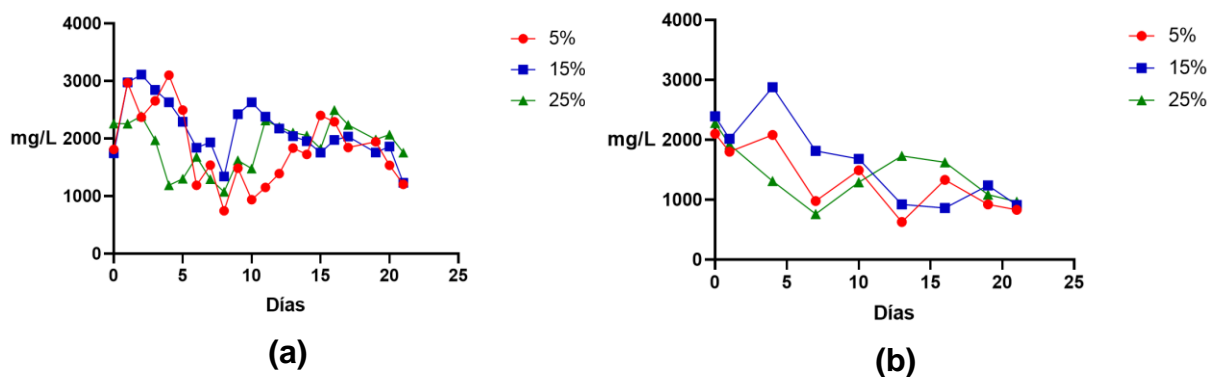
Tabla 3.3.3 Sólidos totales

Muestra	Inóculo % v/v	Inicio(mg/L)	Final (mg/L)	% Remoción	Desviación estándar
Sin tratamiento	5	2256.66	2043.68	9.43	±2024.0
	15	3337.40	3003.44	10.00	±2988.0
	25	7386.03	6817.24	7.70	±8817.0
Con tratamiento	5	3781.03	2391.32	36.76	±114.3
	15	3897.90	2481.38	36.35	±105.2
	25	3810.29	2781.40	27.01	±66.8

De acuerdo con la desviación estándar, las muestras tienen porcentajes de remoción estadísticamente diferentes, ya que las diferencias entre las medias no son iguales. Sin embargo, los inóculos de 5 y 15 % con tratamiento tienen desviaciones estándar similares, lo que indica que ambos presentan una remoción de ST semejantes.

3.3.4 Sólidos totales volátiles

En la Figura 3.3.4 se observa el comportamiento de los STV en el ARA con *N. oculata*, los incrementos son causados por el crecimiento celular, mientras que la disminución se debe a la degradación de la materia orgánica e inorgánica. Las muestras con demostraron ser más eficaces en la remoción de los STV como se muestra en la gráfica (b).

Figura 3.3.4 Comportamiento de los STV en ARA con *N. oculata*

En la Tabla 3.3.4 se presentan los porcentajes de remoción de los STV, los cuales se deben a la degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos por las microalgas durante su crecimiento en el medio de cultivo (ARA). Las muestras con tratamiento mostraron una mayor efectividad en la eliminación de STV, destacando el inóculo al 15 % como el más eficiente, con una remoción del 61 %. Estos resultados son comparables a los encontrados por Gutiérrez-Casiano (2023), quien reportó una remoción del 74 % de STV en el ARA después del tratamiento durante las cinéticas de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*.

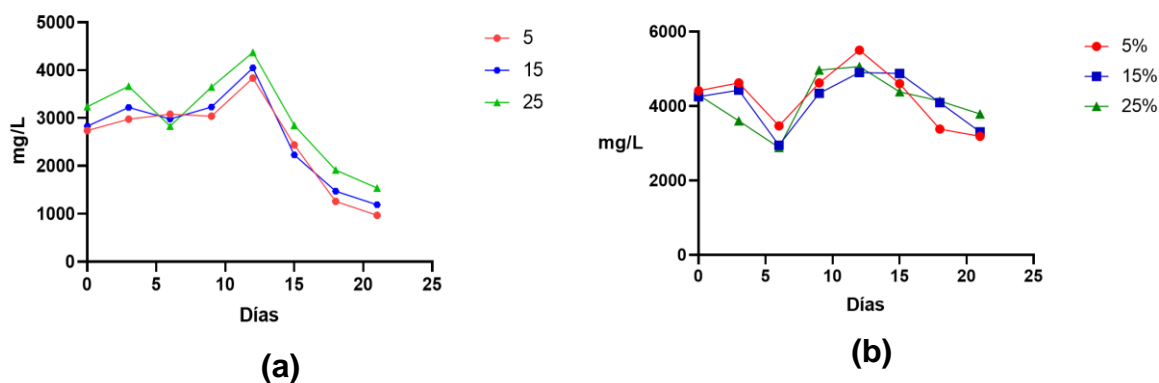
Tabla 3.3.4 Sólidos totales Volátiles

Muestra	Inóculo % v/v	Inicio (mg/L)	Final (mg/L)	% Remoción	Desviación estándar
Sin tratamiento	5	1810.29	1206.51	33.35	±565.0
	15	1743.41	1230.92	29.39	±267.0
	25	2243.06	1753.83	22.50	±889.0
Con tratamiento	5	2103.78	832.02	60.43	±68.7
	15	2391.26	912.58	61.85	±44.4
	25	2283.53	968.16	57.59	±69.0

El análisis estadístico revela desviaciones estándar diferentes, lo que sugiere una diferencia significativa en la remoción final de cada inóculo. Sin embargo, las muestras con tratamiento presentan desviaciones estándar más cercanas entre sí, indicando porcentajes de remoción similares.

3.3.5 Evaluación de sólidos suspendidos totales

En la Figura 3.3.5 (a) se puede observar la disminución que obtuvieron los inóculos sin tratamiento al cabo de 21 días, durante los primeros días no hubo remoción debido a la adaptación de las microalgas en el medio de cultivo, no obstante, a partir del día 15 la remoción inició y se prolongó hasta el día 21. La gráfica b muestra que la remoción empezó en el día 18 para las muestras con tratamiento y no fueron tan significativas.

Figura 3.3.5 SST de *N. oculata* en ARA

En la Tabla 3.3.5 se muestran los porcentajes de remoción de la muestra con tratamiento en donde el inóculo de 5 % logro eliminar el 27 % de SST. Por otro lado, el inóculo de 5 % sin tratamiento removi6 el 64 % de SST. Las muestras sin tratamiento obtuvieron porcentajes de remoción mayores al 50 %, lo cual indica una mejora en el color y calidad del agua, en comparación estos resultados son mayores al 40.96 % de remoción que obtuvieron Moreno *et al.*, (2023), usando moringa oleífera para el tratamiento de ARA.

Tabla 3.3.5 Sólidos Suspendidos Totales

Muestra	Inóculo % v/v	Inicio (mg/L)	Final (mg/L)	% Remoción
Sin tratamiento	5	2740	970	64.59
	15	2830	1190	57.95
	25	3410	1540	52.46
Con tratamiento	5	4410	3185	27.77
	15	4253	3305	22.29
	25	4295	3785	11.87

3.3.6 Remoción de la Demanda Química de Oxígeno

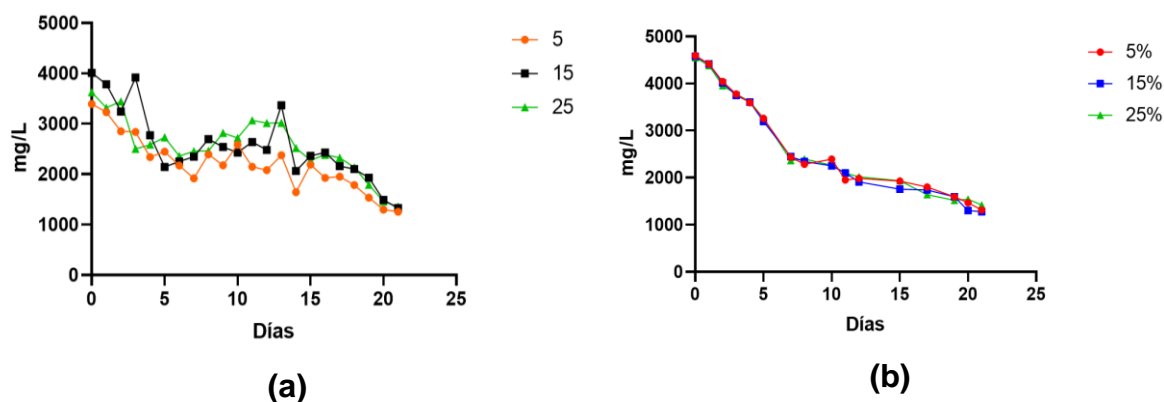


Figura 3.3.6 DQO de *N. oculata* en ARA

La gráfica (a) de la Figura 3.3.6 muestra una disminución de la DQO total en todos los inóculos de las muestras sin tratamiento, por otro lado, en la gráfica (b) se puede ver que los inóculos con tratamiento lograron una remoción de la DQO total similar y consecutiva.

Tabla 3.3.6 Porcentaje de remoción de la DQO total

Muestra	Inóculo % v/v	DQO inicial (mg/L)	DQO final (mg/L)	% Remoción
Sin tratamiento	5	3391.8	1257.8	62.91
	15	4008.8	1327.8	66.87
	25	3625.8	1357.8	62.55
Con tratamiento	5	4593.66	1315.33	71.36
	15	4575.33	1278.66	72.05
	25	4552.00	1417.00	68.87

La Tabla 3.3.6 muestra los porcentajes de remoción al cabo de 21 días. En donde las muestras con tratamiento obtuvieron mejores porcentajes de remoción. *N. oculata* fue capaz de remover más del 72 % de la DQO total presente en el ARA. Sin embargo, está por debajo de los resultados reportados por Vladić *et al.*, (2023), que obtuvieron

80 % de remoción de la DQO usando la microalga *Tetrademus obliquus* en aguas residuales de origen avícola.

La Figura 3.3.7 muestra el cambio de color del medio de cultivo (ARA) en el día 21, en la Figura (b) el aspecto es un verde más oscuro que corresponde a las muestras con tratamiento, a pesar de que tuvieron crecimientos menores comparados a las muestras sin tratamiento se apreció visualmente mayor concentración de pigmentos.

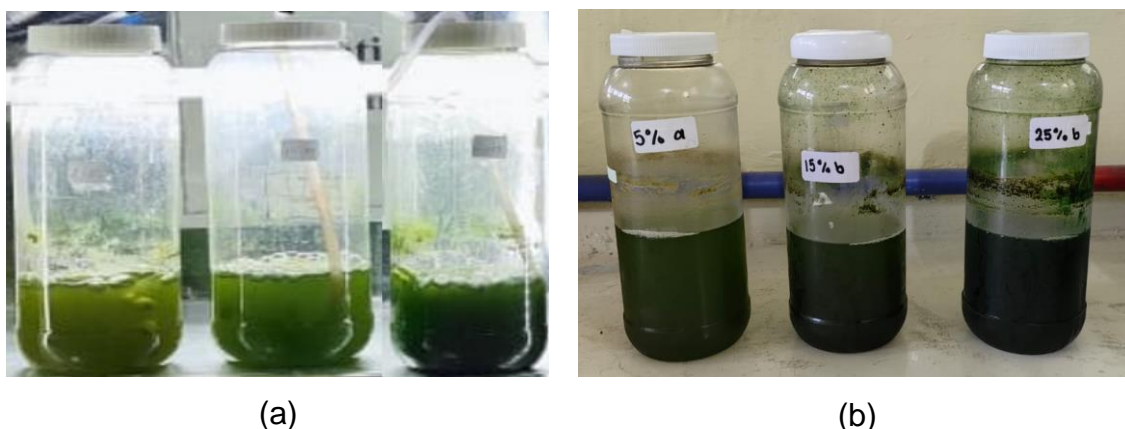


Figura 3.3.7 Fotobiorreactores al cabo de 21 días

3.3.7 Remoción de la Demanda Química de Oxígeno soluble

Se centrifugaron las muestras a 5000 rpm durante 10 min, posteriormente se realizó la determinación de la DQO, la Figura 3.3.8 (a) muestra la disminución de la DQO soluble hasta el día 21 donde se obtuvo una remoción cercana al 94 % en las muestras sin tratamiento.

