



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE HUATUSCO

**Cultivo de microalga *Chlorella vulgaris* en aguas residuales: Efecto de la
fuente iluminante**

TESIS

**QUE COMO REQUISITOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO AMBIENTAL**

PRESENTA:

HEILYN BERALICE RODRIGUEZ TROCHES

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. JESÚS ATENODORO ALONSO

Dra. NOEMI NAVA VALENTE

HUATUSCO, VERACRUZ

JUNIO 2022

PORTADILLA

OFICIOS DE AUTORIZACION DE IMPRESIÓN

Agradecimientos

A mi dos magníficos asesores, Dr. Oscar Andrés del Ángel Coronel y la Dra. Noemi Nava Valente, porque aparte de ser docentes excelentes, son personas en las cuales pude confiar y sentirme bien al realizar mi proyecto de investigación. Gracias a ustedes llegue a conocerme a tal grado que yo no me sentía capaz. Brindaron en mi mucha autoestima y confianza para lograr paso a paso mis objetivos y sé que en cualquier punto de mi vida puedo recurrir con ustedes y que te tendrán las palabras correctas para darme ese apoyo que hasta ahora me han brindado.

A mis compañeros y amigos. José Francisco, Dora Linda, Rosita, Eduardo, María Luisa, Javier, Alexis y Jonathan. Porque compartí toda mi universidad con ustedes, teniendo altos y bajos momentos, pero, aunque éramos un grupo pequeño siempre encontrábamos la solución para estar bien entre todos. De cada uno aprendí algo. Gracias por soportarme tantos años y enseñarme diferentes cosas.

Dedicatorias

A mi familia, ¿Qué Seria de mi sin ellos? Mis padres Luz Troches e Isidro Rodriguez se los voy agradecer toda la vida. Desde que tengo uso de razón han estado conmigo en las buenas y malas, me han apoyo en toda decisión que tomo y cuando mis decisiones no son correctas han hablado conmigo para mi bien. Alguna vez les dije que seria alguien en esta vida, pero sin darme cuenta yo siempre he sido alguien y eso es gracias a ustedes dos. Mis hermanos: Juan Pablo, Jerson Ramiro, Mildred Paola y Elmer Giovanni, no puedo pedir más en la vida, porque con ustedes lo tengo TODO, risas, felicidad, diversión, confianza, un apoyo tan grande que no tengo como agradecerse los. Son las mejores personas que Dios me pudo dar y si hay otra vida después de la muerte juro que seguiría eligiendo esta familia tan hermosa que tengo.

A mis mejores amigas. Grecia Daniela, Esmeralda Zuley, Leticia Joselyn, Giselle, Magali Iraní y Brenda Icela. Desde que nos conocimos todas tenemos diferente personalidad, pero encajamos tan bien que ahora somos inseparables. Les agradezco todo su apoyo emocional que me ha ayudado a ser la persona que ahora soy porque desde hace 10 años que estamos juntas siempre he recurrido con ustedes a cualquier problema o circunstancia que me haya pasado y, sin embargo, nunca me han dejado sola. Gracias por ser mis amigas, mis confidentes y mi familia.

Resumen

Agua residual es toda aquella agua que ha sido afectada por el uso humano. Las características promedio de las aguas residuales domésticas se establece en términos de demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno y sólidos en suspensión totales.

Surge así la necesidad del desarrollo de tecnologías orientadas al cuidado del medio ambiente como lo son los cultivos de microalgas, las microalgas pueden ayudar, durante su crecimiento, a reducir los niveles de contaminantes en el tratamiento de aguas residuales. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es evaluar la eficiencia de la microalga *Chlorella Vulgaris* en el tratamiento de aguas residuales domésticas.

Existen tres tipos de agua residual:

- Urbanas: Las aguas residuales domésticas o la mezcla de éstas con aguas residuales industriales o con aguas de escorrentía pluvial (aguas superficiales procedentes de las lluvias).
- Domésticas: son las procedentes de zonas de vivienda y de servicios, generadas principalmente por el metabolismo humano y las actividades domésticas.
- Industriales: Toda agua residual vertida desde locales utilizados para cualquier actividad comercial o industrial, que no sea agua residual doméstica ni aguas de escorrentía pluvial.

El tratamiento de aguas residuales es más exigente en el caso de aguas residuales industriales.

Dentro del tratamiento de aguas residuales domesticas se encuentra diferentes alternativas, una de ellas por ejemplo es la recolección del agua residual a través de fosas sépticas en las cuales se realiza el primer paso de depuración, en esta parte se lleva a cabo un efecto anaeróbico en el cual se asientan los residuos sólidos del agua, formando un material lodoso producto del

asentamiento de los residuos, que facilita su filtrado posterior. debido a la gran cantidad de usos que se puede hacer del agua en los hogares, el nivel de contaminación de esta suele requerir de procesos de purificación más extensos en el tratamiento de aguas residuales para liberarla de residuos como heces, grasas o minerales nocivos. Equipos tecnológicos altamente certificados son utilizados por las plantas de tratamiento para realizar la descontaminación del líquido.

ABSTRAC

Residual water is all water that has been affected by human use. The average characteristics of domestic wastewater are established in terms of chemical oxygen demand, biochemical oxygen demand and total suspended solids.

Thus arises the need for the development of technologies aimed at caring for the environment, such as microalgae cultures, microalgae can help, during their growth, to reduce the levels of pollutants in wastewater treatment. Therefore, the objective of this research is to evaluate the efficiency of the microalga *Chlorella Vulgaris* in the treatment of domestic wastewater.

Wastewater treatment is more demanding in the case of industrial wastewater.

Within the treatment of domestic wastewater there are different alternatives, one of them, for example, is the collection of wastewater through septic tanks in which the first purification step is carried out, in this part an anaerobic effect is carried out in which the solid waste from the water settles, forming a muddy material product of the settlement of the waste, which facilitates its subsequent filtering. Due to the large number of uses that can be made of water in homes, its level of contamination usually requires more extensive purification processes in wastewater treatment to free it of residues such as feces, fats or harmful minerals. Highly certified technological equipment is used by the treatment plants to decontaminate the liquid.

CONTENIDO TEMATICO

Resumen	5
ABSTRAC.....	7
I. Introducción	12
II. Objetivos.	14
III. Justificación.....	15
IV. CAPITULO I.....	16
4.1 Aguas residuales en México y composición	16
4.2 Aguas residuales en Veracruz	17
4.3 Aguas residuales en Huatusco, Veracruz	18
4.4 Nutrientes de las aguas residuales	18
4.4.1 Remoción de nutrientes	19
4.4.2 Carbono	20
4.4.3 Nitrógeno	21
4.4.4 Fosforo.....	22
4.4.5 Tratamientos de aguas residuales	23
4.4.6 Tratamientos de aguas residuales con microalgas	24
4.4.7 Microalgas	25
4.4.8 Aplicaciones de las microalgas	26
4.4.9 Parámetros para considerar en un cultivo de microalgas	27
4.5 Factores que afectan al cultivo de microalgas	33
4.6 <i>Chlorella Vulgaris</i>	35
4.6.1 Taxonomía.....	36
4.6.2 Cloroplasto.....	36
4.6.3 Reproducción.....	37
4.6.4 Producción	37
4.6.5 Pared celular.....	37
4.6.6 Citoplasma.....	38
4.6.7 Medio de cultivo	38
4.7 Tipos de fuente iluminante	39
4.7.1 Propiedades de la luz	39
V. METODOLOGÍA.....	43

5.1 Etapa 1. Obtención de la muestra.....	43
5.3 Etapa 3. Proliferación de la <i>Chlorella Vulgaris</i>	46
5.4 Etapa 4. Prueba batch y biodegradabilidad de las aguas residuales.....	47
V.I RESULTADOS Y DISCUSIONES	52
6.1 Etapa 1	52
6.2 Etapa 2	52
6.3 Etapa 3	54
6.4 Etapa 4.	57
6.5 Conteo celular <i>Chlorella Vulgaris</i> en la cámara de Neubauer.....	59
V.II CONCLUSIONES	66
BIBLIOGRAFÍAS Y REFERENCIAS	67

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1 Conjunto de colores. Espectro de luz blanca.	39
Figura 2. 1 Montaje de Young	40
Figura 3. 1 Pantalla de franjas de luz y oscuras.....	40
Figura 4. 1 Determinación de haces luminosos.....	41
Figura 5. 1 Esquema del montaje.....	41
Figura 6. 1 propiedad de luz llamada polarización.	42
Figura 7. 1 El filtro polaroid no deja pasarla.	43
Figura 8. 1 La componente vertical si puede.....	43
Figura 9. 1 Autoclave Modelo SM360-A.....	47
Figura 10. 1 cámara de Neubauer o hemo citómetro	49
Figura 11. 1 Visión microscópica de la cámara de Neubauer (mejorada/improved) con un objetivo de 4x (aumento total de 40x) donde pueden ser observados los 4 cuadrantes para el conteo de leucocitos (L1, L2, L3 y L4) y los 5 subcuadrantes para el conteo de hematíes (eritrocitos) y plaquetas, (H1, H2, H3, H4 y H5) (Oliveira, 2019).....	49
Figura 12. 1 Visión microscópica de la cámara de Neubauer (mejorada/improved) con un objetivo de 10x (aumento total de 100x) donde puede verse destacado el cuadrante L2 para el conteo de leucocitos (Oliveira, 2019).	50
Figura 13. 1 Visión microscópica de la cámara de Neubauer (mejorada/improved) con un objetivo de 40x (aumento total de 400x) donde pueden ser observados los 5 subcuadrantes para el conteo de hematíes (eritrocitos) y plaquetas, (H1, H2, H3, H4 y H5	50
Figura 14. 1 Espectrómetro que se utilizó durante el muestreo para la determinación de longitud de onda de luz.	51
Figura 15. 1 Obtención del agua residual.....	52
Figura 16. 1 Agua residual cruda.	52
Figura 17. 1 Iniciando del incremento de la <i>C. Vulgaris</i> (1 litro).	55

Figura 18. 1 Incremento de <i>C. Vulgaris</i> con su alimentación (3 litros).	55
Figura 19. 1 Compuestos para la alimentación de la microalga <i>C. Vulgaris</i> . ..	56
Figura 20. 1 Elementos traza.	56
Figura 21. 1 <i>C. Vulgaris</i> y agua residual.	57
Figura 22. 1 pH de la muestra de agua residual con <i>C. Vulgaris</i>	58
Figura 23. 1 Remoción de DQO de la muestra de agua residual con la <i>C. Vulgaris</i> 59	
Figura 24 1. Luz de día, concentración celular.....	61
Figura 25 1. Luz azul, concentración celular.....	62
Figura 26 1. Luz roja, concentración celular.....	63
Figura 27 1 Luz día, absorbancia.	63
Figura 28 1. Luz roja, absorbancia.	64
Figura 29 1. Luz azul, absorbancia.	65

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Nutrientes para la preparación del medio de cultivo que alimenta la <i>Chlorella Vulgaris</i>	
.....38	
Tabla 2. Compuestos esenciales para la alimentación de la <i>Chlorella Vulgaris</i>	46
Tabla 3. Diseño experimental.	48
Tabla 3. Mediciones de los parámetros del agua residual de zanjón.	53

I. Introducción

En México, el agua ha sido reconocida como un asunto estratégico y de seguridad nacional, y se ha convertido en elemento central de las actuales políticas ambientales y económicas, así como un factor clave del desarrollo social. Llevar a cabo el tratamiento de aguas residuales son producto de la utilización de agua potable por el ser humano, para diferentes usos de la vida diaria, tanto en hogares o a nivel industrial, lo que produce que esta sufra de alteraciones en su composición produciendo contaminación. Por medio del tratamiento de aguas residuales es posible eliminar los contaminantes presentes en el agua a nivel físico, biológico y químico, puede involucrar varios pasos, dependiendo del nivel de purificación que se pretenda proporcionar al agua. El procesamiento del líquido residual puede ser tan simple como un proceso de asentamiento y filtrado, hasta procesos más complejos como la purificación total del agua.

Existen 3 tipos de tratamientos para las aguas residuales, primario que consiste procesos físico-químicos que se aplican para reducir el contenido de partículas en suspensión del agua. Estos sólidos en suspensión pueden ser sedimentables o flotantes. Secundario son procesos biológicos que pretenden eliminar la materia orgánica existentes. Estos procesos biológicos consisten en el trabajo que desempeñan algunas bacterias y microorganismos y que se basa en la transformación de la materia orgánica en biomasa celular, energía, gases y agua. Este tratamiento tiene una eficacia del 90% y terciario es la eliminación de los agentes patógenos, sobre todo bacterias fecales y de los nutrientes. Este tratamiento es se hace cuando el agua se va a reutilizar como, por ejemplo, en jardines u otros espacios públicos para que no pongan un peligro para la salud humana.

El método por utilizar para el tratamiento de las aguas residuales domésticas es el secundario con *Chlorella Vulgaris*, es una microalga de la categoría de superalimentos debido a su gran cantidad de nutrientes y minerales. Se caracteriza por encontrarse en aguas dulces, es de forma esférica y mide de 2 a 10 micrómetros de diámetro. Está compuesta por vitamina B12 y clorofila lo

que la convierte en una sustancia desintoxicante y depuradora para el organismo. Esta microalga se encarga de eliminar metales nocivos, toxinas y sustancias dañinas en el sistema digestivo, hígado y torrente sanguíneo. Su principal beneficio, es la producción de energía que le proporciona al cuerpo diariamente para llevar una vida saludable. Esta vitamina contiene todos los nutrientes necesarios para producir los glóbulos rojos que necesita el organismo, su elemento fundamental es el cobalto, el cual es un mineral encargado de mejorar la salud en muchos aspectos.

La aplicación de microalgas en el tratamiento de aguas residuales, tiene sus antecedentes con estudios sobre la posibilidad de cultivos masivos de microalgas para tratar efluentes industriales. *Chlorella vulgaris* ha sido ampliamente investigada por su alta capacidad de remoción de contaminantes presentes en aguas residuales, así como también por el alto contenido de lípidos en su materia orgánica. En comparación con los actuales procesos convencionales, el cultivo de microalgas genera biomasa susceptible de convertirse en materia prima para la producción de una elevada variedad de biocombustibles.

Hay muchos estudios, donde se ha demostrado el notable potencial en la absorción de hasta 97% de nitrógeno y 86% de fósforo a partir de diferentes tipos de aguas residuales, como textiles, municipales, agrícolas y recalcitrantes, también ha presentado biosorción de metales pesados como Pb, Cr y Ni. *Chlorella vulgaris* demostró una alta producción de lípidos utilizando aguas residuales tratadas como medio de cultivo, además representa una técnica que implica bajos costos. Teniendo en cuenta la alta tasa de crecimiento y absorción de nutrientes, se considera como una de las mejores microalgas para la biorremediación de aguas residuales por su alto potencial para absorber nitrógeno, metales pesados y fósforo presentes en el medio y resultando ser un proceso prometedor y ventajoso.

II. Objetivos.

Objetivo General.

Evaluar la eficiencia de un sistema de tratamientos de aguas residuales domesticas mediante el uso de *Chlorella Vulgaris*.

Objetivos específicos.

- Caracterizar las aguas residuales domesticas en términos fisicoquímicos y microbiológicos.
- Evaluar el efecto del tipo de medio de cultivo en el crecimiento celular de la microalga *Chlorella Vulgaris*.
- Evaluar el efecto del tipo de fuente iluminante en el crecimiento celular de la microalga *Chlorella vulgaris*.

