



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR  
DE HUATUSCO

---

---

**REMOCIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO PRESENTES EN AGUAS RESIDUALES  
DE ORIGEN PORCINO Y AVICOLA COMO ESTRATEGIA DE TRATAMIENTO DE  
AFLUENTES CON ALTA CARGA ORGÁNICA**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**INGENIERIA AMBIENTAL**

PRESENTA:  
**C. ROSA ISELA ROJAS TECALCO**

DIRECTORA DE TRABAJO RECEPCIONAL  
**DRA. NOEMI NAVA VALENTE**

COASESOR DE TRABAJO RECEPCIONAL  
**DR. JESÚS ATENODORO ALONSO**

HUATUSCO, VER.

DICIEMBRE 2021

## **Agradecimientos**

A mis maestros, a cada uno de ellos les estoy muy agradecida por enfocarme y enseñarme durante toda la carrera, gracias a cada uno de ellos me hice más responsable de mis actos

Especialmente le quiero dar las gracias a mi asesora la Dra. Noemí Nava Valente, una profesora ejemplar que me hizo sentir seguridad de mis conocimientos y confianza en mis decisiones. Agradecimiento a el Dr. Jesús Atenodoro Alonso por guiarme durante las clases que me impartió durante el último paso de la universidad.

Al profesor Mc. Adrián Juárez López, un maestro responsable que siempre estuvo dispuesto a aclarar mis dudas, y brindarme todo su apoyo como revisor de este trabajo.

## **Dedicatorias**

Mis padres, son las personas más importantes en mi formación día a día, quiero agradecerles su apoyo constante, la motivación, amor incondicional y los medios que me dieron para seguir adelante en cada una de mis etapas de vida y de estudiante. Los valores y sentido de responsabilidad que me enseñaron, me han ayudado a llegar a mis metas, con mucho amor les agradezco.

Mis hermanos, son una motivación más para seguir adelante, su cariño y momentos felices que me han hecho pasar me inspiran para darles buenos ejemplos como persona y profesional.

Mis amigos y compañeros, les agradezco la confianza y aprecio que siempre me mostraron, durante la universidad pasamos por todo tipo de situaciones, formamos equipo y nos unimos para avanzar durante nuestra formación, muchas gracias.

## Resumen

En México, la producción avícola y porcina son consideradas como la primera y tercera actividades ganaderas, respectivamente. Se apuntó a que la producción cárnica (pollo, vacuno y cerdo) correspondiente al cierre del 2020, presentará un crecimiento de 3,4% sobre lo registrado en 2019, con lo que se llegaría hasta un acumulado de 7.4 millones de toneladas. (Avicultores, La producción cárnica mexicana cierra el año en positivo, 2019). El incremento de la producción animal ha llevado a diferentes problemas de contaminación por el aumento de la densidad de animales y la carencia o ineficiencia en el tratamiento de los desechos o aguas residuales que se originan durante el proceso. Las microalgas se han encontrado en el centro de interés en los últimos años como un sistema alternativo para el tratamiento biológico de aguas residuales, proveen un medio para la remoción de contaminantes (N y P) de las aguas residuales, mientras que producen biomasa que podría ser empleada para la obtención de sustancias bioquímicas de alto valor (metabolitos de algas) y/o biogás a través de la digestión anaeróbica. La presente investigación tiene como objetivo desarrollar una metodología de aprovechamiento de las propiedades de los efluentes de origen avícola y porcino a partir de su caracterización nutritiva, con el fin de suministrar nutrientes en el cultivo poblacional de la especie: *Chlorella spp.* Y *Spirulina máxima* en foto biorreactores para la obtención principalmente de biomasa nutritiva.

# Índice

## Contenido

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| <b>Resumen</b>                                                  | 4  |
| Índice de ilustraciones                                         | 8  |
| <b>CAPITULO I. GENERALIDADES</b>                                | 11 |
| <b>Introducción</b>                                             | 11 |
| <b>Problemas a resolver</b>                                     | 13 |
| <b>Objetivos</b>                                                | 13 |
| Objetivo General                                                | 13 |
| Objetivos específicos                                           | 13 |
| <b>Justificación</b>                                            | 14 |
| <b>CAPITULO II. MARCO TEÓRICO</b>                               | 15 |
| 3.1 Granjas porcinas en México                                  | 15 |
| 3.1.1 Tipos de granjas porcinas                                 | 16 |
| 3.1.2 Importancia de la porcicultura en México                  | 17 |
| 3.1.3 Aguas residuales porcinas y su impacto ambiental          | 17 |
| 3.1.4 Caracterización del agua residual porcino                 | 21 |
| 3.2 Avicultura en México                                        | 22 |
| 3.2.1 Importancia de la industria avícola en México             | 23 |
| 3.2.2 Aguas residuales de origen avícola y su impacto ambiental | 25 |
| 3.3 Macronutrientes presentes en las aguas residuales           | 28 |
| 3.3.1 Nitrógeno                                                 | 28 |
| 3.3.2 Problemas ambientales por la presencia de N               | 29 |
| 3.3.3 Técnicas de remoción de Nitrógeno                         | 31 |
| 3.4 Fósforo                                                     | 33 |
| 3.4.1 Problemas ambientales por la presencia de F               | 34 |
| 3.4.2 Técnicas de remoción de F                                 | 36 |
| 3.5 Microalgas                                                  | 40 |
| 3.5.1 Aplicaciones de las microalgas                            | 41 |
| 3.5.2 Medios de cultivo                                         | 43 |
| 3.5.3 Condiciones de cultivo de microalgas                      | 45 |
| 3.5.4 Requerimientos físicos para el cultivo de microalgas      | 46 |
| 3.5.5 Requerimientos nutritivos para el cultivo de microalga    | 47 |
| 3.5.6 Micronutrientes                                           | 49 |

|                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.6 Fotobiorreactores                                                                                                                                | 49 |
| 3.6.1 Tipos de fotobiorreactores                                                                                                                     | 50 |
| 3.7 Microalga <i>Spirulina Máxima</i>                                                                                                                | 54 |
| 3.8 Microalga <i>Chlorella spp.</i>                                                                                                                  | 56 |
| CAPITULO IV. METODOLOGIA                                                                                                                             | 57 |
| 4. ESQUEMA DE METODOLOGIA                                                                                                                            | 58 |
| 4.1 Obtención de los efluentes porcino y avícola                                                                                                     | 59 |
| 4.1.1 ETAPA INICIAL, caracterización fisicoquímica de los efluentes recolectados                                                                     | 60 |
| 4.1.2 Solidos Totales (ST)                                                                                                                           | 61 |
| 4.1.3 Solidos Volátiles Totales (SVT)                                                                                                                | 61 |
| 4.1.4 Solidos Suspendidos Totales (SST)                                                                                                              | 62 |
| 4.1.5 pH                                                                                                                                             | 64 |
| 4.1.6 Grasas y aceites                                                                                                                               | 65 |
| 4.1.7 Coliformes fecales                                                                                                                             | 66 |
| 4.1.8 Determinación de Nitrógeno Total Kjendahl                                                                                                      | 66 |
| 4.1.9 Determinación de fosforo                                                                                                                       | 67 |
| 4.1.10 Demanda química de oxígeno (DQO)                                                                                                              | 69 |
| 4.2 ETAPA 1. Acondicionamiento de las muestras                                                                                                       | 70 |
| 4.2.1 Tamizado                                                                                                                                       | 70 |
| 4.2.2 Centrifugación                                                                                                                                 | 70 |
| 4.2.3 Dilución                                                                                                                                       | 71 |
| 4.3 ETAPA 2. Propagación de las especies de microalgas ( <i>Chlorella spp.</i> Y <i>Spirulina Máxima</i> ), en fotobiorreactores en medio sintético. | 73 |
| 4.3.1 Medio Zarrouk                                                                                                                                  | 73 |
| 4.3.2 Medio 3N-BBM+V (CCAP)                                                                                                                          | 75 |
| 4.3.3 Condiciones de operación en fotobiorreactores                                                                                                  | 77 |
| 4.3.4 Temperatura                                                                                                                                    | 77 |
| 4.3.5 Luz                                                                                                                                            | 77 |
| 4.3.6 pH                                                                                                                                             | 78 |
| 4.3.7 Aireación                                                                                                                                      | 79 |
| 4.4 ETAPA 3. Cinética de remoción de nutrientes (N y P), durante el desarrollo de las microalgas en los efluentes                                    | 80 |
| 4.4.1 Temperatura                                                                                                                                    | 81 |
| 4.4.2 pH                                                                                                                                             | 82 |
| 4.4.3 Conteo celular                                                                                                                                 | 83 |

|                                                                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.4.4 Biomasa                                                                                                                        | 85  |
| 4.4.5 Tasa de crecimiento celular                                                                                                    | 87  |
| 4.4.6 Tiempo de duplicación                                                                                                          | 87  |
| 9.4.3 Número de generaciones                                                                                                         | 87  |
| 4.4.7 Carbohidratos                                                                                                                  | 88  |
| 4.4.8 Proteínas Método de Lowry                                                                                                      | 88  |
| 4.4.9 Clorofila                                                                                                                      | 88  |
| 4.5 Rendimiento de la biomasa                                                                                                        | 89  |
| 4.5.1 Productividad de la biomasa                                                                                                    | 89  |
| 4.5.2 Determinación de nitrógeno durante cinética                                                                                    | 90  |
| 4.5.3 Determinación de fosforo durante cinética                                                                                      | 92  |
| 4.5.4 DQO, durante cinética                                                                                                          | 93  |
| CAPITULO V. RESULTADOS                                                                                                               | 94  |
| <b>5.1 Resultados de la caracterización de los efluentes</b>                                                                         | 94  |
| 5.1.1 Caracterización de la muestra porcina cruda                                                                                    | 95  |
| 5.1.2 Caracterización de la muestra avícola antes del cribado                                                                        | 96  |
| 5.1.3 Caracterización de la muestra avícola después del DAF                                                                          | 97  |
| <b>5.2 Resultados del acondicionamiento de la muestra</b>                                                                            | 98  |
| 5.2.1 Acondicionamiento de la muestra porcina                                                                                        | 98  |
| 5.2.2 Acondicionamiento de la muestra avícola antes del cribado                                                                      | 99  |
| 5.2.3 Acondicionamiento de la muestra avícola después del DAF                                                                        | 99  |
| <b>5.3 Remoción de nitrógeno y fosforo en las muestras de agua residual porcina y avícola con la especie <i>Spirulina Máxima</i></b> | 100 |
| 5.3.1 Remoción de fosforo                                                                                                            | 101 |
| <b>5.4 Remoción de nitrógeno y fosforo en el agua residual porcina y avícola con la especie <i>Chlorella Spp.</i></b>                | 102 |
| 5.4.1 Remoción de fosforo                                                                                                            | 103 |
| 5.4.2 Remoción de nitrógeno                                                                                                          | 104 |
| <b>5.5 ETAPA 4. Caracterización de la biomasa producida y el agua residual tratada en los fotobiorreactores</b>                      | 104 |
| 5.5.1 Caracterización de la biomasa producida y agua residual por <i>Spirulina Máxima</i>                                            | 104 |
| 5.5.2 Caracterización del agua tratada con <i>Spirulina Máxima</i>                                                                   | 105 |
| 5.5.3 Muestra porcina                                                                                                                | 106 |
| 5.5.4 Muestra avícola antes del cribado                                                                                              | 106 |
| 5.5.5 Muestra avícola después del DAF                                                                                                | 107 |
| <b>5.6 Caracterización de la biomasa producida y agua residual por <i>Chlorella spp.</i></b>                                         | 108 |

|                                       |     |
|---------------------------------------|-----|
| CAPITULO VI. CONCLUSIONES             | 111 |
| CAPITULO VIII. FUENTES DE INFORMACION | 113 |
| Bibliografía                          | 113 |
| ANEXOS                                | 118 |

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| Índice de ilustraciones                                           |    |
| Ilustración 1 Tipos de granjas porcinas                           | 16 |
| Ilustración 2 Fotobiorreactor de placas planas                    | 51 |
| Ilustración 3 Fotobiorreactor tubular vertical                    | 51 |
| Ilustración 4 Fotobiorreactor horizontal                          | 52 |
| Ilustración 5 Fotobiorreactor helicoidal                          | 53 |
| Ilustración 6 <i>Spirullina máxima</i>                            | 54 |
| Ilustración 7 <i>Chlorella spp.</i>                               | 56 |
| Ilustración 8 Fosa séptica                                        | 59 |
| Ilustración 9 Toma de muestra                                     | 59 |
| Ilustración 10 Toma de muestra antes del cribado                  | 60 |
| Ilustración 11 Toma de muestra después del DAF                    | 60 |
| Ilustración 12 Estufa                                             | 62 |
| Ilustración 13 Mufla                                              | 62 |
| Ilustración 14 SST                                                | 63 |
| Ilustración 15 ST                                                 | 63 |
| Ilustración 16 SVT                                                | 63 |
| Ilustración 17 Potenciómetro                                      | 64 |
| Ilustración 18 Medición de pH                                     | 64 |
| Ilustración 19 Equipo Soxhlet (montado)                           | 65 |
| Ilustración 20 Espectrofotómetro                                  | 68 |
| Ilustración 21 Matraces en digestión                              | 68 |
| Ilustración 22 Posterior a digestión                              | 69 |
| Ilustración 23 Muestras para lectura en espectrofotómetro         | 69 |
| Ilustración 24 Tamiz                                              | 70 |
| Ilustración 25 Centrifugadora                                     | 71 |
| Ilustración 26 Pruebas de muestra acondicionada para cada muestra | 72 |



|                                                                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Ilustración 27 Fotobiorreactores utilizados en el cultivo de microalgas: (a) estanque abierto,<br>(b) placa delgada, c) tubular inclinado, d) continuo horizontal | 78  |
| Ilustración 28 Lámpara para iluminación                                                                                                                           | 78  |
| Ilustración 29 Cinética <i>Spirulina</i> (montada)                                                                                                                | 81  |
| Ilustración 30 Cinética <i>Spirulina</i> (montada)                                                                                                                | 81  |
| Ilustración 31 Termómetro                                                                                                                                         | 82  |
| Ilustración 32 Cámara de Neubauer                                                                                                                                 | 84  |
| Ilustración 33 Distribución de la cuadrícula                                                                                                                      | 84  |
| Ilustración 34 Determinación de la biomasa                                                                                                                        | 87  |
| Ilustración 35 Remoción de fósforo con <i>Spirulina máxima</i>                                                                                                    | 101 |
| Ilustración 36 Remoción de Nitrógeno con <i>Spirulina máxima</i>                                                                                                  | 102 |
| Ilustración 37 Remoción de fósforo con <i>Chlorella spp.</i>                                                                                                      | 103 |
| Ilustración 38 Remoción de nitrógeno con <i>Chlorella spp.</i>                                                                                                    | 104 |

## Índice de tablas

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1. Porcentaje de medio algal y diluciones para <i>Spirulina máxima</i>              | 61 |
| Tabla 2. Porcentaje de medio algal y diluciones para <i>Chlorella Spp.</i>                | 62 |
| Tabla 3. Nutrientes para preparación de medio Zarrouk                                     | 63 |
| Tabla 4. Reactivos para preparación de medio 3N-BBM+V                                     | 64 |
| Tabla 5. Reactivos para preparación de solución Stock metales                             | 65 |
| Tabla 6. Solución vitamina B <sub>1</sub>                                                 | 65 |
| Tabla 7. Solución vitamina B <sub>12</sub> (cianocobalamina)                              | 65 |
| Tabla 8. Selección de volumen de muestra                                                  | 77 |
| Tabla 9. Límites permisibles de contaminantes que establece la PROY-NOM-001-SEMARNAT 2017 | 80 |
| Tabla 10. Caracterización de la muestra porcina                                           | 81 |

|                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 11. Caracterización de la muestra avícola antes del cribado                                    | 82 |
| Tabla 12. Caracterización de la muestra avícola después del DAF                                      | 83 |
| Tabla 13. Muestra porcina acondicionada                                                              | 84 |
| Tabla 14. Muestra avícola antes del cribado acondicionada                                            | 85 |
| Tabla 15. Muestra avícola después del DAF acondicionada                                              | 86 |
| Tabla 16. Biomasa producida por <i>Spirullina máxima</i>                                             | 89 |
| Tabla 17. Agua residual tratada porcícola con <i>Spirullina máxima</i>                               | 90 |
| Tabla 18. Agua residual avícola antes del cribado tratada con <i>Spirullina máxima</i>               | 91 |
| Tabla 19. Agua residual avícola después del DAF tratada con <i>Spirullina máxima</i>                 | 92 |
| Tabla 20. Caracterización de la biomasa producida en los fotobiorreactores con <i>Chlorella spp.</i> | 92 |
| Tabla 21. Muestra final porcícola tratada con <i>Chlorella spp.</i>                                  | 93 |
| Tabla 22. Muestra final avícola antes del cribado tratada con <i>Chlorella spp.</i>                  | 93 |
| Tabla 23. Muestra final avícola después del DAF tratada con <i>Chlorella spp.</i>                    | 94 |

## CAPITULO I. GENERALIDADES

### **Introducción**

Durante la última década, la producción nacional en México de carne de cerdo ha presentado un continuo crecimiento y la perspectiva de mantener esta tendencia en los próximos años es favorable. USDA pronostican que en el 2018 se alcance un nivel de producción récord de 1,480 millones de toneladas, es decir, un crecimiento anual de 3.5 por ciento. Adicionalmente, se indica que se tendrá una piara de 19.9 millones de cabezas, por encima de la cifra revisada en el 2017. (José Cuevas Valdez, 2018). La determinación del impacto ambiental de los desechos porcinos incluye, además de los efectos directos de los desechos sobre el recurso del agua, factores de perturbación como olores y plagas de insectos, además de efectos indirectos sociales, políticos e incluso estéticos que son imposibles de cuantificar.