Sin embargo, en la gráfica b se observa que las muestras con tratamiento lograron remociones del 93 % en menor tiempo lo cual refleja una mejor adaptación de la microalga en el ARA y por ende un mejor rendimiento al sintetizar los nutrientes. De esta manera *N. oculata* es capaz de remover hasta un 94 % de la DQO soluble sin ayuda de nutrientes externos comparado al 99 % de remoción de la DQO soluble en ARA, utilizando el alga *Spirulina máxima* con el apoyo de macronutrientes y micronutrientes reportado por Pérez-Guzmán, (2023).

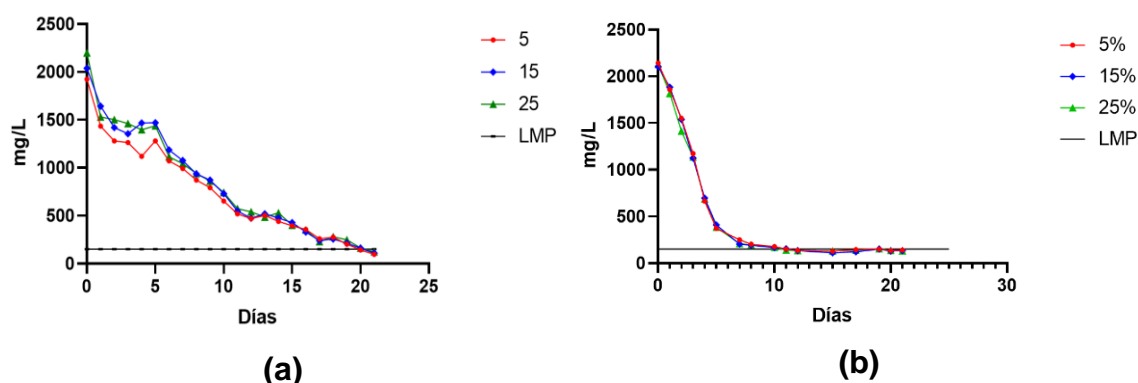


Figura 3.3.8 DQO soluble en ARA

La Tabla 3.3.7 se muestra las cantidades de DQO soluble finales de las muestras sin tratamiento, donde para el inóculo de 5 % se obtuvieron 97.8 mg/L, el inóculo de 15 % tuvo 110.8 mg/L, mientras que para el de 25 % se obtuvieron 123.8 mg/L. Las tres muestras están por debajo del promedio diario de 150 mg/L de los límites permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-2021 desde el día 20. Sin embargo, las muestras con tratamiento alcanzaron esta cifra desde el día 11 y se mantuvieron así hasta el día 21.

Tabla 3.3.7 Remoción de la DQO soluble

Muestra	Inóculo % v/v	DQO inicial (mg/L)	DQO final (mg/L)	% Remoción	Desviación estándar
Sin tratamiento	5	1924.8	97.8	94.96	±0.1231
	15	2037.8	110.8	94.6	±0.1674
	25	2198.8	123.8	94.4	±0.0584
Con tratamiento	5	2143.66	140.33	93.45	±14.14
	15	2105.33	135.33	93.57	±4.19
	25	2127	132.00	93.79	±9.18

El análisis estadístico indica que no existe una diferencia significativa para las muestras sin tratamiento, ya que las desviaciones estándar son cercanas a cero para todas las muestras por lo que la diferencia de medias es igual, por otro lado, las muestras con tratamiento tienen desviaciones estándar cercanas ya que la diferencia

de medias no es similar, a pesar de ello estadísticamente la diferencia estadística es pequeña entre las 3 concentraciones de inóculo. Sin embargo, estadísticamente los inóculos de 5 % tienen mejor rendimiento al lograr remociones semejantes a las de los inóculos con mayor porcentaje, esto demuestra la eficacia de la microalga *N. oculata* el proceso de remoción de contaminantes.

3.3.8 Remoción del nitrógeno total

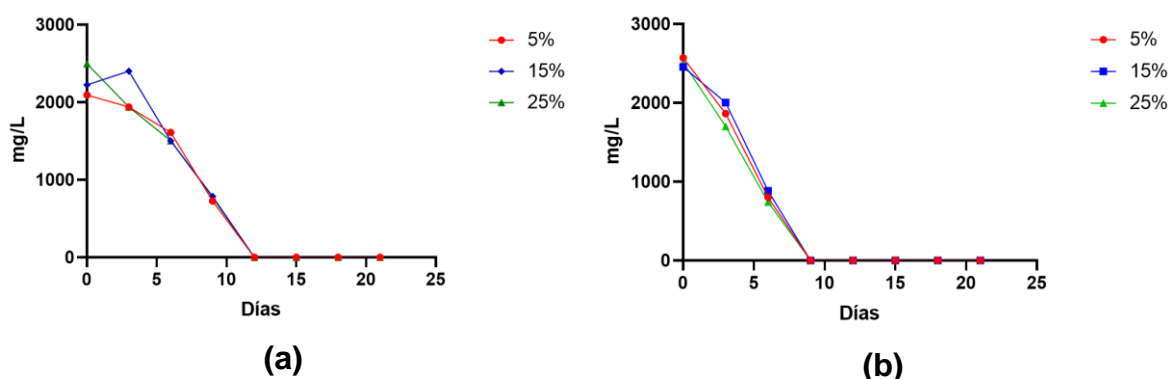


Figura 3.3.9 Remoción del nitrógeno en ARA

En el inciso a de la Figura 3.3.9 se muestra la remoción de nitrógeno total presente en el ARA con ayuda de *N. oculata*, se puede observar una disminución a partir del día 2 hasta la remoción total en el día 12 para las muestras sin tratamiento, sin embargo en el inciso b, se observan las muestras con tratamiento térmico lograron la eliminación del nitrógeno en el día 9, debido a que el nitrógeno es un nutriente esencial que ayuda a sintetizar proteínas, lípidos y carbohidratos, que promueven el crecimiento celular y la formación de biomasa (Tebbani *et al.*, (2020).

Tabla 3.3.8 Remoción de Nitrógeno total

Muestra	Inóculo % v/v	Nitrógeno inicial (mg/L)	Nitrógeno final (mg/L)
Sin tratamiento	5	2094	0
	15	2223	0
	25	2495	0
Con tratamiento	5	2572	0
	15	2457	0
	25	2512	0

En la Tabla 3.3.8 se muestra la remoción del 100 % para todas las concentraciones mientras que Vladić *et al.*, (2023) reportaron una remoción del 77 % de nitrógeno en aguas residuales avícolas utilizando la microalga *Tetradismus obliquus*.

3.3.9 Evaluación del fósforo total

La Figura 3.3.10 muestra la disminución del fósforo, en la gráfica (b) se observa que en los últimos días el fósforo aumenta esto se debe a que la microalga entro en fase de mortandad y por lo que inicio el proceso de fosforilación, mientras que en la gráfica (a) se observa que con mayor porcentaje de inóculo se logró una mayor remoción de fósforo total.

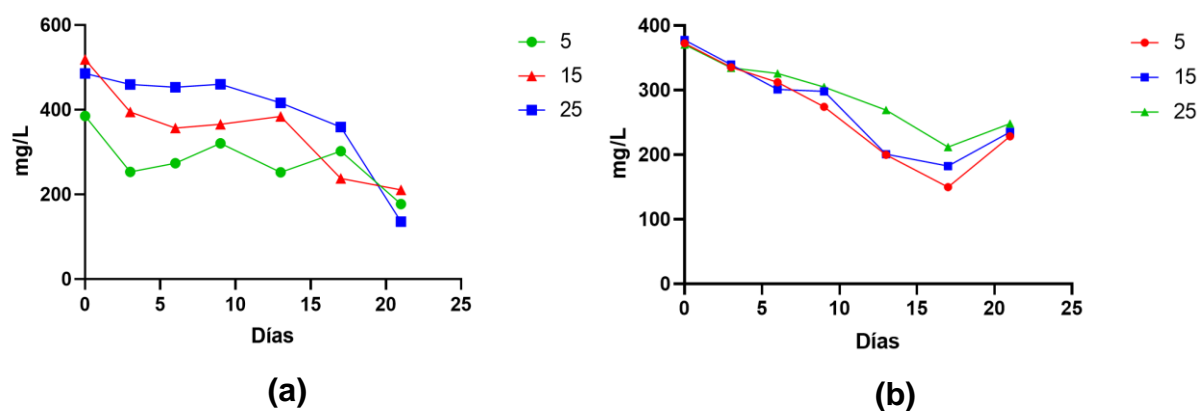


Figura 3.3.10 Remoción de fósforo total en ARA

N. oculata logró remover el 72 % de fósforo como se muestra en la Tabla 3.3.9 para la concentración de 25 %, lo cual está por debajo comparado a Oscanoa *et al.*, (2021)

que reportaron una remoción del 77.1 % de fósforo en aguas residuales con una combinación de 25 % *C. vulgaris* y 75 % *D. asymmetricus*.

Tabla 3.3.9 Remoción de fósforo

Muestra	Inóculo % v/v	Fósforo inicial (mg/L)	Fósforo final (mg/L)	% Remoción
Sin tratamiento	5	385.3	177.51	54
	15	518.8	210.79	59.3
	25	485.9	135.55	72.1
Con tratamiento	5	372.50	228.49	38.65
	15	377.52	211.91	37.68
	25	370.54	248.13	33.03

N. oculata demostró una buena biorremediación en el agua residual avícola, gracias a que tiene una gran capacidad fotosintética y puede absorber más fósforo que *Chlorella spp.* (Wang *et al.*, 2018).

3.3.10 Evaluación de la Biomasa

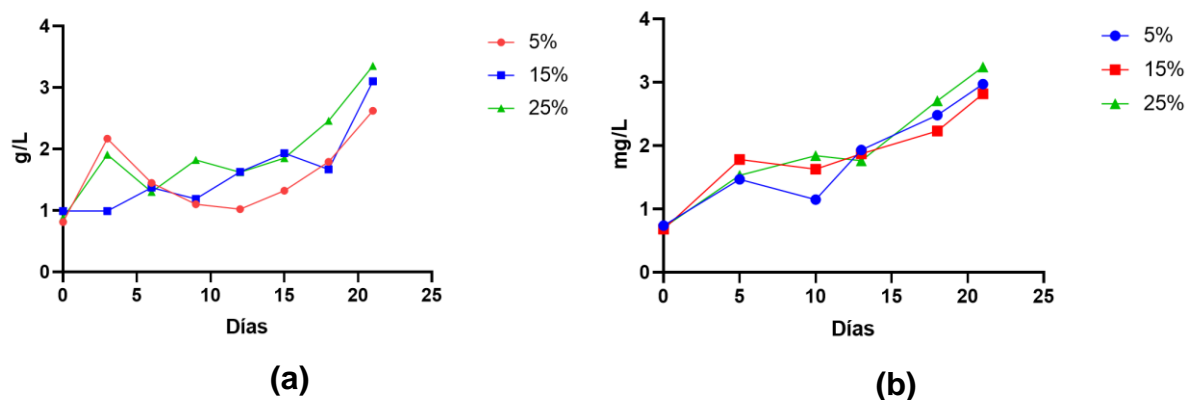


Figura 3.3.11 Generación de biomasa en ARA

La Figura 3.3.11 (a) ilustra el incremento de la biomasa para las concentraciones de inóculo sin tratamiento durante 21 días. Comparativamente, la gráfica b tiene una tendencia más lineal, ya que el tratamiento térmico favoreció la generación de biomasa.