III. Justificación

En México dispone aproximadamente del 0.1% del total de agua dulce disponible a nivel mundial, lo que determina que un porcentaje importante del territorio esté catalogado como zona semidesértica. Como sabemos el agua es necesaria para todas las formas de vida, es un elemento crucial para el funcionamiento de los ecosistemas y la provisión de servicios ambientales de los que dependemos para sobrevivir y es un factor estratégico para el desarrollo del país. México tiene 471.5 mil millones de metros cúbicos de agua dulce renovable por año y está considerado como un país con baja disponibilidad de agua y el 67% de esa agua se divide en diferentes estados en uno de ellos es en el estado de Veracruz, el cual cae aproximadamente en el mes de junio y septiembre con un abasto total en todos los estados, y el 47.6% es de agua de lluvia y actualmente el problema del tratamiento de las aguas residuales ha tomado más importancia, puesto que con la creciente tasa demográfica se necesitan de nuevas tecnologías que sean capaces de atender el problema sin generar otro aunado del mismo. Según datos de Conagua (2018) se estima que más de 50 mil millones de personas en zonas rurales tienen problemas con el abasto de agua, por ello es de vital importancia el crear un sistema que permita el aprovechamiento del agua y recuperar la pureza del agua.

Una posibilidad para dar solución a estos problemas es la biorremediación en aguas utilizando algas para la remoción de contaminantes. Las microalgas son muy efectivas en el tratamiento de aguas residuales especialmente porque tienen la capacidad de remover nutrientes y xenobióticos en estas aguas. Especies como *Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella miniata*, *Chlorella vulgaris* y *Chlorella sorokiniana* destacan por eliminar de manera eficiente metales pesados en las aguas residuales, además de poder crecer en medios contaminados. A diferencia de las demás, *Chlorella Vulgaris* es muy eficaz en la biorremediación de amoníaco y fósforo que se encuentran en las aguas residuales y se considera como una de las mejores microalgas para biorremediación de aguas residuales por su versatilidad y baja proliferación, con esto, su aplicación en el tratamiento de aguas es ventajosa, por ser un proceso

de absorción natural que evita la intervención de compuesto químicos contaminantes.

IV. CAPITULO I.

4.1 Aguas residuales en México y composición

En muchas regiones del mundo el agua se está convirtiendo en un factor limitante para la salud humana, la producción de alimentos, el desarrollo industrial y la estabilidad económica y política, Aunque 70% de la superficie del planeta está compuesta por agua, solamente 2.5% es agua dulce, y de esta última poco menos de 0.3% es agua superficial. La cantidad de agua dulce superficial junto con la subterránea de todo el planeta es menor a 1%, lo que implica que solamente 200 000 km³ están disponibles para el consumo humano y el mantenimiento de los ecosistemas naturales. En México la disponibilidad promedio se estimó en 4 547 m³ para el año 2004, cifra que lo coloca en el noveno lugar de disponibilidad, aunque, de acuerdo con las categorías establecidas por los organismos internacionales está considerado como un país con baja disponibilidad natural de agua. En México, siete de cada diez habitantes viven en una ciudad. Las proyecciones demográficas para los siguientes 25 años indican que continuara un incremento sostenido de las zonas urbanas y con ello el riesgo de mayores problemas de acceso y abastecimiento de agua, situación que ya afecta a 38 urbes del país, entre ellas el Distrito Federal (Guerrero, 2009).

En el país, se estimó que para el 2010 en México se generaron 431.7 m³ /s de aguas residuales municipales y no municipales. Al primer grupo corresponden 243 m³ /s, y de ellos se colecta el 85%; de esta cantidad se trata solo el 40.5%, y el resto no reciben tratamiento. Las aguas residuales no municipales ascienden a 188.7 m³ /s; de ellas se tratan solo el 15.85% y, del restante 84.2%, 63.52 m³ /s se emplean en el riego. El impacto de estas descargas se refleja en los cuerpos receptores. La demanda bioquímica del oxígeno es un indicador de contaminación de origen municipal y doméstico, y las regiones más contaminadas de acuerdo con este indicador son Valle de México, Golfo Norte, Lerma-Santiago-Pacífico y algunos sitios de Golfo Centro (Cortés et al., 2010).

México ocupa el onceavo lugar a nivel mundial en cuanto a densidad poblacional con 60.4 hab/Km² y una población de 118.40 millones de habitantes, lo cual conlleva a una fuerte presión sobre los recursos hídricos debido a los distintos usos del agua (INEGI, 2014). De acuerdo con las estimaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) en el 2011 el uso agrícola abarcó el 75.7%, el uso industrial 9.6% y abastecimiento público 14.6% de la extracción total (FAO, 2011, 2014; CONAPO, 2014) (Director, 2014-2016).

Para tratar las aguas residuales domésticas o municipales, existen diversas tecnologías que varían desde las convencionales altamente mecanizadas, que demandan un gran consumo energético, hasta tecnologías ecológicas de bajo costo. Los sistemas de tratamiento convencionales remueven los contaminantes, mediante procesos que consumen grandes cantidades de energía procedentes de combustibles fósiles, con tiempos de retención hidráulico cortos y requieren cantidades relativamente menores de terreno. En general, estos sistemas de tratamiento tienen elevados costos de construcción, operación y mantenimiento; sin embargo, se han utilizado ampliamente y seguirán utilizándose, para el tratamiento de las aguas residuales municipales en zonas densamente urbanizadas; por lo tanto, algunos aspectos negativos (además de sus altos costos), sobre su uso se hacen cada vez más evidentes (Florentina Zurita-Martínez, 2011).

4.2 Aguas residuales en Veracruz

Veracruz se localiza en la costa del atlántico, en el Golfo de México. Al norte colinda con el estado de Tamaulipas, al sur con los estados de Oaxaca y Chiapas, al poniente con San Luís Potosí, Hidalgo y Puebla y al sureste con el estado de Tabasco. Cuenta con una superficie de 71.699 km cuadrados y alrededor de 7,3 millones de habitantes por lo cual es uno de los estados más poblados de la República Mexicana. La capital del estado de Veracruz no es el Puerto de Veracruz como muchos lo suponen, la capital es Xalapa una ciudad localizada en el centro de los altos de Veracruz, muy reconocida por su riqueza cultural.

En Veracruz, como en los demás estados del país, en el marco de la Ley de Aguas Nacionales y de acuerdo con los artículos en materia de aguas de la Ley

Federal de Derechos (DOF, 2004), el agua de la cuenca es un recurso de acceso libre hasta que es captada por la infraestructura hidráulica. Los usos consuntivos del agua captada en las obras de cabecera, así como los escurrimientos o los mantos freáticos abajo de la cabecera, se reparten entre los distritos de riego y las instancias públicas de abasto a núcleos de población y, en ambos casos, el agua termina siendo vendida como mercancía a los usuarios demandantes. Cabe anotar que por la disposición de las aguas residuales también se pagan cuotas establecidas por el concesionario según sus propios criterios de operación (CMAS-Xalapa, 2000) (Román-Jiménez, 2011).

4.3 Aguas residuales en Huatusco, Veracruz

En Huatusco hay un total de 111,55 hogares. De estas 10,784 viviendas, 2,745 tienen piso de tierra y unos 1,410 consisten de una habitación solo. 10,262 de todas las viviendas tienen instalaciones sanitarias, 9,733 son conectadas al servicio público, 10380 tienen acceso a la luz eléctrica. La estructura económica permite a 991 viviendas tener una computadora, a 2,999 tener una lavadora y 9581 tienen televisión. Tiene un clima Semicálido húmedo con lluvias todo el año (48%), semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano (42%), cálido subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media (6%) y cálido subhúmedo con lluvias en verano, de mayor humedad (4%) (Giovannelli, 2011).

El municipio no cuenta con una planta de tratamiento de agua residual y por ende el agua es dirigida a “zanjones” o ríos.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima que una persona gasta por lo general 250 litros de agua diarios. De acuerdo con la anterior afirmación se estima que Huatusco consume diariamente 15168500 litros de agua.

4.4 Nutrientes de las aguas residuales

MVCS (2006) lo define como cualquier sustancia que, al ser asimilada por organismos, promueve su crecimiento; en aguas residuales se refiere normalmente al nitrógeno y fósforo, pero también pueden ser otros elementos esenciales. Los nutrientes son compuestos químicos necesarios para el ciclo de vida de ciertos microorganismos, para sus funciones de almacenamiento y

reutilización, siendo perjudiciales en grandes cantidades en los cuerpos receptores (García 2012) (Castillo Rojas, 2017).

Las fuentes más importantes de nitratos en las aguas residuales son:

- ☐ Por procesos de nitrificación aerobia
- ☐ Uso de compuestos nitrogenados
- ☐ Disposición de excretas humanas y de los animales
- ☐ Descargas de desechos municipales e industriales con altas concentraciones de compuestos de nitrógeno
- ☐ Residuos de carnes, salchichas, tocino, y otros embutidos (utilizan nitrato de potasio como conservante)

Los compuestos de fosfato que se encuentran en las aguas residuales o se vierten directamente a las aguas superficiales provienen de:

- ☐ Fertilizantes eliminados del suelo por el agua o el viento
- ☐ Excreciones humanas y animales
- ☐ Detergentes y productos de limpieza (CENTA 2008)

4.4.1 Remoción de nutrientes

Las aguas residuales poseen altos niveles de nutrientes (nitrógeno y fósforo) que en ciertas formas puede ser tóxico para peces e invertebrados en concentraciones muy bajas (por ejemplo amoníaco) o puede causar un crecimiento exponencial de algas y el desarrollo incontrolado de una especie, en detrimento de las demás, todo ello ocasiona una mala apariencia de las aguas, problemas de olores por descomposición y un escaso nivel bajo de oxígeno disuelto que afecta negativamente a la respiración de los peces, los animales acuáticos y plantas adheridas en el lecho de los cursos de agua (Pérez y Camacho 2011) (Castillo Rojas, 2017).

4.4.2 Carbono

El efecto de la MO proveniente de aguas residuales, producen en el cuerpo receptos los siguientes impactos:

- a) Sobrecarga de la fase solida
- b) Condiciones sépticas con la presencia de gérmenes, parásitos y patógenos
- c) Disminución del oxígeno disuelto, a causa de que los microorganismos que degradan la materia orgánica consumen oxígeno para su oxidación. Si la demanda de oxígeno es superior a la aireación por disolución de oxígeno atmosférico, se puede llegar a un ciclo anaerobio.
- d) El agua se torna oscura, de olor desagradable, se reducen la entrada de luz.
- e) Impactos negativos atascando los órganos respiratorios de animales acuáticos y filtradores.
- f) Los tóxicos, tanto orgánicos como inorgánicos, eliminan los organismos depuradores, o bien inhiben su desarrollo impidiendo reacciones enzimáticas. Intoxican también en varios niveles de la cadena trófica, desde microorganismos hasta animales superiores.
- g) Alteración del pH.
- h) Alteración del equilibrio salino (balance en sodio, calcio, etc.).

Debido a la complejidad en la composición de la materia orgánica en el agua residual, esta es medida indirectamente por los siguientes parámetros: sólidos totales, sólidos suspendidos, sólidos sedimentables, materia flotante, grasas y aceites, demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO). Las concentraciones permisibles de estos parámetros en descargas de agua residual a cuerpos receptores naturales, quedan establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM- 001- SEMARNAT- 1996 que 'Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales' (García, 2009).

4.4.3 Nitrógeno

El nitrógeno se puede encontrar de nueve formas en el ambiente, debido a 7 estados de oxidación. En promedio la concentración de nitrógeno total encontrado en las aguas residuales domésticas es de 35 mg L^{-1} . EN las aguas residuales domésticas, el nitrógeno es encontrado en la forma de nitrógeno orgánico, nitrito, nitrato y amonio. A pH neutro, el 99% del amoníaco (NH_3) se encuentra protonado formando el ion amonio (NH_4^+). La concentración de amoníaco aumenta cuando se incrementa el pH a valores mayores de 8.5 debido a la desprotonización del amonio por su constante de disociación (pK).

El agua residual puede introducir altas cantidades de amonio y nitratos al ambiente de los cuerpos de agua receptores. Esto puede generar problemas ambientales, los cuales son:

- a) Toxicidad a animales acuáticos. El amoníaco es tóxico para los organismos como peces.
- b) Agotamiento del oxígeno disuelto. El agotamiento del oxígeno afecta adversamente a la vida acuática. El amonio aumenta la demanda del oxígeno del cuerpo de agua receptor, se presume que 1 mg de amoníaco puede ejercer una demanda de oxígeno de 4.6 mg de O_2 .
- c) Eutrofización de aguas superficiales. La descarga de nitrógeno a los cuerpos de aguas receptores puede estimular el crecimiento masivo de algas y plantas por asimilación autotrófica. Este impacto será ampliado en el siguiente apartado que habla sobre el fósforo en agua residual.
- d) Efecto negativo del amonio sobre la eficiencia de la desinfección por cloración. El cloro se combina con el amonio para formar la sal cloruro de amonio y cloraminas las cuales reducen el efecto germicida del cloro libre.
- e) Efecto corrosivo. Las concentraciones mayores a 1 mg L^{-1} de amonio tiene un efecto corrosivo en las tuberías de cobre.
- f) Metemoglobinemia en humanos. La metemoglobinemia se presenta por la conversión de nitrato a nitrito por bacterias reductoras de nitrato en el tracto gastrointestinal, que, al ser absorbido al torrente circulatorio, oxida el grupo Fe^{2+} de la hemoglobina a Fe^{3+} transformándola en

metemoglobina un pigmento café incapaz de acarrear oxígeno molecular, con la consecuencia final de sofocación.

- g) Efecto mutagénico y carcinogénico. El nitrito también puede combinarse con las aminas secundarias de la dieta formando nitrosaminas, las cuales se sabe, son compuestos mutagénicos y carcinogénicos.

La norma oficial mexicana NOM- 001- SEMARNAT- 1996 establece el valor máximo de 60 mg L^{-1} de nitrógeno total en las descargas de agua residual a ríos y embalses naturales La norma oficial mexicana NOM- 127-SSA1-1994, que establece los 'límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización', estipula que las aguas potables deben tener valores máximos de 0.50 mg L^{-1} de N-NH_4^+ , 0.05 mg L^{-1} de N-NO_2^- y 10 mg L^{-1} de N- NO_3^- (Garcia, 2009).

4.4.4 Fosforo

Al igual que el carbono y el nitrógeno, el fosforo se puede encontrar en el ambiente de manera orgánica e inorgánica. Debido a su reactividad, el fosforo no se encuentra libre en la naturaleza, por lo que principalmente se encuentra como fosfato, específicamente como ortofosfato PO_4^{3-} .

Las mayores aportaciones de fosfato a las aguas receptoras provienen de los escurrimientos de las tierras agrícolas y de los efluentes de agua residual domestica e industrial. Carpenete *et al.*, (1998), estima que se han aplicado 600Tg de fosforo como fertilizante a la superficie terrestre. La concentración promedio de fosforo total (orgánico e inorgánico) en agua residual es de $10\text{-}20 \text{ mg L}^{-1}$, del cual mucho proviene de los detergentes convencionales de uso doméstico. 90% del fosforo del agua residual tratada se encuentra en forma de ortofosfato.