Entre las proteínas más consumidas en México está la carne de pollo, donde su consumo fue de 4 millones de toneladas en 2018. Del total consumido, 80% es producido por la industria avícola doméstica. Así se informa en el reciente compendio estadístico publicado por el Consejo Mexicano de la Carne, compendio se indica también que, en el año 2018, la producción de carne de pollo obtuvo un crecimiento de 3,0%, mientras el consumo registró un incremento de 2,8% con respecto al año anterior. Destacándose, el consumo per cápita que alcanzó 31,4 kg/persona. (Gutiérrez M. d., 2019). La producción de huevo fue de 2.8 millones de toneladas y la de pavo 9 mil 687 toneladas. Las entidades del país con la mayor producción de carne de pollo fueron: Veracruz, Aguascalientes, Querétaro, La Laguna (Coahuila y Durango), Jalisco, Puebla, Chiapas, Guanajuato, Yucatán, Estado de México, Sinaloa, Hidalgo, Morelos, Nuevo León, San Luis Potosí, Michoacán y Sinaloa. (Avicultores, 2019). Acrecentando la producción avícola, e incrementando la cantidad de excretas. Utilizándolo como fertilizantes orgánicos y como ingredientes en las dietas para animales de granja.

Las aguas residuales comprenden los efluentes resultantes de cualquier actividad humana, industrial, económica o doméstica, razón por la cual, son un aspecto transversal a toda planta o fábrica destinada a la producción en este caso de cabezas porcinas y rastro avícola. La presente investigación, abarca desde la actualidad del sector avícola y porcino, mostrando cifras informativas sobre niveles de contaminantes presentes y su relación con el ambiente. El manejo

de aguas residuales representa hoy en día uno de los problemas ambientales más relevantes a los que se enfrenta la sociedad actual, razón por la cual, es un aspecto que logra trascender las actividades netamente industriales, pues como sustancia vital que es, el agua es un servicio ecosistémico transversal a la mayoría de actividades realizadas por el ser humano, y cuya trazabilidad está fuertemente reglamentada por entes gubernamentales y ambientales. (Aranda, 2018).

Las microalgas son organismos vivos caracterizados como unicelulares eucariotas que realizan fotosíntesis que poseen una capacidad fotosintética mayor que muchas plantas terrestres, el objetivo de la presente investigación es de la potencialidad que tienen organismos vivos como las microalgas en el tratamiento de aguas residuales de origen avícola y porcino.

Las microalgas pueden sobrevivir en condiciones aisladas o en colonias en forma de agregados celulares, de igual manera, las microalgas suponen la base de la cadena alimentaria global, con alrededor del 70% de la producción total de materia orgánica. Las microalgas, por tanto, pueden crecer y desarrollarse en casi todos los ambientes, aunque la mayoría pertenecen a sistemas marinos o de agua dulce, y en zonas maderables o húmedas. (Cajamar, 2015)

Teniendo en cuenta las características del residuo porcino, se han realizado muchos estudios a fin de encontrar las soluciones más económicas y factibles para su tratamiento y reúso. Se ha encontrado en algunos estudios preliminares que es posible alcanzar una reducción significativa del contenido de carga contaminante mediante la utilización de sistemas de microalgas. Existe además la posibilidad de obtener biomasa proteica para adicionar en la dieta de los animales. (L. Travieso, 2008). Los rastros de aves generan gran cantidad de aguas residuales caracterizadas por presentar altas concentraciones de materia orgánica, nitrógeno, fósforo, grasas y sólidos suspendidos. En la actualidad, las plantas de tratamiento de aguas residuales cuentan con distintos métodos para reducir la materia orgánica presente en el agua de desecho; sin embargo, tienen dificultad en la remoción de nitrógeno y fósforo, los cuales se encuentran en concentraciones de hasta tres veces, o más, de lo estipulado en diferentes normativas. La eliminación de estos componentes requiere de procesos adicionales que implican elevados costos energéticos. En este contexto, el desarrollo de tecnologías eco amigable orientado al cuidado del medio ambiente se ha vuelto indispensable. Entre tales tecnologías, la fitorremediación adquiere gran protagonismo, ya que las microalgas tienen la capacidad de

incorporar nitrógeno y fósforo a su metabolismo, eliminándolos de medios líquidos o gaseosos donde están presentes. (Veuthey, 2018).

## **Problemas a resolver**

Con la realización de este proyecto se busca remover los niveles de nitrógeno y fósforo en aguas residuales de tipo avícola y porcina, para evitar que estos elementos sean arrojados a los mantos de agua y provoquen daños debido a la alta concentración de nutrientes provocando la eutrofización.

Para remover nitrógeno y fosforo se utilizan microalgas como una alternativa a los tratamientos convencionales ya que es una estrategia amigable al medio ambiente, además de que produce una biomasa que puede tener usos beneficiarios al ser humano.

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto *Chlorella spp.* Y *Spirullina máxima* en la remoción de nitrógeno y fósforo presentes en aguas residuales de origen avícola y porcino.

### **Objetivos específicos**

- Caracterizar los efluentes de origen avícola y porcino en términos de nutrientes, materia orgánica y microorganismos patógenos.
- Determinar parámetros cinéticos de degradación de nutrientes (N y P) durante el desarrollo de *Chlorella spp.* Y *Spirullina máxima* en ambos efluentes.
- Cuantificación y caracterización de la biomasa producida en los fotobiorreactores.

## **Justificación**

Debido a que los residuos agroindustriales pueden representar un grave problema de contaminación en mantos freáticos, se han buscado alternativas para su aprovechamiento. Se requiere que este tipo de procesos sean a su vez amigables con el medio ambiente y uno de los más relevantes ha sido la digestión anaerobia debida a la producción de biogás; misma que contiene CO<sub>2</sub> que puede contribuir al calentamiento global. La producción de cerdos a nivel mundial genera cerca de 9% de las emisiones de gas de efecto invernadero (GEI) del sector pecuario.

Anualmente en México se generan 18 547. 36 mil toneladas de excretas porcinas. Como ya se mencionó, una alternativa para el aprovechamiento de estos residuos es la digestión anaerobia, sin embargo, no todos los residuos reciben este o algún otro tipo de tratamiento, lo que ocasiona un impacto social, en la salud humana y en el ambiente y, además, se requieren de otras opciones de tratamiento para este tipo de residuos. Es importante mencionar que los procesos de digestión anaerobia de las aguas residuales de origen avícola y porcino generan biogás, el cual está principalmente constituido por CO<sub>2</sub> (70%) y CH<sub>4</sub> (21%); gases contaminantes de la atmósfera y clasificados como Gases de Efecto Invernadero (GEI) los cuales contribuyen con el cambio climático y el calentamiento global y por tanto, debe evitarse su libre descarga a la atmósfera, lo que requiere la implementación de tecnologías alternas a la digestión anaerobia que contribuyan a la evolución de las tecnologías de tratamiento de aguas residuales y que permitan el desarrollo de estrategias de tratamiento con adaptación al cambio climático que se padece a nivel global.

El proyecto impacta directamente en el desarrollo de nuevos procesos y su implementación real en la industria, así como en la formación de recursos humanos especialistas en el mejoramiento de procesos para un mejor aprovechamiento de los residuos.

## CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

### 3.1 Granjas porcinas en México

Las granjas para cerdos son unidades pecuarias dedicadas concretamente a la crianza de ganado porcino, con fines comerciales, para obtener algún beneficio productivo, y que cuentan con un mínimo de 20-50 metros cuadrados de área de corrales. (Pesquera, 2018). Desde sus inicios algunos pueblos consumían su carne y otros la consideraban indeseable. Posteriormente se comenzó la domesticación del cerdo en Europa, la cual se dio alrededor de 1500 años a.c.

El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) dio a conocer para 2017, una producción total de 1.4 millones de toneladas de carne de cerdo, con un valor de la producción de 62.2 mil millones de pesos, obtenidos de 17.5 millones de animales sacrificados. Jalisco es la principal entidad productora del cárnico, con ingresos por 14.6 mil millones de pesos; le siguen Sonora y Puebla, con 9.3 mil millones y 6.9 mil millones de pesos, respectivamente.

De 1975 a 1985, la porcicultura fue el sistema ganadero de crecimiento más rápido y el más importante por su aportación a la producción de carnes. Durante el periodo de expansión de la porcicultura, el inventario porcino aumentó de 10 millones de cabezas en 1972 a 19.3 en 1983 y la producción de carne de cerdo se incrementó a una tasa media anual de 9%, pasando de 573 mil toneladas en 1972 a 1.4 millones en 1983. El consumo de carne de cerdo en México es muy popular; pero los cánones dietéticos suelen recomendar un consumo limitado de la misma pues una porción de 85g de lomo de cerdo contiene 66 mg de colesterol, el 22% del máximo diario recomendado. La porcicultura es una de las líneas de producción del sector agropecuario parte de la economía social, ya que la crianza y comercialización de los cerdos genera empleos y desarrollo en las zonas donde se realiza. (Social, 2018)

### 3.1.1 Tipos de granjas porcinas

Dependiendo del objetivo de su producción, las granjas pueden ser de cuatro tipos:

**De pie de cría:** se dedican a la producción y mejora genética del ganado porcino para venderlos como vientres y sementales.

**Productoras de lechones:** en este tipo de granjas, los lechones se crían durante la lactancia, y al destete se venden a otros productores, quienes se encargan de engordarlos.

**De ciclo completo:** cuentan con vientres y, en su caso, con sementales para la producción de lechones, los cuales son engordados hasta su finalización para su sacrificio en rastro.

**De engorda:** adquieren los lechones destetados y se dedican a engordarlos hasta que están finalizados para ser enviados al rastro.

Es importante resaltar que la porcicultura no está limitada para desarrollarse en alguna zona geográfica en específico, siempre y cuando sea bajo ambientes controlados.



Ilustración 1 Tipos de granjas porcinas



### 3.1.2 Importancia de la porcicultura en México

Se prevé que la producción global de carne de porcino en el 2016 se ubique en 112 millones de toneladas con un crecimiento anual de 0.5%. Para el 2016, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (por su sigla en inglés, USDA) espera que la producción de carne de cerdo en México sea de 1.4 millones de toneladas. Por otro lado, se estima que el consumo de carne de cerdo en México aumente 3.3% durante el 2016, para ubicarse en 2.2 millones de toneladas de carne en canal. El aumento en el consumo se explica, en parte, por un alza en el precio de la carne de bovino, así como por una mayor disponibilidad de carne porcina. De esta manera, se prevé que la diferencia entre el consumo nacional y la producción nacional sea de 81,000 toneladas durante el 2016. La producción y el consumo de carne de cerdo en México reportan tendencia creciente. (Hernandez, 2016).

A pesar del crecimiento de la producción de carne de cerdo, México es un país que no es autosuficiente en este tipo de proteína animal, siendo uno de los países que más importa en el mercado internacional. En los últimos 10 años, la tasa de crecimiento de las importaciones ha sido del 9,4%, importándose en 2006 un total de 321.700 t, mientras que en 2016 se importaron 725.000 t aproximadamente, es decir, un 10% de la carne que se comercializa en el mercado internacional. En el caso de las exportaciones, la tasa de crecimiento promedio anual en los últimos 10 años ha sido de un 8,1%, exportándose en 2006 un total de 48.200 t, mientras que en 2016 se exportaron 108.000 t. La balanza comercial de México es altamente negativa y una de sus grandes debilidades es la alta importación de la carne de cerdo. (Cubillos, 2017)

### 3.1.3 Aguas residuales porcinas y su impacto ambiental

La Porcicultura y el medio ambiente están estrechamente relacionados a través de toda la cadena de valor que incluye a proveedores, plantas de alimento, granjas, rastros y cadena de comercialización. Hoy en día y en todos los ámbitos de la vida cotidiana se está hablando del medio ambiente, aunque en la Porcicultura aún muy tímidamente. En los últimos años, los aspectos ambientales se han estado incorporando como un elemento más en la producción y productividad porcina.

A nivel mundial se reconoce que los problemas más severos que provoca la porcicultura en el medio ambiente son:

- Contaminación del agua superficial y del subsuelo por el nitrógeno y fósforo contenido en las excretas.
- Deterioro de la calidad del aire por la generación de gases tóxicos, principalmente dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), amoníaco (NH<sub>3</sub>), ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) y metano (CH<sub>4</sub>), que afectan a los trabajadores de la granja, a las poblaciones vecinas y a los propios cerdos.

El extraordinario crecimiento de la porcicultura en su fase expansiva se llevó a cabo sin considerar, en ningún momento, los problemas ambientales que creaba. La crisis de los ochenta y los programas de ajuste aplicados modificaron ese panorama: el mercado interno se estancó, se eliminó la mayor parte de los subsidios y se dio inicio a un proceso de apertura comercial que empieza con la adhesión de México al GATT en 1986 y culmina, en la primera mitad de los noventa, con la firma de varios acuerdos comerciales con diferentes países, entre los que destaca el Tratado de Libre Comercio de América del Norte. En la actualidad, la porcicultura ocupa el tercer lugar en importancia por su aportación a la producción total de cárnicos, el inventario porcino es de 10.7 millones de cabezas, la producción de carne de cerdo es de 989.6 mil toneladas y el consumo per cápita es de alrededor de 10.2 k/año (SAGARPA, CIEA).

No obstante, el significativo desarrollo alcanzado por la porcicultura mexicana en los últimos 20 años, sus características fundamentales siguen siendo una enorme heterogeneidad productiva, su dependencia del exterior en la obtención de insumos fundamentales (alimento, pie de cría) y la falta de “internalización” de sus costos ambientales.

La crianza de cerdos tiene impactos negativos en aire, agua y suelo principalmente por la contaminación que provoca la incorrecta disposición de las aguas residuales porcinas, generalmente sin ningún tratamiento. Es común observar en las granjas sobrepoblación de animales en áreas reducidas, lo cual impide que el suelo absorba la cantidad de residuos que éstos generan, lo que plantea graves problemas en el manejo de los mismos. Aproximadamente 82 % del agua que ingresa en las granjas sale como agua residual, acompañada de heces, orina, alimento desperdiciado y otros materiales, que se arrastran a través de los drenajes. (Gutierrez, 2015).

La producción porcina, como cualquier otra producción, requiere insumos que proporciona la naturaleza, y produce, de forma privada, además de productos de valor económico que son apropiados, una serie de residuos que si no son asimilados por la naturaleza imponen a la sociedad un costo en forma de contaminación. El impacto ambiental de los desechos porcinos incluye, además de las repercusiones directas sobre los recursos hídricos, de suelos y el aire, factores de perturbación como olores, ruidos y plagas de insectos, y efectos indirectos -sociales y políticos-, que son imposibles de cuantificar. (Peñañiel, 2020)

Estudios estadísticamente significativos realizados en otros países, indican que una unidad de producción animal porcina produce aproximadamente 6,17 kg de excretas de las que el 55 por ciento son heces y el 45 por ciento es orina; el contenido de humedad de las excretas es del 88 por ciento. Cerca del 90 por ciento de los sólidos se excretan en las heces y un 10 por ciento en la orina, principalmente en forma de potasio disuelto, fósforo disuelto y algo de amoníaco-nitrógeno. Las excretas porcinas son potencialmente contaminantes a causa de sus elevadas concentraciones de microorganismos patógenos (bacterias, hongos, virus, helmintos, amebas y otros parásitos), metales pesados (cobre y zinc), materia orgánica, y fósforo, potasio y nitrógeno (FAO, 1994). Los procesos biológicos y fisicoquímicos a que se observan con respecto a estos elementos dan lugar a la formación de compuestos químicos y gases nocivos, como el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), el amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), el sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ) y el metano ( $\text{CH}_4$ ) (Taiganides, 1992), que afectan a la salud humana y a la de los cerdos y deterioran los recursos naturales incidiendo negativamente en la calidad de vida. (Espejo)

México presenta problemas ambientales y sociales debido a la contaminación de las aguas y del suelo que se encuentran a su alrededor que, además, son acompañados de malos olores. Un estudio realizado hace aproximadamente una década reveló que solamente un 60% de las granjas separaba sólidos; de las cuales aproximadamente 50 % acostumbraban acumularlos adentro o afuera de la granja, ocasionando graves problemas de olores, moscos y patógenos. En cuanto al tratamiento de los residuos líquidos 9 % no contaba con ningún tratamiento, 27 % con dos procesos unitarios de tratamiento y 50 % con tres procesos unitarios de tratamiento. Entre los que se encontraban fosas, lagunas (excavadas en el suelo, pero sin impermeabilizar), decantadores, y algunos digestores y procesos aerobios. (Garzon, 2018) La mayoría de los sistemas de tratamiento de efluentes de las granjas porcinas a escala real presentan bajas eficiencias de remoción de contaminantes dado que no toman en cuenta la gran variación de concentración de contaminantes de los efluentes de diferentes procesos productivos

(maternidad, destete, engorda y mezcla). Por ser México un país de escasos recursos hídricos, se considera la generación y descarga de agua residual, uno de los principales factores de impacto ambiental en la industria porcina. Actualmente ya existe una problemática ambiental destacable en toda la cadena productiva, sin embargo, los mayores puntos de impacto se encuentran en las granjas y en los rastros; ya que son estas operaciones las que más agua consumen para su producción y por lo tanto generan grandes volúmenes de agua residual las cuales deben ser manejadas, tratadas y dispuestas correctamente. En total, en su crianza y proceso de transformación en un producto, cada cerdo puede llegar a ocupar alrededor de mil litros de agua. Afortunadamente existe un marco de referencia que nos guía, desde enero de 1988 se publicó en el diario Oficial de la Federación la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (también conocida por su abreviatura como LGEEPA) la cual es la máxima ley de derecho ambiental en México. Dicha ley engloba un conjunto de normas y reglamentos oficiales que tienen como finalidad la preservación y restauración del equilibrio ecológico, así como a la protección al ambiente en todo el país, con el objetivo de propiciar el desarrollo sustentable.