Tabla 3.3.10 Generación de Biomasa microalgal

Muestra	Inóculo % v/v	Biomasa inicial (g/L)	Biomasa final (g/L)
Sin tratamiento	5	0.81	2.62
	15	0.99	3.10
	25	0.88	3.35
Con tratamiento	5	0.74	3.97
	15	0.68	3.82
	25	0.71	4.24

En la Tabla 3.3.10 se observa la generación de biomasa para las muestras sin tratamiento durante un período de 21 días. En este experimento, se observa que con una concentración de inóculo del 25%, la biomasa inicial fue de 0.88 g/L, aumentando a 3.35 g/L al final del periodo. Por otro lado, utilizando un inóculo del 15%, la biomasa inicial fue de 0.99 g/L, alcanzando 3.10 g/L al final del período de estudio.

En el caso del inóculo del 5%, la biomasa inicial fue de 0.81 g/L, llegando a 2.62 g/L al final del mismo. Estos resultados son mayores a los obtenidos por Olivera *et al.*, (2019), quienes lograron 2.9 g/L de biomasa en un periodo de 29 días con la microalga *Scenedesmus obliquus* en aguas residuales de aves de corral. Sin embargo, son inferiores a lo reportado por Carbajal *et al.*, (2020), quienes lograron una productividad promedio de biomasa de 0.524 g/L/d. Su investigación se centró en un escenario dimorfo de microalgas (*Scenedesmus dimorphus*) y la valorización de glicerol mediante la bioconversión en dihidroxiacetona (DHA) utilizando la bacteria *Gluconobacter oxydans*.

3.4 Modelación Matemática

3.4.1 Modelación matemática del crecimiento de *N. oculata*

En la Figura 3.4 se aprecia el desarrollo de *N. oculata* en el ARA sin tratamiento, mostrando un comportamiento similar al descrito por otros investigadores en medios sintéticos con suplemento de nutrientes. Los resultados sugieren que el inóculo del 25

% experimentó un mayor consumo de nutrientes, probablemente debido a la riqueza de fósforo y nitrógeno del ARA. Las tres concentraciones de inóculo mostraron una tendencia diferente en el crecimiento celular de *N. oculata*, ya que las concentraciones celulares máximas calculadas a través del modelo generalizado de cuatro parámetros de Gompertz fueron 7.022 Log cel/mL (5 % v/v), 7.170 Log cel/mL (15 % v/v), 7.482 Log cel/mL (25 % v/v).

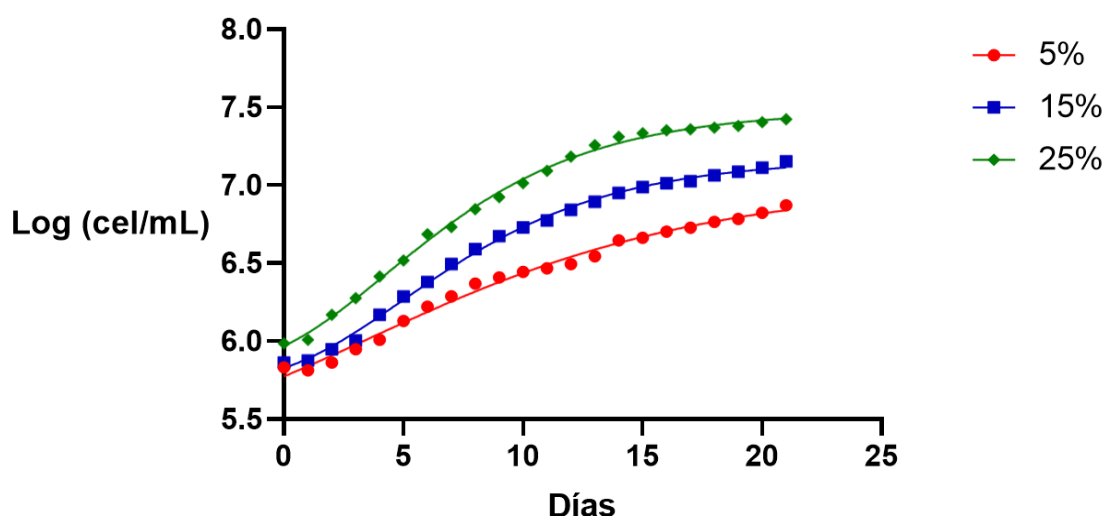


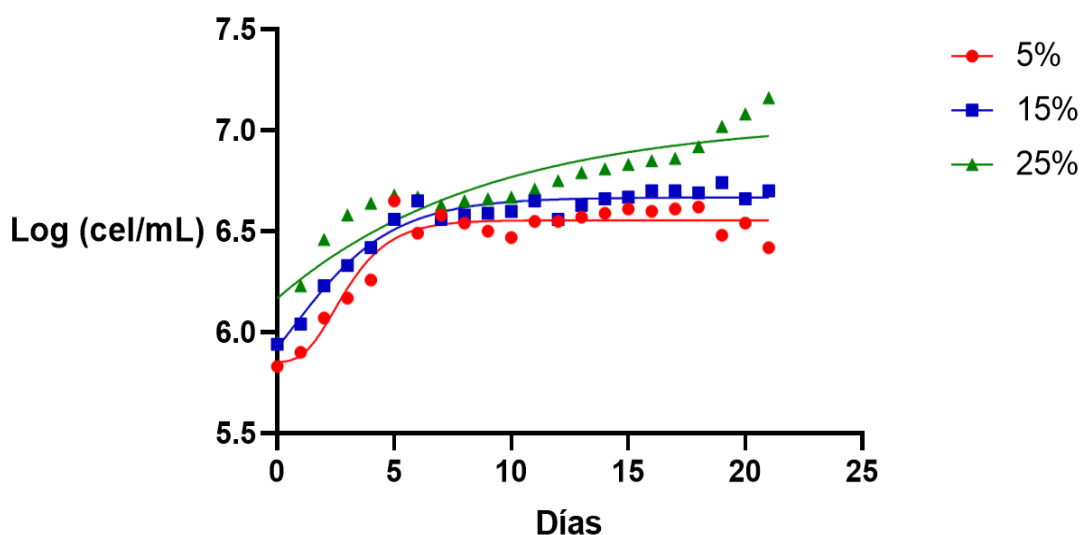
Figura 3.4 Cinética de crecimiento de *N. oculata* en ARA sin tratamiento

En la Tabla 3.4 se observan los parámetros cinéticos del crecimiento celular de *N. oculata* en el medio de cultivo sin tratamiento obtenidos utilizando el modelo de gompertz con coeficientes de correlación (R^2) que variaron entre 0.9916 y 0.9975, donde el inóculo de 25 % v/v obtuvo mayor afinidad al proceso ya que su velocidad máxima de consumo de nutrientes fue de 0.557 días^{-1} y un intervalo de adaptación de 3.14 días, el cual resultó ligeramente superior al observado en la evaluación con el inóculo de 15 % v/v que tardó en adaptarse 4.21 días y la velocidad máxima de consumo de nutrientes fue de 0.437 días^{-1} , mientras que el inóculo de 5 % v/v obtuvo ($\lambda = 5.69 \text{ días}$ y $\mu_{max} = 0.307 \text{ días}^{-1}$), lo cual es mejor a lo reportado por Camacho *et al.* 2023, que obtuvieron una velocidad máxima de consumo de nutrientes de 0.392 días^{-1} y una R^2 de 0.896 con el modelo de Gompertz.

Tabla 3.4 Parámetros cinéticos de *N. oculata* en ARA sin tratamiento

Inóculo (% v/v)	K_s	μ_{max} (días ⁻¹)	λ (días)	a Log cel/mL	R ²
5	0.1209	0.3286	5.69	7.022	0.9916
15	0.2009	0.5461	4.21	7.170	0.9975
25	0.2050	0.5572	3.14	7.482	0.9975

La Figura 3.4.1 ilustra el desarrollo de *N. oculata* en el ARA, exhibiendo un comportamiento similar al observado en medios sintéticos con suplemento de nutrientes, tal como han descrito otros investigadores. Los resultados indican que el inóculo del 25 % experimentó un mayor consumo de nutrientes, posiblemente debido a la abundancia de fósforo y nitrógeno en el medio de cultivo (ARA). Las tres concentraciones de inóculo mostraron una variación en el crecimiento celular de *N. oculata*, reflejada en las concentraciones celulares máximas calculadas mediante el modelo generalizado de cuatro parámetros de Gompertz: 6.555 Log cel/mL (5 % v/v), 6.668 Log cel/mL (15 % v/v) y 7.054 Log cel/mL (25 % v/v).

Figura 3.4.1. Cinética de crecimiento de *N. oculata* en ARA con tratamiento

En la Tabla 3.4.1 se observan los parámetros cinéticos del crecimiento celular de *N. oculata* obtenidos utilizando el modelo de gompertz con coeficientes de correlación (R^2) que variaron entre 0.8399 y 0.9601, donde el inóculo de 5% obtuvo mayor afinidad al proceso ya que su velocidad máxima de consumo de nutrientes del medio de cultivo fue de 0.281 días⁻¹ y tiempo de acondicionamiento de 1.12 días, lo cual está mejor a lo reportado por Camacho *et al.* 2023, que obtuvieron una velocidad máxima de consumo de sustrato de 0.392 días⁻¹ y una R^2 de 0.896 con el modelo de Gompertz en el crecimiento de *Haematococcus pluvialis* en un medio sintético.

Tabla 3.4.1. Parámetros cinéticos de *N. oculata* en ARA con tratamiento

Inóculo (% v/v)	K_s	μ_{max} (días ⁻¹)	λ (días)	a Log cel/mL	R^2
5	0.7639	0.281	1.89	6.555	0.9131
15	0.414	0.152	1.51	6.668	0.9601
25	0.1134	0.041	1.12	7.054	0.8399

3.4.2 Modelación matemática de la remoción de la DQO soluble

En la Figura 3.4.2 se observa la remoción de la demanda química de oxígeno soluble (con centrifugación a 5000 rpm durante 10 minutos) durante 21 días, las gráficas muestran que las muestras con tratamiento tienden a disminuir la DQO soluble hasta por debajo de los límites máximos permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-2021 desde el día 11 y mantenerse así hasta el día 21. El modelo de Gompertz mostró una velocidad máxima de consumo de la DQO soluble de 1.5562 días⁻¹ para la muestra con tratamiento (25 % v/v), el cual resultó ligeramente superior al observado en la evaluación con la muestra sin tratamiento (25 % v/v) que tuvo una $\mu_{max}=0.220$ días⁻¹.