El principal efecto del exceso de fosfato sobre los cuerpos de agua receptores es la Eutrofización. Este término designa al enriquecimiento de nutrientes en un ecosistema. El uso más extendido se refiere específicamente a los síntomas

que desarrolla un ecosistema en respuesta a la fertilización con nutrientes orgánicos. Para que el proceso de eutrofización se desarrolle, se tiene que dar concentraciones altas de nutrientes tales como N y P además de las proporciones correctas (N:P) de ambos nutrientes. La eutrofización produce de manera general un aumento de la biomasa y un empobrecimiento de la diversidad biológica del ecosistema. Se puede establecer tres impactos negativos sobre los ecosistemas causados por la eutrofización 1) Disminución en la biodiversidad, 2) Cambios en la composición y dominancia de especies y 3) Efectos tóxicos (García, 2009).

4.4.5 Tratamientos de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales consiste en una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen como fin eliminar los contaminantes físicos, químicos y biológicos presentes en el agua efluente del uso humano; el objetivo del tratamiento es producir agua limpia (o efluente tratado) o reutilizable en el ambiente y un residuo sólido o fango (también llamado biosólido o lodo) convenientes para su disposición o reúso (Pérez y Camacho 2011). Para el FONAM (2010) es una instalación donde el agua residual es sometida a un proceso mediante el cual por una combinación de diversos tratamientos físicos, químicos y/o biológicos se consigue eliminar la materia en suspensión, así como las sustancias coloidales y finalmente las sustancias disueltas que contiene; todo esto para alcanzar unos niveles acordes con la normativa vigente y proporcionar una correcta integración de esta agua residual con el entorno y obtener los mejores rendimientos posibles.

Estos procesos de tratamiento son típicamente referidos a un:

- ☐ Tratamiento primario: asentamiento de sólidos.
- ☐ Tratamiento secundario: tratamiento biológico de la materia orgánica disuelta presente en el agua residual, transformándola en sólidos suspendidos que se eliminan fácilmente.

□ Tratamiento terciario: pasos adicionales como lagunas, micro filtración o desinfección (Pérez y Camacho 2011) (Castillo Rojas, 2017).

4.4.6 Tratamientos de aguas residuales con microalgas

Las aguas residuales, ya sean de origen doméstico, animal o industrial, debido a su alto contenido de nutrientes (N y P) constituyen un medio apropiado para el crecimiento de microalgas, las cuales han demostrado su capacidad de remover cantidades apreciables de nitrógeno y fósforo para su desarrollo. El uso de microalgas como depuradoras de aguas residuales, surge a comienzos de los años 50, cuando Oswald y colaboradores, sugirieron la utilización de cultivos masivos de microalgas para el tratamiento de aguas residuales y producción de proteína, simultáneamente. Las microalgas comúnmente utilizadas han sido *Chlorella* y *Scenedesmus*, empleadas en el tratamiento de residuales provenientes de plantas de tratamientos convencionales, aguas residuales industriales y residuos animales. Así como en la producción masiva de biomasa para fines comerciales. El proceso integral de tratamiento de aguas residuales usando cultivos de microalgas, presenta ventajas tan importantes como son: el mejoramiento de la calidad del efluente, mediante un mecanismo de bajo costo energético con el aprovechamiento de nutrientes que estaban siendo desechados y que son incorporados a la biomasa; la cual presenta un alto valor comercial. Esta biomasa según su composición química, puede convertirse en fuente productora de fertilizantes, alimentos animales (avicultura, ganado porcino, ganado vacuno y acuicultura), energía, además de otras aplicaciones en la industria química, biomedicina y farmacología (Andrade, 2009).

En la actualidad, el tratamiento de efluentes representa un costo y un proceso que no genera ganancia para las empresas de acuicultura. Por lo tanto, las investigaciones sobre este tema se deben centrar en el desarrollo de tecnologías eficientes y de bajo costo. Entre estas tecnologías, los cultivos de microalgas adquieren un gran protagonismo, al ser considerados eco-amigables, ya que reciclan eficientemente contaminantes desde medios líquidos y gaseosos,

incorporándolos a su metabolismo para generación de biomasa. De esta forma, el desarrollo del cultivo micro algal en altas densidades tiene múltiples aplicaciones, que van desde suplementos alimenticios, tratamiento de enfermedades, obtención de pigmentos, aplicaciones biotecnológicas como la obtención de biodiesel y el tratamiento de aguas residuales, entre otros.

4.4.7 Microalgas

Las microalgas poseen una capacidad ficoremediadora que consiste en la eliminación o biotransformación de contaminantes de un medio líquido o gaseoso. Estos compuestos contaminantes son captados por la biomasa algal y pueden ser recuperados mediante su cosecha. Esta capacidad resulta en un sistema de cultivo con 2 propósitos: eliminación de contaminantes y producción de biomasa con fines comerciales. Ambos objetivos dependen del sistema de cultivo, la o las especies cultivadas y los factores ambientales. La utilización de medios contaminados en el cultivo impacta directamente en los costos de producción. La elección del tipo de sistema de cultivo es importante, y debe realizarse en base a factores biológicos, técnicos, ambientales y económicos, definidos previamente. La cosecha de la biomasa algal es el procedimiento más complejo y costoso en el cultivo de microalgas, existiendo varias técnicas diferentes tanto en eficiencia como en complejidad. La producción de biomasa de microalgas ha proporcionado una amplia gama de productos biotecnológicos con usos en la industria alimenticia, salud y medicina humana, alimentación animal, compuestos orgánicos y biocombustibles. Todo esto adquiere una gran importancia debido a los problemas ambientales globales existentes en la actualidad. El presente trabajo, recopila de forma general la información actualizada (1972 a 2014) sobre diferentes aspectos y parámetros de importancia en el cultivo de microalgas, sus múltiples usos y beneficios (Hernández-Pérez, 2014).

Algunas especies presentes en aguas contaminadas son utilizadas en tratamientos de aguas residuales por su elevada tolerancia. Además, varias de éstas también son utilizadas para fines comerciales específicos. Los géneros *Chlorella*, *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus*, *Euglena*, *Chlamydomonas*, *Oscillatoria*, *Micractinium*, *Golenkinia*, *Phormidium*, *Botryococcus*, *Spirulina*,

Nitzschia, *Navicula* y *Stigeoclonium* han sido registrados en aguas residuales desde distintas procedencias. Varias de éstas sones comercialmente interesantes para la alimentación humana y/o animal, la obtención de biocombustibles, aceites esenciales, pigmentos, entre otros usos (Hernández-Pérez, 2014).

4.4.8 Aplicaciones de las microalgas

Durante los años 1965 – 1980, el objetivo principal, en el estudio sobre microalgas, fue su aplicación en la depuración de aguas residuales. Este estudio lo inicio Oswald, y fundamenta en el hecho de que en un estanque de tratamiento de efluentes residuales (HROP) las algas establecen una relación simbiótica con las bacterias aerobias. Las algas utilizan el dióxido de carbonos y los nutrientes producidos a través de la degradación aeróbica de la materia orgánicas, produciendo oxígeno fotosintético que, a su vez, es utilizado por las bacterias (Rubio, 1988).

Con el paso del tiempo estos microorganismos han ganado importancia en diversos campos como en la obtención de mejores alimentos, la implementación como biocatalizadores, la producción de bioenergías, el uso como bioindicadores de calidad acuática, entre muchas otras aplicaciones. Lo anterior se debe a su gran variedad en su composición química, de la que depende el valor de la especie de la microalga pues este no es un factor estable para todas, por el contrario, varía en un alto rango de tal modo que algunas especies difieran de otras en las aplicaciones que puedan destinarse. Tienen características generales; por ejemplo, son microorganismos fotosintéticos eucarióticos y productores de oxígeno. Sin embargo, a la hora de hablar de hábitat, este varía dependiendo la especie e igualmente la materia orgánica de la cual se alimentan y lo susceptibles que pueden ser a ciertos cambios ambientales como el pH, la salinidad, minerales, etc. El crecimiento de las microalgas se rige por los niveles máximos y mínimos de tolerancia, es decir, los factores limitantes del crecimiento que están presentes en cantidades más próximas al límite de tolerancia de estos microorganismos, incluyendo cualquier factor ambiental (Abalde et al., 1995) (Aguilar).

Como organismos unicelulares que son, tienen una capacidad de crecimiento y de generación de biomasa mucho mayor que las plantas superiores, ya que no necesitan arraigar o generar estructuras reproductoras, lo que les permite duplicarse en cuestión de horas.

4.4.9 Parámetros para considerar en un cultivo de microalgas

Luz-. La luz constituye un factor fundamental en todo cultivo de microalga, tanto para si misma como por sus interrelaciones con otros parámetros. Representa la fuente de energía para la fotosíntesis, y tanto la intensidad luminosa como la longitud de onda y el fotoperiodo afectan al crecimiento y metabolismo microalgales (Lips y Avissar, 1986).

- a) Intensidad. - Se necesita de una cierta intensidad de luz para que se realice fotosíntesis. La tasa de fotosíntesis aumenta con la intensidad luminosa, alcanzándose el nivel de saturación a intensidades variables en función de la especie, después de lo cual la intensidad se hace limitante, provoca la disminución de la tasa fotosintética y, por tanto, del crecimiento. Una célula que se encuentre en condiciones limitadas de luz crecerá lentamente, pero hará que la mayor parte de la energía luminosa sea asequible al producir un sistema mas eficiente de captura de luz. La adaptación a bajas intensidades implica un incremento de dos a diez veces el contenido de clorofila por célula, a una intensidad de saturación menor y una pendiente inicial mas pronunciada. Aunque las células adaptadas a intensidades son más eficientes para absorber la energía luminosa, el rendimiento del quantum permanece constante, lo cual sugiere que no pueden utilizar la luz absorbida con mayor eficiencia. Si la intensidad de la luz es alta, existe suficiente luz, el crecimiento celular limitado más bien por la tasa de fijación de carbono, que a su vez depende del metabolismo de la célula. Así las células expuestas a intensidades altas de luz utilizan menos recursos propios para la síntesis de clorofila y más para la carboxilasa y quizás otra enzima de las reacciones oscuras.
- b) Fotoinhibición. – Las intensidades de luz muy elevadas con frecuencia son inhibitorias para el crecimiento micro algal, produciendo fotoinhibición. La fotoinhibición o foto inactivación puede definirse

como el descenso de la capacidad fotosintética a elevadas intensidades de luz, implicando la fotodestrucción de pigmentos fotosintéticos. Esto se, manifiesta como un “bleaching” de pigmentos dependiente del oxígeno y de la luz, definido por Powles (1984) como fotooxidación, la que a intensidades elevadas de luz tiene efectos letales sobre el celular y puede producir la pérdida total de un cultivo. La fotoinhibición depende de la intensidad y calidad (longitud de onda) de la luz, así como el tiempo de exposición, siendo más pronunciada con exposiciones prolongadas a intensidades altas de luz. Los efectos dañinos de la iluminación pueden ser intensificados por otros factores, como deficiencia de nutrientes o temperaturas extremas.

- c) Fotoperiodo. – En condiciones normales las microalgas están sometidas a periodos de luz/oscuridad y esta alternativa generalmente se utiliza en su cultivo. Muchos aspectos de la fisiología micro algal fluctúan en un ciclo de 24 horas.
- d) Longitud de onda. – En cuanto a la calidad de luz (longitud de onda) se sabe que tiene efectos marcados sobre el crecimiento y varios procesos metabólicos, y puede afectar también a la composición bioquímica. Así a luz azul es un disparador para ciertas vías metabólicas (Senver, 1987). La luz azul estimula un aumento de la respiración acompañado por la síntesis de novo de enzima y la producción de especies enzimáticas de mayor afinidad por el sustrato.

e)

En microalgas se ha establecido que varias enzimas relacionadas con la fotosíntesis están bajo el control de la luz azul (Ruyters, 1984). La composición espectral de la luz también afecta a la incorporación de P e induce asimismo cambios en la radio NP optima también de forma característica en cada especie (Wynne y Rhee, 1986, 19889). La luz roja también afecta a ciertos aspectos del metabolismo micro algal.

- f) Fuentes de luz. – Cuando los demás factores están dentro de límites razonables, la disponibilidad de luz es un factor que influye en la productividad de los cultivos micro algales masivos, de ahí la importancia de la fuente de luz para el cultivo.

La luz utilizada para el cultivo de microalgas puede ser luz artificial o luz natural.

Natural. – Tiene la ventaja de no suponer un gasto energético, pero tiene los inconvenientes de que no se puede controlar ni el fotoperiodo ni la intensidad: asimismo, se producen variaciones diarias, estacionales, en función del tiempo atmosférico, etc.

Artificial. – La luz artificial tiene espectro de emisión que no son necesariamente idéntica a la luz del sol y la calidad de luz puede afectar al crecimiento, metabolismo, reproducción y morfología de una clase de microalga, por lo que hay que estudiar el espectro más favorable para cada tipo de cultivar.

- g) Temperatura. – Es otro factor fundamental para el crecimiento de las microalgas. La biomasa micro algal responde continuamente a la temperatura ambiental. La temperatura celular se iguala a la temperatura del medio de cultivo, en contraste con otros parámetros del medio como el pH. Además de afectar a las reacciones celulares, la temperatura también afecta a la naturaleza del metabolismo, los requerimientos nutricionales y la composición de la biomasa, si bien dentro de los rangos óptimos tiene poca influencia sobre la concentración final de biomasa, así como la producción y la composición bioquímica de las microalgas. Existe una relación entre temperatura y la actividad biológica, aumentando la tasa de crecimiento cuando aumenta la temperatura, dentro de un rango óptimo, por encima del cual el crecimiento disminuye, a veces bruscamente, hasta llegar a cero si continúa el aumento de la temperatura. La mayoría de las microalgas tienen una curva de respuesta del crecimiento a la temperatura con una amplia meseta, y un rápido descenso después del óptimo con pronunciados efectos inhibitorios para temperaturas que superan el óptimo en solo a 2 °C (Richmond, 1986). El descenso de crecimiento a temperaturas altas puede ser debido a la interrupción de la regulación metabólica o a la muerte celular. El rango óptimo para el crecimiento de la mayoría de las microalgas se sitúa entre 18 y 25 °C. La tolerancia varía según la especie.