A partir de esta promulgación de Ley, se fundaron distintas dependencias gubernamentales especializadas en materia ambiental en todo el país; tanto a nivel federal, como estatal y municipal. Pero a pesar de los esfuerzos por difundir y abordar la normatividad ambiental, la realidad es que en México uno de los mayores obstáculos es el desconocimiento de la LGEEPA y por consiguiente el incumplimiento de dicha Ley. (Sanchez, 2017)

Además de la Ley, hoy en día existen otros marcos de referencia que la complementan como son las certificaciones de Responsabilidad Social Empresarial que incluyen el medio ambiente desde una perspectiva valórica proactiva. También tenemos certificaciones ambientales como la ISO14000, que nos permite estandarizar nuestros sistemas a nivel de excelencia mundial. Con el avance de la tecnología y la llegada de las redes sociales, la Porcicultura tiene hoy por hoy un vínculo directo con el consumidor, este puede ser muy positivo, pero también puede utilizarse para activismo y denuncias que pueden acarrear serios problemas a las empresas, sean estas pequeñas, medianas o grandes. La implementación de medidas correctivas o preventivas para mejorar el impacto ambiental y lograr ser una industria limpia, implica gastos que tal vez antes no se tenían considerados, por lo que en un principio será difícil decidirse a realizar cambios para hacer lo correcto, pero analizando con más detalle cada una de las inversiones

que se deban realizar siempre se podrá llegar a un punto de equilibrio y de retorno; porque en definitiva hacer lo correcto siempre será la mejor decisión.

#### 3.1.4 Caracterización del agua residual porcino

De acuerdo con un estudio realizado en diferentes granjas en México, se realizaron muestreos puntuales en 14 descargas de diferentes procesos productivos (maternidad, destete, engorda y mezclada de ciclo completo) en 11 granjas de diferentes tamaños, ubicadas en zonas de producción porcina intensiva y no intensiva del país; específicamente en los estados de Puebla, Yucatán, Michoacán, Morelos, Campeche y Durango. Las muestras fueron analizadas para los parámetros siguientes de acuerdo con la metodología de los métodos estándar (APHA 1998): demanda química de oxígeno (DQO), sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV) por el método de ignición 2540 (E); coliformes fecales (CF) según el método de tubos múltiples 9230 (B); nitrógeno total Kjeldahl (NTK) por el método semi-micro Kjeldahl 4500-Norg (C), nitrógeno de nitritos más nitratos  $[N-(NO_2^- + NO_3^-)]$  por los métodos 4500-NO<sub>2</sub> - (B) y 4500-NO<sub>3</sub> - (B). Los siguientes análisis fueron realizados de acuerdo con el procedimiento Hach: nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) por el método 8038 (Hach) adaptado de los métodos estándar 4500-NH<sub>3</sub> (B) y (C) y fósforo total (PT) por el método del ácido ascórbico 8048 (Hach) equivalente al método estándar 4500-P (E). Adicionalmente se midieron el pH y la conductividad con un medidor marca Hach modelo Sension 156. (GARZÓN-ZÚÑIGA, 2014).

### 3.2 Avicultura en México

La avicultura en México se ha desarrollado a pasos agigantados y hoy es una de las industrias de gran auge, compitiendo con las empresas norteamericanas en calidad y presentación tanto de carne como de huevo. La avicultura se puede catalogar como la rama de la ganadería con mayores antecedentes históricos en México, ya que desde antes del arribo de los españoles al continente americano se practicaba la cría del guajolote o pavo.

Actualmente el sector avícola es una rama de la ganadería que ha alcanzado un nivel tecnológico de eficiencia y productividad, que puede compararse con la de países desarrollados, ajustándose rápidamente a los niveles demandados por la población. La avicultura permite obtener, en cortos periodos de tiempo, productos alimenticios de gran calidad (huevos y carne) con una elevada retribución de los forrajes consumidos, por ejemplo, una gallina ponedora, con una puesta anual de 240 huevos que pesan, en promedio, 58 gramos cada uno, se obtienen de 14 kg de alimento, lo cual supera en ocho veces su propio peso. Además, por cada kilogramo de producción de huevos se consumen tres de alimento. Lo anterior ha sido posible a un largo proceso de selección. El rendimiento de la carne está condicionado a la precocidad y el peso vivo de las aves, así como por la calidad y el sabor. La carne de gallina y pavo contiene un 20% de proteína, por lo que se le considera producto dietético

La especie más importante y la que mayor contribución hace a la economía avícola, es la gallina común (*Gallus gallus*), de origen asiático, a México llegó por vía de España, más algunas que también arribaron en la Nao de China. En el aspecto histórico Hernán Cortés relata el buen número de aves que existían en Tenochtitlán, "en diez estanques de agua donde moraban todos los linajes de aves de agua que en esas partes existía" La explotación de aves con normas europeas se inició en México en la época virreinal, de ahí parte la abundancia de gallinas en ranchos, haciendas y caseríos, como parte del patrimonio familiar. En el siglo XVI el cuarto virrey de Nueva España, Martín Enríquez de Almanza que ordenó "que, de aquí en adelante, en esta Nueva España, en cada año, en cada indio sea obligado a criar en su casa doce gallinas y seis de la tierra, so pena de que pague el valor de las mismas hasta dicha cantidad dejaré de criar...". En la Plaza del Volador (inaugurado el 20 de enero de 1792), es regido por un Reglamento donde fijan la venta de aves en puestos fijos que ocuparían los cajones del 145 a 168 con carnes, aves vivas y muertas, y pescado fresco y salado. El conde de Revilla Gigedo indagó mediante un censo los consumos de México en 1791 e informó que en cuanto a gallinas

el consumo fue de 1.2 millones; patos 125 mil; pavos 205 mil; pichones un poco más de 65 mil y perdices en unos 140 mil. (Rafael, 2017).

La Industria Avícola registra en el contexto del Sector Alimentario de México, la mayor tasa de crecimiento de todas las actividades agrícolas, pecuarias y pesqueras emprendidas en los últimos lustros, industria que por sus características constituye una parte fundamental de la producción nacional de alimentos y representa un importante elemento en la dieta de la población del país. En la Encuesta Nacional de Ingreso Gasto de los Hogares 2016 difundida por la INEGI, se confirma que la mayor proporción del Gasto de Alimentos de los deciles de la población de menores ingresos en Cárnicos, se destina a la adquisición de Carne de Ave destinando el 7.41% del gasto total a estos productos y el 6.21% al Consumo de Huevo, porcentajes superiores al 4.98% declinado a la Carne Bovina y del 2.28% de Porcina.

No obstante, el notorio crecimiento registrado en la producción de Carne de Ave, con un crecimiento del 166.4% de 1994 al 2018, el Consumo Nacional registra un avance del 179.5% en ese periodo, lo que implica un aumento aún más acelerado de las importaciones complementarias. Según estimaciones del Departamento de Agricultura de EUA, de continuar la actual tendencia, para 2025 se requerirá vender a México más de un millón de toneladas, lo que implicaría depender cerca de un 25.0% de esta fuente externa de abasto aun cuando el máximo registrado se alcanzó en 2015 al ubicarse en un 17.4%, proporción que se reduce a un 12.1% en 2018. (CEDRSSA, 2018)

### 3.2.1 Importancia de la industria avícola en México

La avicultura es la rama de la ganadería que trata de la cría, explotación y reproducción de las aves domésticas con fines económicos, científicos o recreativos. Así pues, en su más amplio sentido la avicultura trata igualmente de cualquier especie de ave que se explote en las granjas para el provecho o utilidad del hombre. Desde sus inicios a mediados del siglo XX, uno de los objetivos más importantes que tiene la avicultura en México, es proveer a la población alimentos ricos en proteína de calidad. (BRIO agropecuario , 2019)

Es conocida la importancia de la Industria Avícola en el consumo nacional, particularmente para los sectores sociales más pobres de la población, lo cual exige realizar un análisis de la estructura productiva y territorial de la actividad avícola, además de una retrospectiva de su

expansión en el corto y mediano plazo con una visión alineada al propósito de reducción de la pobreza y desigualdad regional, así como avanzar hacia la autosuficiencia alimentaria.

A efecto de estimar la magnitud y la dimensión del esfuerzo a realizar para lograr avances sustentables hacia la consecución de la Autosuficiencia Alimentaria, es necesario revisar el comportamiento de las principales variables relacionados con el tema.

- En lo relativo al comportamiento de las variables asociadas al consumo de Carne de Ave, se aprecia que de 2009 al 2013, la producción interna aumentó en 190.0 mil ton, al tiempo que el consumo creció en 310.0 mil ton, aumentando en buena medida atribuible a una alta inflación que fue en promedio Mensual del 0.54% en este alimento.
- En distinta dinámica, de 2015 al 2018, la producción interna aumentó 520.0 mil ton, con un incremento del consumo nacional de 430.0 mil ton, con una reducción de 120.0 mil ton de producto importado; incremento motivado principalmente por registrarse una inflación Mensual de únicamente el 0.16%.
- Es decir, ante una menor presión inflacionaria, aumento del empleo y un mayor poder adquisitivo del ingreso familiar, factores combinados en estos últimos cuatro años, se eleva de forma importante la producción y el consumo nacional de Carne de Ave.
- Con esta visión de Prospectiva, con estimaciones realizadas por CEDRSSA, se llega a un primer escenario que implica elevar la oferta interna de Carne de Ave a 4,350.0 mil ton para 2025, cifra que significa un incremento de 940 mil ton respecto a lo obtenido en 2018, además de reducir las importaciones a solo 200 mil toneladas, lo que representa la mitad del actual volumen adquirido del exterior, registrando un Consumo de 4,550.0 mil ton, proporciones equidistantes para atender la oferta interna de dicho año, en función a la reducción de los indicadores de la pobreza alimentaria.

Esta rama de la producción pecuaria constituye por sus características una parte fundamental de la producción nacional de alimentos y es un importante elemento en la ingesta de la población del país. La producción de aves en 2018 fue de 2.8 millones de toneladas con un consumo de entre 26.9 hasta 30.8 kilos por persona y en el caso del huevo de plato México es uno de los países que más consume este producto ya que su consumo per cápita es de 28 kg. De acuerdo a la SADER, las cifras preliminares de la producción nacional al mes de abril 2019, de carne ave es de 1,100,774 toneladas y en el caso del huevo de plato de 951,216 toneladas (Fao,



2018). El dinamismo de la avicultura presentado en los últimos 25 años ha permitido que México se ubique como el cuarto productor avícola a nivel mundial de carne de pollo, y como el quinto en la producción de huevo. Los avances tecnológicos en la genética animal, la nutrición, el manejo, la sanidad y el equipo tecnológico usado en la producción han permitido que la industria de la producción de pollo haya incrementado su productividad y competitividad.

La carne de ave y el huevo se consideran productos globales, en el 39 Congreso Nacional de Avicultura se mencionó que esta actividad tiene por delante importantes retos que sortear y que a continuación se mencionan algunos de ellos. 1. Consumo per- cápita. Se estima que para el año 2015 el consumo de carne de pollo por habitante alcance los 25 kilos, lo que podría ubicar a México como el principal consumidor por lo que la demanda nacional podría estar insatisfecha con la producción nacional.

2. Importaciones. Entre los años 2000 y 2006 la tasa de crecimiento media anual para las importaciones de carne de pollo y huevo fue del 25.0%. Por tal razón es prioritario destinar especial atención a la producción de estos bienes.

3. Problemas sanitarios. Este es uno de los problemas que merecen una prioridad y calidad de atención, ya que el hecho de que nuestras parvadas y productos estén libres de enfermedades, permitirá tener la opción de involucrarse en la exportación de productos y subproductos de la industria avícola, principalmente en lo referente a pollo de engorda ya que el huevo es más restringido para la exportación. (Soto, 2014)

### 3.2.2 Aguas residuales de origen avícola y su impacto ambiental

En el ámbito mundial, la avicultura es una de las ramas de la producción animal de mayor importancia porque contribuye a satisfacer las necesidades proteicas de la población. Esto se logra a partir de la explotación de dos de sus vertientes básicas: la producción de carne y huevo. Durante los últimos 20 años, en la mayoría de los países ha aumentado continuamente el consumo de carne de pollo, lo que equivale al incremento de la producción anual de estas aves. Inevitablemente, al aumentar la producción avícola, es mayor la cantidad de excretas. Por su composición, estas se han utilizado, principalmente, como fertilizantes orgánicos (Evers 1998 y Smith et al. 2001) y como ingredientes de las dietas para animales de granja. No obstante, los

residuos avícolas también se han usado como sustrato para la generación de metano y para la síntesis de proteína microbiana y de larvas de insectos. A pesar de lo anterior, los sistemas intensivos de producción avícola pueden crear enormes problemas de polución, debido a las grandes cantidades de sustancias contaminantes (nitrógeno, fósforo y azufre) que se producen. Además, originan grandes volúmenes de estiércol que se depositan en el suelo y, como resultado, éste y el agua se contaminan. En la actualidad, es un reto buscar métodos más adecuados para la utilización de estos residuos. (Yaneisy García, s.f.)

En el año 2000, la creciente preocupación por los efectos ambientales de la explotación intensiva de aves llevó a la comunidad europea a crear un consejo directivo que regulara el control de la polución ambiental. Sin embargo, según las estadísticas, la industria avícola no es la que más contamina al ambiente. Esto no puede ser causa de satisfacción, ya que cualquier producto de la excreción orgánica, si se presenta en cantidades suficientes, puede tener graves consecuencias ambientales.

Los sistemas intensivos de producción animal (bovinos, cerdos y aves) pueden crear enormes problemas de polución, debido a las grandes cantidades de sustancias contaminantes que producen (Costa y Urgel 2000 y Smith et al. 2001). Además, originan grandes volúmenes de estiércol que se depositan en el suelo. El fósforo, una vez en el suelo, se libera mediante la acción de las fitasas que producen los microorganismos de este ecosistema. Después, pasa a ríos y lagos, lo que da lugar a los fenómenos de eutrofización de las corrientes de agua y de los reservorios acuáticos. En estas circunstancias, hay un crecimiento acelerado de las algas y un agotamiento del contenido de oxígeno del agua, lo que provoca la mortalidad de la fauna acuática. (Álvarez)

La agricultura animal tiene un grado de responsabilidad muy grande en cuanto a la protección del medio ambiente se refiere, debido a que al obtenerse beneficios de su práctica como lo son los huevos, carne, y otros productos, inevitablemente se obtienen gran cantidad de residuos. Debido a la gran descarga de sustancias orgánicas como nitrógeno, fosforo y azufre, que se producen principalmente por la actividad de crianza de los pollos, estos pueden afectar seriamente el suelo, y al agua por infiltración, adicional a lo anterior se generan olores desagradables. En el caso del nitrógeno, a las aves el 50% que se les aporta, es excretado como ácido úrico, luego a ácido sulfhídrico, el cual es el causante de los efectos más dañinos en el ambiente, principalmente del efecto invernadero.

Las aguas residuales de las industrias avícolas contienen altas concentraciones de materia orgánica, sólidos suspendidos, grasas, nitrógeno y fósforo. Su composición y flujo generalmente varían dependiendo del proceso industrial, tamaño de las instalaciones, número de animales sacrificados, eficiencia de recolección de sangre y subproductos, consumo de agua por ave sacrificada y manejo del agua en el proceso industrial. En este sentido, la disposición sin tratamiento de estos efluentes a los cuerpos receptores causa un impacto ambiental negativo.

La industria avícola cuenta con una cadena productiva constituida por varias fases o eslabones como alimento, engorde y beneficio; cada una con procesos que responden a necesidades particulares. La fase de beneficio consta de varias etapas como la recepción de aves, matanza y desplume, línea de evisceración, escurrido y empaque. Durante el proceso de matanza de aves, el agua es usada principalmente para el escaldado, lavado antes y después del eviscerado, enfriamiento (chiller), limpieza y saneamiento de equipos e instalaciones y para el enfriamiento de equipos mecánicos, también se usa para remover las plumas y las vísceras desde las áreas de producción. Se ha reportado que el consumo específico de agua puede estar entre 8 y 15 L/ave sacrificada.

En este sentido, los mataderos de aves producen gran cantidad de aguas residuales, caracterizadas por presentar altas concentraciones de materia orgánica biodegradable, materia coloidal y suspendida, tales como grasas, proteínas y celulosa. La calidad de estas aguas varía dependiendo del proceso industrial, del consumo de agua por aves sacrificadas, del tamaño de las instalaciones de la procesadora, de la eficiencia de recolección de sangre y del manejo del agua en el proceso industrial. En general, la composición y el flujo de estas aguas residuales dependen del número de animales sacrificados. Las aguas residuales de mataderos (ARM) son altamente contaminantes debido a su elevada demanda bioquímica de oxígeno (DBO), por lo que provocan un alto impacto ambiental en cuerpos receptores. Los principales efectos perjudiciales de los vertidos de las fábricas de productos cárnicos son: la disminución del oxígeno, los depósitos de fangos, colores y una situación general desagradable. Si estas aguas residuales no son tratadas contribuyen a la degradación de los medios acuáticos. Según la Agencia de Protección Ambiental, los tratamientos de las aguas residuales de las industrias avícolas se clasifican en tres categorías: primarios, para remover sólidos sedimentables y suspendidos; secundarios, para remover materia orgánica, y terciarios, para remover nitrógeno y fósforo o sólidos suspendidos. (Gutiérrez, 2010)

Ante este escenario, los efluentes de las industrias avícolas deben ser llevados a una planta de tratamiento antes de su descarga a los cuerpos receptores o a las redes de alcantarillado. La eficiencia de los sistemas de tratamiento empleando diferentes opciones como el tratamiento con microalgas.

### 3.3 Macronutrientes presentes en las aguas residuales

En los Tratamientos Biológicos de las Aguas Residuales se presta especial atención de los elementos Nitrógeno y Fósforo, pues participan en la generación de nueva biomasa, y en casos de escasez pueden convertirse en los factores limitantes del proceso de depuración. Los resultados de la investigación llevada a cabo en los laboratorios de la Universidad Militar Nueva Granada con el apoyo del Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de los Andes, arrojaron resultados bastante interesados sobre los requerimientos de Nitrógeno y Fósforo desde varios puntos de vista aplicables a la operación cotidiana de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Industriales de tipo Biológico Aeróbico. (Soya, 2016)

El exceso de nitrógeno y fósforo en el agua hace que el alga crezca tan rápido que los ecosistemas no pueden lidiar con esa cantidad. Un aumento significativo en la cantidad de alga deteriora la calidad del agua, los alimentos y los hábitats, y reduce el oxígeno que los peces y otras especies acuáticas necesitan para vivir. Las proliferaciones de alga son llamadas florecimientos y pueden reducir en gran medida o eliminar el oxígeno presente en el agua. (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, 2017)

#### 3.3.1 Nitrógeno

El nitrógeno molecular es el principal constituyente de la atmósfera (78% por volumen de aire seco). Esta concentración es resultado del balance entre la fijación del nitrógeno atmosférico por acción bacteriana, eléctrica (relámpagos) y química (industrial) y su liberación a través de la descomposición de materias orgánicas por bacterias o por combustión.