A pesar de que los intervalos de consumo de la DQO soluble varían entre 0.2 y 1.5 días⁻¹ los porcentajes de remoción de la DQO soluble al cabo de 21 días fueron cercanos al 93-94 % logrando cumplir con la normatividad mexicana, por otra parte, el modelo matemático muestra mejor afinidad al crecimiento de *N. oculata* en ARA, sin embargo, no se observan diferencias significativas ($p>0.05$) en la remoción de la DQO

soluble. Estos resultados son mejores al 83 % de remoción de la DQO en el tratamiento de agua residual con 5 especies de microalgas reportado por Herrera *et al.*, (2024).

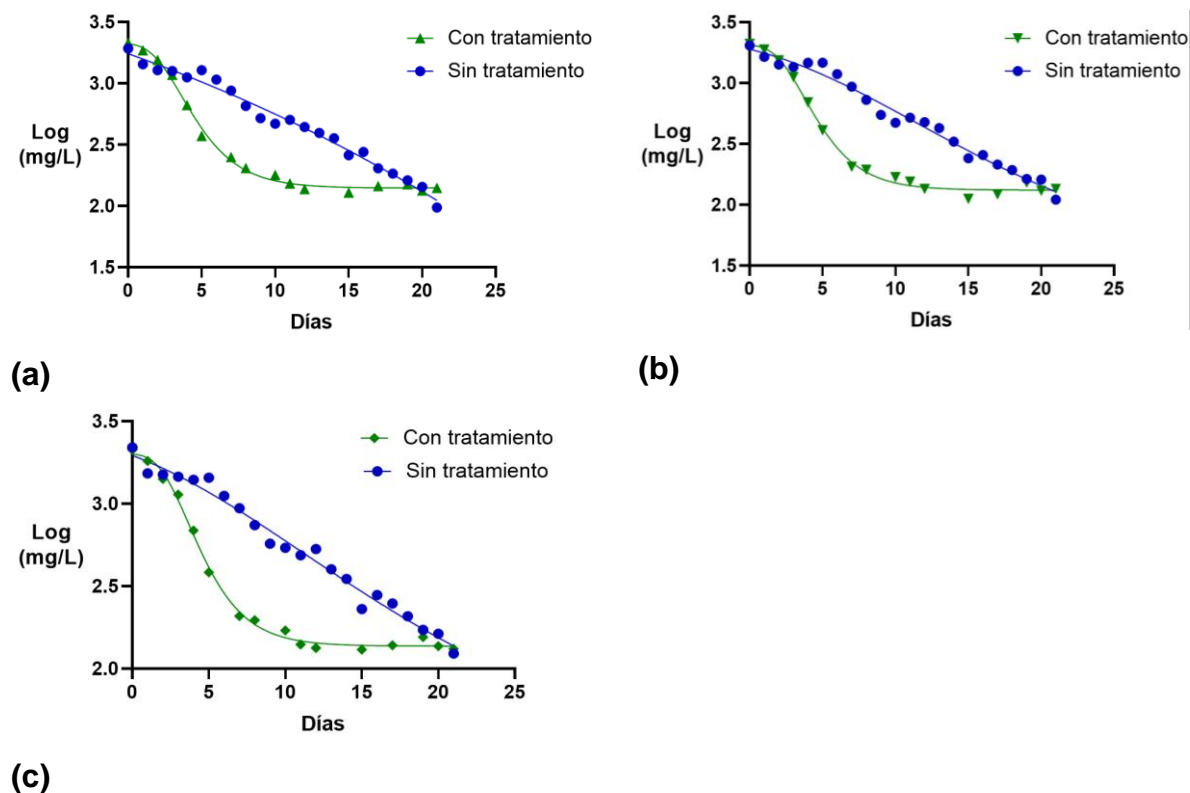


Figura 3.4.2. Remoción de la DQO soluble evaluado en las 3 concentraciones e inóculo: a) 5 % v/v, b) 15 % v/v y c) 25 % v/v.

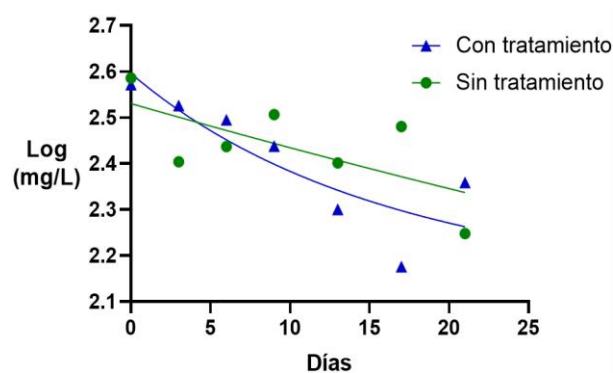
Tabla 3.4.2 Parámetros cinéticos de la remoción de la DQO soluble

	Inóculo (% v/v)	K_s	μ_{max} (días ⁻¹)	a Log (cel/mL)	R^2
Con tratamiento	5	0.4672	1.2699	6.555	0.9954
	15	0.5607	1.5241	6.664	0.9876
	25	0.5725	1.5562	7.041	0.9878
Sin tratamiento	5	0.0028	0.007	7.022	0.9835
	15	0.0912	0.248	7.170	0.9817
	25	0.0811	0.220	7.482	0.9824

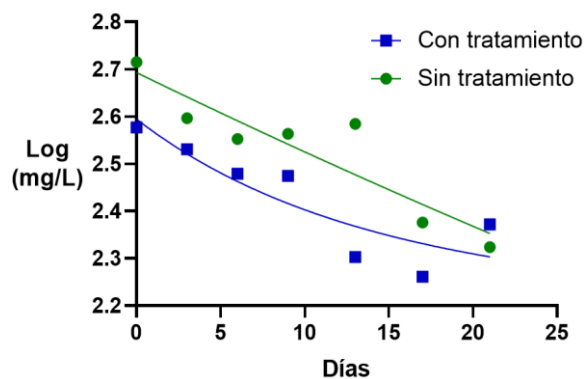
En la Tabla 3.4.2 se observan los parámetros cinéticos de la remoción de la DQO soluble en donde los coeficientes de correlación oscilaron entre 0.98 y 0.99, sin embargo, los inóculos con tratamiento obtuvieron mejores velocidades de consumo de la DQO soluble, por ejemplo, el inóculo de 25 % obtuvo una $\mu_{max}=1.5562$ días⁻¹, debido a que las moléculas fueron más fáciles de degradar por el tratamiento térmico. Similar a lo reportado por Gonzales-del Rosario et al., (2024), que obtuvieron una $\mu_{max}=1.20$ h⁻¹ en la bioconversión de residuos agroindustriales utilizando *Lactobacillus acidophilus*.

3.4.3 Modelación matemática de la remoción de fósforo total

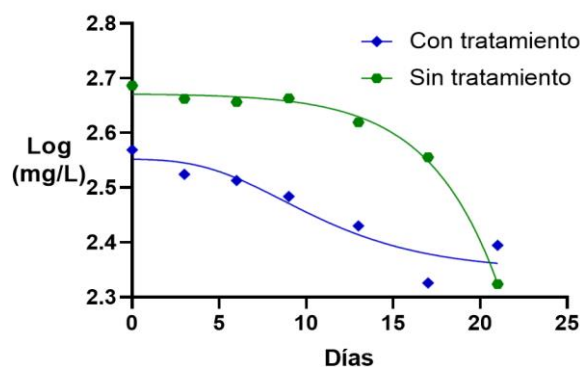
En la Figura 3.4.3 se presenta la disminución del fósforo total a lo largo de un período de 21 días, mostrando que a medida que aumenta la proporción de inóculo, se logra una mayor remoción de fósforo.



(a)



(b)



(c)

Figura 3.4.3 Remoción del Fósforo total evaluado en las 3 concentraciones e inóculo: a) 5 % v/v, b) 15 % v/v y c) 25 % v/v.

En la Tabla 3.4.3 se muestran los parámetros cinéticos de la remoción del fósforo total, en la cual las muestras con tratamiento térmico obtuvieron un mejor ajuste con el modelo de Gompertz. Por ejemplo, el inóculo del 25% logró eliminar el 72.1% del fósforo total ya que obtuvo una velocidad máxima de consumo de fósforo de 0.0366 días⁻¹, mientras que el inóculo del 15% alcanzó una remoción del 59.3% con una velocidad de consumo de fósforo total de 0.098 días⁻¹, y el inóculo del 5% con tratamiento logró una velocidad mayor a los demás inóculos $\mu_{max}=0.8747$ días⁻¹. Estos resultados son mayores a la $\mu_{max}=0.29$ días⁻¹ con una $R^2=0.869$ que reportó Camacho *et al.*, (2023), al evaluar las condiciones de cultivo estándar y estrés con la microalga *Haematococcus pluvialis* en un medio sintético.

Tabla 3.4.3 Parámetros cinéticos de la remoción de fósforo total

	Inóculo (% v/v)	K_s	μ_{max} (días ⁻¹)	a Log cel/mL	R^2
Con tratamiento	5	0.3218	0.8747	6.555	0.8827
	15	0.2375	0.6455	6.664	0.8782
	25	0.1672	0.4544	7.041	0.9099
Sin tratamiento	5	-	-	7.022	-
	15	0.0036	0.0098	7.170	0.8546
	25	0.0134	0.0366	7.482	0.8440

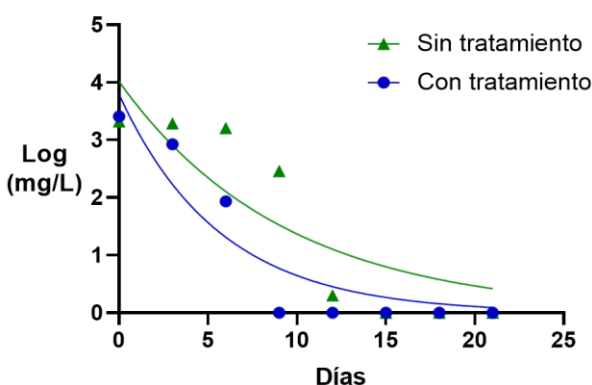
Investigaciones recientes han revelado que el fósforo desempeña un papel crucial en diversos procesos biológicos, incluyendo la formación de ácidos nucleicos, la fotosíntesis y la transferencia de energía. Además, es un componente fundamental de los fosfolípidos que conforman las membranas celulares, lo que facilita la división celular. El fósforo también influye en el crecimiento y el contenido nutricional de las células, su limitación puede tener un impacto significativo en el desarrollo de las microalgas (Yaakob *et al.*, 2021).

Sin embargo, las microalgas utilizan el fósforo para convertir el ADP en ATP mediante la fosforilación, un proceso vital para la generación de energía. Además, tienen la capacidad de precipitar fosfato a través de la adsorción celular o mediante la regulación del pH. Además, el incremento en la fosforilación de proteínas podría explicar el mayor consumo de fosfato en condiciones de acidificación (Giuliano-Regonesi, 2023).