- h) pH. – El pH es uno de los factores más importantes en el cultivo microalgal. Las membranas plasmáticas no son libremente permeables a los iones hidrogeno e hidroxilo, por lo tanto, las concentraciones de hidrogeniones intracelular y extracelular no están necesariamente equilibradas y existe un gradiente de concentración de hidrogeniones a través de la membrana. Las microalgas muestran una clara dependencia respecto al pH del medio de cultivo y diferentes especies varían ampliamente en su respuesta al mismo. Cada microalga presenta un pH óptimo para su crecimiento. (7 – 8), un descenso del pH suele ser letal, en cambio suelen soportar mejor los incrementos del pH, hasta cierto límite (Richmond, 1986). El pH del medio de cultivo determina la solubilidad del CO₂ y de los minerales, así como la distribución relativa de las formas inorgánicas de carbono (CO₂, H₂CO₃, HCO₃⁻, CO₃²⁻), e influyen directa e indirectamente en el metabolismo de las microalgas (Bentrup, 1971). El pH tiene un efecto marcado en la solubilidad de varios compuestos metabólicos, de modo que, un aumento de pH puede llegar a ocasionar una deficiencia en algunos elementos traza. El pH del medio de cultivo, a causa de su efecto en la disociación de varias sales y complejos, puede potenciar la toxicidad o efecto inhibitorio de estos. A su vez, el pH se ve afectado por la capacidad tampón y composición del medio de cultivo, cantidad de dióxido de carbono disuelto, temperatura que a su vez controla la solubilidad del CO₂- y actividad metabólica de las celular microalgas; la fuente de N suministrada para el crecimiento juego interactivo muy importante (Raven, 1988). La asimilación de nitrato y amonio está estrechamente relacionada con el pH del medio, dado que la absorción de nitrógeno cambio el pH. La asimilación de nitrato tiende a aumentar el pH (Brewer y Goldman, 1976). Cuando se utiliza amonio como única fuente de nitrógeno, el pH del medio puede disminuir rápidamente hasta niveles de pH de 3.0 usando efectos colaterales.
- i) Salinidad. – La concentración de sales inorgánicas disueltas, tanto en las aguas dulces como marinas, puede potencialmente afectar el

crecimiento de las microalgas en función de su actividad osmótica. La tolerancia a la sal varía según las especies, algunas solo pueden tolerar concentraciones milimolares de sal mientras que otras sobreviven en soluciones saturadas. Lo que supone un estrés salino letal para un grupo es fácilmente tolerado por otro grupo. Sin embargo, el efecto de la salinidad adquiere más influencia cuando se relaciona con otras variables, como temperatura, luz, fuente de nitrógeno y concentración de nutrientes (Terlizzi y Karlander, 1980; Fábregas et al., 1984, 1985, 1986). La osmorregulación no es el único efecto por la salinidad. La respuesta a salinidades elevadas implica algunos cambios fisiológicos en las células microalgales, tales como la pérdida de la actividad fotosintética (Gimmler et al., 1981). Un hecho importante la respuesta adaptativa de las células algales al estrés salino es que este proporciona resistencia a otras condiciones de estrés, como calor, temperatura bajo cero o baja actividad del agua.

- j) Agitación. – Una suficiente agitación del medio de cultivo es necesaria e incide directamente en el cultivo microalgas. Cuando los requirentes están satisfechos y las condiciones ambientales son satisfactorias, la agitación constituye el requisito más importante para la obtención de altos rendimientos de biomasa microalgas (Richmond y Becker, 1986). La agitación produce el movimiento del agua, lo que implica una serie de efectos positivos tales como (Richmond, 1986; 1990; Raven, 1988; Laing y Ayala 1990; Beker, 1994).
 - 1. – Asegura una distribución homogénea de las células y los nutrientes dentro del cultivo. La necesidad de una distribución uniforme de los minerales en el medio implica la prevención de gradientes nutricionales alrededor de las células microalgales que se forman durante el periodo de metabolismo activo. Tales gradientes imponen restricciones en el crecimiento y se evitan con una turbulencia suficiente.
 - 2.- Mejora la distribución de la luz a las células asegurando que permanezcan fotosintéticamente activas.
 Una agitación adecuada del cultivo permite un movimiento rápido de

las células desde la zona iluminada (zona fótica) a la zona profunda oscura del tanque de cultivo, y la vuelta a la zona iluminada, lo que produce un patrón dinámico de luz- oscuridad para las células individuales. El fenómeno del ensombrecimiento mutuo, el continuo cambio entre las fases de oscuridad y luz, representa uno de los requerimientos más básicos para una elevada productividad de biomasa.

3.- Evitar que las células sedimente en el fondo del recipiente de cultivo, produciendo una estimulación general del metabolismo celular.

4.- Otra razón para mantener la agitación se relaciona con los gradientes gaseosos que se forma alrededor de las células microalgales en el curso de su actividad metabólica. Estos gradientes imponen restricciones a la tasa de crecimiento de un cultivo. Una alta densidad de células fotosintéticamente activas provoca concentraciones extremadamente altas de oxígeno disuelto; durante las horas de fotosíntesis máxima y en condiciones de estancamiento, es muy común que se produzca una supersaturación de oxígeno por encima del 400%.

5.- Prevenir una estratificación termal. En los tanques de cultivo sin agitación puede llegar a haber diferencias de 8° C entre la superficie y el fondo del cultivo.

j) Nutrientes. – Para un crecimiento óptimo, debe suministrarse al cultivo nutrientes en cantidades adecuadas. Hay muchas variaciones en los requerimientos nutritivos (cantidad) entre las distintas especies y dentro de cada especie varían en función de distintas condiciones ambientales, como luz, temperatura, pH. Si las condiciones permiten una tasa de crecimiento alta los requerimientos nutritivos son mayores. El crecimiento microalgal y la incorporación de nutrientes no siguen una relación simple, siendo dependiente de factores tales como las concentraciones internas y externas, tasas de difusión, especies etc. A causa de la importante variabilidad de estos factores, las concentraciones de nutrientes aportadas para el crecimiento y desarrollo microalgal han variado considerablemente. Como la concentración de un nutriente, afecta la tasa de producción

fotosintética, la tasa de división celular y composición celular, el crecimiento de una población se hace dependiente no solo de los factores físicos ya señalados, sino que además de la presencia de compuestos químicos orgánicos e inorgánicos, tanto a nivel traza como macroelementos.

k) Medio de cultivo. – Unos de los obstáculos en la producción industrial de microalgas es la formulación y preparación de un medio de cultivo química y económicamente apropiado. Los medios de cultivo utilizados para algas se pueden agrupar en tres categorías: medios completamente sintéticos, medios basados en aguas naturales enriquecidas con suplemento mineral y utilización de residuos o aguas residuales. Los medios de cultivos sintéticos pueden ser comerciales o prepararse en cada laboratorio o planta a partir de sus componentes. Es conveniente que sean fáciles de hacer o reconstituir en el laboratorio y de fácil de conservar. El enriquecimiento del agua dulce o el agua de mar natural con diferentes nutrientes químicos aumenta enormemente el crecimiento y las tasas de división de los cultivos micro algales (Reyes, 2017).

4.5 Factores que afectan al cultivo de microalgas

Un cultivo micro algal solo crecerá en un medio de cultivo si contiene todos los nutrientes necesarios en una forma disponible y si son adecuados el resto de los factores ambientales. Para el estudio de la cinética micro algal el método de cultivo más simple es el cultivo discontinuo, en el que el microorganismo crece a partir de una limitada cantidad de medio hasta que se agota un nutriente esencial o se acumulan productos tóxicos hasta niveles que inhiben el crecimiento. En un sistema discontinuo el cultivo pasara por una serie de fases provocadas por dichos factores limitantes. Claramente, los factores ambientales, como la luz, la temperatura, el estado de los nutrientes y la salinidad, no solo afectan a la fotosíntesis y a la productividad de la biomasa celular sino también al patrón, la ruta y la actividad del metabolismo celular y la composición celular de forma

dinámica. Los efectos sobre el metabolismo tienen implicaciones de largo alcance y consecuencias biotecnológicas.

Dada la naturaleza fotosintética de las microalgas, los factores que afectan a la fotosíntesis afectarán del mismo modo a la composición bioquímica de estas, ya sea en respuesta de un factor limitante o al uso excesivo de algún otro. Se ha demostrado que la exposición continua de las microalgas a la luz tiene un efecto inhibitorio sobre su capacidad fotosintética y también se ha descubierto que existe una interacción de la temperatura con la luz para que se presente este fenómeno. Sin embargo, las microalgas necesitan de un periodo de luz y oscuridad, es decir, el tiempo de exposición a la luz es más importante que su intensidad. Frecuentemente los regímenes de luz y oscuridad son usados dentro de un orden para simular las condiciones más usuales en la naturaleza y obtener una sincronización en la división celular, lo que repercute también en los ritmos bioquímicos y por lo tanto en la producción de nutrientes. El efecto de la luz sobre la composición bioquímica de alfas fotosintéticas está controlado en gran parte por el proceso de foto aclimatación. En este proceso, las células de las microalgas se someten a cambios dinámicos en su composición, junto a alteraciones en propiedades ultraestructurales, biofísicas y fisiológicas para aumentar la fotosíntesis y el crecimiento de las microalgas.

Por otra parte, la salinidad o presencia de sales inorgánicas disueltas en el medio en el cual se desarrollan las microalgas puede afectar potencialmente al crecimiento de estas, ya sea por su composición elemental, ya sea por la presión osmótica ejercida por dichas sales. A pesar de todo, las microalgas tienen la capacidad de adaptarse a la presión osmótica del medio ajustando su concentración interna de solutos y, de esta manera, ponerse en equilibrio con su medio externo. Una suficiente agitación del medio de cultivo es necesaria e incide directamente en el cultivo. Cuando las condiciones ambientales son satisfactorias, la agitación constituye el requisito más importante para la obtención de altos rendimientos de biomasa micro algal. La agitación produce el movimiento del agua, lo que implica una serie de efectos positivos tales como una distribución homogénea de las células y los nutrientes dentro del cultivo, una mejora de la distribución de la luz en las células que asegura que permanezcan fotosintéticamente activas, y que estas sedimenten en el fondo del recipiente de

cultivo, produciendo una estimulación general del metabolismo celular; por último, se previene una estratificación termal. (García-Romeral, 2017).

4.6 *Chlorella Vulgaris*

Las microalgas representan una enorme biodiversidad de la cual cerca de 40.000 ya están descritos o analizados. Uno de los más notable es la microalga eucariota verde *C. vulgaris*. El nombre *Chlorella* proviene del griego *Chloros*, que significa verde, y del latín ella, que significa cosa pequeña, y fue descubierta y nombrada por el holandés M.W. Beyerinck en 1890.

Chlorella Vulgaris apareció en la Tierra hace aproximadamente 1.5 o 2 mil millones de años., es un alga verde unicelular perteneciente al reino Protista. Tiene forma esférica, su diámetro es de 2 a 10 μm , no posee flagelo y se encuentra presente en la mayoría de los cuerpos de agua dulce, contiene los pigmentos verdes fotosintetizadores clorofila a y b en su cloroplasto. Mediante la fotosíntesis se multiplica rápidamente, requiriendo sólo luz solar, dióxido de carbono, agua y pequeñas cantidades de minerales.

El reino protista también se conoce con el nombre de Protoctista. En él se encuentran los organismos unicelulares eucariontes y varios grupos de individuos en los que se observa una tendencia a la pluricelularidad, pero que no poseen verdaderos tejidos. Los protoctistas comprenden los organismos tradicionalmente llamados protozoos, así como todas las algas. El término “alga” es una denominación vulgar que incluye los eucariotas fotoautótrofos que no son plantas ni cianobacterias. Las algas unicelulares representan un porcentaje muy notable del fitoplancton de los océanos y aguas dulces, que es donde se lleva a cabo no menos del 50% del total de la fotosíntesis que se realiza en nuestro planeta. Son muy importantes especialmente las diatomeas, dinoflagelados y clorofitas unicelulares porque son los principales productores de alimentos del ecosistema marino, que es donde se encuentra la principal reserva de alimentos y fuente renovadora del oxígeno de la atmósfera terrestre. El cultivo a gran escala de microalgas y el uso práctico de su biomasa como una fuente de ciertos constituyentes (por instancia lípidos) fue probablemente considerado en Alemania durante la Segunda Guerra Mundial. Las investigaciones iniciales fueron realizadas por un grupo de científicos de Carnegie Institute Washington,

cuyo objetivo principal fue el uso del alga verde *Chlorella* como productor de alimento a gran escala.

Comparada con otras plantas, *C. Vulgaris* tiene una alta concentración de clorofila, así que su capacidad de fotosíntesis es muchas veces mayor que la de otras plantas. *Chlorella vulgaris* puede dividirse en cuatro células cada 20 horas.

En el curso del tiempo, el uso continuo del alga bajo condiciones controladas ha sido importante, con diversas posibilidades económicas. La investigación con la microalga ha demostrado que la biomasa puede ser usada para aplicaciones, como son: alimento para animales, biofertilizantes, condicionador del suelo, alimento de los acuarios o puede ayudar a resolver problemas de salud pública, por medio de la purificación biológica de las aguas negras de las ciudades.

4.6.1 Taxonomía

Las investigaciones sobre el cultivo de microalgas revisten gran importancia dada su amplia aplicación biotecnológica y comercial. En tal sentido, se han utilizado los cultivos discontinuos por su relativo fácil manejo, para determinar la cinética de crecimiento y los parámetros que influyen en el desarrollo poblacional de las microalgas. Sin embargo, el uso de los medios de cultivo sintéticos ha incrementado sustancialmente el valor económico para la producción de la biomasa de estos microorganismos.

4.6.2 Cloroplasto

C. vulgaris tiene un solo cloroplasto con doble envoltura, membrana compuesta de fosfolípidos; la membrana externa es permeable a los metabolitos e iones, pero la membrana interna tiene una función más específica en el transporte de proteínas. Gránulos de almidón, compuesto de amilosa y amilopectina, puede formarse dentro del cloroplasto, especialmente durante condiciones de crecimiento desfavorables. El pirenoide contiene altos niveles de ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO) y es el centro del dióxido de carbono fijación. El cloroplasto también almacena un grupo de tilacoides fusionados donde el pigmento dominante clorofila se sintetiza.

4.6.3 Reproducción

C. vulgaris es una célula reproductiva no móvil (autospore) que se reproduce asexualmente y rápidamente. Por lo tanto, dentro de las 24 h, una celda de *C. vulgaris* cultivado en condiciones óptimas se multiplica por autosporulación, que es la reproducción asexual más común en las algas. De esta manera, cuatro células hijas tienen su propia pared celular se forman dentro de la pared celular de la célula madre, después de la maduración de estas células recién formadas, la madre rupturas de la pared celular, permitiendo la liberación de las células hijas y los restos restantes de la célula madre se consumirán como alimento por las células hijas recién formadas.

4.6.4 Producción

Esta microalga tiene una tasa de crecimiento rápida y responde a cada conjunto de condiciones de crecimiento modificando el rendimiento de un determinado componente. *C. vulgaris* es ideal para la producción porque es notablemente resistente contra las duras condiciones y los invasores. Por un lado, el contenido de lípidos y almidón aumenta y la biomasa, la productividad cesa o disminuye durante un crecimiento desfavorable. Tiene condiciones tales como limitación de nitrógeno y fósforo, alto CO₂ concentración, exposición excesiva a la luz, exceso de hierro en el medio y aumento de temperatura. Por otro lado, el contenido de proteínas aumenta durante la administración normal y controlada condiciones de crecimiento (suplementación de nitrógeno). Por lo tanto, muchos Se han probado técnicas de crecimiento para apuntar voluntariamente la productividad de biomasa, lípidos, proteínas, carbohidratos y pigmentos.

4.6.5 Pared celular

La rigidez preserva la integridad de la célula y es básicamente una protección contra invasores y ambientes hostiles. Varía de acuerdo con cada fase de crecimiento. Durante su formación temprana en su autosporangia, la pared celular recién formada permanece frágil, formando una capa unilaminar densa de electrones de 2 nm de grosor. La pared celular de la célula hija aumenta gradualmente en grosor hasta que alcanza 17-21 nm después de la maduración,

donde un micro fibrilar la capa se forma representando una capa similar al quitosano compuesta de glucosamina, lo que explica su rigidez. En la madura etapa, el grosor de la pared celular y la composición no son constantes porque pueden cambiar de acuerdo con diferentes crecimientos y condiciones ambientales condiciones, además, algunos informes explicaron la rigidez de la pared celular al enfocarse en la presencia de una capa de esporopolenina, a pesar de que generalmente se acepta que *C. vulgaris* tiene un unilaminar pared celular que toma esporopolenina, que es extremadamente resistente carotenoide polimerizado encontrado en la pared celular de *Haematococcus pluvialis* y *Chlorellafusca*. Sin embargo, un estudio contradictorio realizado en *C. vulgaris* por Martinez et al. informó la presencia de esporopolenina

observando una capa trilaminar externa y detectar residuos resistentes después de ser sometido a acetólisis.