(Lenntech

BV,

s.f.)

El N es un elemento esencial en las funciones metabólicas de los seres vivos, sino por su

abundancia en aire, suelo y agua dada la compleja química del N, que puede tomar siete diferentes estados de oxidación (desde -3 a +5) y por tanto formar parte de una gran diversidad de compuestos, siendo los más comunes -3 para  $\text{NH}_3$  y  $\text{NH}_4^+$ , 0 para  $\text{N}_2$ , +3 para  $\text{N}_2\text{O}_3$  y +5 para  $\text{N}_2\text{O}_5$  y  $\text{HNO}_3$ .<sup>7</sup>

En el agua, la presencia de CN se debe a causas naturales como la disolución atmosférica o de depósitos geológicos ricos en estos materiales, escorrentías superficiales y subterráneas, fijación de organismos procariotas y descomposición de MO; y a causas antropogénicas provenientes de usos domésticos e industriales, así como a la deposición atmosférica fruto de la contaminación del aire.

En la naturaleza la transformación natural entre las distintas formas de N está regulada por un ciclo<sup>14</sup> que abarca seis procesos:

- Fijación del N
- Reducción desasimilativa de nitrato a amonio
- Amonificación
- Oxidación anaerobia a amonio
- Nitrificación
- Desnitrificación

Sin embargo, el normal funcionamiento del ciclo del nitrógeno ha sido afectado por distintas actividades humanas como la utilización de combustibles fósiles y la fabricación de fertilizantes nitrogenados, suplementos alimenticios animales, adhesivos, tintas, cosméticos y papel, entre otros, que han aumentado casi al doble la concentración de N fijado anualmente en la biósfera. (Cardenas, 2013)

### 3.3.2 Problemas ambientales por la presencia de N

Los residuos industriales constituyen una fuente importante de nitratos en las aguas, siendo las industrias más contaminantes los mataderos, destilerías, azucareras, industrias de levadura, de almidón, textiles y fertilizantes. Sin embargo, estas emisiones suelen estar bastante controladas y son muy puntuales. Más preocupante es, en la actualidad, la contaminación por nitratos provenientes de la agricultura y ganadería intensiva. (competividad, 2015)

Los tres principales problemas ambientales generados por la presencia de compuestos de N en el sistema acuático son: el aumento de la acidez, el desarrollo de eutrofización y el aumento de las concentraciones hasta niveles tóxicos tanto en aguas superficiales como subterráneas que limitan su uso principalmente como fuentes de agua para consumo humano o en acuicultura, donde la acumulación de N orgánico suele impedir la operación exitosa de sistemas de reúso.

Una persona podría enfermarse si entra en contacto o bebe agua contaminada por florecimientos de algas, consume pescado o moluscos contaminados, ya que producen cantidades elevadas de toxinas y crecimiento bacteriano, que pueden causar serios problemas de salud incluyendo: Erupciones, enfermedades estomacales o hepáticas, problemas respiratorios, afecciones neurológicas. Cuando los desinfectantes utilizados para tratar el agua potable reaccionan con algas tóxicas, se pueden crear sustancias químicas nocivas denominadas dioxinas. Estos subproductos se han relacionado con los riesgos para la salud reproductiva y de desarrollo, e incluso con el cáncer.

El nitrato, un compuesto que se encuentra en los fertilizantes, a menudo contamina el agua potable en las zonas agrícolas. Los altos niveles de nitratos también causan problemas en las fuentes de agua potable. ( FUSADES, 2014)

Además, se pueden presentar efectos adversos sobre la salud humana por causas indirectas, por ejemplo, la proliferación de algas tóxicas que pueden ocasionar desde trastornos fisiológicos e intoxicación hasta la muerte de la persona afectada por su ingesta o por contacto de tipo recreacional. La eutrofización puede favorecer el desarrollo de organismos patógenos y vectores y por ende la transmisión de enfermedades como el Cólera; igualmente, la adición de N en los ambientes acuáticos genera cambios ecológicos que incluyen la dinámica de algunas enfermedades humanas producto de la alteración de la abundancia y distribución de importantes vectores como los mosquitos que transmiten la malaria.

Dado las bajas concentraciones que deben de existir en los efluentes, es de vital importancia enfocar esfuerzos en los planes de tratamiento de aguas residuales y efluentes contaminados o con un elevado nivel de nitrógeno, especialmente considerando las condiciones ambientales producidas por el cambio climático en curso, que agudizan los procesos de toxicidad como resultado de una menor dilución en las zonas de menos pluviosidad, además de una mayor ocurrencia de procesos de eutrofización y mayor abundancia de algas tóxicas. (DS, 1998)

### 3.3.3 Técnicas de remoción de Nitrógeno

Técnicas de separación, como su nombre indica, pretenden separar los nitratos de la corriente de agua a depurar, concentrándolos en un segundo desecho (la salmuera) que habría que tratar o almacenar en un depósito.

Técnicas de transformación pretenden transformar los nitratos en otros compuestos químicos inocuos por medio de vías biológicas o catalíticas, los procesos biológicos se suelen utilizar actualmente en el tratamiento de las aguas residuales e industriales y se incorporan a muchas depuradoras, dando resultados muy satisfactorios. No obstante, esta tecnología, aunque es adecuada para aguas residuales, no se puede utilizar para potabilizar aguas por la posible contaminación bacteriana del agua tratada y por la presencia de residuos orgánicos tras el tratamiento del agua. (competividad, 2015). Una nueva técnica de transformación es la basada en procesos catalíticos, más adecuada desde el punto de vista medioambiental y que permitiría depurar un agua contaminada por nitratos sin generar residuos. Esta técnica se basa en la reducción catalítica de los nitratos a nitrógeno. En este proceso el nitrato es transformado en una sustancia inerte como el nitrógeno (que constituye alrededor del 78% del aire) y no se debe generar ningún subproducto que deba ser tratado.

#### Procesos físicos

Los nitratos pueden ser eliminados de las AR (aguas residuales) por procesos físicos fundamentalmente por medio de ósmosis inversa, proceso que se basa en el paso de un solvente a través de una membrana impermeable a un soluto, donde se necesita el uso de membranas especializadas por contaminante. Sin embargo, presenta el inconveniente que las membranas utilizadas no tienen una gran selectividad por el nitrato.

#### Procesos químicos

Uno de los procesos químicos avanzados de tratamiento de AR es el intercambio iónico, que consiste en hacer pasar el agua a través de un lecho de resina que permite el reemplazo de un ión por otro; sin embargo, su inconveniente es que no existen resinas con una alta y exclusiva selectividad por el nitrato, así como la dificultad para regenerar y sustituir las resinas utilizadas en el proceso. La toxicidad de los nitritos se puede reducir o bloquear mediante iones cloruro; por ello se recomienda aplicar la oxidación química con cloro en ocasiones muy particulares como altísimas concentraciones de amonio o nitrato en AR de pequeño caudal.

## Desnitrificación

En la eliminación del nitrógeno de manera biológica el segundo paso lo llevan a cabo las bacterias desnitrificantes, que son un grupo mucho más heterogéneo. Los parámetros más importantes que afectan a las dinámicas de poblaciones de las bacterias son su velocidad de muerte (bastante parecido en todas las bacterias), y su velocidad de crecimiento o generación. La concentración de sus respectivos sustratos, ya sea amonio, nitrito o nitrato, y concentración del aceptor de electrones utilizado en cada caso, ya sea oxígeno disuelto en el caso de las nitrificantes o nitrato en el caso de las desnitrificantes. Afectan también factores como la temperatura o el pH, aunque en este caso el operador de la EDAR poco puede hacer para modificarlos. (aguasresiduales.info, 2014)

La forma más comúnmente empleada para la eliminación del nitrógeno se basa en un doble proceso biológico de nitrificación y desnitrificación. En la primera etapa, la de nitrificación, el amonio es convertido primero en nitrito y éste, a su vez, en nitrato, mediante un consorcio de bacterias nitrificadoras que utilizan carbono inorgánico como fuente de carbono y obtienen la energía necesaria para su crecimiento de las reacciones químicas de la nitrificación. La segunda etapa, la de desnitrificación, consiste en la conversión del nitrato en nitrógeno gas, el cual se libera a la atmosfera. Esta conversión la llevan a cabo unas bacterias en condiciones anaerobias, las cuales utilizan el nitrato como aceptor final de electrones y la materia orgánica presente en el agua como fuente de carbono. (Tuset, s.f.). Esta técnica se basa en la conversión del 50% del amonio en nitrito en una primera etapa; y posteriormente, en la segunda etapa, se produce la desnitrificación autotrófica, en la que las bacterias convierten el 50% del amonio restante y el nitrito producido directamente en nitrógeno gas, en condiciones anaerobias y sin consumir materia orgánica. Este proceso es conocido con las siglas ANAMMOX (anaerobic ammonium oxidation).

Las ventajas respecto del proceso convencional son considerables. Se reduce el consumo energético, porque sólo es necesario convertir a nitrito la mitad del amonio presente, a la vez que se elimina más nitrógeno, ya que el rendimiento de desnitrificación es del doble al reaccionar una molécula de amonio con otra de nitrito para obtener una de nitrógeno molecular.

Medidores de amonio y nitratos on-line: en los últimos años se han desarrollado medidores de amonio y nitratos on-line basados en la técnica de ión selectivo. Estos medidores obtienen una



medida directa de la evolución del proceso de N/DN y parecen muy prometedores para el control de este proceso. (Aqualia, 2018)

### 3.4 Fósforo

Otro componente del agua residual importante para los microorganismos es el fósforo. El fósforo, como el nitrógeno, es un elemento esencial para el crecimiento biológico. En el agua residual el fósforo se encuentra en 3 formas: ortofosfatos solubles, polifosfatos inorgánicas y fosfatos orgánicos. El ortofosfato es la forma más fácilmente asimilable por los microorganismos y se utiliza como un parámetro de control en los procesos biológicos de eliminación de fósforo. El fósforo total es la suma de los compuestos de las tres formas de fósforo. Las aguas residuales domésticas tienen una concentración de fósforo total de aproximadamente 5-15 mg/L. Es importante reseñar que la descarga tanto de fósforo como de nitrógeno debe ser controlada porque puede provocar un crecimiento excesivo de algas en las aguas receptoras. (Caracterización del agua residual, s.f.).

Se estima que por lo menos el 85 % del fósforo vertido y aportado al medio ambiente procede de la red de colectores de las ARU (aguas residuales urbanas), suponiendo un nivel de vida adecuado con instalaciones sanitarias completas. Esta fracción proviene de los desechos humanos y de los detergentes. La agricultura es la causante del 15% restante, siendo su influencia relativamente pequeña, debido a que, al contrario que en el caso de los nitratos, el fósforo se absorbe y se almacena bien en el suelo. (E.Ronzano)

En una ARU bruta, los ortofosfatos pueden representar del 15 % al 35% de los fosfatos totales.

- En las ARU decantadas, la proporción aumenta en un 5% a un 10%.
- En una ARU con tratamiento secundario (biológico), la fracción de ortofosfatos llega a alcanzar el 50% o incluso el 90%.
- Si comparamos las formas inorgánicas y orgánicas, estas últimas representarían del orden de un 30%.

Las aguas residuales urbanas suelen contener de 5 a 20 mg/l de fósforo total, del cual el 1-5 mg/l es orgánico y el resto es inorgánico. La contribución individual tiende a aumentar ya que el fósforo es uno de los principales constituyentes de los detergentes sintéticos. La contribución

individual del fósforo varía entre 0.65 y 4.80 g/habitante al día con una media de unos 2.18 g. El fósforo suele encontrarse en soluciones acuosas como:

- Ortofosfatos: disponible para el metabolismo biológico sin posteriores disociaciones.
- Polifosfatos: moléculas con 2 o más átomos, oxígeno y en algunos casos átomos de hidrógeno combinados en una molécula compleja. Normalmente las polifosfatos experimentan un proceso de hidrólisis y se transforman en ortofosfatos. Este proceso suele ser muy lento.

Normalmente el tratamiento secundario sólo puede eliminar de 1 a 2 mg/l, así que una cantidad considerable de fósforo se descarga en el efluente final, causando efectos de eutrofización en las aguas superficiales. La nueva legislación declara el requerimiento de una concentración máxima de descarga de fósforo en aguas sensibles de 2 mg/l. (Office), s.f.)

#### 3.4.1 Problemas ambientales por la presencia de F

Los compuestos del nitrógeno y fósforo, se encuentran entre unos de los contaminantes más importantes de las aguas residuales debido a su papel en la eutrofización, su efecto en la concentración de oxígeno de las aguas receptoras y su toxicidad para los invertebrados acuáticos y vertebrados, incluyendo los seres humanos. (Salgado-Bernall, 2011). El fósforo blanco es la forma más peligrosa de fósforo que es conocida, provocando irritación de los ojos, la piel y el tracto respiratorio. Su inhalación puede originar edema pulmonar cuyos síntomas no aparecen hasta pasadas unas horas, produciéndose un agravamiento con el esfuerzo físico. Con altas concentraciones, a intervalos de exposición cortos, la sustancia puede tener efectos sobre el hígado y los riñones, llegando a producir la muerte. Una exposición repetida o prolongada al fósforo blanco, puede afectar a los huesos, provocando una degeneración ósea. (ecologica, s.f.)

El fósforo fue identificado químicamente hace apenas unos siglos, se lo ha empleado a lo largo de la historia de la agricultura en los residuos agrícolas y en el estiércol que se esparce los campos. Esta práctica tradicional sigue en vigor, pero la explotación minera del fósforo en el siglo XX contribuyó a elevar de manera constante los rendimientos agrícolas. Los fertilizantes con alto contenido de fósforo, nitrógeno y potasio elevaron el crecimiento de las plantas a niveles sin precedentes, sobre todo en los suelos tropicales más pobres en estos componentes.

En cualquier momento dado, el fósforo desempeña diferentes funciones a escalas temporales y geográficas muy diferentes: transporta señales instantáneas al cerebro en el ATP químico o permanece inmóvil como una molécula de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  en la roca de fosfato rica en apatita que tardó decenas de millones de años en formarse, en espera de ser extraído; es absorbido por las raíces de las plantas mediante difusión química, o bien, eliminado por nuestro organismo en una momentánea gota de orina antes de diluirse en un aluvión de agua del inodoro para reunirse con otras aguas residuales domésticas e industriales en una planta de tratamiento lejana. Así, contamina los cuerpos de agua en forma de cianobacterias, o simplemente circula de manera natural entre la tierra, la biota y el agua sin ser advertida por la mayor parte de la sociedad. (La paradoja del fósforo, 2011).

En las áreas rurales fluye regularmente hacia las aguas receptoras como producto de la escorrentía de los campos de cultivo, y en las áreas urbanas viaja por los sistemas de drenaje, como un componente importante del excremento humano que se descarga de los inodoros. En cualquiera de estos casos, el fósforo puede incrementar excesivamente los niveles locales de los nutrientes, provocando la reproducción rápida de algas en los lagos y ríos donde se concentra, un proceso llamado eutrofización.

Este crecimiento excesivo de las algas puede llegar a reducir los niveles de oxígeno en el agua al grado de impedir la supervivencia de algunas especies de peces. La eutrofización de las aguas continentales es un proceso natural (fuertemente acelerado por la acción del hombre) que en pocas palabras podemos definir como un aumento de la productividad del sistema debido a un aporte creciente de nutrientes. Este incremento en la producción tiene como consecuencia directa el desarrollo masivo de algas, lo cual conlleva una serie de efectos indirectos que inciden en todas las comunidades presentes en la masa acuosa, así como en las características organolépticas del agua, llegando a afectar negativamente al ser humano.

La utilización excesiva de abonos en la agricultura, los vertidos de aguas residuales y la deforestación de las cuencas hidrográficas son algunas de las acciones más importantes que han contribuido a la eutrofización de mucho de nuestros ríos y embalses, esto es debido a que de una manera o de otra tales actividades provocan que lleguen ingentes cantidades de nutrientes a los sistemas acuáticos. Muchas investigaciones evidencian que de los principales nutrientes (carbono, nitrógeno y fósforo), es este último el elemento más limitante y por tanto controlador de la población Fito planctónica. (Madrid, blogs , 2018)

### 3.4.2 Técnicas de remoción de F

El control de las emisiones de fósforo procedentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas e industriales es un factor clave para la prevención de la eutrofización de las aguas superficiales. El fósforo es uno de los nutrientes que contribuyen en mayor grado a la eutrofización de lagos y aguas naturales. Su presencia causa muchos problemas en la calidad del agua incluyendo aumentos en los costes de purificación, la disminución del valor de recreación y de conservación del lagunaje, pérdida de las poblaciones naturales y un posible efecto mortal de las toxinas en las aguas potables. (Lenntech, Eliminación del fósforo del agua residual, 2005)

La eliminación del fósforo de las aguas residuales implica la incorporación de fosfatos en los SST y la consecuente eliminación de estos sólidos. El fósforo puede incorporarse en sólidos biológicos (por ejemplo, microorganismos) o en precipitados químicos.