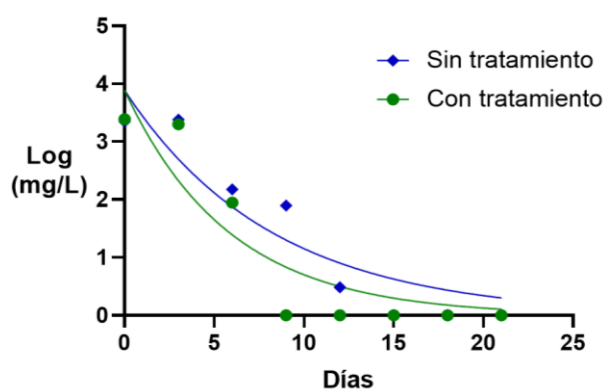
3.4.4 Modelación matemática de la remoción del nitrógeno total

En la Figura 3.4.4 se muestra la remoción del nitrógeno total en el ARA mediante la acción de *N. oculata*. En el inciso a se puede observar una disminución progresiva a partir del día 2 en ambas muestras, pero más rápida para la muestra con tratamiento. Esto se debe a que el nitrógeno es un nutriente indispensable que facilita la síntesis de proteínas y lípidos, promoviendo así el crecimiento celular y la formación de biomasa, por lo que la muestra con tratamiento térmico es más fácil de sintetizar y degradar (Tebbani *et al.*, 2020).

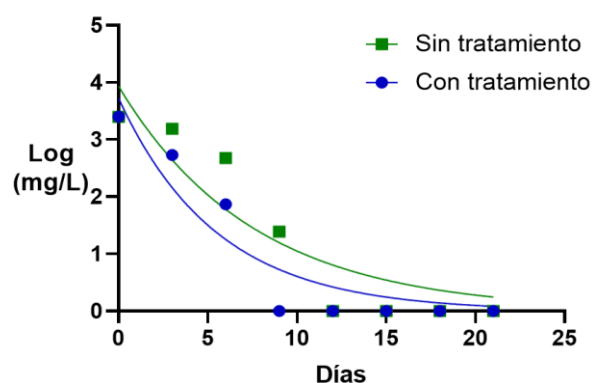
Por otro lado, la microalga *N. oculata* logró eliminar el 100 % del nitrógeno total en todas las concentraciones. El consumo de nitrógeno fue de 0.7 días^{-1} para los inóculos sin tratamiento de acuerdo con el modelo de Gompertz. A pesar de las diferencias en los porcentajes de inóculo, la microalga mostró un comportamiento consistente en la eliminación del nitrógeno, lo que sugiere que la concentración de inóculo no tiene un impacto significativo en la eliminación total de nitrógeno.



(a)



(b)



(c)

Figura 3.4.4. Remoción del nitrógeno total evaluado en las 3 concentraciones e inóculo: a) 5 % v/v, b) 15 % v/v y c) 25 % v/v.

La Tabla 3.4.4 muestra los parámetros cinéticos de la remoción del nitrógeno total en la cual los inóculos sin tratamiento obtuvieron un mejor ajuste con el modelo de Gompertz generalizado de 4 parámetros, donde el inóculo de 25 % logró una $\mu_{max}=0.7257$ días⁻¹ y una $R^2=0.9716$ que está por encima a la $\mu_{max}=0.0321$ días⁻¹ y $R^2=0.07$ reportado por Camacho *et al.*, (2023), en donde realizaron una modelación del consumo de nitrógeno de *Haematococcus pluvialis* en un medio sintético.

Tabla 3.4.4 Parámetros cinéticos de la remoción del nitrógeno total

Inóculo (% v/v)		K_s	μ_{max} (días ⁻¹)	a Log cel/mL	R^2
Con tratamiento	5	-	-	6.555	-
	15	0.0036	0.0098	6.664	0.85
	25	0.0134	0.03664	7.041	0.84
Sin tratamiento	5	0.2641	0.7178	7.022	0.9774
	15	0.2645	0.7189	7.170	0.9733
	25	0.2670	0.7257	7.482	0.9716

3.4.4 Modelación matemática de la generación de biomasa

En la Figura 3.4.5 se muestran las gráficas del modelo de Gompertz. En esta ocasión el modelo matemático no se ajustó bien a las muestras sin tratamiento. Sin embargo,

gráficamente se puede ver que a mayor porcentaje de inóculo se genera mayor concentración de biomasa. De acuerdo con los parámetros cinéticos las muestras con tratamiento variaron entre 0.1 y 0.6 días⁻¹ de generación máxima de biomasa.

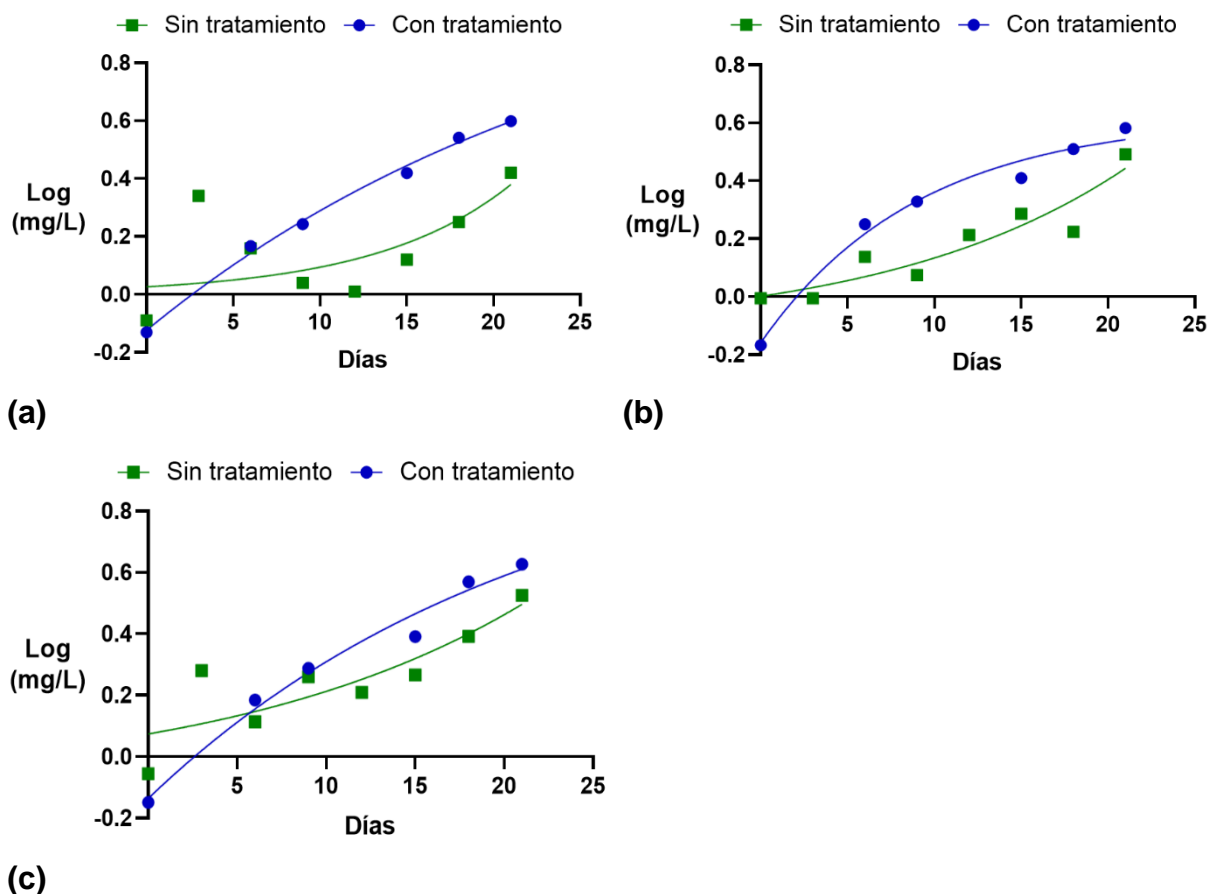


Figura 3.4.5. Generación de biomasa microalgal evaluada en las 3 concentraciones e inóculo: a) 5 % v/v, b) 15 % v/v y c) 25 % v/v.

La Tabla 3.4.5. muestra los parámetros cinéticos de la generación de la biomasa microalgal en la cual el modelo matemático se ajustó mejor a los inóculos con tratamiento donde el inóculo de 15 % con tratamiento obtuvo una $\mu_{max}=0.6094$ días⁻¹ y una $R^2= 0.9329$ que es mejor a los resultados de Miranda *et al.*, (2019) que obtuvieron una $\mu_{max}=0.179$ días⁻¹ y $R^2=0.974$ con el modelo de gompertz en la generación de biomasa con la microalga *Haematococcus pluvialis*.

Tabla 3.4.5 Parámetros cinéticos de la biomasa

Inóculo (% v/v)	K _s	μ_{max} (días ⁻¹)	a Log cel/mL	R ²	
Con tratamiento	5	0.0475	0.1292	6.555	0.9518
	15	0.2242	0.6094	6.664	0.9242
	25	0.0626	0.1703	7.041	0.9329
Sin tratamiento	5	-	-	7.022	-
	15	0.0033	0.0092	7.170	0.8671
	25	0.0030	0.0083	7.482	-

3.5 Evaluación del tratamiento del Agua residual avícola

Tabla 3.5 Caracterización del ARA sin tratamiento

Parámetros		Muestra cruda	Sin tratamiento		
Físicos	Unidades	ARA	5 %	15 %	25 %
pH	-	7.48	8.26	8.00	8.16
ST	mg/L	4078.12	931.28	1383.33	994.33
STV	mg/L	4776.36	147.04	247.02	245.85
SST	mg/L	1962.50	270.00	260.00	310.00
Turbidez	NTU	<1800	41.34	42.56	40.7
Químicos					
DQO total	mg/L	3883.66	115.33	118.66	125.33
Nitrógeno total	mg/L	2600	-	-	-
Proteínas	%	1.67	-	-	-
Carbohidratos	g/L	0.11	-	-	-
Fósforo total	mg/L	431.92	177.51	210.79	135.55
Microbiológicos					
Coliformes fecales	NMP/100mL	1.1x10 ⁹	-	-	-
Salmonella spp.	NMP/100mL	4.3x10 ⁴	-	-	-
Helmintos	HH/g	N/A	-	-	-

En la Tabla 3.5 se observa la comparación de los contaminantes orgánicos e inorgánicos de las muestras sin tratamiento después del proceso de tratamiento del

agua residual, el pH y la DQO total se encuentra dentro del rango de los límites máximos permisibles en la normatividad mexicana, también se eliminaron los coliformes fecales y *salmonella ssp.* en todos los porcentajes de inóculo. Los sólidos totales disminuyeron significativamente comparados a la muestra cruda y el nitrógeno total se eliminó por completo a diferencia del fósforo que fue el macronutriente con más presencia, pero se logró disminuir en todos los inóculos.

En la Figura 3.5 se observa el color amarillo transparente del ARA al final de los 21 días, esto se puede contrastar con los valores de turbidez de la tabla anterior.



Figura 3.5 ARA sin tratamiento

En la Tabla 3.5.1 se presenta una comparación entre los contaminantes orgánicos e inorgánicos en las muestras con tratamiento tras el proceso del tratamiento del agua residual. El pH y la DQO total se mantienen dentro de los límites máximos permisibles establecidos por la normativa mexicana. Además, se logró eliminar los coliformes fecales y *Salmonella spp.* en todos los porcentajes de inóculo utilizados. Los sólidos totales se redujeron considerablemente en comparación con la muestra cruda, y el nitrógeno total se eliminó completamente, a diferencia del fósforo, que, aunque fue el macronutriente con mayor presencia, se redujo en todos los inóculos. Por otro lado, la disminución de sólidos suspendidos totales y la reducción de turbidez indican una mejora en la calidad del agua tratada.