4.6.6 Citoplasma

Es la sustancia gelatinosa confinada dentro de la barrera de membrana celular y está compuesta de agua, proteínas solubles y minerales. Alberga los orgánulos internos de *C. vulgaris* como mitocondrias, un núcleo pequeño, vacuolas, un solo cloroplasto y el cuerpo de Golgi (Safi, 2014).

4.6.7 Medio de cultivo

Las microalgas generan grandes cantidades de biomasa por área cultivada, producen, además, sustancias de valor económico como pigmentos, proteínas, carbohidratos y ácidos grasos. El rendimiento varía de acuerdo a la cepa de alga y medios de cultivo utilizados para su crecimiento. El género *Chlorella*, con gran importancia a nivel comercial por su facilidad de cultivo y alto valor nutricional, tiene amplios rangos de tolerancia a niveles de pH, salinidad, temperatura y luminosidad

Para el crecimiento de las microalgas el medio de cultivo es de vital importancia, éste va a contribuir con los macronutrientes y micronutrientes necesarios para el

crecimiento adecuado de la microalga, por ello se debe tener en cuenta que existen diferentes tipos documentados en la literatura; el tipo de medio de cultivo que se va a utilizar depende de la clase de microalga la cual se quiere hacer crecer (Cartagena Arevalo, 2017).

4.7 Tipos de fuente iluminante

4.7.1 Propiedades de la luz

Cuando la luz cambia de medio, como en este caso del aire al agua, esta cambia sus propiedades ondulatorias, tales como su velocidad de propagación (c) y su longitud de onda (λ), lo cual a su vez genera una descomposición de la luz blanca en sus colores (Rojo, naranja, amarillo, verde, azul, añil y violeta), Fig. 1 A este conjunto de colores se le conoce como espectro de luz blanca.



Figura 1. 1 Conjunto de colores. Espectro de luz blanca.

En este fenómeno la fuente que origina la luz blanca es el sol, y las gotas de lluvia son la sustancia material donde se tienen las diferentes longitudes de onda, en física se estudia una propiedad de la luz que explica de alguna manera el por qué se produce este interesante hecho y es la dispersión de la luz.

La luz puede asumirse como un evento ondulatorio o corpuscular (partícula), para este caso tomaremos el primer comportamiento, como ya mencionamos una onda tiene asociadas ciertas propiedades básicas, la longitud de onda (λ),

la frecuencia (f) y la velocidad de propagación (c). De la teoría ondulatoria tenemos que estas tres propiedades se relacionan bajo la expresión $c = \lambda f$, de tal forma que podemos calcular la velocidad de rayos luminosos.

Interferencia

La superposición es una cualidad de las ondas mecánicas (cuerdas, sonido), al pensar en el carácter ondulatorio de la luz, Thomas Young encontró la clave para su descubrimiento. En su experiencia de Young utilizó fuente de luz monocromática, que llegaba a dos rendijas A y B en fase, debido a que sus recorridos eran iguales. En la fig. 2 se ve el montaje de Young.

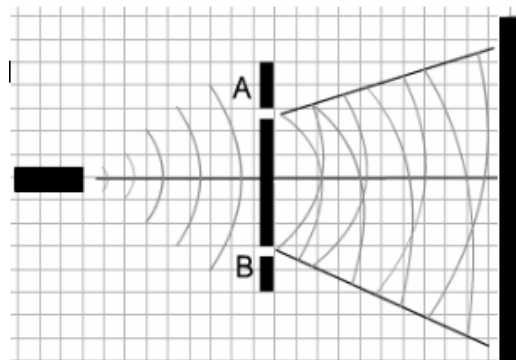


Figura 2. 1 Montaje de Young

Estas dos rendijas se constituyen en nuevas fuentes de ondas, que cumplen con el principio de Huygens, y las ondas que se producen en estas dos rendijas golpean la pantalla, en la cual Young observaría el comportamiento de la luz.

Después de pasar por estas dos rendijas, la luz llegaba a una pantalla, en la cual se encontraban franjas de luz y franjas oscuras, como en la Fig. 3.

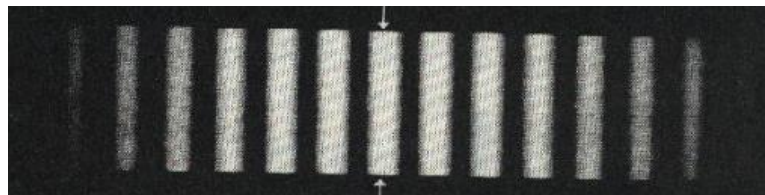


Figura 3. 1 Pantalla de franjas de luz y oscuras

Young utilizo la trigonometría para hacer el estudio de esta situación, para esto trazo dos rayos r_1 y r_2 , que terminaban en un punto cualquiera P en la pantalla, luego intento calcular la diferencia de recorridos de estos haces luminosos, esto se ve en la Fig. 4.

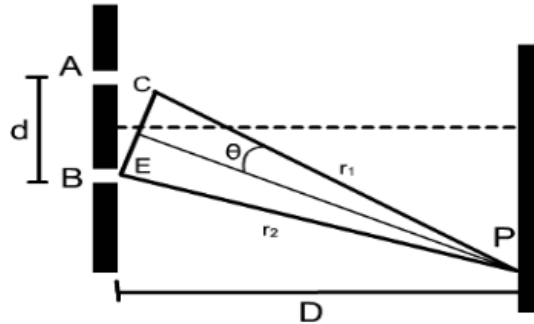


Figura 4. 1 Determinación de haces luminosos

De tal manera que la relación que pudo determinar le sirvió para establecer en qué momento se presenta interferencia destructiva y constructiva, y saber por qué en la pantalla se registraban franjas de luz y franjas oscuras.

La relación estaba determinada en términos de la distancia entre las rendijas (d), la longitud de onda (λ). La conclusión más relevante de este trabajo es que por medio de estas condiciones puede calcular el valor de la longitud de onda de la luz monocromática que estaba empleando, es decir este resultado contribuía a fortalecer la idea del carácter ondulatorio de la luz. En la figura 5 se muestra un esquema del montaje.

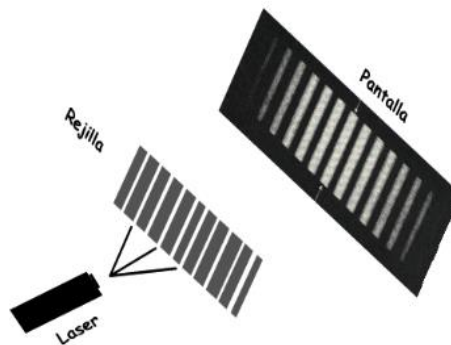


Figura 5. 1 Esquema del montaje

Polarización

Estos fenómenos son una aplicación de una propiedad de la luz llamada polarización. Los átomos en un cristal están acomodados en un gran número de canales paralelos. La luz pasa a través de ambos cristales cuando sus canales son paralelos, pero se cortará completamente si los canales están cruzados.

Una fuente de luz cuyas vibraciones son de este modo confinadas en una dirección se dice que es un polarizador plano. Representación en la figura 6.



Figura 6. 1 propiedad de luz llamada polarización.

Nos muestra que las ondas de la luz son transversas. La onda longitudinal no puede ser polarizada. Entonces para polarizar la luz, es necesario hacerla pasar a través de alguna clase de filtro. Un buen ejemplo de esto es un filtro Polaroid.

Esta clase de filtro está hecho de fibras paralelas de moléculas largas. Pensemos en un lente donde esas fibras sean horizontales. La energía de los componentes horizontales de la luz es absorbida por las fibras, de manera que esa parte no consigue pasar. Los componentes verticales de la luz, sin embargo, consiguen pasar porque las fibras horizontales no pueden absorber su energía (Bustillo, 2006).

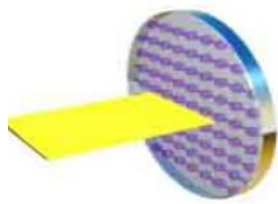


Figura 7. 1 El filtro polaroid no deja pasarla.

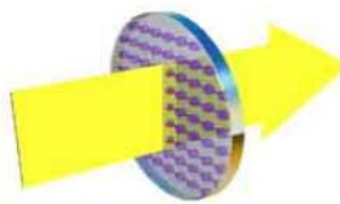
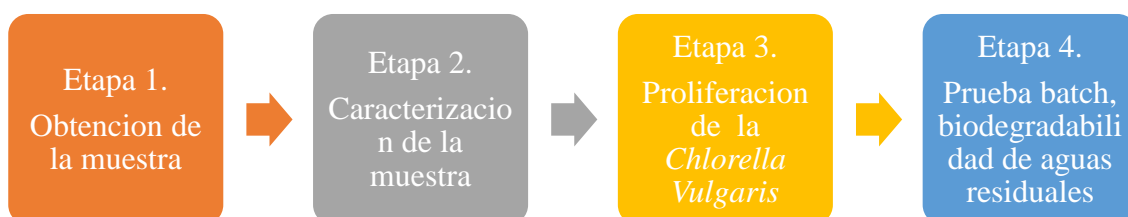


Figura 8. 1 La componente vertical si puede.

V. METODOLOGÍA



5.1 Etapa 1. Obtención de la muestra

El muestreo se llevó a cabo en el “zanjon” en el Municipio de Huatusco de Chicuellar, el sitio de muestreo está ubicado a escasos minutos del centro de la ciudad y toma lugar en la colonia conocida como La Antorcha. El municipio de Huatusco no cuenta con ningún tratamiento para el agua residual que genera ciudad y por lo tanto es desechada en un efluente que genera graves impactos a la salud de quienes viven cerca como el daño ambiental que se genera. Cabe decir que el cementerio municipal también tiene salida a este efluente, por lo cual es un foco de enfermedades y destrucción medio-ambiental.

Las muestras fueron almacenadas en garrafas de 4 litros y posteriormente se almacenaron en un refrigerador a -4 grados centígrados con el fin de inhibir las reacciones microbiológicas que puedan ocurrir y de esta manera mantener la muestra sin ningún tipo de alteración en su composición.

5.2 Etapa 2. Caracterización de la muestra

Determinación de pH

Desde una aproximación simplificada, el pH puede definirse como una medida que expresa el grado de acidez o basicidad de una solución en una escala que varía entre 0 y 14. La acidez aumenta cuando el pH disminuye. Una solución con un pH menor a 7 se dice que es ácida, mientras que si es mayor a 7 se clasifica como básica. Una solución con pH 7 será neutra.

El valor de pH representa el menos logaritmo en base diez de la concentración (actividad) de iones hidrógeno $[H^+]$. Como la escala es logarítmica, la caída en una unidad de pH es equivalente a un aumento de 10 veces en la concentración de H^+ . Entonces, una muestra de agua con un pH de 5 tiene 10 veces más H^+ que una de pH 6 y 100 veces más que una de pH 7.

Los cambios en la acidez pueden ser causados por la actividad propia de los organismos, deposición atmosférica (lluvia ácida), características geológicas de la cuenca y descargas de aguas de desecho. El pH afecta procesos químicos y biológicos en el agua. La mayor parte de los organismos acuáticos prefieren un rango entre 6,5 y 8,5. pHs por fuera de este rango suele determinar disminución en la diversidad, debido al estrés generado en los organismos no adaptados. Bajos pHs también pueden hacer que sustancias tóxicas se movilicen o hagan disponibles para los animales (Goyenola, 2007).

Determinación de Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno (DQO) del agua, medida a través de este método del dicromato, puede ser considerada como una medida aproximada de la demanda teórica de oxígeno, por ejemplo: la cantidad de oxígeno consumida en la oxidación química total de constituyentes orgánicos a productos inorgánicos finales. El grado en el cual los resultados de prueba se aproximan al valor teórico depende principalmente de qué tan completa es la oxidación. Un gran número de compuestos orgánicos se oxidan en una proporción de 90 % a

100 %. Para aguas en las que estos compuestos predominan, tales como las descargas municipales, el valor de DQO es una medida realista de la demanda de oxígeno teórica. Para otro tipo de aguas, que contienen grandes cantidades de ciertas sustancias difíciles de oxidar, bajo las condiciones de prueba, el valor de DQO es una medida pobre de la demanda de oxígeno teórica.

Sólidos Disueltos Totales (TDS)

Es una medida de la materia en una muestra de agua, más pequeñas de 2 micrones (2 millonésimas de un metro) y no pueden ser removidos por un filtro tradicional. TDS es básicamente la suma de todos los minerales, metales, y sales disueltas en el agua y es un buen indicador de la calidad del agua. TDS es clasificado como un contaminante secundario por la Agencia de Protección Ambiental de los EU (USEPA) y se sugiere un máximo de 500 mg/L en agua potable. Este estándar secundario se establece porque TDS elevado proporciona al agua una apariencia turbia y disminuye el sabor en ésta. Personas no acostumbradas al agua con alto contenido de TDS pueden experimentar irritación gastrointestinal al beber ésta. TDS también pueden interferir con equipos de tratamiento y es importante considerarlo al instalar un sistema de tratamiento de agua. Tratamiento de agua por TDS puede lograrse por ósmosis reversa o destilación (Vernaza, 2007).

Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica (CE) de una disolución puede definirse como la aptitud de ésta para transmitir la corriente eléctrica, y dependerá, además del voltaje aplicado, del tipo, número, carga y movilidad de los iones presentes y de la viscosidad del medio en el que éstos han de moverse. En general, el flujo de electricidad a través de un conductor es debido a un transporte de electrones. Según la forma de llevarse a cabo este transporte, los conductores eléctricos pueden ser de dos tipos: conductores metálicos o electrónicos y conductores iónicos o electrolíticos (Vera., 2019).

5.3 Etapa 3. Proliferación de la *Chlorella Vulgaris*.

Una proliferación de algas es un incremento rápido o acumulación de la población de algas en un sistema acuático. Las proliferaciones de algas pueden ocurrir tanto en medioambientes de agua dulce como en sistemas marinos. En general, en una proliferación solo participa una o un número limitado de especies de fitoplancton, algunas proliferaciones pueden ser identificadas por la coloración del agua causada por la alta densidad de células pigmentadas. Las concentraciones en una proliferación de algas pueden llegar hasta valores de millones de células por mililitro. A menudo las proliferaciones de algas son verdes, pero pueden tomar otras tonalidades tales como marrón-amarillento o rojo, dependiendo de las especies de algas involucradas.

El incremento de *Chlorella Vulgaris* requiere de cierto medio de compuestos para su nutrición.

Tabla 1. Nutrientes para la preparación del medio de cultivo que alimenta la Chlorella Vulgaris.