#### Precipitación de fosfatos

La precipitación química se usa para eliminar las formas inorgánicas del fosfato mediante la adición de un coagulante y la mezcla de agua residual y coagulante. Los iones de metales multivalentes más frecuentemente usados son calcio, aluminio y hierro. Almacenamiento de más fosfato del normalmente necesario en el fango activo floculado. Esto se produce cuando el fango está en un entorno unas veces aeróbico y otras veces anaeróbico (entrada de oxígeno activada/ desactivada). La eliminación biológica eficaz de fósforo depende de la presencia de suficientes materias orgánicas fácilmente biodegradables (DBO5). Una relación P/DBO5 de < 0,03 y una relación N/DBO5 de < 0,25 en la entrada del tanque de aireación favorecen el aumento de la degradación biológica de fósforo. (Vargas, 2007)

#### Precipitación química de fosfato

Los compuestos de orto fosfato son precipitados como fosfatos de metales difícilmente solubles con la ayuda de productos químicos (sales de hierro o de aluminio, lechada de cal). Las sales se sedimentan y permanecen en el lodo de las aguas residuales. El precipitante se puede agregar durante el tratamiento primario (pre-precipitación) o en el tanque de aireación (precipitación

simultánea), o en un tanque de reacción adicional aguas abajo del tanque de aireación (pos precipitación). El método más utilizado es la precipitación simultánea, ya que se trata de la variante más económica. (Pütz, 2010)

## Biológicos

La reducción biológica del fósforo en el agua residual se basa en la exposición alternativa de los microorganismos presentes a condiciones aerobias y estrictamente anaerobias. Normalmente la proporción de bacterias acumuladoras de polifosfatos en el fango activo es escasa, pero mediante el procedimiento citado se consigue que esas aumenten. La desfosfatación biológica parte del hecho de que, bajo ciertas condiciones, se pueden desarrollar bacterias que son capaces de absorber fosfatos del agua en cantidad superior a la necesaria para el funcionamiento del metabolismo (J. Suarez, 2007)

Existen diversos esquemas que permiten la desfosfatación biológica teniendo todos en común la zona anaerobia de cabeza:

### · **Proceso PHOREDOX.**

Por razones de nombre comercial, particularmente en USA, el PHOREDOX se llama a veces BARDENPHO modificado. Se compone de los 4 reactores de un sistema BARDENPHO (anoxia-aerobia-anoxia-aerobia), a los cuales se les añade un quinto reactor anaerobio y además la recirculación principal, en lugar de enviarse al primer reactor anóxico, se conduce a la entrada del reactor anaerobio.

El orden de magnitud de los volúmenes respectivos de los reactores, en porcentaje del volumen total y los tiempos de retención para una desnitrificación elevada, es:

- Anaerobio: 10%;  $t = 1$  h.
- Anóxico: 26 %;  $t = 2,6$  h.
- Aerobio: 45 %;  $t = 4,5$  h.
- Anóxico: 14%;  $t = 1,4$ h.
- Aerobio: 5 %;  $t = 0,5$  h

### · **Proceso UCT (Universidad de Ciudad del Cabo).**

El sistema original del UCT (University of Cape Town) fue desarrollado por Marais y sus colaboradores. Se compone de tres reactores (anaerobio-anóxico-aerobio); la recirculación principal R, se conduce a la entrada del reactor anóxico; una recirculación anexa A permite aumentar el grado de desnitrificación; una segunda recirculación auxiliar L alimenta el reactor anaerobio con licor desnitrificado (tomado a la salida de la cuba anóxica).

El sistema puede continuar funcionando para grados de nitrificación entre 25 y 50%, con recirculaciones de fangos del 50 al 100%. Con objeto de evitar la regulación del caudal de recirculación A, en función de la presencia o no de nitratos a la salida del reactor anóxico, Marais propone dividir en dos partes dicho reactor anóxico. La primera parte se calcula con objeto de eliminar todos los nitratos aportados por la recirculación de fangos R, pudiéndose así alimentar el reactor anaerobio sin nitratos. La segunda parte del reactor anóxico se diseña para reducir los nitratos aportados por la recirculación del licor A, hasta el límite de posibilidades del tiempo de retención o de la disponibilidad de contaminación carbonada. (J. Suarez, 2007)

- Con o sin eliminación del nitrógeno:

#### • **Proceso A/O.**

Fue desarrollado inicialmente para la eliminación de fósforo, A/O, que era un proceso muy simple. Incorporando la nitrificación se convirtió en A<sup>2</sup>/O. Se basa en tres etapas biológicas en serie: anaerobia, anóxica y aeróbica, antes de la decantación secundaria, y en dos recirculaciones independientes: fangos biológicos a la cámara anóxica y la recirculación normal desde el secundario a la cabeza del biológico.

Este sistema requiere altas concentraciones de DQO a la entrada, ya que la recirculación de fangos aporta a la cuba anaerobia el oxígeno y los nitratos contenidos en los mismos perturbando su función, ya que los nitratos consumen por desnitrificación la materia orgánica simple como acetatos y propionatos, antes de que pueda ser almacenada por las bacterias desfosfatantes. (J. Suarez, 2007)

## Químicos

- Pre-precipitación

Este procedimiento realmente deriva de la necesidad de un tratamiento físico-químico, el cual se adopta por razones ajenas a la necesidad de eliminar fósforo. En este caso, el consumo de

reactivos es como mínimo el doble del necesario para realizar solamente la desfosfatación. Además, en este tratamiento es casi siempre necesario recurrir a una dosificación complementaria de un ayudante de coagulación.

#### - Post-precipitación

No presenta ningún interés al necesitar las mismas dosis de reactivos que un sistema de precipitación simultánea, y además el complemento de una instalación de clarificación. Podría justificarse el procedimiento si fuera necesario mejorar las características del agua tratada después de un tratamiento biológico, pero en este caso es mejor solución recurrir a una filtración sobre material granular.

#### -Precipitación simultánea y post-precipitación

Se trata de un procedimiento estudiado por Eawag en Suiza y aplicado principalmente en la planta de Zurich. Su objetivo es obtener concentraciones de fósforo en el agua tratada inferiores a 0,2 mg/l, sin incremento en el consumo de reactivos y al mismo tiempo con una considerable mejora en la calidad del agua tratada. El procedimiento consiste en lo siguiente:

- En el proceso biológico se efectúa una precipitación simultánea con objeto de conseguir en el agua tratada un contenido en fósforo inferior a 1 mg/l.

- El agua tratada pasa a continuación por un filtro, previamente mezclada con una pequeña dosis de reactivo. (Dapena, Eliminación del fósforo en las aguas residuales)

Mixtos (biológicos + químicos)

(Dapena, Eliminación de fósforo en aguas residuales)

### 3.5 Microalgas

Las microalgas son microorganismos microscópicos (2-200  $\mu\text{m}$ ) fotosintéticos, también son polifacéticos y eucariotas, (excluyen, por tanto, las cianobacterias, que dejaron de considerarse auténticas algas al pasar al reino procariota) que pueden crecer de manera autotrófica o heterotrófica. En general son altamente eficientes en la fijación de  $\text{CO}_2$  y utilización de la energía solar para producir biomasa. Están presentes en todos los cuerpos de agua, como lagos, mares y ríos, pero no están supeditados solo al agua. Se encuentran presentes en el suelo y la mayoría de los ambientes terrestres incluso en los más extremos, lo cual permite encontrarlas ampliamente distribuidas en la biósfera adaptadas a una gran cantidad de condiciones. Así como son ubicuos (es decir que están presentes en muchos ambientes), así mismo tienen una gran diversidad taxonómica. Para su desarrollo requieren de  $\text{CO}_2$ , nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y otros nutrientes menores como metales, los cuales son esenciales porque actúan como cofactor de enzimas esenciales del metabolismo de las microalgas. (J)

Las microalgas han despertado un enorme interés debido a que son microorganismos fotosintéticos que se caracterizan por su rápido crecimiento, las células se duplican en un periodo de 1 a 10 días, tienen un alto contenido lipídico (más del 50% en peso de materia seca en algunos casos) y utilizan menos superficie para su cultivo. Además, se obtiene una producción de aceite de 15 a 300 veces mayor que con otras especies para una misma área y son los microorganismos con mayor capacidad para fijar el  $\text{CO}_2$ .

Las microalgas son organismos fotosintéticos, capaces de generar productos como aceites, proteínas, biodiesel, antioxidantes y otros complementos alimenticios, además son útiles en la generación de productos bioactivos (estos compuestos cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud) y pueden ser utilizados en la búsqueda de agentes antimicrobianos, capaces de inhibir la proliferación de ciertas bacterias. En el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, CIBNOR, la doctora Bertha Olivia Arredondo y la Maestra Norma Ochoa, se encuentran realizando trabajos de investigación sobre los efectos aplicables a otras especies, aprovechando la increíble capacidad de adaptación de estos microorganismos a climas extremos.

Actualmente se encuentran desarrollando una línea de obtención de agentes antimicrobianos a partir de extractos de microalgas, mismos que se sometieron con cepas de *Vibrio*; una bacteria



que ha causado muchos problemas en la población de camarón, y encontramos que, en efecto, varios de nuestros extractos de microalgas inhibieron el crecimiento de esta bacteria. Con ello, se busca la posibilidad de generar una vacuna o patente y eventualmente introducirlo al campo de la salud humana. Recientemente se realizó en Cibnor el curso “Fundamentos sobre Biorreactores, Diseño e Implementación de Bioprocesos aplicados a la Biotecnología de Microalgas”, de la mano del Ingeniero Francisco Gabriel Acién Fernández, de la Universidad de Almería en España, un experto en el diseño de sistemas de foto-biorreactores o recipientes sensibles a la luz solar donde se cultivan las algas. Aquí se presentan conferencias, talleres e intercambio de conocimientos entre productores, investigadores, y empresarios nacionales e internacionales, con conocimientos previos en el cultivo de esta especie, con el objetivo de hacer de esta producción un campo fértil para la economía en México. (biologicas).

### 3.5.1 Aplicaciones de las microalgas

Las microalgas se encuentran desde el Ecuador terrestre, hasta las regiones polares y se reconocen como fuente de biomoléculas y metabolitos de gran importancia económica. Constituyen una fuente directa de alimento, medicamentos, forraje, fertilizantes y combustible, e incluso son indicadoras de contaminación. (Santos, 2014)

#### Aplicaciones biotecnológicas

##### Alimentación humana y animal

En la década de 1950, científicos alemanes comenzaron a cultivar microalgas en forma masiva para obtener lípidos y proteínas que reemplazarían a las proteínas animales y vegetales convencionales, con el objetivo de cubrir el consumo del ganado y del hombre.

Recientemente, los cultivos masivos de microalgas se han proyectado como una de las posibilidades para combatir del hambre y la desnutrición mundial. Las microalgas poseen concentraciones de nutrientes poco comunes, las cuales son superiores a las observadas en cualquier especie de planta superior. Un gramo diario de microalgas constituye una alternativa para complementar una dieta deficiente. (Escalante, 2017)

##### Ventajas de su uso como alimento

Entre las ventajas del uso de microalgas como alimento, tenemos las siguientes:

- Alta velocidad de crecimiento microalgal (presentan un rendimiento 20 veces mayor que la soja por unidad de superficie).
- Genera beneficios medidos en el “perfil hematológico” y en el “estatus intelectual” del consumidor, al consumir pequeñas dosis diarias como suplemento alimenticio.
- Alto contenido proteico respecto a otros alimentos naturales.
- Elevada concentración de vitaminas y minerales: la ingestión de 1 a 3 gramos al día de subproductos microalgales, aporta cantidades apreciables de beta-caroteno (provitamina A), vitaminas E y complejo B, hierro y oligoelementos.
- Fuente nutritiva altamente energizante (en comparación con el ginseng y el polen colectado por abejas).
- Son recomendables para el entrenamiento de alta intensidad.
- Por su concentración, poco peso y facilidad de transporte, el extracto seco de microalgas es adecuado como alimento no perecedero para almacenar en previsión de situaciones de emergencia.

### Harinas de microalga

La biomasa de algas procede de arribazones, se seca (al sol o en secaderos tipo tabaco) y se trocea y/o muelen para dar unas harinas entre 1500 y 200 micras. Estas harinas se "espolvorean o se disuelven en agua para efectuar hidrosiembras. Su elevado contenido en alginatos (entre el 20 y el 40% del peso seco) les confieren el efecto "coloidal-humectante-viscosante-adherente-adsorbente-nutriente" en soluciones acuosas (10 – 20% peso/volumen) Se pulverizan (a veces con semillas) a suelos erosionados o contaminados, taludes, campos de cultivo. (Reina, s.f.)

### Fertilizantes

Las microalgas se utilizan como biofertilizantes y acondicionadoras del suelo. Estos microorganismos foto autótrofos recubren rápidamente los suelos removidos o quemados, reduciendo el peligro de erosión. Algunas especies favorecen la fijación de nitrógeno, y han hecho posible, por ejemplo, el cultivo de arroz en terrenos anegados durante siglos, sin adición de fertilizantes. Otras especies se emplean para reemplazar la cal en los abonos compuestos.

### Tratamiento de aguas residuales

Las microalgas se aplican en procesos de transformación de materia orgánica de aguas residuales, generando biomasa y agua tratada para riego. En este proceso, las microalgas aportan el oxígeno necesario a las bacterias aeróbicas, degradadoras de sustancias orgánicas contaminantes.

### Indicadores de contaminación

Dada la importancia ecológica de las microalgas como productoras primarias de los ambientes acuáticos, son organismos indicadores de contaminación ambiental. Además, presentan gran tolerancia a metales pesados tales como cobre, cadmio y plomo, así como a los hidrocarburos clorados, por lo cual pueden ser indicadores de la presencia de estos metales.

Algunas especies (por ejemplo, *Chlorella spp.* y *Spirulina máxima*), han sido utilizadas para purificar biogás, ya que consumen el dióxido de carbono como fuente de carbono inorgánico, además de controlar simultáneamente el pH del medio.

### Biocombustibles

Las microalgas biosintetizan una amplia gama de subproductos bioenergéticos comercialmente interesantes, tales como grasas, aceites, azúcares y compuestos bioactivos funcionales. (Perdomo)

### 3.5.2 Medios de cultivo

El medio de cultivo es una disolución acuosa que transporta los nutrientes inorgánicos que necesitan las microalgas para su crecimiento. El suministro de medio de cultivo y las concentraciones de los nutrientes deben estar acoplado con la producción de biomasa de forma que se suministren en cantidad suficiente para que nunca se produzca una limitación que tendría como consecuencia una disminución en la productividad de biomasa o incluso alguna disfunción del cultivo como la foto inhibición. (Sevilla, 2014)

Las cepas, también llamadas cultivos patrón, de las especies preferidas constituyen la base del cultivo. Normalmente las instituciones o laboratorios de investigación nacionales guardan colecciones acreditadas de cultivos desde donde se pueden obtener las cepas en forma de cultivos mono específicos (unialgales). Como se trata de cultivos valiosos, normalmente se

guardan en medios especializados como, por ejemplo, el Erdschreiber, o si no en medio F/2, o en portaobjetos o placas de agar inclinadas y enriquecidas con nutrientes, en condiciones de riguroso control de temperatura e iluminación. Para ello se suele contar con una zona o sala especial independiente de la sala de cultivo de algas.

Habitualmente, las cepas se emplean sólo para suministrar líneas de inóculos cuando la ocasión lo requiere. Es importante intentar minimizar el riesgo de que los microorganismos competidores contaminen las cepas e inóculos. Se recomienda seguir los procedimientos estériles que se describen a continuación para evitar cualquier contaminación. (Bourne, 1989)

Se han desarrollado diferentes medios para el cultivo de microalgas que van desde las fórmulas para enriquecer el agua de mar natural, hasta el uso de medios artificiales que permitan resultados constantes en contraste con los resultados tan variables que brinda el uso del agua de mar natural que entre otros factores depende del lugar donde se colecta ésta, y el tiempo de almacenamiento de la misma. Los medios artificiales se usan principalmente para fines experimentales, ya que como se ha mencionado, brinda resultados constantes, aunque existen algunas especies que no crecen en medios artificiales por factores desconocidos que afectan su crecimiento. (microalgas, s.f.). La diferencia fundamental es que estos cultivos se hacen, en general, con el objeto de ensayar qué condiciones maximizan el crecimiento ( $\mu$ , velocidad específica de crecimiento,  $1/t$ ) o la productividad ( $P_b$ ,  $g/L/t$ ). Los experimentos en laboratorio a esta escala también permiten explorar las complejas relaciones que existen entre la concentración de biomasa ( $C_b$ ) la disponibilidad de luz ( $I$ ) y la velocidad específica de crecimiento que, a su vez, determina la productividad ( $P_b = C_b \cdot \mu$ ).

Los experimentos a esta escala son a menudo monoalgales pero no son axénicos, a diferencia de los cultivos en placa. Esto quiere decir que se cultiva una única especie de microalga pero esta va acompañada de un cierto número de bacterias con las que suele coexistir. Esto no es solo tolerable, sino deseable, ya que en fotobiorreactores a gran escala es imposible mantener cultivos axénicos y los resultados de laboratorio podrían diferir.

### 3.5.3 Condiciones de cultivo de microalgas

Muchos factores contribuyen para el desarrollo óptimo de los cultivos de microalgas, algunos de éstos afectan las características del crecimiento. Los recipientes de cultivo más comúnmente usados son de materiales no tóxicos como las cajas de Petri, matraces Erlenmeyer, matraces Ferenback, carboys o garrafas, etc., adecuados para cultivos de laboratorio. Para cultivos a gran escala los recipientes de plástico, madera y concreto son los más recomendables, incluyendo los estanques rústicos en áreas rurales son los sistemas más económicos. En cultivos masivos la aireación es un factor muy importante para la homogenización de los nutrientes y para evitar la sedimentación de las microalgas. Las diatomeas suelen acumularse en lugares donde el agua no se mezcla, esto también depende de la forma del recipiente de cultivo que cuando no es adecuado retarda el crecimiento.

Otro factor importante es la penetración de la luz en el cultivo; en los cultivos masivos la profundidad es tan grande que la intensidad de la luz incidente no es suficiente para la fotosíntesis, hasta el fondo del tanque. En los cultivos masivos a la intemperie la penetración de la luz es más efectiva, pero se debe reducir la intensidad de la luz fuerte, cubriendo estos estanques con una malla. En cultivos a gran escala es recomendable la inyección de CO<sub>2</sub> (0.5%) para contribuir al proceso fotosintético. Para muchas especies de Diatomeas la temperatura óptima oscila entre los 15 y 20°C, pocas especies de esta familia crecen a más de 28°C, las clorofíceas pueden soportar altas temperaturas. El crecimiento y la división celular son afectados por la intensidad de la luz y el fotoperíodo (horas de iluminación y oscuridad) en relación también a la temperatura, por ejemplo, en Diatomeas a 20°C y 1,000 lux se obtiene un crecimiento favorable. (Cultivo de microalgas , s.f.)