La Figura 3.5.1 muestra el aspecto de las muestras con tratamiento térmico después de la centrifugación en el cual se obtuvieron remociones cercanas del 93 %. A pesar de que los porcentajes de inóculos son diferentes la microalga demostró un

comportamiento similar durante los ensayos de remoción y después del tratamiento ya que no tuvo mal olor el agua y no se percibía diferencia en el color.

Tabla 3.5.1 Caracterización del ARA con tratamiento

Parámetros		Muestra cruda	Con tratamiento		
Físicos	Unidades	ARA	5%	15%	25%
pH	-	9.48	10.04	10.12	10.07
ST	mg/L	4078.12	580.97	870.99	629.05
STV	mg/L	4776.36	145.24	193.55	387.10
SST	mg/L	1962.50	350.00	248.00	290.00
Turbidez	NTU	<1800	57.9	55.74	51.78
Químicos					
DQO	mg/L	3883.66	140.33	135.33	132.00
Nitrógeno	mg/L	2600	-	-	-
Proteínas	%	1.67	-	-	-
Carbohidratos	g/L	0.11	-	-	-
Fósforo	mg/L	431.92	228.49	235.26	248.13
Microbiológicos					
Coliformes fecales	NMP/100mL	1.1×10^9	-	-	-
Salmonella sp.	NMP/100mL	4.3×10^4	-	-	-
Helmintos	HH/g	N/A	-	-	-



Figura 3.5.1 ARA con tratamiento

3.6 Evaluación de la biomasa microalgal

La Tabla 3.6 presenta los resultados de los parámetros analizados para las distintas biomazas. El inóculo sin tratamiento con una concentración del 25 % mostró un contenido de proteínas del 37.33 %, así como una concentración de carbohidratos de

4.20 g/L y 21.64 g/L de lípidos. También, se observó una eliminación en la presencia de coliformes fecales, disminuyendo desde 1100 NMP/g seco al inicio hasta 0 NMP/g seco al final del periodo de crecimiento.

No obstante, el inóculo con 25 % con tratamiento obtuvo mejores resultados como un contenido de proteínas del 42.39 %, así como una concentración de carbohidratos de 4.66 g/L y 24.38 g/L de lípidos. Esto se debe a que el tratamiento térmico degradó las moléculas y permitió que la *N. oculata* asimilara los nutrientes de manera más eficiente para su crecimiento. Estos resultados son consistentes con los reportados por Vladić *et al.*, (2023), quienes lograron eliminar en su totalidad los microorganismos patógenos después de la extracción y liofilización de la biomasa de *T. obliquus* cultivada en aguas residuales de aves de corral.

Tabla 3.6 evaluación de la biomasa microalgal

BIOMASA MICROALGAL		Muestra cruda	Sin tratamiento			Con tratamiento		
Parámetros	Unidades	ARA	5	15	25	5	15	25
ST	%	0.55	3.16	3.73	4.88	3.63	4.12	5.08
STV	%	45.68	77.80	64.00	72.79	78.48	72.41	76.36
Nitrógeno total	%	0.26	5.65	5.83	5.97	6.61	6.35	6.78
Proteínas	%	1.67	35.35	36.43	37.33	39.46	39.70	42.39
Carbohidratos	g/L	0.11	3.12	4.20	4.05	2.04	3.58	4.66
Lípidos	g/L	0.24	13.35	15.78	21.64	13.61	17.59	24.38
Coliformes fecales	NMP/g de seco	1100	0	0	0	0	0	0
Huevos de helmintos	HH/g ST	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

La Figura 3.6 ilustra el aspecto de la biomasa seca, que se cosechó por centrifugación. La imagen (a) corresponde al inóculo del 5 %, la (b) al 15 % y la (c) al 25 % de las muestras sin tratamiento, mostrando un color verde característico de *N. oculata*.

Por otro lado, las imágenes (d), (e) y (f) representan los inóculos del 5 %, 15 % y 25 % de las muestras con tratamiento, que exhiben un color verde oscuro. La variación en el color entre las muestras se debe al crecimiento y la concentración de nutrientes, los cuales ofrecen múltiples beneficios para la salud humana (Gómez *et al.*, 2020).

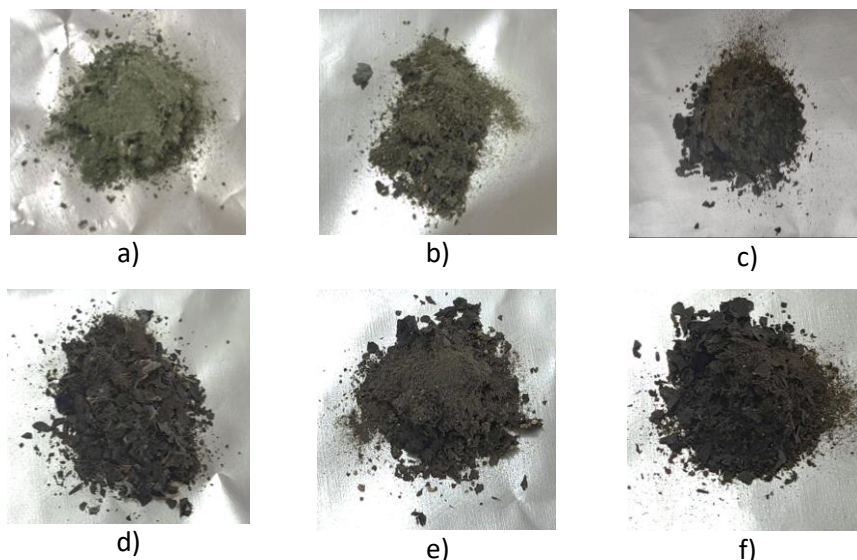


Figura 3.6 Biomasa microalgal

En la Figura 3.7 se presentan las gráficas de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier que cubren la región de 400 a 4000 cm^{-1} para cada muestra, esta técnica permite identificar las distintas bandas de absorción características de las moléculas presentes. El inciso (a) muestra la región de 2750-3150 cm^{-1} , que está asociada con las vibraciones C-H de los grupos metilo y metileno presentes en los lípidos, esta región es crucial para identificar y cuantificar los ácidos grasos poliinsaturados (AGP), ya que las vibraciones en esta zona indican la presencia y concentración de estos compuestos en la muestra.

De acuerdo con Amorim *et al.* (2021), los lípidos en forma de ácidos grasos muestran una banda principal en el rango de 1740-1750 cm^{-1} , atribuida a las vibraciones C=O del grupo carboxilo. Esta banda es indicativa de la presencia de ácidos grasos y se observa claramente en el inciso (b), que cubre el intervalo espectral de 1600-1800 cm^{-1} , una región que también puede estar relacionada con las vibraciones amídicas en proteínas.

Por otro lado, el inciso (c) se observa la región de 1300-900 cm^{-1} , que está asociada con las vibraciones C-C y C-H de la cadena alifática. Esta región es relevante para la identificación de ácidos nucleicos y carbohidratos, ya que estas vibraciones son características de las estructuras repetitivas en estas biomoléculas.

En el inciso (d) se muestran los números de onda del Espectro de absorbancia FTIR para el EPA Y DHA, estas regiones espectrales se pueden comparar con Belloni *et al.* (2023), quienes realizaron mediciones de microspectroscopía por transformada de Fourier del EPA Y DHA.]

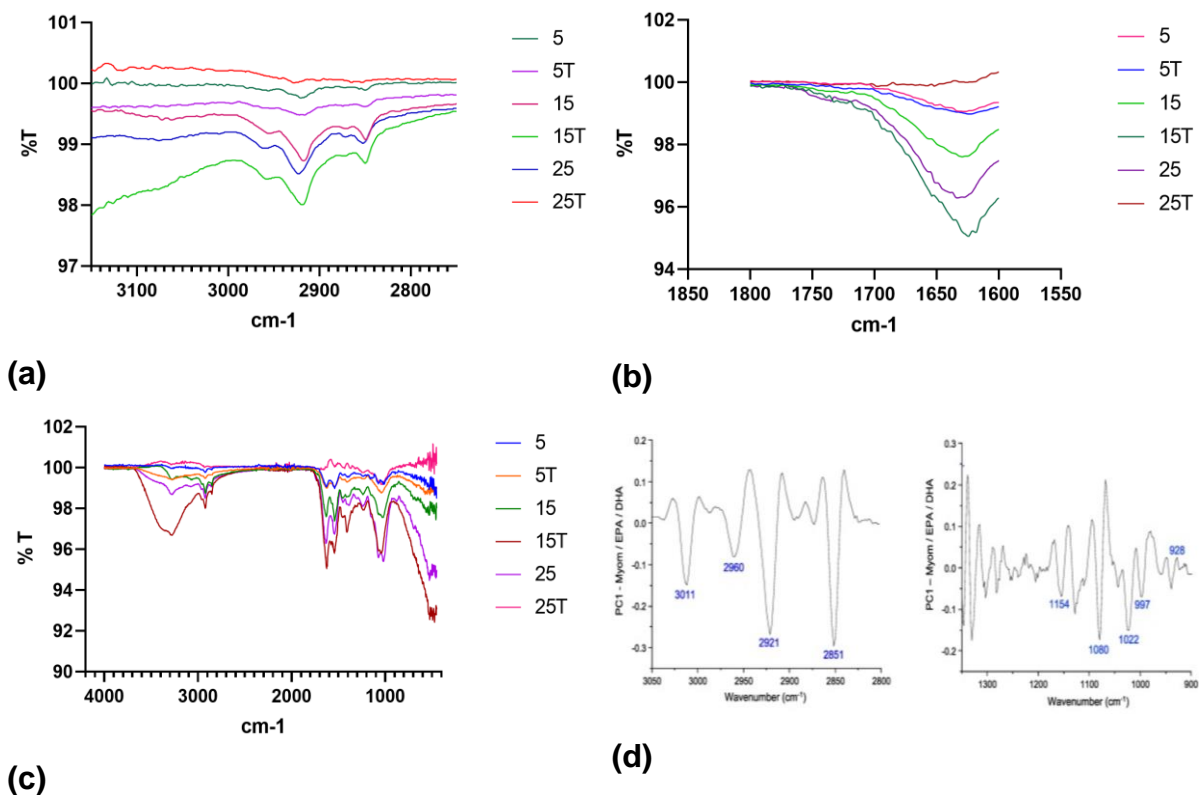


Figura 3.7 Perfil de AGP de la biomasa en FTIR

CONCLUSIONES

El contenido de nutrientes del ARA la convierte en un medio de cultivo óptimo para propagar microalgas, por su gran concentración de carbono, nitrógeno y fósforo. Es importante destacar que el tratamiento térmico tuvo un impacto positivo en el crecimiento de las microalgas facilitando una reducción más rápida de contaminantes y nutrientes en los tres porcentajes de inóculo utilizados. Aunque inicialmente se pensó en el como una medida para eliminar contaminantes patógenos, este acondicionamiento resultó ser beneficioso para las microalgas.

N. oculata logró proliferar en el medio sintético Guillard F/2, libre de contaminantes, bajo temperaturas superiores a 25 °C. Este resultado evidencia su versatilidad y capacidad para adaptarse a condiciones ambientales extremas. Después la microalga se adaptó y creció en el ARA (medio de cultivo), los resultados experimentales mostraron una mayor afinidad por la eliminación de microorganismos patógenos. El nitrógeno fue el primer macronutriente en ser removido, lo que favoreció el crecimiento de la microalga y permitió la síntesis de otros nutrientes como el carbono y el fósforo. Aunque el nitrógeno total se agotó completamente, el fósforo total no se eliminó por completo debido a su mayor dificultad de degradación. Además, es capaz de tolerar medios con pH elevados y remover los contaminantes orgánicos e inorgánicos.