COMPUESTO	BRISTOL
NaNO ₃ Nitrato de sodio	250 ml de agua destilada 0.0645 gr
MgSO ₄ 7H ₂ O Sulfato de manganeso heptahidratado	250 ml de agua destilada 0.018 gr
K ₂ HPO ₄ Fosfato de potasio dibasico	250 ml de agua destilada 0.018 gr
KH ₂ PO ₄ Fostato de potasio monobásico	250 ml de agua destilada 0.175 gr
Elementos traza	10 ml/L

Elementos traza

Tabla 2. Compuestos esenciales para la alimentación de la Chlorella Vulgaris.

CaCl ₂ (H ₂ O)	26.5 mg/L	Cloruro de calcio dihidratado
FeCl ₃ (6H ₂ O)	5.0 mg/L	Cloruro férrico
MnCl ₂ (4H ₂ O)	0.3 mg/L	Cloruro de manganeso tetrahidratado
CoCl ₂ (6H ₂ O)	0.02 mg/L	Cloruro de cobalto hexahidratado

CuSO ₄	0.01 mg/L	Sulfato de cobre
ZnSO ₄ (7H ₂ O)	0.04 mg/L	Sulfato de zinc heptahidratado
EDTA	6.90 mg/L	

La esterilización de materiales es de suma importancia si se quiere garantizar un buen crecimiento de la microalga es importante contar con un ambiente estéril, por ello, es necesario la eliminación de cualquier agente contaminante o microorganismo indeseable en todos los materiales involucrados en el proceso, especialmente los que entran en contacto directo con la microalga *Chlorella vulgaris*. Se esterilizaron los materiales junto con el medio de cultivo por medio de una autoclave de laboratorio Modelo SM 360-A a una temperatura de 120°C.



Figura 9. 1 Autoclave Modelo SM360-A

5.4 Etapa 4. Prueba batch y biodegradabilidad de las aguas residuales

La prueba batch correspondió a un cilindro de vidrio transparente con una capacidad de 5 L, para cumplir el objetivo de obtener volumen suficiente de microalga en condiciones de crecimiento adecuadas. Con base en la literatura la microalga *Chlorella vulgaris* no se ve significativamente influenciada a temperaturas entre los 25°C y 35°C; el crecimiento se llevó a cabo a una temperatura de 22°C + 3°C que es en donde se reportan mayores tasas de crecimiento, también es importante una buena agitación para evitar que ésta se sedimente y así reciba de manera uniforme la luz solar para lo cual se utilizaron bombas conectadas a mangueras para inyectar aire como agitación al sistema.

La fuente de intensidad lumínica que recibieron directamente las muestras fue la luz solar, la microalga *Chlorella vulgaris* presenta un pH óptimo de crecimiento entre 6 y 7 llevándose la medición del pH con el potenciómetro.

La cinética de crecimiento en la prueba batch se realizó siguiendo el diseño experimental que a continuación se muestra:

Tabla 3. Diseño experimental.

4 hrs									8 hrs									12 hrs									24 hrs								
Dia			Azul			rojo			día			azul			Rojo			día			azul			rojo			Dia			azul			rojo		
	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0	1 0 0	7 0 / 3 0	5 0 / 5 0		
C	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
i	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
n	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
e	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
t	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
i	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
c	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
a	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
1	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
C	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
i	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
n	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
e	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
t	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
i	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
c	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
a	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	

Conteo de muestra en la cámara de Neubauer

Para realizar un conteo de base necesitamos un microscopio, que es aquel instrumento óptico que este compuesto por unos lentes que son los encargados de ampliar las imágenes que se enfocan y que son muy pequeñas para ser vistas por el ojo humano. Está diseñado para poder apreciar elementos diminutos que son imperceptibles para la visión humana.

La cámara de Neubauer o hemo citómetro (figura 10) es un aparato de vidrio que posee dos superficies reticuladas (retículos) para el conteo de las células y dos columnas laterales que poseen una altura de 0,1 mm por encima del retículo.

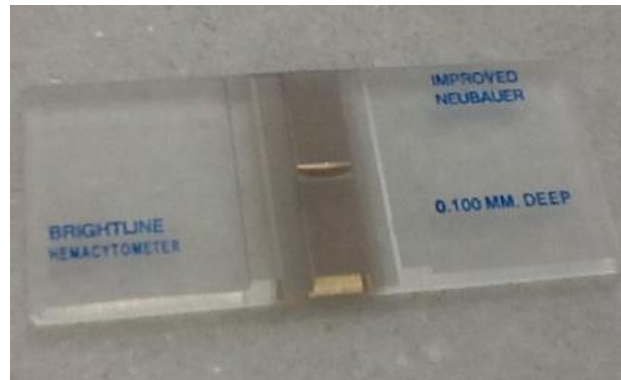


Figura 10. 1 cámara de Neubauer o hemo citómetro

El retículo de Neubauer posee una subdivisión en 9 cuadrantes, de los cuales resultan de utilidad solo los 4 cuadrantes laterales de L1, L2, L3 y L4 (para el conteo de los leucocitos) y el cuadrante central (H total), que a su vez se subdivide en varios pequeños subcuadrantes (con un total de 25 H), de los cuales quedan destacados los H1, H2, H3, H4 y H5 para el conteo de los hematíes (eritrocitos) y las plaquetas. Cada una de esas áreas reticuladas posee dimensiones específicas con capacidad de volúmenes específicos (Oliveira, 2019) como se muestran en las figuras 11,12 y 13.

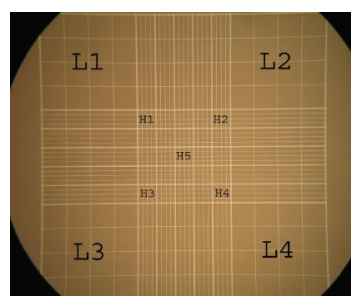


Figura 11. 1 Visión microscópica de la cámara de Neubauer (mejorada/improved) con un objetivo de 4x (aumento total de 40x) donde pueden ser observados los 4 cuadrantes para el conteo de leucocitos (L1, L2, L3 y L4) y los 5 subcuadrantes para el conteo de hematíes (eritrocitos) y plaquetas, (H1, H2, H3, H4 y H5) (Oliveira, 2019)

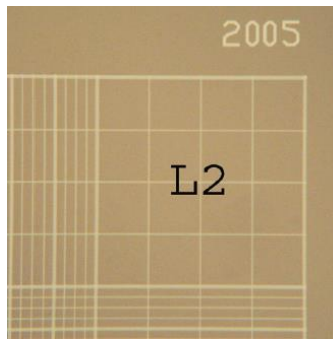


Figura 12. 1 Visión microscópica de la cámara de Neubauer (mejorada/improved) con un objetivo de 10x (aumento total de 100x) donde puede verse destacado el cuadrante L2 para el conteo de leucocitos (Oliveira, 2019).

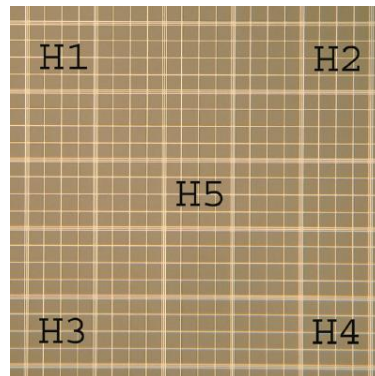


Figura 13. 1 Visión microscópica de la cámara de Neubauer (mejorada/improved) con un objetivo de 40x (aumento total de 400x) donde pueden ser observados los 5 subcuadrantes para el conteo de hematíes (eritrocitos) y plaquetas, (H1, H2, H3, H4 y H5)

Determinación en espectrofotómetro

El proceso de espectrofotometría consiste en utilizar un haz de luz (de diversas longitudes de onda según el análisis que se pretenda realizar), dirigirlo hacia la muestra y analizar la luz transmitida o reflejada por dicha muestra.

El espectrofotómetro nos da información sobre la naturaleza de la sustancia en la muestra, midiendo la absorbancia (ABS) a distintos largos de onda (λ) y graficar estos valores en función del largo de onda, formando un espectrograma. Es utilizado en laboratorios de química para la cuantificación de sustancias y microorganismos. Fig. 14, es el espectrómetro utilizado.

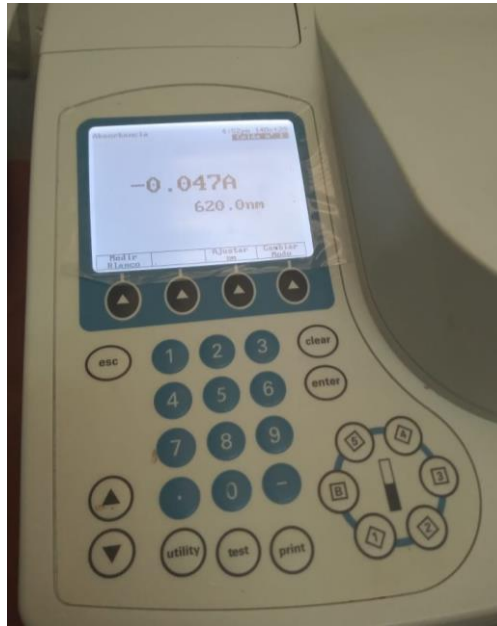


Figura 14. 1 Espectrómetro que se utilizó durante el muestreo para la determinación de longitud de onda de luz.

El espectrómetro produce un rango deseado de longitud de onda de luz. El colimador (lente) transmite un haz recto de luz (fotones) que pasa a través de un monocromador (prisma) para dividirlo en varias componentes de longitudes de onda (espectro). Y un selector de longitud de onda (ranura) transmite solo las longitudes de ondas deseadas.

El fotómetro trabaja después de que el rango deseado de longitud de onda pasa a través de la solución muestra, y detecta la cantidad de fotones que se absorbe y envía la señal a un galvanómetro o una pantalla digital.

V.I RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 Etapa 1

Se visito el sitio de muestreo, el zanjón. Se recolecto el agua cruda en garrafas de 5 litros. Cabe decir que el Municipio de Huatusco no tiene regulación sobre el agua residual que esta produce, por lo que es desechada en este afluente sin ningún tipo de tratamiento, por ello mismo se utilizaron medidas de seguridad al momento del muestreo para evitar cualquier tipo de efecto nocivo en la salud.



Figura 15. 1 Obtención del agua residual



Figura 16. 1 Agua residual cruda.

6.2 Etapa 2

La caracterización de la muestra es determinar los parámetros de nuestra agua cruda, en este caso es nuestra agua residual (tabla 4). El **agua cruda** también llamada **agua bruta** es aquella que no ha recibido ningún tratamiento por lo que no se considera potable ni apta para el consumo del ser humano. Este líquido

proviene de reservas naturales ya sea de manantiales subterráneos o de la superficie y de las tormentas de lluvia.

Tabla 3. Mediciones de los parámetros del agua residual de zanjón.

Parámetros	Valor
pH	6.92
Conductividad	1.001 $\mu\text{S/cm}$
TDS (Sólidos totales disueltos)	932.9 ppm (mg/L)
Salinidad	943.5 ppm (mg/L)
Resistencia	535.9 $\text{M}\Omega$

La Organización Mundial de la Salud, OMS, plantea la calidad del agua desde el punto de vista de su inocuidad para los consumidores de la misma y este concepto define la base para que posteriormente se definan los diferentes parámetros que se deben controlar para llegar al concepto de calidad definida y controlada mediante parámetros físicos, químicos y microbiológicos (Aguilar, 2011)

pH: tiene gran importancia en el tratamiento del agua, especialmente en la coagulación, desinfección y estabilización. La medición del pH debe realizarse in situ, ya que puede sufrir variación importante en el transcurso del tiempo, debido a diversas causas, entre las cuales se encuentran la sobresaturación de CO_2 , como consecuencia de la presencia de plantas acuáticas o su contenido en el aire, reacciones químicas, temperatura, etcétera.

Conductividad: La conductividad del agua es una expresión numérica de su habilidad para transportar una corriente eléctrica, que depende de la concentración total de sustancias disueltas ionizadas en el agua y de la temperatura a la cual se haga la determinación. Por tanto, cualquier cambio en la cantidad de sustancias disueltas, en la movilidad de los iones disueltos y en su valencia, implica un cambio en la conductividad. Por esta razón, el valor de la conductividad se usa mucho en análisis de aguas para obtener un estimativo rápido del contenido de sólidos disueltos.

TDS: la Norma NMX-AA-034-SCFI-2015 menciona que los sólidos disueltos totales es el material soluble constituido por materia inorgánica y orgánica que permanece como residuo después de evaporar y secar una muestra previamente filtrada a través de un filtro de fibra de vidrio con poro de 1,5 μm a una temperatura de $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Salinidad: es el contenido de sales minerales disueltas en un cuerpo de agua y que se encuentra en altitudes medias. En el agua cruda se suele medir a partir de un solo parámetro, puede ser la conductividad eléctrica, el índice de refracción, la densidad y los gases.

Resistencia: se expresa en ohmios (Ω) y corresponde con la resistencia máxima que ofrece la resistencia interna del potenciómetro.

6.3 Etapa 3

Se inicio con 1 litro de *C. Vulgaris* (figura 17) durante un proceso de alimentación semanal durante 2 meses lo cual obtuvo un resultado de aumento a 3 Litros (figura 18). Como ya antes mencionado una proliferación de algas pueden llegar hasta valores de millones de células por mililitro. A menudo las proliferaciones de algas son verdes.

Como un dato importante, debemos cumplir con un objetivo para obtener volumen suficiente de microalga es necesario seleccionar las condiciones de crecimiento adecuadas. Con base en la literatura de la microalga *Chlorella vulgaris* no se ve significativamente influenciada a temperaturas de 25°C y 35°C ; el crecimiento se llevó a cabo a una temperatura constante de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y luz continua suministrada por lamparas flourecentes daylight 40 w. el medio esteril utilizado fue Bristol, utilizando nitrato de sodio (NaNO_3) como fuente de nitrogeno. Cuentan con un suministro de aire continuo por burbujeo (tubodifusor) con el fin de proveer aire a los cultivos y garantizar que todas las celulas esten expuestas a la luz y a los nutrientes del medio (figura 19 y 20).



Figura 17. 1 Iniciando del incremento de la *C. Vulgaris* (1 litro).



Figura 18. 1 Incremento de *C. Vulgaris* con su alimentación (3 litros).



Figura 19. 1 Compuestos para la alimentación de la microalga *C. Vulgaris*.



Figura 20. 1 Elementos traza.

Para la obtención de un buen crecimiento y desarrollo de nuestra microalga *Chlorella vulgaris* debe consistir en 5 pasos importantes:

- I. El primer paso corresponde a un período de adaptación del metabolismo celular a las condiciones del cultivo y está caracterizado por bajos incrementos en la densidad celular. Esta fase es conocida como fase de adaptación. Una vez que las microalgas han logrado adaptarse al medio, se produce una rápida y constante división celular en la que el crecimiento se da de forma exponencial sin ningún tipo de factor limitante para la multiplicación celular. Finalizada la fase exponencial.
- II. El crecimiento de la población microalgar continua, pero en menor proporción, ya que existe una limitada disponibilidad de los factores que regulan el crecimiento (nutrientes, pH, dióxido de carbono...) dando lugar a una fase de declinación de la fase exponencial.
- III. A continuación, se produce una fase estacionaria donde la natalidad producida es igual a la mortalidad, en consecuencia, las densidades celulares se mantienen más o menos sin cambios relevantes.
- IV. Finalmente, se produce la fase muerte, en la que las microalgas comienzan a morir ante la escasez de nutrientes, liberando sustancias inhibitorias al medio que dificultan el crecimiento.
- V. Con lo cual, al incrementarse el número de células muertas y, ante las condiciones desfavorables, se genera un colapso final del cultivo.