El fotoperíodo es un factor que regula la división celular, en diatomeas la reproducción asexual (división) ocurre durante el período de luz y éste es acelerado bajo iluminación continua. En contraste las especies formadoras de exosporas (esporas sexuales), dan lugar a células del mismo tamaño y esto ocurre en el período de oscuridad. Por lo tanto, el período de iluminación puede ajustarse de acuerdo a los objetivos del cultivo: el fotoperíodo continuo (horas de iluminación prolongada) produce crecimientos rápidos, un fotoperíodo con horas de luz y oscuridad semejante al fotoperíodo solar mantiene un crecimiento normal y saludable. (Urbano, 2020)

| TABLA 8. REQUERIMIENTOS PRINCIPALES DE LOS CULTIVOS DE MICROALGAS |                               |                                                  |                   |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------|
|                                                                   | REQUERIMIENTOS                | COMPUESTOS QUÍMICOS                              | VALORES           |
| Físicos                                                           | Luz                           |                                                  | 2,000 – 4,000 lux |
|                                                                   | Temperatura                   |                                                  | 15 – 22°C         |
|                                                                   | Salinidad                     |                                                  | 0.37‰             |
|                                                                   | pH                            |                                                  | 7 – 9             |
|                                                                   | Redox                         |                                                  |                   |
| Nutritivos                                                        | C                             | CO <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ≈                | g/100 ml          |
|                                                                   | O, H                          | O <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O                  | g/100 ml          |
|                                                                   | N                             | N <sub>2</sub> NH <sub>4</sub> + NO <sub>3</sub> | g/100 ml          |
|                                                                   | P                             | PO <sub>4</sub> ≈                                | g/100 ml          |
|                                                                   | S                             | SO <sub>4</sub> ≈                                | g/100 ml          |
|                                                                   | Na, K, Ca, Mg                 | Sales                                            | g/100 ml          |
|                                                                   | Fe, Zn, Mn, B, Br, Si         | Sales                                            | mg/100 ml         |
|                                                                   | Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al, et | Sales                                            | μg/100 ml         |
|                                                                   | Vitaminas                     | B <sub>12</sub> , tiamina, biotina               | μg/100 ml         |

#### 3.5.4 Requerimientos físicos para el cultivo de microalgas

##### La luz

las microalgas son fotoautótrofas encargadas de convertir la energía luminosa en metabólica por medio de la fotosíntesis y sus periodos de exposición a esta pueden ser continuos mediante luz artificial discontinuos periodos de iluminación alternados con periodos de oscuridad también con luz artificial o el ciclo natural día y noche.

##### La aireación

Esta asegura la distribución homogénea de las células y los nutrientes dentro del cultivo dejándolos disponibles para su mejor aprovechamiento mejora la distribución de la luz a las células asegurando que permanezcan fotosintéticamente activas evitando que se sedimenten y previene una estratificación térmica (A., 1989).

##### Temperatura

Las microalgas en las que se está interesado generalmente para su cultivo son las consideradas como especies tropicales debido a que su crecimiento no sufre alteraciones en un intervalo de 16 a 27°C presentando un óptimo de 24°C. Bajas temperaturas en referencia con el intervalo

anterior no matan a la microalga sin embargo puede provocar una disminución de crecimiento temperaturas arriba de 35°C provocarían que la mayoría de las microalgas colapsaran.

### **Salinidad**

El intervalo de salinidad óptimo para una microalga depende de la especie, generalmente en el cultivo a interiores este parámetro no es controlado y se maneja la salinidad presente en el agua de mar en un cultivo a exterior la salinidad se convierte en el parámetro control en el crecimiento de la microalga. (PIÑERA, 2015)

### **pH**

El pH del cultivo está influenciado por varios factores como la productividad algal, la respiración, la alcalinidad y composición iónica del medio de cultivo, la actividad microbiana autotrófica y heterotrófica y la eficiencia del sistema de adición de CO<sub>2</sub>. Como en los otros parámetros, cada especie necesita un rango determinado de pH que permita un crecimiento óptimo (Martínez 2008), siendo pH 8 el más indicado para especies dulceacuícolas (Park et al. 2011a). Por encima o debajo de éste, presentan un descenso en la productividad, que no solo afecta el crecimiento algal, sino también la capacidad de remover el nitrógeno en sistemas de tratamientos de aguas.

El pH puede controlarse con un sistema automatizado de inyección de CO<sub>2</sub>, o incluso, con adicción de ácido o base permitiendo, además, suministrar CO<sub>2</sub> necesario para cultivos de alta productividad. (Hernández-Pérez, 2014)

## **3.5.5 Requerimientos nutritivos para el cultivo de microalga**

### **Hidrógeno**

El hidrógeno es una gran parte de la materia viva en general y de la biomasa microalgal en particular, especialmente si se mide en base molar. El origen de la mayor parte del hidrógeno presente en la biomasa es el agua. Ésta es la fuente de electrones que permiten reducir el NADP<sup>+</sup> a NADPH creando poder reductor para ser usado posteriormente en el ciclo de Calvin. La rotura del agua tiene lugar en el fotosistema II y la reacción da como subproducto el oxígeno molécula que liberan al aire todas las plantas, algas y microalgas.

### **Carbono**

Las microalgas foto autotróficas, por definición, tienen como única fuente de carbono al CO<sub>2</sub>. El CO<sub>2</sub> puede estar en el medio como alguna sal derivada, tal como carbonato o bicarbonato, pero su reducción e incorporación a la biomasa en el ciclo de Calvin siempre se produce teniendo como sustrato al CO<sub>2</sub> molecular. El carbono constituye aproximadamente un 50% de la biomasa en peso medido en base seca libre de cenizas.

## **Nitrógeno**

El nitrógeno constituye una parte relativamente importante de la biomasa, aproximadamente el 5% (masa sobre peso seco), ya que entra en la composición de proteínas y nucleótidos.

Las principales fuentes de nitrógeno son:

- Nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>): es, en general, la forma mejor absorbida, pese a que en esta especie el nitrógeno está muy oxidado (+5) y debe ser reducido hasta el estado de oxidación del grupo amino (-NH<sub>2</sub>) que es como se encuentra en las proteínas (-3). Esto consume una gran cantidad de poder reductor (NADPH) y eleva el pH al consumir H<sup>+</sup>. El nitrato, normalmente suministrado como nitrato sódico, es bien tolerado en concentraciones muy altas, del orden de varios gramos por litro, si bien en base molar el contenido en nitrógeno es relativamente bajo.
- Amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>): el amonio también es absorbido por muchas especies como fuente de nitrógeno, aunque resulta ligeramente tóxico para otras. En general se acepta que es bien tolerado en concentraciones de hasta 50 mg/L, aunque algunas especies aguantan concentraciones sustancialmente más altas. El amonio como nutriente tiene gran importancia en el tratamiento de aguas residuales.
- Aminoácidos y urea: son otras fuentes potenciales con un estado de reducción favorable (-3) aunque son poco usados y no presentan ventajas significativas y sí un coste sustancialmente más elevado.
- Nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>): Algunas cianobacterias, como *Anabaena*, son capaces de fijar el nitrógeno de la atmósfera gracias a unas células especiales denominadas heterocistos. A la derecha puede ver un filamento de *Anabaena* con un heterocisto en el centro. Estas cianobacterias tienen la ventaja de no necesitar nitrógeno en el medio ya que lo cogen de la atmósfera. Al carecer de N en el medio, los cultivos son resistentes a invasiones, aunque su crecimiento es lento. (Microalgal Biotechnology, 2014)



## **Oxígeno**

Aunque es una parte muy importante de la biomasa, está presente tanto en el agua como en el  $\text{CO}_2$ , por lo que no es necesario suministrarlo de otra manera. De hecho, tanto el  $\text{CO}_2$  como el agua contienen más oxígeno que carbono e hidrógeno respectivamente. El oxígeno que se incorpora a la biomasa es el que de la molécula de  $\text{CO}_2$ . El que se libera como  $\text{O}_2$  es el de la molécula de agua.

## **Fosforo**

El fósforo aparece en importantes intermedios metabólicos y en moléculas estructurales como los fosfolípidos. El fósforo es suministrado como fosfato o fosfatos ácidos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,...) que a menudo son bastante insolubles en presencia de otros iones del medio (como el  $\text{Ca}^{2+}$ ), por lo que es importante seguir las instrucciones de preparación del medio para que no precipite.

### 3.5.6 Micronutrientes

Manganeso, cobre, cobalto, zinc, molibdeno, vanadio y otros

Aparecen en muy pequeña cantidad y no deben ser añadidos en exceso. Son cofactores de enzimas y por tanto imprescindibles para algunas especies de microalgas. A veces se encuentran algunas vitaminas entre los micronutrientes necesarios.

### 3.6 Fotobiorreactores

Los fotobiorreactores son dispositivos de cientos de litros o metros cúbicos cuya finalidad es la producción masiva de una microalga. Estos dispositivos se usan para producir biomasa microalgal en cantidades del orden de kilos al día o de toneladas al año. Los fotobiorreactores están diseñados para una microalga en concreto e incluso para una aplicación específica (ejemplo, producción de astaxantina), lo que no quiere decir que no puedan usarse para varias especies. A diferencia de los cultivos en laboratorio, su objetivo no es obtener datos de crecimiento, si no que se usan los modelos de crecimiento obtenidos en laboratorio para diseñarlos.

Los fotobiorreactores para el cultivo masivo operan en su inmensa mayoría usando luz solar. (Almeria, 2014). Los fotobiorreactores son sistemas cerrados. Pueden presentar diferentes

configuraciones: tuberías, placas, depósitos o cúpulas hemisféricas. Todas ellas tienen en común que sus superficies de cierre son transparentes ya que el principal factor que afecta a su diseño es la penetración de luz. Los fotobiorreactores pueden ser operados de manera completamente manual o incorporando monitorización automatizada y sistemas de retroalimentación para mantener las condiciones más estables. Como otros tipos de biorreactores, pueden trabajar en modo “batch”, de manera continua o semicontinua.

Existen diversos factores que influyen ampliamente en el cultivo de microalgas y determinan el diseño del reactor a emplear. La baja densidad celular origina varios inconvenientes, incluyendo baja productividad, fácil contaminación, costosa recuperación del producto de medios diluidos y dificultad para el control de la temperatura en los sistemas de cultivo cerrados. Estos inconvenientes estimularon el desarrollo de fotobiorreactores contruidos con materiales transparentes como vidrio y policarbonato, entre otros materiales. Los primeros FBR fueron propuestos por Gudin y Chaumont (1983), Pirt y col., (1983), y Torzillo y col., (1986). En la última década los fotobiorreactores tubulares y de placas planas han recibido mucha atención ya que permiten establecer cultivos de alta densidad celular, tres o más veces en comparación con los sistemas convencionales.

### 3.6.1 Tipos de fotobiorreactores

#### Fotobiorreactor de placas planas

Los reactores de placas planas (“Flat Plat Reactors” o FPR) siguen un concepto de diseño simple que busca un uso eficiente de la luz. Están formados por paneles estrechos contruidos para lograr una relación área a volumen alta. Estas placas o paneles forman un sistema mediante la conexión de unas con otras. Dichas conexiones también son utilizadas para introducir gas y sustancias nutritivas. La introducción del CO<sub>2</sub> se suele realizar por la parte baja del panel para asegurar que tenga suficiente tiempo para interaccionar con las algas. En general, las principales ventajas de estos fotobiorreactores son su alta productividad y una distribución uniforme de la luz. (HERNÁNDEZ, 2012)



Ilustración 2 Fotobiorreactor de placas planas

### Fotobiorreactor tubular vertical

Los reactores de columna burbujeante son los ejemplos más típicos de fotobiorreactores tubulares verticales (“Vertical Tubular Reactors” o VTR). Se trata de una columna cilíndrica fabricada en un material transparente, normalmente polietileno o vidrio ya que permiten una buena penetración de luz y son relativamente baratos. La introducción de gas se lleva a cabo por la parte inferior de la columna y causa una corriente turbulenta que permite optimizar el intercambio de gas. En la actualidad, estos tipos de reactores se construyen con un diámetro máximo de 20 a 30 cm para asegurar el suministro de energía solar. La disponibilidad de luz en este tipo de columnas está influenciada por la velocidad de aireación, las acumulaciones de gas y la velocidad del líquido. (Mérida, 2013)



Ilustración 3 Fotobiorreactor tubular vertical

### Fotobiorreactor tubular horizontal

Un reactor tubular horizontal está formado por haces de tubos horizontales conectados como un sistema de tuberías. El fluido algal suspendido es capaz de circular por esta línea de tuberías. Los tubos se suelen fabricar de plásticos transparentes o vidrio de borosilicato y la circulación se mantiene constante mediante una bomba localizada al final del sistema. La transferencia de gas tiene lugar en las conexiones entre tubos o en unidades de intercambio de gas especialmente diseñadas para este propósito. Su forma ofrece ventajas en relación con los sistemas abiertos, debido a su orientación al sol, resultando una alta y eficiente conversión de luz. Una desventaja de estos sistemas es que puede generar cantidades considerables de calor, los métodos para el enfriamiento ha sido rociar con agua, sumergir en piscinas con temperaturas controladas. (Mérida, 2013)



Ilustración 4 Fotobiorreactor horizontal

### Fotobiorreactor tubular helicoidal

Esta clase de fotobiorreactores son una buena alternativa a los tubulares rectos. La configuración más ampliamente utilizada es la conocida como Biocoil, que fue desarrollada inicialmente por Robinson. Está compuesto de una serie de tubos de polietileno bobinados en una estructura abierta cilíndrica acompañada de una torre de intercambio de gases y un intercambiador de calor. Las sucesivas mejoras de este diseño lo han colocado como uno de los mejor posicionados debido a que se pueden cultivar volúmenes elevados en porciones pequeñas de terreno. (Moran, 2014)



Ilustración 5 Fotobiorreactor helicoidal

#### Tipo fermentador de tanque agitado

Es el fotobiorreactor más convencional y la agitación se da mecánicamente por un impulsor de diferentes tamaños y formas. Al fondo del birreactor se introduce una fuente de carbono y aire con  $\text{CO}_2$ , para el crecimiento de cianobacterias, se debe adaptar un sistema de iluminación interna que permita la distribución de luz. (Mérida, 2013)

#### Tipo híbrido

Se fusionan dos tipos de fotobiorreactores haciendo que se complementen las ventajas y desventajas. Un sistema airlift y uno como tubular con loop externo, colocados de manera horizontal en una piscina con agua temperada. La disposición tubular de los loop ofrecía una alta relación  $S/V$  para la recolección de luz y control de la temperatura. El sistema airlift funciona como gasificador y controlador de velocidad del flujo a través del circuito.

### 3.7 Microalga *Spirulina Máxima*

La cianobacteria coloquialmente conocida como SPIRULLINA (*Arthrospira*), es un microorganismo filamentosos que posee un gran interés en el campo de la biotecnología, debido a que se cultiva en muchos lugares del mundo por su alto valor nutricional. Se considera como un tricoma helicoidal de forma cilíndrica e inmóvil, cuya reproducción se realiza por ruptura intracelular. Su talla oscila entre 13 y 25 micras. (Pedraza, Fundación CIPAV, 1989)

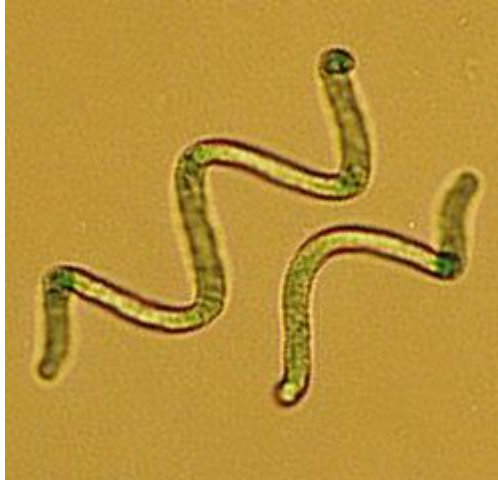


Ilustración 6 Spirulina Máxima

Todas estas propiedades implican que la *spirulina* pueda ser utilizada en diversas aplicaciones, como por ejemplo para la producción de complementos alimenticios animales, o también para la obtención de productos de alto valor añadido. Por otra parte, este microorganismo también encuentra aplicación en las tecnologías relacionadas con el medio ambiente y la energía. La spirulina es potencialmente una microalga capaz de producir biomasa y contribuir, así como fuente de energía renovable, lo que podría ayudar a disminuir los efectos del calentamiento global del planeta. Pero también puede ser utilizada para la depuración de aguas contaminadas, captación y uso de CO<sub>2</sub> o para la producción de biofertilizantes y bioplásticos.

Estos hechos hacen que la spirulina constituya uno de los más atractivos modelos de factoría celular fotobiológica para su estudio y mejora en estos momentos, ya que puede producir una gran cantidad de biocompuestos de una forma barata a través del CO<sub>2</sub> atmosférico y la luz solar. (Gomez, 2015).

Esta microalga es capaz de realizar la fotosíntesis oxigenica y de fijar el nitrógeno del medio, puede crecer en medios minerales que tengan CO<sub>2</sub> como fuente de carbono y N<sub>2</sub> como fuente de nitrógeno a partir de desechos, nitrógeno atmosférico o de la respiración bacteriana. Presenta alto contenido de proteína (50% a 65%) con todos los aminoácidos esenciales que se requieren nutricionalmente. (Pedraza, Fundación CIPAV, 1989)

Esta cianobacteria crece en condiciones alcalinas con un pH que oscila entre 8.5 y 10.5 y a temperatura promedio de 25 a 35°C. La *Spirulina* puede tolerar temperaturas bajas nocturnas hasta de 18°C. Los medios de cultivo pueden ser: químicos, sustratos convencionales y no convencionales. El medio químico debe ser rico en carbonatos, nitratos y sales, pero los elementos que lo componen son muy costosos y usados sólo en grandes producciones de biomasa de proteína, con tecnologías poco aplicables a nivel del pequeño productor.