El análisis estadístico reveló que la concentración de inóculo no tiene un impacto significativo en la eliminación de contaminantes ni en el tratamiento del ARA con la microalga *N. oculata*. Además, el tratamiento con *N. oculata* cumple con los límites máximos permisibles de la DQO establecidos por la NOM-001-SEMARNAT-2021 después de 21 días. De acuerdo con el modelo matemático de Gompertz de 4 parámetros los inóculos de 25 % obtuvieron un mejor rendimiento en el proceso de crecimiento y remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos presentes en el ARA, de igual manera la biomasa obtuvo las mejores velocidades de consumo de nitrógeno y fósforo, así como la disminución de la DQO soluble.

La cosecha de la microalga se realizó mediante centrifugación, que utilizó la fuerza mecánica para aglomerar toda la materia en suspensión. Con la eliminación efectiva de contaminantes y patógenos, esta biomasa tiene el potencial de convertirse en una fuente más económica y segura de componentes bioactivos, aptos tanto para productos destinados a animales, así como para consumo humano. El proceso térmico no solo contribuyó a la eliminación de patógenos, sino que también mejoró la generación de biomasa, incrementando la producción de proteínas y compuestos de interés. No obstante, el tratamiento con *N. oculata* en fotobiorreactores se presenta como una tecnología eficaz para la eliminación de nutrientes y otros contaminantes, destacándose por su menor consumo de energía, reducidas emisiones de gases de efecto invernadero, menores costos operativos y la generación de biomasa de alto valor agregado rica en nutrientes, además de lograr una clarificación del agua.

RECOMENDACIONES

Se deben usar concentraciones celulares elevadas de *N. oculata* para obtener remociones mayores y poder cumplir con la norma.

Durante los ensayos de remoción de contaminantes el periodo de iluminación debe ser 12:12 horas, con una intensidad lumínica uniforme por arriba de 2500 lux, también la aireación debe ser constante y moderada, ya que si no el crecimiento celular y la remoción de contaminantes podría variar en las réplicas.

La evaluación del tratamiento del agua residual avícola (ARA) y de la biomasa debe realizarse al día siguiente de completar las cinéticas de crecimiento y remoción de contaminantes, si se dejan las muestras mucho tiempo guardadas los resultados cambian.

Las muestras se deben sellar herméticamente para que no se contaminen, su conservación debe hacerse en refrigeración a una temperatura de 1 °C, ya que la congelación podría provocar la muerte de las microalgas y una variación en los resultados. Por otro lado, si las muestras se mantienen a temperatura ambiente, las microalgas podrían continuar creciendo o incluso morir, provocando variaciones en los resultados de los parámetros evaluados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amouzad K. M., Abedian K. A., Rezaei, M., Kazem, M. M. (2019). Antioxidant and Antibacterial Effects of Vitamins C and E Alone or a Combination on Microalgae (*Nannochloropsis oculata*) Paste Quality during Cold Storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 1051–1062. doi.org/10.1080/10498850.2019.1683108.

Aguiar, M. B. (2016). Effect of alterations in Fe content and salinity produced by climate change on oxidative metabolism in Antarctic microalgae. Tesis Maestría. National University of Comahue.

Amorim, T., Fuente, M., Oliveira, M., Gómez P. (2021). ATR-FTIR and Raman Spectroscopies Associated with Chemometrics for Lipid Form Evaluation of Fish Oil Supplements: A Comparative Study. *ACS Food Science & Technology*. 318-325, Volume 1, Issue 3, American Chemical Society. doi: 10.1021/acsfoodscitech.0c00122

Aranda, Jorge. (2018). Aguas Residuales Provenientes De La Industria Avícola En Colombia: Una Revision Bibliográfica. 10.13140/RG.2.2.14655.00168.

Bach Gonzales, J. M. (2020). Determination of cis, trans, saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acid content in snacks by gas chromatography. Lambayeque, Thesis, Faculty of Chemical Engineering and Food Industries.

Becerra-Moreno, D., Rubio-Gómez, Y.M., Barajas-Solano, A.F., Ramírez Ríos, L:F., Machuca-Martínez, F. (2023). Bibliometric analysis of the life cycle applied to wastewater treatment processes with microalgae. *Ingeniería y Competitividad*. 25(4), e30111626. doi: 10.25100/iyv.v25i4.11626

Belloni A., Notarstefano V., Greco S., Pellegrino P., Giorgini E., Ciarmela P. (2024). FTIR Microspectroscopy as a new probe to study human uterine lesions: Characterization of tumor cell lines from uterine smooth muscle cells and evaluation of EPA and DHA in vitro treatments, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, Volume 1870, Issue 1, 166873, ISSN 0925-4439. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2023.166873>.

Bermúdez, M. S. (2020). Impact of the application of "omics" techniques in microalgae in the development of new biotechnological applications. Analysis of the potential applications of *Nannochloropsis gaditana*. Tesis Maestría. University of Cadiz.

Brennan, B., Regan, F., (2020) In-situ lipid and fatty acid extraction methods to recover viable products from *Nannochloropsis* sp., *Science of The Total Environment*, Volume 748, 142464, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142464>.

Caballero García, M. (2019). Development of photobioreactor operation strategies. Orizaba, Veracruz, Mexico: National Technological Master's Thesis of Mexico/Instituto Tecnológico De Orizaba.

Cánovas, F. M., Lüttge, U., Leuschner, C. & Risueño, M. C., (2020). *Progress in Botany*. Springer. Switzerland.

Camacho Kurmen J. E., L. D. (2023). "Book of mathematical models and kinetic parameters of growth of the microalgae *Haematococcus pluvialis*. Santa Bárbara del Zulia, Zulia, Venezuela: Fondo Editorial de la Universidad Nacional Experimental Sur del Lago Jesús María Semprúm (UNESUR).

Centeno Calderón, Luis Gabriel, Quintana Díaz, Aníbal, & López Fuentes, Fiorella Lisset. (2019). Effect of a microbial consortium on wastewater treatment efficiency, Trujillo, Peru. *Arnaldoa*, vol. 26, p. 1, 433-446.

Cohuo Colli, J.M., Salinas Ruiz, J., Hernández Cázares, A.S., Hidalgo Contreras, J.V. y Velasco Velasco, J. (2017). The ammonia in poultry operations: effects on birds and environment. *Tecnociencia Chihuahua*. Vol. 11, p. 82-91. DOI:<https://doi.org/10.54167/tch.v11i2.160>.

De Groot, R. H. M., Emmett, R., Meyer B. J. (2019). Non-dietary factors associated with n-3 long-chain PUFA levels in humans a systematic literature review. *British Journal of Nutrition*, Vol. 121, p. 7, 793–808. <https://doi.org/10.1017/s0007114519000138>.

- Ding, Y., Chen, N., Ke, J., Qi, Z., Chen, W., Sun, S., Zheng, Z., Xu, J., Yang, W. (2021). Response of the rearing water bacterial community to the beneficial microalga *Nannochloropsis oculata* cocultured with Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 542. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736895>
- FAO. (2023). Poultry production and products. Obtained from Poultry Waste Management: <https://www.fao.org/poultry-production-products/production/management-and-housing/waste-management/es/>
- Fatima F, Du H, Kommalapati RR. Treatment of wastewater from poultry slaughterhouses with membrane technologies: a review. *Water*. 2021; 13(14):1905. <https://doi.org/10.3390/w13141905>
- Fernández García, (2019). Obtaining polar lipid concentrates enriched in polyunsaturated fatty acids from microalgae. Thesis: University of Almeria.
- Garre Pérez, A; Egea Larrosa, J.A.; Fernández Escámez, P.S. (2016). Mathematical models for the description of the growth of pathogenic microorganisms in food. Department of Food Engineering and Agricultural Equipment, Institute of Plant Biotechnology. Polytechnic University of Cartagena.
- Gómez, R. B. D., Sepúlveda, V. J., Arbelaez, A. (2020). Oxidative, microbiological, sensory evaluation and fatty acid profile of a yogurt with docosahexaenoic acid (DHA) extracted from microalgae oil. *Chilean Journal of Nutrition*, 47(4), 568-579.
- Groot, K. P. (1994). Review on emissions of ammonia from housing Review on emissions of ammonia from housing, building design and manure handling. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 53, 73-87.
- Gutiérrez Casiano, N. (2023). Development of a biodiesel production process based on a strictly biological route. Orizaba, Veracruz, Mexico: PhD Thesis. Tecnológico Nacional de México/Orizaba Campus.

Guzmán, J.L., Acién, F.G., Berenguel, M. 2021. Modelling and control of microalgae production in industrial photobioreactors. *Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial* 18, 1-18. <https://doi.org/10.4995/riai.2020.13604>

Hamzelou, S., Belobrajdic, D., Juhász, A., Brook, H., Bose, U., Colgrave, M. L., Broadbent, J. A., (2023). Nutrition, allergenicity and physiochemical qualities of food-grade protein extracts from *Nannochloropsis oculata*. SSRN, <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4361639>.

Herrera Santana D.S., Sarmiento, R., (2024). Experimental validation of mathematical models of microalgae-bacteria consortium in applications for institutional wastewater treatment. *Water Engineering*, 65-81.

IEA, I. E. (2021). Greenhouse gas emissions from Energy Data Explorer. Retrieved from [iea: https://www.iea.org/data-and-statistics/data-tools/greenhouse-gas-emissions-from-energy-data-explorer](https://www.iea.org/data-and-statistics/data-tools/greenhouse-gas-emissions-from-energy-data-explorer)

INEGYCEI. (2020). Instituto Nacional De Ecología Y Cambio Climático. Obtenido de <https://datos.gob.mx/busca/dataset/inventario-nacional-de-emisiones-de-gases-y-compuestos-de-efecto-invernadero-inegycei>

Jácome-Pilco, C., Ballesteros, C., Rea, E., & Rea Cayambe, L. M. (2021). Microalgae in the treatment of wastewater generated in tannery industries. *Science and Technology*, 14(2), 47–55. <https://doi.org/10.18779/cyt.v14i2.502>

León Domínguez, P. (2022). Analysis of the antioxidant capacity of microalgae extracts *Nannochloropsis oculata* and possible *Hapalosiphon* sp. obtained from fresh vs lyophilized biomass. Ecuador: Tesis Maestría. University Of Cuenca, Faculty of Chemical Sciences.

López-Ramírez, M. A., Castellanos, O. P., Lango R. F., Castañeda C. M., Montoya, M. J., Sosa, V. C., Ortiz, M. B., (2021). Advanced Oxidation as an Alternative Treatment for Wastewater. A Review. *Enfoque UTE*, Vol. 12, 4, p. 76-87.