6.4 Etapa 4.

La prueba batch se realizó con un cilindro de 1 litro y medio donde se le agrego 500 ml de agua residual y 500 de la microalga *Chlorella Vulgaris* , donde tuvo una temperatura aproximadamente de 22° C con una agitación para evitar que ésta se sedimente y así reciba de manera uniforme la luz y se utilizaron bombas conectadas a mangueras para inyectar aire como agitación al sistema. La siguiente figura (figura 21) corresponde al contenedor de *C. Vulgaris* junto con el agua residual, donde el pH del agua residual correspondió a 6.89 ° y ya al ser mezclada con la microalga obtuvo un pH de 7.39°.



Figura 21. 1 *C. Vulgaris* y agua residual.

Se determino la demanda química de oxígeno con la muestra de agua residual y la microalga *Chlorella Vulgaris* y así mismo determinando su pH, que fue realizado durante 15 días.

Como ya antes mencionado en cuanto a la determinación del pH, este es un factor muy importante ya que, dependiendo de su valor, se puede identificar si una muestra carece de nutrientes o presenta niveles de toxicidad. La medida del pH debe estar en alrededor de 6,5 para ser un valor recomendable y el máximo admisible es de 8,5 (Perez Lopez, 2015). Se tiene que todas las muestras analizadas están dentro de lo especificado ya que obtuvo un valor mínimo de 7.8 y un máximo de 8.55 como se muestra en la figura 22. La variabilidad del pH puede verse influenciada por el tratamiento aplicado al agua o por el tipo de

cuenca del cual proviene, debido a la riqueza de minerales que esta posee, lo que altera el potencial de hidrógeno presente en el agua.

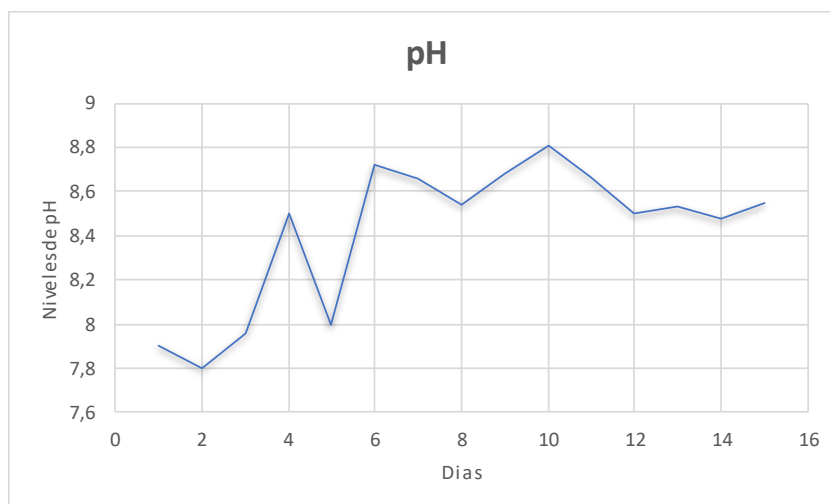


Figura 22. 1 pH de la muestra de agua residual con C. Vulgaris

Consiste en determinar la cantidad total de materia orgánica, en términos de la cantidad de oxígeno que se requiere para oxidar ésta a dióxido de carbono y agua. Para esto se efectúa la oxidación de dicha materia orgánica utilizando agentes fuertemente oxidantes en un medio ácido. A través de esta prueba es posible estimar que proporción del total de la materia orgánica es biodegradable. Esto es de gran importancia en el proceso de digestión aeróbica, puesto que de antemano se conoce cuál es el mínimo residual de materia orgánica en un agua de desecho (Oocities, 2016). Donde inicio con la mínima de 4.32 % a un incremento del máximo de 49.67 %.

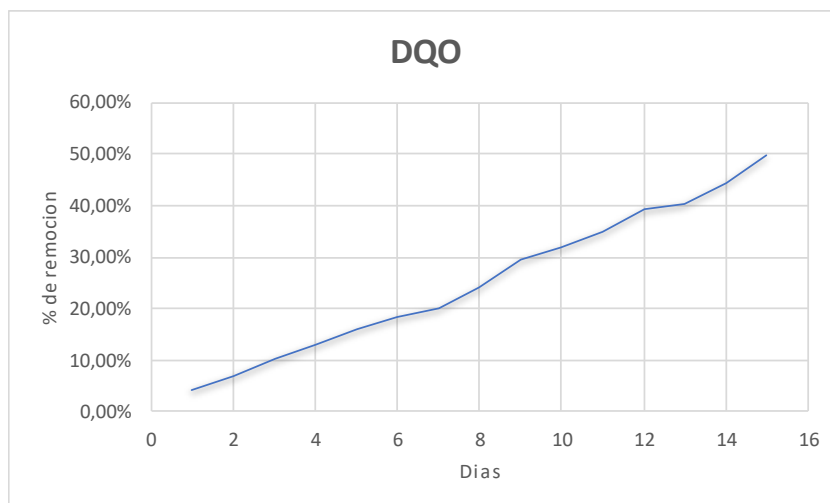


Figura 23. 1 Remoción de DQO de la muestra de agua residual con la *C. Vulgaris*

6.5 Conteo celular *Chlorella Vulgaris* en la cámara de Neubauer

Se cultivo la *Chlorella vulgaris* en tres tipos de fuentes iluminantes diferentes; luz de día, luz roja y luz azul y en cada uno de ellos se hizo una lectura por foto con un luxómetro. Cada uno con un respectivo porcentaje de agua residual, en este caso, agua cruda. Con un 100% de agua residual y *Chlorella Vulgaris*, 70% y 30% de *Chlorella Vulgaris* y agua residual y por último un 50%- 50% de *Chlorella Vulgaris* y agua residual.

Posteriormente se inicio con la cinética tomando lectura con el espectrómetro, potenciómetro y con el conteo celular en la cámara de neubauer en diferentes tiempos 0 horas, 4 horas, 8 horas, 12 horas y 24 horas. Así mismo se realizo la replica con los mismos porcentajes y las mismas fuentes de iluminación. Los resultados de dicha cinética y su replica se muestran en la tabla 7. El conteo celular 1 y 2 se utilizó una fórmula de concentración obteniendo el resultado de conteo celular. La determinación de la concentración por medio de la cámara de Neubauer se utilizó con una dilución 1:10. Es por eso que la fórmula que se utilizo es la siguiente:

$$\text{Concentración} = \frac{N^{\circ} \text{ de células} \times 10000}{N^{\circ} \text{ de cuadros} \times \text{dilución}}$$

Ejemplo:

Por una dilución de **1:10** Dilución = 0,1

Para una dilución de **1:100** Dilución = 0,01

En las figuras 23, 24 y 25 se muestra los resultados del conteo celular en tiempo (horas) y su concentración celular. Con 100% medio Bristol, 70% Bristol- 30% agua residual y 50% medio Bristol- 50% agua residual. Los tratamientos tuvieron diferencias estadísticamente significativas únicamente durante en el periodo de medición del crecimiento a 24 horas.

En luz de día figura 24 se aprecia una curva de crecimiento con su 100%, 70%-30% y 50%-50% las tres curvas varían distinto desde sus 0 horas hasta las 24 horas. En la curva de crecimiento del 100% Bristol se puede apreciar que tiene un inicio de 37600 de concentración celular. Posteriormente a las 4 horas se observa que tuvo un crecimiento celular sobrepasando los 1000000 de concentración celular. Finalmente, la concentración celular máxima se alcanza a las 24 horas del tratamiento siendo el momento en el que se obtienen valores mayores de 120000 en concentración celular. Para el tratamiento de 70% Bristol – 30% agua residual se inicio con 37600 alcanzo su curva de crecimiento arriba de 80000 donde continuo su crecimiento hasta las 24 horas con un promedio de 100000 en concentración celular. En el tratamiento del 50% Bristol- 50% agua residual su inicio de curva es igual a los primeros, sin embargo, su crecimiento fue muy poco elevado que los demás, a las 4 horas alcanzo mas de los 60000 en concentración celular, llegando a sus 8 horas esta llevo una mínima muy poco notable con el 70%- 30% para así mantenerse hasta sus 24 horas alcanzando su máxima curva de crecimiento del 100000.

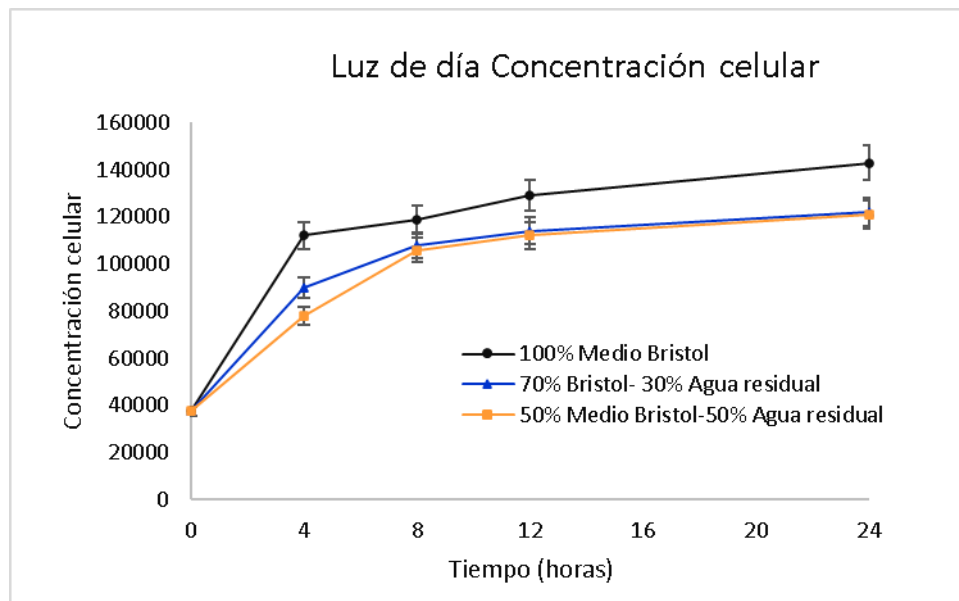


Figura 24 1. Luz de día, concentración celular.

Por los resultados obtenidos en cada uno de los tratamientos se puede observar que existe un desarrollo diferencial de *Chlorella vulgaris* de acuerdo con los distintos medios de cultivo utilizados.

En luz azul (figura 25) en 100%, 70%- 30% y 50%- 50% sus inicios fueron de 37600 donde el 100% de Bristol alcanzo un punto de elevación a las 4 horas con mas de 120000 manteniéndose así hasta las 8 horas donde sufrió una decaída a sus 12 horas y alcanzando su máximo crecimiento celular a las 24 horas con un promedio de 140000. En cambio, en su tratamiento de 70% y 30% alcanzo un crecimiento similar al tratamiento del 100% en las 4 horas, sin embargo, no sufrió ninguna decaída en su curva de crecimiento, donde alcanzo su máxima a las 24 horas llegando casi a un 160000 en su concentración celular. El 50%- 50% se mantuvo constantemente en elevación llegando a su máxima igual que el tratamiento de 100% con un promedio de 140000 de concentración celular.

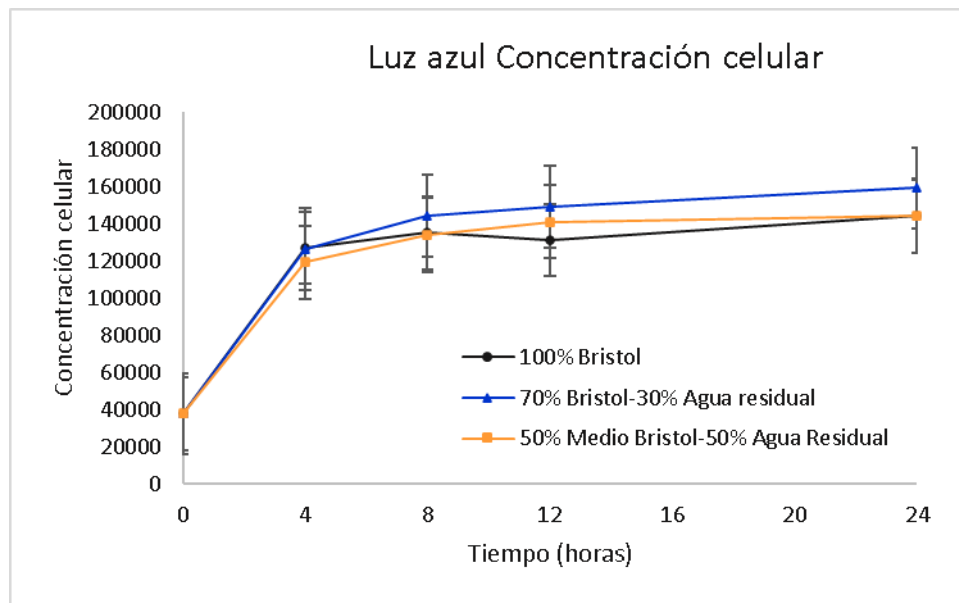


Figura 25 1. Luz azul, concentración celular.

En la figura 26 existen muchas anomalías tanto con su 100% como su 70%-30% y 50%- 50%. A partir de las 4 horas el crecimiento celular fue distinto en sus tratamientos. A las 8 horas, el 50%- 50% tuvo un pico de elevación máxima alcanzando mas de los 80000 en concentración celular, donde de igual manera sufrió una decaída hasta las 12 horas que a partir de ahí se puso a nivel con los demás tratamientos y los 3 llegaron a su concentración celular de 80000.

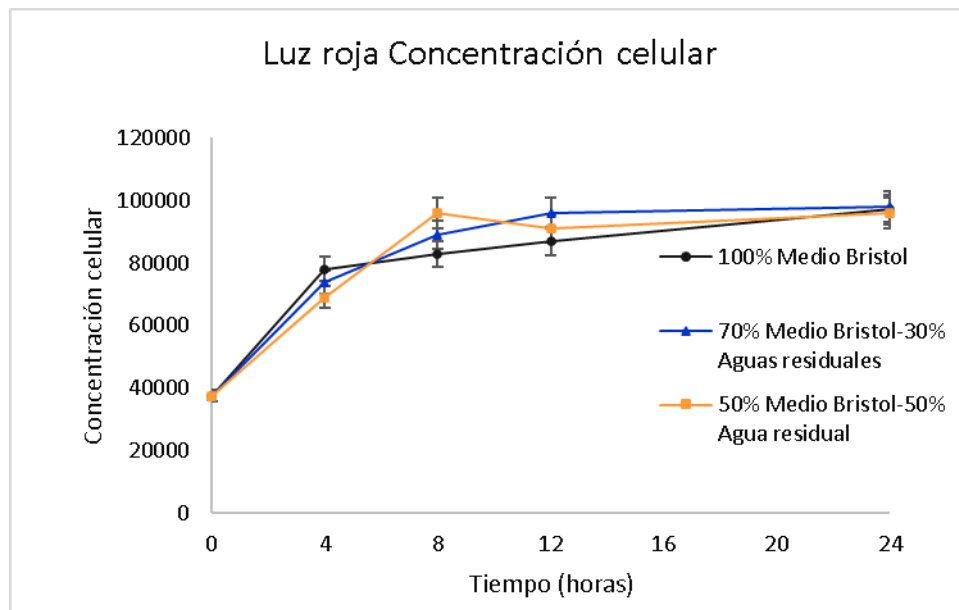


Figura 26 1. Luz roja, concentración celular.