### Tratamiento de aguas de desecho

Se han tratado aguas de desecho en base a *Spirulina máxima*, utilizada como purificadora de aguas residuales que remueve los nitratos, fosfatos, y otros elementos presentes en gran cantidad. En piscinas de oxidación o estanques se pueden obtener dos productos esenciales: proteína vegetal continúa y aguas tratadas y recuperadas, evitando la contaminación y eutrofización activada por la ozonización del agua lo cual permite utilizar el agua para consumo humano. En Israel se aprovechan las aguas de las costas para producción de microalgas como *Spirulina sp.* o *Scenedesmus sp.*, tratando de implementar métodos menos costosos y eficientes para el tratamiento de aguas de desecho industriales y domésticas. En Londres se utilizan las aguas de tratamiento terciario de desechos para producir biomasa y purificarlas. (Pedraza, 1989)

### 3.8 Microalga *Chlorella* spp.

*Chlorella* sp., es un alga verde de forma elipsoidal, la cual crece en forma de células simples. Pertenecen a la división Chlorophyta y a la clase de las Chlorophyceae. Se ha cultivado de forma intensiva con fines de alimentación y obtención de metabolitos. El sistema por lote es el más utilizado a gran escala por su bajo riesgo de contaminación y fácil implementación. Este género ha sido aplicado al tratamiento biológico de aguas residuales, probando su efectividad en la remoción de nitrógeno, fósforo, demanda química de oxígeno y metales. Su uso en aplicaciones de biorremediación ha sido bastante amplio, en forma suspendida o inmovilizada, como cepa pura o en asociación con otros microorganismos no fotosintéticos. (Cherlys Infante, 2012)

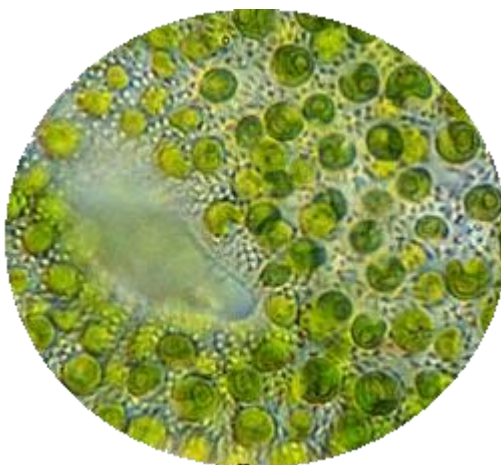


Ilustración 7 *Chlorella* Spp.

*Chlorella* es alta en proteínas y otros nutrientes esenciales. Desecadas son aproximadamente 45% de proteína, 20% de grasa, 20% de carbohidratos, 5% fibra, y un 10% de minerales y vitaminas. El alga *chlorella* contiene 19 aminoácidos incluidos los más esenciales para la vida humana, todas las principales vitaminas, excepto la vitamina D, y todos los principales minerales, y suficiente beta caroteno y xantófilas para que sea un poderoso antioxidante.

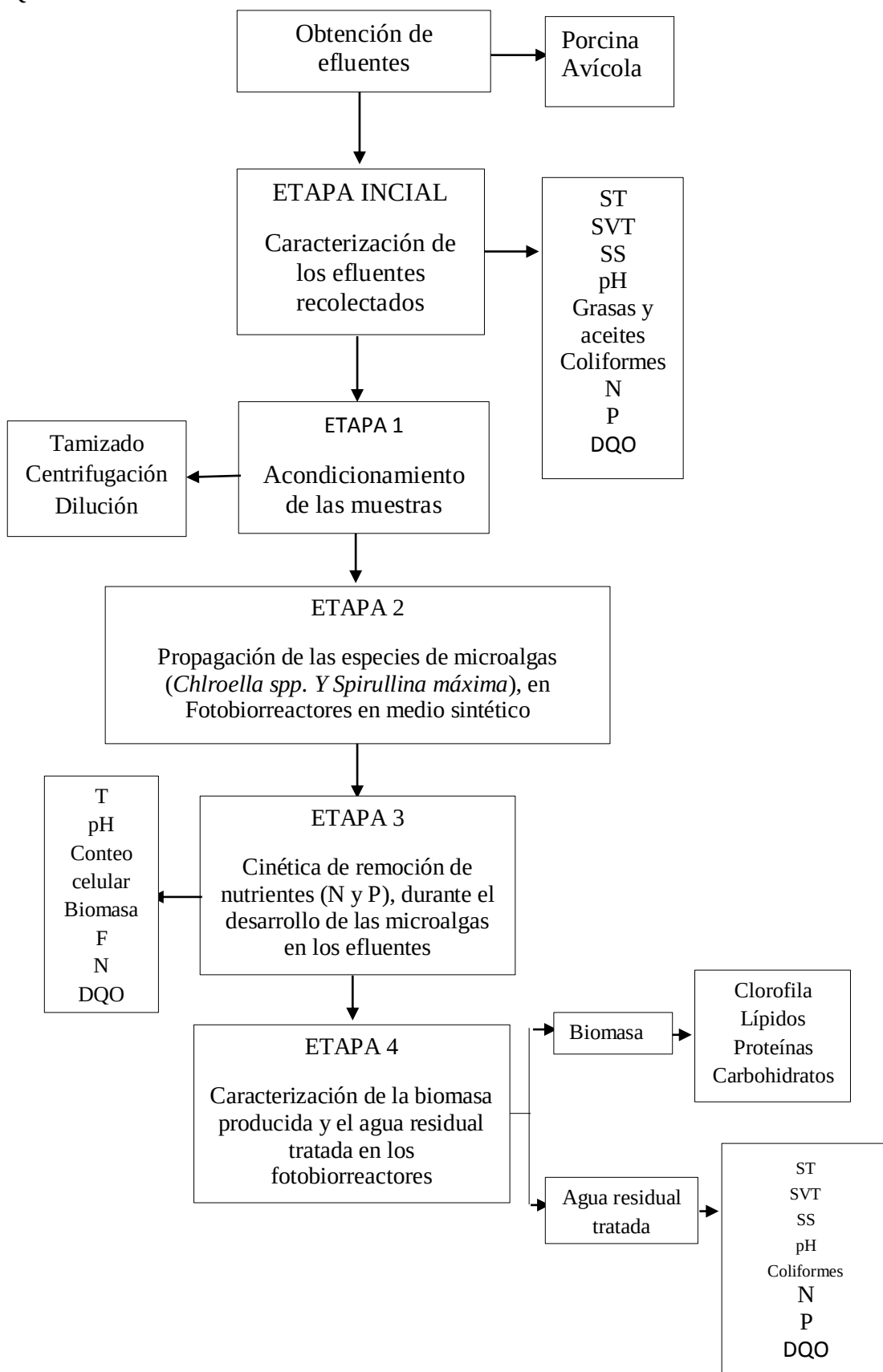
Es rica en hierro de fácil asimilación, gracias a la presencia natural de vitamina C y clorofila, que ayudan al cuerpo a absorber el hierro; así como en fósforo, un mineral que ayuda al cuerpo a absorber el calcio, también presente en el alga. La *chlorella* es rica en luteína, un pigmento natural que protege los ojos de la formación de cataratas.



## CAPITULO IV. METODOLOGIA

En el presente capitulo se describirán las actividades realizadas para el objetivo del proyecto, las etapas que comprende la parte experimental del trabajo y detalladamente las determinaciones realizadas en cada etapa, en la siguiente figura se presenta el diagrama con las correspondientes etapas realizadas:

#### 4. ESQUEMA DE METODOLOGIA



#### 4.1 Obtención de los efluentes porcino y avícola

La muestra porcina se obtuvo de la granja ubicada en el municipio de Mariano Escobedo, Veracruz, la cual se tomó directamente de una fosa séptica del lugar en donde se recolecta el agua de lavado de los criaderos de cerdos, restos de heces fecales y orina. En las siguientes imágenes se muestra el lugar en donde se obtuvo la muestra de 10 L, correspondiente. Se almacenó en un bidón de la capacidad mencionada para su transporte al laboratorio de Ambiental II del Instituto Tecnológico de Orizaba.



Ilustración 8 Fosa séptica



Ilustración 9 Toma de muestra

La muestra avícola se tomó de la planta procesadora Alpesur, ubicada en Fortín, Veracruz. Dentro de esta empresa se cuenta con una planta de tratamiento de aguas de su proceso de matanza de las aves, se decidió tomar de dos diferentes puntos de la planta, la primera antes del cribado como se muestra en la ilustración 10, en este punto aún se encuentra el agua con residuos sólidos grandes, el segundo punto que se muestreo fue después del DAF (Disolved Air Flotación, por sus siglas en Inglés), como se muestra en la ilustración 11, en este punto el agua ha sido tratada con floculantes y coagulantes para poder eliminar casi en su totalidad grasas y aceites dentro del agua residual.



Ilustración 10 Toma de muestra antes del cribado



Ilustración 11 Toma de muestra después del DAF

#### 4.1.1 ETAPA INICIAL, caracterización fisicoquímica de los efluentes recolectados

A partir de la obtención de los efluentes, porcina y avícola en el laboratorio se lleva acabo las determinaciones bases para saber su composición fisicoquímica general de cada muestra recolectada. A continuación, se encuentra la descripción de método de cada tipo de determinación obtenida:

#### 4.1.2 Sólidos Totales (ST)

Los Sólidos Totales se definen como el material residual después de evaporación y secado de una muestra a cierta temperatura, esta determinación se realizó mediante la técnica gravimétrica descrita en el método estándar 2540 G de la APHA-AWWAWPFC (1999). Se evapora la muestra en un crisol a peso constante en una estufa a 103-105 °C por un lapso de 24 horas. El aumento de peso sobre el peso del crisol vacío representa los Sólidos Totales; y el cálculo se realiza con la siguiente ecuación:

$$ST = \frac{(m_3 - m_1)}{V} * 1\,000\,000$$

Donde:

M<sub>3</sub>= es la masa de la capsula con el residuo, después de la evaporación, en g

M<sub>1</sub> = es la masa de la capsula vacía a masa constante en g

V = es el volumen de muestra, en mL

#### 4.1.3 Sólidos Volátiles Totales (SVT)

El residuo producido en la determinación de Sólidos Totales según el método descrito anteriormente, se calcina a 550 °C, durante dos horas. El peso perdido en el crisol tras la incineración del residuo seco, representa el contenido en Sólidos Volátiles. De la misma forma que los Sólidos Totales, esta técnica analítica se realizó de acuerdo con el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999), y el porcentaje se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$STV = \frac{(m_3 - m_4)}{V} * 1\,000\,000$$

Donde:

M<sub>3</sub> = es la masa de la capsula con el residuo, después de la evaporación en g

M<sub>4</sub> = es la masa de la capsula con el residuo, después de la calcinación, en g

V = volumen de la muestra en mL

#### 4.1.4 Solidos Suspendidos Totales (SST)

Es el material constituido por los sólidos sedimentables, los sólidos suspendidos y coloidales que son retenidos por un filtro de fibra de vidrio con poro de  $1.5 \mu\text{m}$  secado y llevado a masa constante a una temperatura de  $105^\circ\text{C}$ .

$$SST = \frac{(m_6 - m_2)}{V} * 1\,000\,000$$

Donde:

$M_2$  = masa del soporte de secado con el filtro antes de la filtración en g

$M_6$  = masa del soporte de secado con el filtro, en g

$V$  = es el volumen de la muestra en mL

En las siguientes imágenes se muestran los equipos y actividades realizadas para la determinación de Solidos, para la caracterización del agua residual.



Ilustración 12 Estufa



Ilustración 13 Mufla



Ilustración 15 ST



Ilustración 14 SST



Ilustración 16 SVT

#### 4.1.5 pH

El pH es el parámetro que indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución, este parámetro se mide de forma directa en la muestra con un potenciómetro. Constituye un parámetro de interés en la caracterización de un cuerpo de agua, su variación indica las alteraciones producidas en el mismo por agentes extraños. Su medida es importante en el tratamiento del agua de consumo humano (control de agua cruda y los procesos de coagulación, desinfección, ablandamiento y de su capacidad de corrosión en la red) en caracterización de aguas residuales y en el tratamiento químico y biológico de desechos industriales y domésticos. En general, en la validación de datos de muestras de agua de diferente procedencia, se debe considerar la relación que existe entre pH, acidez y alcalinidad. También es importante en el equilibrio químico de otros compuestos. (Esparza, 2011)

La determinación de pH se realizó a través de un potenciómetro marca ORION Research, Inc. Model 250 A., que se muestra en la ilustración, siguiendo el método Potenciométrico 4500-H B de la Standard Methods. En primer lugar, se calibro el potenciómetro para evitar una lectura errónea, las soluciones buffer, ya establecidas con pH de 4,7 y 12 se utilizaron para calibrar el potenciómetro antes de ser utilizado.



Ilustración 17 Potenciómetro



Ilustración 18 Medición de pH



#### 4.1.6 Grasas y aceites

Este método permite una estimación de contenido de grasas y aceites en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, al determinar gravimétricamente las sustancias que son extraídas con hexano de una muestra acuosa acidificada. La medición de grasas y aceites es indicativa de grado de contaminación del agua por usos industriales y humanos.

$$GyA = \frac{(m_f - m_i)}{V_m}$$

Donde:

$m_f$  = es la masa del recipiente de extracción con el residuo en mg

$m_i$  = es el valor de la masa constante del recipiente de extracción vacío en mg

$V_m$  = es el volumen de la muestra en L

La determinación de grasas y aceites se realizó con el equipo Soxhlet. Este método se basa en la adsorción de grasas y aceites en tierra de diatomeas, los cuales son extraídos en un Soxhlet empleando hexano como disolvente. Una vez terminada la extracción se evapora el hexano y se pesa el residuo que ha quedado en el recipiente; siendo este valor el contenido de grasas y aceites.



Ilustración 19 Equipo Soxhlet (montado)



#### 4.1.7 Coliformes fecales

La presencia y el grado de contaminación fecal es un factor importante en la evaluación de la calidad de un cuerpo de agua. Examinar muestras de agua para detectar presencia de organismos del grupo de las bacterias coliformes<sup>1</sup> (los cuales normalmente habitan el intestino humano y de otros animales de sangre caliente), provee un indicador de contaminación. Ya que la habilidad de algunos organismos miembros del grupo de las bacterias coliformes de sobrevivir en el agua es limitada, su cantidad puede también ser utilizada para estimar el grado de contaminación fecal reciente. (NMX-AA-042-SCFI-2015, 2015)

La presente norma mexicana NMX-AA-042-SCFI-2015 especifica el método enumeración en agua de organismos coliformes, organismos coliformes fecales (termo tolerantes) y *Escherichia coli* (E. coli) mediante cultivo en un medio líquido contenido en tubos múltiples y cálculo de su número más probable en la muestra, en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.

$$NMP/100\text{ mL} = \frac{10}{V} * F(NMP/100\text{ mL})$$

Donde:

F= valor de las tablas en NMP/ mL, este se obtendrá de la combinación de tubos positivos y negativos, donde se tengan todos los tubos positivos en una misma dilución y las dos diluciones posteriores a esa combinación

V = volumen mayor de muestra

10= factor de dilución

#### 4.1.8 Determinación de Nitrógeno Total Kjendahl

Los compuestos nitrogenados se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Las fuentes de nitrógeno incluyen además de la degradación natural de la materia orgánica, fertilizantes, productos de limpieza y tratamiento de aguas potables. Debido a que el nitrógeno es un nutriente esencial para organismos fotosintéticos, es importante el monitoreo y control de descargas del mismo al ambiente. Analíticamente el nitrógeno orgánico y el amoniacal pueden ser determinados por el método Kjeldahl, el cual se aplica para la determinación del contenido

de nitrógeno en sustancias orgánicas e inorgánicas; aunque la técnica y los equipos han sufrido numerosos cambios desde que fue publicado por primera vez, los principios básicos introducidos por Johan Kjeldahl perduran hasta hoy. (NMX-AA-026-SCFI-2010, 2010)

El método Kjendahl está basado en la combustión húmeda de la muestra calentándola con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores mecánicos como oxido de mercurio, selenio, sulfato de cobre y oxido de titanio, para efectuar la reducción de nitrógeno orgánico de la muestra de amoniaco, la cual es retenido en solución como sulfato de amonio, la solución de digestión de hace alcalina y se destila o se arrastra con vapor para liberar el amoniaco que es atrapado y titulado con una solución normal, para obtener el contenido de nitrógeno orgánico de la muestra.

El porciento de nitrógeno obtenido por este método, se calcula en base a la siguiente formula:

$$\%N = \frac{G * N * 0.014}{M} * 100$$

Donde:

G= mililitros de la solución gastados en la titulación.

N= Normalidad de la solución usada en la titulación.

0.014= mili equivalente de nitrógeno

M= peso de la muestra en gramos o volumen en mililitros

Para conocer el porciento de proteína total a partir del contenido de nitrógeno, se aplica la siguiente ecuación:

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

Donde:

%P=porciento de proteína

%N= porciento de nitrógeno

F= factor de dilución

#### 4.1.9 Determinación de fosforo

La determinación de fosforo se llevó a cabo siguiendo el método colorimétrico 4500-PB 4.

Digestión con ácido sulfúrico- ácido nítrico, empleando el espectrofotómetro.

$$mg\ P/l = \frac{mg\ P\ (en\ vol.\ final\ de\ 58\ ml\ aprox.) * 1000}{ml\ de\ muestra}$$

Este método se basa en la reacción del fósforo contenido en la muestra como ortofosfato con el ácido molíbdico para formar el ácido 12-molibdofosfórico según la reacción:



El ácido 12-molibdofosfórico es reducido por el cloruro de estaño a azul de molibdeno, compuesto de composición desconocida que contiene una mezcla de Mo (VI) y Mo (V), que absorbe a 690 nm. La intensidad del color azul formado depende de la concentración de fosfatos adicionados al heteropoliácido. El método es aplicable cuando el contenido de fósforo en las muestras se encuentra entre las concentraciones de 0,01 mg P/L a 6,0 mg P/L. Todo el fósforo contenido en la muestra debe estar como ión ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), ya que el método espectrofotométrico es esencialmente específico para este ión ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). La materia orgánica de la muestra es destruida por medio de una digestión con persulfato de amonio y ácido sulfúrico, rompiendo las ligaduras orgánicas del fósforo (C-P y/o C-O-P), e hidrolizando las polifosfatos a ortofosfatos.