- Manisali, Y. A., Sunol, A. K., Philippidis P. G. (2019). Effect of macronutrients on phospholipid production by the microalga *Nannochloropsis oculata* in a photobioreactor. *Algal Research*, 41, 101514. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101514>
- Marquez Findicue, Y. V. (2020). Development of the planning stage for the implementation of an energy management system in Avinsa S.A.S based on ISO 50001:2018. Tesis Maestría. Colombia: Universidad Autónoma De Bucaramanga.
- Martínez Macias, M. del R., Sánchez Duarte, R.G., Meza Escalante, E.R., Ulloa Mercado, R.G. y Saldívar Cabrales, J. 2017. Síntesis de lípidos de la microalga *Nannochloropsis oculata* para su uso potencial en la producción de biodiésel. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 33, 85–91. DOI:<https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp02.08>.
- Matsui, H., Shiozaki, K., Okumura, Y., Ishikawa, M., Waqalevu, V., Hayasaka, O., Hondab, A., Kotan, T. (2020). Effects of phosphorous deficiency of a microalga *Nannochloropsis oculata* on its fatty acid profiles and intracellular structure and the effectiveness in rotifer nutrition. *Algal Research*, Volumen 49, 101905. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101905>.
- Méndez A. S., Alvarez, Y., Sosa, E. L., Vizcarra, G. Y. (2020). Celular concentration and dry biomass in three species of marine microalgae: *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis striata*. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22(2), 155-160. <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.603>.
- Menéndez-Gutiérrez, C. (2022). Secondary sedimentation in biological wastewater treatments. *Hydraulic and Environmental Engineering*, Vol. 4, 33, p. 24-33.
- Minhas, A. K., Gaur, S., Adholeya A. (2023). Influence of light intensity and photoperiod on the pigment and, lipid production of *Dunaliella tertiolecta* and *Nannochloropsis oculata* under three different culture medium. *Heliyon*, Vol. 9, 12801. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e12801>.

- Moha-León, J. D., Pérez-Legaspi, I. A., Ortega-Clemente, L. A., Rubio-Franchini, I. y Ríos-Leal, E. (2018). Improvement of the lipid content of *Nannochloropsis oculata* through a mutation selection program using UV radiation and quizalofop. *Journal of Applied Phycology*. doi:10.1007/s10811-018-1568-1
- Montes González, O. G. (2014). Effect of light intensity and air injection rate on growth and productivity of the microalgae *Nannochloropsis sp.*, grown in a FLAT bioreactor. Thesis Maestría. Ensenada, Baja California, Mexico: Center For Scientific Research And Higher Education.
- Moreno, R. D., Lovera-D. D., Villaca, C. J. (2023). Sewage treatment of one poultry profit center using *Moringa oleífera*. Rev. Inst. Investlg. Fac. mlnasmetal. clenc. GEOGR. Vol. 26, No.51.
- Muñoz P. F. A., Pineda I. J. A., Barrigas R. D. A., Pineda S. C. A. (2021). Production of *spirulina (Arthrospira platensis)*: a review. *Revista Biorrefinería*, Vol. 4, No. 4.
- Ortega, B. K., Rotta, S. Y. (2019). Guidelines of good poultry practices oriented to the treatment of wastewater for the poultry company Santa Barbara, Guayabal de Siquima, Cundinamarca. Bogotá, Colombia: Tesis. Universidad El Bosque, Facultad de Ingeniería.
- Oscanoa Huaynate, Alberto, Cervantes Gallegos, Miguel, Flores Ramos, Leenin, & Ruiz Soto, Anthony. (2021). Evaluación del potencial de *Desmodesmus asymmetricus* y *Chlorella vulgaris* para la remoción de nitratos y fosfatos de aguas residuales. *Revista Peruana de Biología*, Vol. 28, 1, e18082. <https://dx.doi.org/10.15381/rpb.v28i1.18082>
- Palacios Sánchez, K. M. (2022). Growth rate of *Nannochloropsis oculata* using different concentrations of salinity and F/2 Guillard between 10 and 23 days of cultivation. Thesis, León, Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
- Pandeirada, C. O., Maricato, E., Ferreira, S. S., Correia, V. G., Pinheiro, B. A., Evtuguin, D. V., Palma, A. S., Correia, A., Vilanova, M., Coimbra, M. A., Nunes, C. (2019). Structural analysis and potential immunostimulatory activity of *Nannochloropsis oculata*

polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, Volumen 222. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.06.001>.

Parsy, A., Sambusiti, C., Baldoni-Andrey, P., Elan, T., Périé, F. (2020). Cultivation of *Nannochloropsis oculata* in saline oil & gas wastewater supplemented with anaerobic digestion effluent as nutrient source. *Algal Research*, 50. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101966>

Pérez Guzmán, S. M. (2023). Evaluation of the application of micronutrients during the treatment of poultry wastewater in photobioreactors operated with microalgae. Orizaba, Veracruz, Mexico: National Technological Master's Thesis of Mexico/Instituto Tecnológico De Orizaba.

Pérez, M. Y., López, P. I., Reyes G. Y. (2020). Algae as a natural alternative for the production of different crops. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*, vol. 41, no. 2-9.

Pérez-Madruga, Yanebis, López-Padrón, Indira, & Reyes-Guerrero, Yanelis. (2020). Algae as a natural alternative for the production of different crops. *Tropical Crops*, 41(2).

Pérez, Y.A., García Cortés, D.A., Jauregui Haza, U.J. (2022). Constructed wetlands as an alternative for wastewater treatment in urban areas: a review. *Ecosystems*. 31(1): 2279. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2279>

Polly, N., Sehn T. L., Kereski R. C., Batista S. A, Miskinis S. T. (2019). Extraction and characterization of omega 3 fatty acids by cultivation of microalgae *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd. *Revista Liberato*. 143-151. DOI: 10.31514/rliberato.2019v20n34.p143

R. Yukesh Kannah, S. Kavitha, Obulisamy Parthiba Karthikeyan, Eldon R. Rene, Gopalakrishnan Kumar, J. Rajesh Banu, (2021). A review on anaerobic digestion of energy and cost effective microalgae pretreatment for biogas production. *Bioresource Technology*, doi:10.1016/j.biortech.2021.125055.

Rafael Muñiz, (2019). Microalgae photobioreactors: A resource for tertiary wastewater treatment. *Rev. Tekhné*. Vol. 22, No. 3, p. 13-25.

Regonesi, Giuliano. (2023). Il meccanismo di fissazione della anidride carbonica nelle microalghe: una revisione. 10.13140/RG.2.2.30625.17769.

Reinoso Herrera, B. M. (2019). Effect of fatty acid consumption on cancer prevention and development. Tesis. UNEMI. <http://repositorio.unemi.edu.ec/xmlui/handle/123456789/4766>.

Rincón, B., Fernández, R. M., De la Lama, C. D., Borja, P. R., Jiménez, R. A. (2021). Method for producing methane by means of anaerobic codigestion of alperujo (olive oil byproduct) and a microalga. WO2021130396 A1. <http://hdl.handle.net/10261/254724>

Sandoval-Herazo, M., Nani, G., Sandoval, L., Rivera, S., Fernández-Lambert, G., Alvarado-Lassman, A. (2020). Evaluation of the performance of vertical partially saturated constructed wetlands for sewage treatment swine. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Misantla.

Sánchez Sandoval, D. S. (2021). Influence of nutrient deficiency (C, N, P) on the removal of diclofenac by the microalgae *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlamydomonas reinhardtii* CC137 and CC1731. Tesis. San Luis Potosí, S. L. P. México: Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Sánchez-Torres, Heidi & Vargas, Jessie & Juscamaita Morales, Juan & Oliveros-Ramos, Ricardo. (2008). Production of the microalgae *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd in media enriched with biological fish silage. *Applied Ecology*. Vol. 7, p. 370.

Santos García, L. A. (2019). Effect of agitation and feeding of CO₂ on the growth kinetics of a microalgae culture in a photobioreactor. Tesis. Hermosillo, Sonora: Universidad de Sonora.

Sousa, C. S., Machado, M., Freitas, C. A., Gomes M. A., Carvalho P. A. (2022). Can Growth of *Nannochloropsis oculata* under Modulated Stress Enhance Its Lipid-Associated Biological Properties? *Marine Drugs*, Vol. 20, No. 737. <https://doi.org/10.3390/md20120737>.

- Sufeng Wang, Jianxin Liu, Cui Li & Brian Michael Chung. (2018). Efficiency of *Nannochloropsis oculata* and *Bacillus polymyxa* symbiotic composite at ammonium and phosphate removal from synthetic wastewater, *Environmental Technology*, DOI: 10.1080/09593330.2018.1444103
- Taimal Cuaical, F. E. (2020). Perception of the inhabitants surrounding the "Río Chiquito" ravine of the municipality of Cumbal-Nariño due to wastewater discharges into this water tributary. Medellín: Tesis. University of Antioquia.
- Tan, J. S., Lee, S. Y., Chew, K. W., Lam, M. K., Lim, J. W., Ho, S. H., & Show, P. L. 2020. A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids. *Bioengineered*, Vol. 11, No. 1, p. 116–129.
- Tebbani S., Rayen F. F. L., Dominique D. D. P., (2020). Biofixation of CO₂ by microalgae. United Kingdom: ISTE International. Libro, p. 17-21.
- Thi Tu O. N., Nguyen T. L., Huu G. T., Thi K. O. V., Diem H. D., Thi H. T. N., Van H. N., Van M. C., Thi Minh H. N. (2019). Chemical Constituents Of *Nannochloropsis oculata*. *Chem Nat Compd*, Vol. 55, p. 589–591. <https://doi.org/10.1007/s10600-019-02753-0>
- Turkkul, B., Deliismail, O., Seker, E. (2020). Ethyl esters biodiesel production from *Spirulina sp.* and *Nannochloropsis oculata* microalgal lipids over alumina-calcium oxide catalyst. *Renewable Energy*, Vol. 145, p. 1014-1019. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.06.093>
- Vladić, J., Molnar J. J., Ferreira, A., Maletić, S., Cvetković, D., Agbaba, J., Vidović, S., Gouveia, L. (2023). Application of Green Technology to Extract Clean and Safe Bioactive Compounds from *Tetrademus obliquus* Biomass Grown in Poultry wastewater. *Molecules*, 28, 2397, doi.org/10.3390/molecules28052397.
- Wan Razali W. A., Evans, C. A., Pandhal, J. (2022). Comparative Proteomics Reveals Evidence of Enhanced EPA Trafficking in a Mutant Strain of *Nannochloropsis oculata*. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 10:838445. doi: 10.3389/fbioe.2022.838445.

- Wei, S., Miao, J., Li, Y., Wang, X., Pan, J., Lin, Y. (2021). Toxic effect of p-chloroaniline and butyl acrylate on *Nannochloropsis oculata* based on water samples from two sea areas. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Vol. 83. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103582>
- White, D. A., Torres, P. A., Kimmance, S., Tait, K., Jones, M., Tarran, G. A., Cocinero, C., Llewellyn, C. A. (2019). Modulation of Polar Lipid Profiles in *Chlorella sp.* in Response to Nutrient Limitation. *Metabolites*, Vol. 9, No. 3, p. 39. <https://doi.org/10.3390/metabo9030039>
- Yaakob, M.A., Mohamed, R.M.S.R., Al-Gheethi, A., Aswathnarayana Gokare, R., Ambati, R.R. (2021). Influence of nitrogen and phosphorus on microalgae growth, biomass, lipids and fatty acid production: an overview. *Cells*, Vol. 10, p. 393. <https://doi.org/10.3390/cells10020393>
- Yuan, S. & otros, 2020. Modeling microalgae growth in continuous culture: parameters analysis and temperature dependence. *Energy*. Vol. 195 (1)
- Zanella, L., & Vianello, F. (2020). Microalgae of the genus *Nannochloropsis*: Chemical composition and functional implications for human nutrition. *Journal of Functional Foods*, Vol. 68, 103919. doi:10.1016/j.jff.2020.103919
- Zohri, 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*. Vol. 9, No. 1, p. 89-111.