ABSORBANCIA:

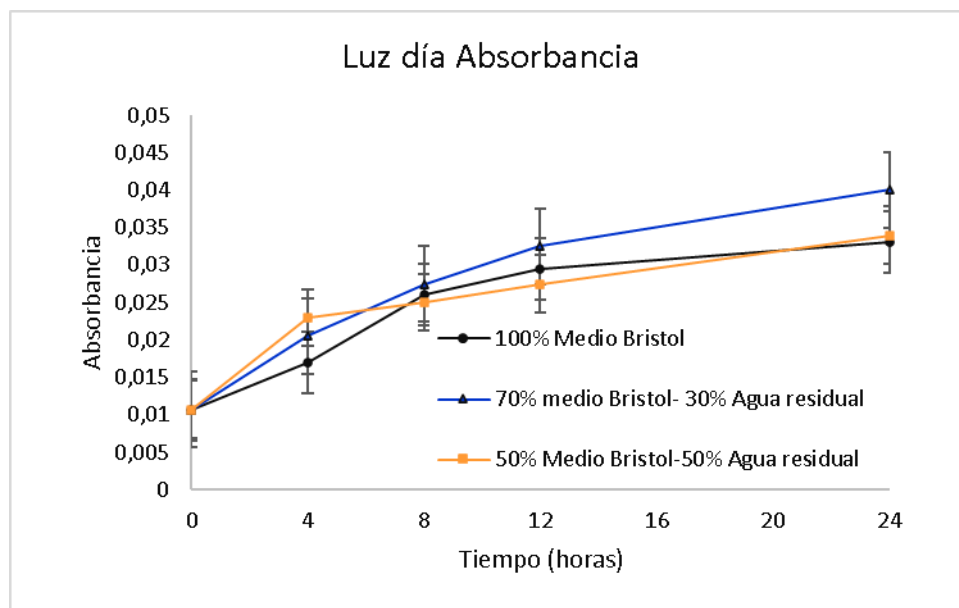


Figura 27 1 Luz día, absorbancia.

Como podemos darnos cuenta en las graficas la absorbancia es casi igual en las 3 muestras, sin embargo la muestra del 70-30 (figura 27) tuvo una mayor absorbancia sobrepasando 0.035, recordando que esta misma muestra tuvo comportamientos constantes en los 3 tipos de luz diferentes a los que fue sometida, con 100000 de crecimiento celular maximo, en segundo lugar de mayor absorbancia fue la muestra de 50-50 con 0.03, a pesar de tener una

concentracion celular igual a la muestra de 70-30. Con una menor variacion de absorbancia la muestra 100% es la de menor absorcion.

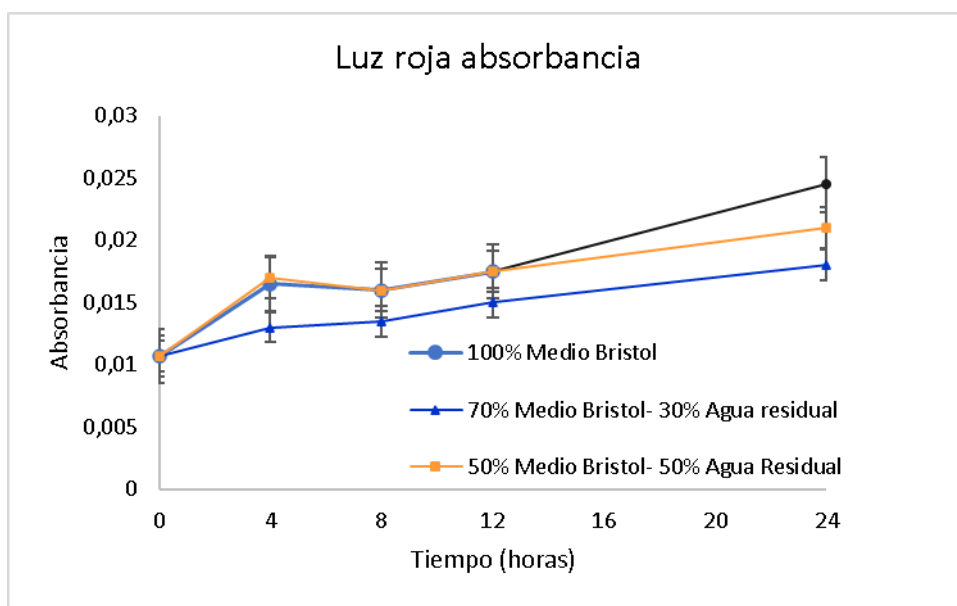


Figura 28 1. Luz roja, absorbancia.

Las muestras sometidas a la luz roja tuvieron mayores variaciones, en esta grafica (figura 28) se muestra con mayor absorbancia la muestra 100 % mayor a 0.02, la muestra del 50-50% tuvo una absorbancia mayor a 0.015, la muestra con menor absorcion fue la de 70-30% con un 0.01. recordando que en la concentracion celular sometidas a luz roja, las tres muestras tuvieron un crecimiento igual a partir de las 12 horas, para el tiempo limite las muestras llegaron practicamente al mismo porcentaje de crecimiento celular, sin embargo vemos variaciones en las cantidades de absorbancia, esto puede darse a otros factores pero principalmente al tipo de luz, en este caso de luz de dia o natural a luz roja, en general la absorbancia es menor con la luz roja.

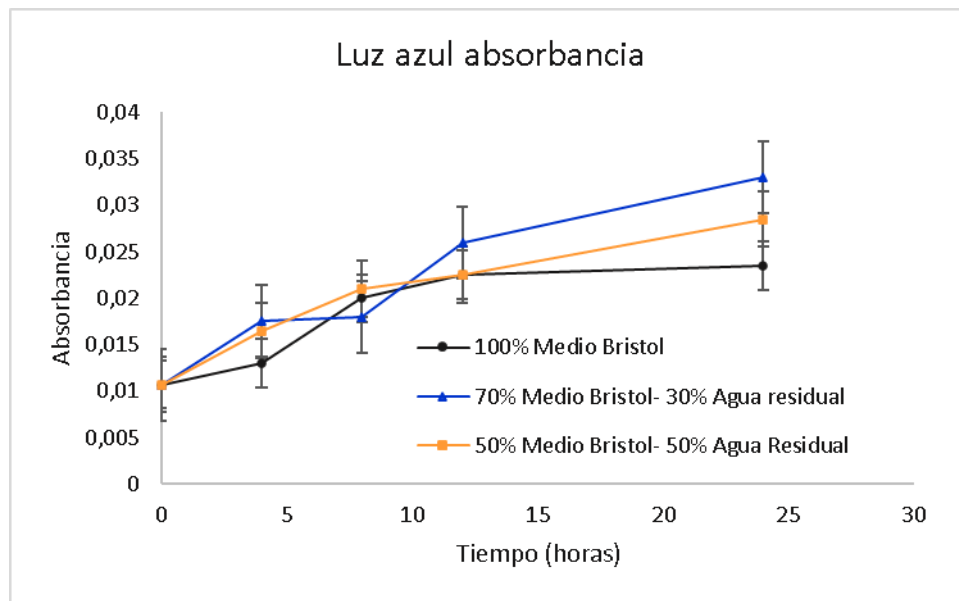


Figura 29 1. Luz azul, absorbancia.

En la gráfica (figura 28) podemos notar las grandes variaciones al ser sometidas a luz azul, nuevamente la muestra 70-30% tiene mayor absorción con un 0.03, podemos ver que a partir de las 5 horas esta muestra tuvo una baja y posteriormente su absorción aumento a partir de 10 horas y tuvo un crecimiento constante, con la muestra 50-50% las variaciones fueron menores y su absorbancia fue de un poco mas de 0.025, por ultimo la muestra del 100% tuvo la menor absorbancia llegando a solo 0.02, en general con la luz azul tuvieron una mayor absorbancia a comparación de la luz roja, sin embargo la absorbancia fue mayor en las tres muestras con la luz de día.

Sabemos que la relación entre la absorbancia y la concentración celular es directamente proporcional, sin embargo, también hay factores que afectan el crecimiento celular además de la luz, en este caso el objetivo es notar los cambios de acuerdo a los tipos de luz a los que fueron sometidas las muestras, para poder llegar a una conclusión del efecto que tienen en la cantidad de luz absorbida.

V.II CONCLUSIONES

La caracterización inicial que se le dio al agua residual nos ayudo a conocer la composición fisicoquímica del agua, sus contaminantes, y plantear su había posibilidad de una asimilación buena con el alga. Dada la caracterización fisicoquímica el agua se trató cruda, puesto que la cantidad de contaminantes no afecto el crecimiento del alga y no se presento muerte celular.

El alga utilizada fue *Chlorella Vulgaris*, de la cual se empezó su propagación en un medio sintético y con un fotoperiodo de 12 horas luz, 12 horas oscuridad, el crecimiento del alga se dio de manera benéfica obteniéndose gran cantidad de alga para la cinética del proyecto.

La cinética se llevo a cabo durante 24 horas, dentro de las cuales se sacaban muestras cada 0, 4, 8.12 y 24 horas, para realización de las técnicas de conteo celular, pH y absorbancia, dentro de los matraces, los cuales se encontraban bajo las mismas condiciones de temperatura, aireación y espacio. La luminosidad era la misma para cada muestra de los matraces, solo cambiaba la luz de día, luz roja y luz azul, dadas las determinaciones llegamos a la conclusión que la luz de día mostro mejor crecimiento celular el alga y una mayor absorbancia, a comparación de los otros dos tipos de luz, en las tablas los porcentajes de crecimiento y absorbancia son muy similares, pero dependiendo la concentración de alga/agua residual, con la luz de día tenemos hasta un 0.035 de absorbancia y un crecimiento celular optimo. En segundo lugar, la luz azul tuvo un crecimiento similar a la luz de día y una absorbancia importante también.

Dentro de un tren de tratamiento de aguas residuales para una planta, la implementación de algas para su tratamiento en este caso beneficiaria, puesto que solo con la luz de día se obtendría un buen crecimiento celular, una benéfica asimilación del alga a los contaminantes, además de los productos que se obtendrían como son la biomasa del alga, la cual se puede llevar a un proceso y obtener subproductos que se comercializan.

Después de la cinética el agua residual presento a simple vista cambios físicos buenos, hubo una leve clarificación y el olor desagradable desapareció

prácticamente, con una determinación fisicoquímica final se podrá apreciar la disminución de los principales contaminantes, gracias al desarrollo y alimentación del alga de los componentes contaminantes.

Tras la realización de este tema de tesis, se puede apreciar la importancia de las algas, como un tratamiento bueno para el medio ambiente, tomando cada vez un papel mas importante en el tratamiento de agua residuales, un tratamiento alternativo sustentable con muchos beneficios y buscando los menores costos posibles.

BIBLIOGRAFÍAS Y REFERENCIAS

Aguilar, D. C. (2011). *Caracterización del agua cruda del río la vieja como fuente superficial para el proceso de potabilización.*

Aguilar, P. C.-C. (s.f.). Microalgas y sus aplicaciones biotecnológicas.

Andrade, C. E. (2009). Producción de biomasa de la microalga *Scenedesmus* sp. utilizando aguas residuales de pescadería. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 126-134.

Bustillo, D. D. (2006). Propiedades de la luz. . *Góndola, Enseñanza y Aprendizaje de las ciencias*, 71-78.

Carl Safi, B. Z.-Y.-G. (2019). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *HAL*, 1-16.

Cartagena Arevalo, J. C. (2017). EVALUACIÓN DEL USO DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris* EN LA REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LA PTAR EL SALITRE A NIVEL LABORATORIO. *FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA FACULTAD DE INGENIERÍAS PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA.*

Castillo Rojas, E. W. (2017). Eficiencia de *lemna* sp y *eichhornia crassipes*, en la remoción de nutrientes del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales en Celendín. 1-107.

- Director, C. a. (2014-2016). Colegio de Veracruz. 1-94.
- EcuRed. (2017). *Chlorella Vulgaris*. Obtenido de Chlorella Vulgaris.
- Florentina Zurita-Martínez, O. A.-S. (2011). EL TRATAMIENTO DE LAS AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES EN LAS COMUNIDADES RURALES DE MÉXICO. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 139-150.
- Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental, A. (19 de Febrero de 2018). *Aguas residuales y contaminación en México*. Obtenido de Aguas residuales y contaminación en México: <https://agua.org.mx/actualidad/aguas-residuales-contaminacion-en-mexico/>
- Garcia, R. O. (2009). *Eliminacion de nutrientes para el tratamiento biologico de agua residual usando un sistema inmovilizado microalga- bacteria en crecimiento autotrofico, heterotrofico y mixotrofico* .
- García-Romeral, J. P. (2017). Principios de Biotecnología y Bioingeniería en el cultivo de microalgas: importancia, problemas tecnológicos, tipos y sistemas de cultivos, crecimiento, factores limitantes, selección, aislamiento, escalado y caracterización bioquímica. *Nereis*, 115-130.
- Giovannelli, C. (2011). *Nuestro mexico* . Obtenido de Nuestro Mexico: <http://www.nuestro-mexico.com/terminos.php>
- Gómez, E. G. (1993). Tratamientos anaerobios de las aguas residuales domésticas. Limitaciones y potencialidades. *REVISTA DE INGENIERÍA UNIANDES*, 1-12.
- Goyenola, G. (Junio de 2007). *RED MAPSA*. Obtenido de RED MAPSA: http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/propuestas/red/curso_2007/cartillas/tematicas/Determinacion%20del%20pH.pdf
- Guerrero, T. R. (2009). El agua en la Ciudad de México. *Ciencias*, 1-8.
- Hernández-Pérez, A. &. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 157-173.
- Oliveira, G. (2019). Hemograma, como hacer e interpretar . *Amolca* , 317 - 319.

- Oocities. (2016). Oocities. Obtenido de Oocities:
<https://www.oocities.org/edrochac/sanitaria/parametros1.pdf>
- Parè, L. (2009). Conflictos sociales en torno al agua en Veracruz.
- Perez Lopez, E. (17 de Noviembre de 2015). *scielo*. Obtenido de scielo:
<https://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v29n3/0379-3982-tem-29-03-00003.pdf>
- Reyes, A. M. (2017). Alternativas en el cultivo de microalgas.
- Román-Jiménez, A. R.-B.-M.-M.-R.-M. (2011). Usos y riesgos del agua en la cuenca La Antigua, Veracruz, México. Madera y bosques. *Madera y bosques*, 29-48.
- Rubio, F. C. (1988). Aplicaciones de los cultivos de microalgas. *Ingeniería Química*.
- Safi, C. Z.-G. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 265-278.
- Vera., A. L. (2019). FUNDAMENTOS TEÓRICOS DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA. *Producción Agraria (Área Edafología y Química Agrícola)*.
- Vernaza, D. A. (2007). Determinación de la influencia de la contaminación ambiental atmosférica en los niveles de pH y sólidos totales disueltos del agua lluvia del centro del Distrito Metropolitano de Quito. *Tesis de Licenciatura*.
- Vulgaris, C. (2018). *CULTIVO Y ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO COMESTIBLE DE Chlorella vulgaris*. Obtenido de CULTIVO Y ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO COMESTIBLE DE *Chlorella vulgaris*:
<https://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria17/21.pdf>