Dado que este método da resultados variables se requiere una curva de calibración que se hace a partir de una solución patrón de fosfatos. (NMX-AA-029-SCFI-2001, 2001)



Ilustración 20 Espectrofotometro



Ilustración 21 Matraces en digestión

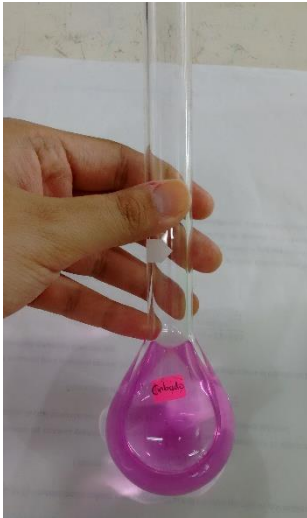


Ilustración 22 Posterior a digestión

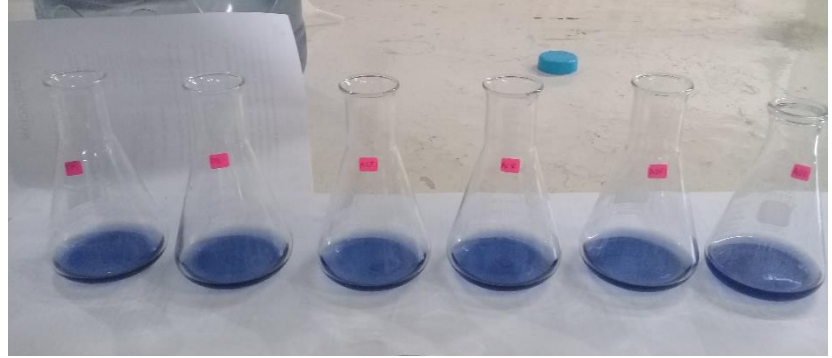


Ilustración 23 Muestras para lectura en espectrofotómetro

#### 4.1.10 Demanda química de oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno, DQO, expresada como concentración de masa (mg/L), está dada por la siguiente ecuación:

$$y(DQO) = \frac{(V_{fas\ o} - V_{fas\ m}) * c_{fas} * M_o * v_o}{V_m}$$

$$M_o * V_o = 8\ 000\ \text{mg/mol}$$

Donde:

$Y(DQO)$ : concentración de masa de DQO, expresado en mg/L;

$C_{fas}$ : Concentración de cantidad de sustancia de sulfato ferroso amoniacal utilizada en la medición, expresada en mol/L;

$V_{fas\ m}$ : Volumen del sulfato ferroso amoniacal (FAS) usado en la porción de prueba, expresado en mL;

$V_{fas\ o}$ : Volumen del sulfato ferroso amoniacal (FAS) usado en la titulación contra el blanco de prueba, expresado en mL;

$V_m$ : volumen de la porción de prueba, expresado en mL;

$M_o$  masa molar de un átomo de oxígeno, expresada en mg/mol, y

$M_o$ : número estequiométrico = 0,5.

## 4.2 ETAPA 1. Acondicionamiento de las muestras

En esta etapa se da un tratamiento previo a las muestras, antes montar los fotobiorreactores, debido a la alta toxicidad del agua residual a tratar, se le da tres tratamientos previos, descritos a continuación:

### 4.2.1 Tamizado

El tamizado es un proceso imprescindible cuando las aguas residuales brutas llevan cantidades excepcionales de sólidos en suspensión, flotantes o residuos, y que consiste en una filtración en la que se hace pasar el agua residual bruta del tamiz. El objetivo de este proceso es conseguir la eliminación de materia que por su tamaño pueda interferir en los tratamientos posteriores. (PRAMAR, s.f.)

Las muestras crudas que se tienen se pasan por mi tamiz para poder descartar posibles solidos que aun queden en el agua residual, en este caso el número de malla utilizado es de 100 con una abertura de 0.149 mm.



Ilustración 24 Tamiz

### 4.2.2 Centrifugación

La centrifugación es un proceso de separación que utiliza la acción de la fuerza centrífuga para promover la aceleración de partículas en una mezcla de sólido-líquido. Dos fases claramente distintas se forman en el recipiente durante la centrifugación. El sedimento generalmente no tiene una estructura uniforme.

Este proceso puede provocar la sedimentación o suspensión de las partículas o puede conseguir la fuerza necesaria para la filtración a través de algún tipo de filtro. La aplicación más común es la separación de sustancias sólidas a partir de suspensiones altamente concentradas. Si se usa de esta manera para el tratamiento de las aguas residuales se consigue la deshidratación y creación de sedimento más o menos consistente dependiendo de la naturaleza del lodo tratado, y la aceleración en concentrar o aumentar el grosor de lodo poco concentrado. (Lenntech,

La muestra ya tamizada, se somete a un proceso de centrifugación durante 30 minutos a una velocidad de 2000 rpm. El equipo que se utilizó es una centrifuga HERMLE LABORATORY GMB H, que se muestra a continuación:



Ilustración 25 Centrifugadora

#### 4.2.3 Dilución

Dilución es el procedimiento que se sigue para preparar una disolución menos concentrada a partir de una más concentrada, y consiste simplemente en añadir más solvente. (Cedron, 2011)

Como se mencionó anteriormente, debido a la alta toxicidad de las muestras de agua residual, se llevó como último paso de acondicionamiento una dilución, para mejor la asimilación de las microalgas al agua y evitar muerte celular. Se llevó cabo diferentes pruebas en donde se variaba la concentración 25, 35, 40 y 50% para las diferentes muestras de agua.





Ilustración 26 Pruebas de muestra acondicionada para cada muestra

En las siguientes tablas se muestran las diluciones empleados en los fotobiorreactores con cada microalga:

Tabla 1. Porcentaje de medio algal y diluciones para Spirullina Máxima

| MUESTRA                  | PORCENTAJE DE MEDIO ALGAL | DILUCIÓN | VOLUMEN TOTAL |
|--------------------------|---------------------------|----------|---------------|
| Porcina                  | 40%                       | 85:15    | 850 ml        |
| Avícola antes de cribado | 30%                       | 80:20    | 850 ml        |
| Avícola después del DAF  | 30%                       | 70:30    | 850 ml        |

Tabla 2. Porcentaje de medio algal y diluciones para Chlorella Spp.

| MUESTRA                   | PORCENTAJE DE MEDIO ALGAL | DILUCIÓN | VOLUMEN TOTAL |
|---------------------------|---------------------------|----------|---------------|
| Porcina                   | 30%                       | 80:20    | 850 ml        |
| Avícola antes del cribado | 30%                       | 75:25    | 850 ml        |
| Avícola después del DAF   | 30%                       | 75:25    | 850 ml        |



#### 4.3 ETAPA 2. Propagación de las especies de microalgas (*Chlorella spp.* Y *Spirulina Máxima*), en fotobiorreactores en medio sintético.

Dentro de la etapa 2, se llevó a cabo la propagación de las especies que se utilizaran en los fotobiorreactores, debido a que se utilizara una determinada cantidad de las especies es necesario aumentar la población por medio de la alimentación y mantenerlas bajo las condiciones necesarias para su sobrevivencia. En primer lugar, se alimentó el alga *Spirulina Máxima* con el medio sintético Zarrouk

##### 4.3.1 Medio Zarrouk

La *Spirulina máxima* se cultiva desde 1960s. En los 70s se reactivó el cultivo de *Spirulina máxima* en el Lago de Texcoco en el sistema Caracol en el estado de México, procesándola hasta inicios de los 90s. En la actualidad, la *Spirulina máxima*, se cultiva en diversos países como Israel, USA, Holanda, Japón, Cuba, Chile, Ecuador, ya sea en cuerpos de aguas naturales o artificiales, en sistemas tipo estanques abiertos en condiciones ambientales los que utilizan paletas giratorias. El medio de cultivo además de los nutrientes es alcalino y con moderada salinidad. La *S. máxima* se ha cultivado a temperaturas desde 15°C hasta 40°C. Las nuevas tecnologías de cultivo utilizan fotobiorreactores para el control de factores contaminantes con mayor aprovechamiento de nutrientes. (Quintero Rodriguez, 2016).

El primer medio sintético formulado para el cultivo de la *Spirulina* fue el medio de Zarrouk, el cual es todavía usado como medio estándar. Este fue definido por primera vez en 1966, y trabajos anteriores muestran que algunos componentes de este medio pueden ser diluidos un poco ya que la concentración de algunos de sus nutrientes es lo suficientemente alta. En los componentes del medio Zarrouk el fósforo tiene un rol esencial ya que mantiene altas tasas de producción en cultivos de microalgas, la mayor forma en que el alga adquiere el fósforo es a través de fosfatos inorgánicos como  $\text{H}_2\text{PO}_4$  - o  $\text{HPO}_4^{2-}$  y la *Spirulina* puede utilizar satisfactoriamente el fósforo en la forma  $\text{P}_2\text{O}_5$ . También el potasio juega un papel importante, es un cofactor para muchas enzimas, está involucrado en la síntesis de proteínas, regulación osmótica y es esencial para el crecimiento. (Trujillo, 2008)

La cantidad de sales utilizadas en el cultivo para la propagación de la especie de microalga *Spirulina Máxima*, se encuentra en la siguiente tabla, tomando en cuenta que estas sales son disueltas en agua 2.5 L de agua destilada o purificada:

Tabla 3. Nutrientes para preparación de medio Zarrouk

| Nutrientes                          | Cantidad para 2.5 litros |
|-------------------------------------|--------------------------|
| NaHCO <sub>3</sub>                  | 42 g                     |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>     | 1.25 g                   |
| NaNO <sub>3</sub>                   | 6.25 g                   |
| K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>      | 2.5 g                    |
| NaCl                                | 2.5 g                    |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O | 0.5 g                    |
| CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O | 0.1 g                    |
| FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O | 0.025 g                  |
| EDTA                                | 0.2 g                    |

Cada uno de los nutrientes se pesó en la balanza analítica, se disolvieron en un matraz aforado de un litro con agua destilada, posteriormente en un frasco ámbar de 4 litros, limpio y seco se depositó el medio con todas las sales ya disueltas, aforando en el matraz para exactitud de 2.5 litros. Como último paso se llevó a la autoclave para una esterilización de 15 minutos a una temperatura de 150° C, terminado la esterilización en la autoclave el medio se deja enfriar el tiempo necesario y se alimenta el alga en los contenedores verticales, acondicionados con medidas necesarias para las microalgas.

Para la propagación de la microalga *Chlorella Spp*, se llevó a cabo una alimentación el medio sintético 3N-BBM+V (CCAP).

#### 4.3.2 Medio 3N-BBM+V (CCAP)

Chlorella apareció en la Tierra hace aproximadamente 1.5 o 2 mil millones de años. Es un alga verde unicelular de agua dulce; de forma esférica, cerca de 2-10 micras de diámetro que es extensamente encontrada en lagos y pantanos por todo el mundo. 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.

Se pesaron los reactivos correspondientes en agua destilada o purificada al medio de cultivo Bold Basal Medium (por sus siglas en ingles), se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4. Reactivos para preparación de medio 3N-BBM+ V

| Reactivos                                         | Cantidad para la solución Stock, aforando a 1 L. | Cantidad para 1 litro de medio de cultivo |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| NaNO <sub>3</sub>                                 | 25 g                                             | 30 ml                                     |
| CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O               | 2.5 g                                            | 10 ml                                     |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O               | 7.5 g                                            | 10 ml                                     |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 3H <sub>2</sub> O | 7.5 g                                            | 10 ml                                     |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                   | 17.5 g                                           | 10 ml                                     |
| NaCl                                              | 2.5 g                                            | 6 ml                                      |
| Solución stock de metales                         | (siguiente tabla)                                |                                           |
| Vitamina (bedollecta)                             |                                                  | 1 ml                                      |
| Vitamina B <sub>1</sub> (tiamina)                 | (siguiente tabla)                                |                                           |
| Vitamina B <sub>12</sub> (cianocobalamina)        | (siguiente tabla)                                |                                           |

Los reactivos para la solución stock se pesan como indica la tabla, cada reactivo se disuelve en agua destilada o purificada y se afora a un litro exactamente, se llevan a esterilización en autoclave por 15 min a una temperatura de 121°C, pueden conservarse en frascos ámbar

previamente esterilizados también, la duración aproximada de cada dilución es de 18 meses, las vitaminas utilizadas pueden conservarse hasta por 2 o 3 años en refrigeración.

En la tabla también se muestra las cantidades necesarias en ml para la preparación del medio para *Chlorella*, agregan lo que indica la tabla en un matraz y aforando a un litro en su totalidad, de la misma forma se lleva a esterilización durante 15 min a la misma temperatura mencionada y se deja enfriar el medio, para poder alimentar al alga. En las siguientes tablas se mostrará los reactivos y cantidades para la preparación de la solución Stock de metales y vitaminas.

Tabla 5. Reactivos para preparación de solución Stock metales

| Reactivos para solución Stock metales               | Cantidad necesaria para 1 L |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------|
| $\text{Na}_2\text{EDTA}$                            | 0.75 g                      |
| $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 97.0 mg                     |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$           | 41.0 mg                     |
| $\text{ZnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 5.0 mg                      |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 2.0 mg                      |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 4.0 mg                      |

Tabla 6. Solución de vitamina B<sub>1</sub>

| Vitamina B <sub>1</sub> | Para 100 ml |
|-------------------------|-------------|
| Tiamina                 | 0.12 g      |

Tabla 7. Solución de vitamina B<sub>12</sub> (cianocobalamina)

| Vitamina B <sub>12</sub> | Para 100 ml |
|--------------------------|-------------|
| Cianocobalamina          | 0.1 g       |

Las vitaminas se pueden esterilizar y conservar en refrigeración a temperatura de -20 °C

#### 4.3.3 Condiciones de operación en fotobiorreactores

Para un buen desarrollo de las micro algas, los fotobiorreactores deben contar con los requerimientos necesarios para su crecimiento y propagación, a continuación, se enlistan los requerimientos y se describen la manera en la que se llevaron a cabo.

Un cultivo tiene tres diferentes componentes: un medio de cultivo contenido en un recipiente adecuado; las algas creciendo en el medio y aire, para permitir el intercambio de dióxido de carbono entre el medio y la atmósfera. Los parámetros más importantes que regulan el crecimiento de las algas son, cantidad y calidad de nutrientes, luz, pH, turbulencia o agitación, salinidad y temperatura. (Barsanti, 2006)

#### 4.3.4 Temperatura

La mayoría de las especies de microalgas toleran temperaturas entre 16 y 27°C, aunque esto puede variar de acuerdo a la composición del medio de cultivo o la especie cultivada. Un valor intermedio de 18-20°C es frecuentemente empleado. Temperaturas por debajo de los 16°C pueden retardar el crecimiento, mientras que aquellas por arriba de los 35°C son letales para cierto número de especies. (Cultivo y elaboración de un producto comestible de *Chlorella*)

La temperatura de los fotobiorreactores utilizados no fue controlada en su totalidad, se encontraron a una temperatura ambiente durante la propagación y la etapa 3 de cinéticas, manteniéndose en un rango de 20- 27° C.

#### 4.3.5 Luz

Como en las plantas, la luz es la fuente de energía que promueve las reacciones fotosintéticas en las algas. Aquí, la intensidad, la calidad espectral y el fotoperiodo deben ser considerados. Los sistemas de cultivos de microalgas pueden ser iluminados por luz artificial, luz solar o ambas. Entre los sistemas de cultivo de algas con iluminación natural con grandes áreas de iluminación se encuentran los estanques abiertos, los llamados platos planos o flat plates, los airlift tubulares o de tipo serpentín y los de tipo inclinado, entre otros. Los sistemas de biorreactores empleados a nivel laboratorio son iluminados interna o externamente por luz artificial con lámparas fluorescentes y diodos emisores de luz (light emitting diodes, LED) entre otros. (Coahuila, 2012).

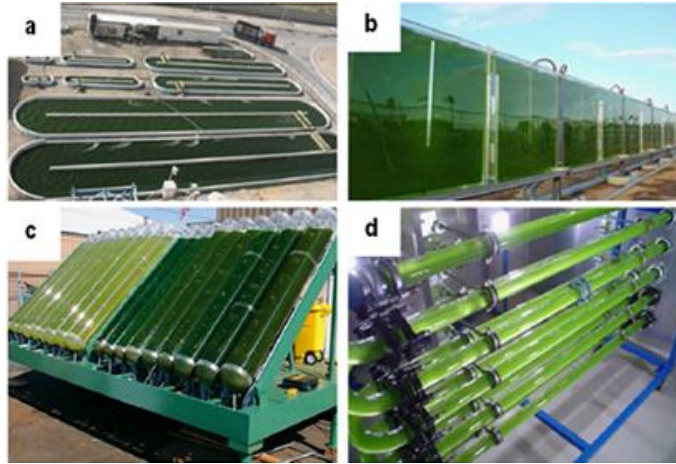


Ilustración 27 Fotobiorreactores utilizados en el cultivo de microalgas: (a) estanque abierto, (b) placa delgada, c) tubular inclinado, d) continuo horizontal

Se mantuvo constante un periodo de luz de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, los fotobiorreactores estuvieron en presencia de luz durante 12 horas con una lámpara de luz led blanca, el tiempo fue controlado con un Timer, programa previamente, asegurando la iluminación a tiempo y exacta.



Ilustración 28 Lámpara para iluminación

#### 4.3.6 pH

Las microalgas tienen diversos requerimientos de pH para su crecimiento. A niveles de pH alcalinos, la disponibilidad de CO<sub>2</sub> puede ser limitante para el crecimiento y la fotosíntesis de microalgas. El rango de pH para la mayoría de los cultivos de microalgas está entre 7 y 9, con un rango óptimo de 8.2 a 8.7. Un pH óptimo en el cultivo generalmente es mantenido gracias a

la aeración con aire enriquecido con CO<sub>2</sub>. En el caso de los cultivos de alta densidad celular, la adición de dióxido de carbono corrige un incremento del pH, el cual puede llegar a un valor límite de 9 para el crecimiento de la microalga. El rango del pH para la mayoría de las especies de algas cultivadas es entre 7 y 9, siendo el rango óptimo 8.2-8.7. Para mantener un pH aceptable es necesario airear el medio de cultivo. (Hartmut, 2001)

#### 4.3.7 Aireación

La aireación es necesaria para prevenir la sedimentación de las algas, para asegurar que todas las células de la población están igualmente expuestas a la luz y los nutrientes, y para mejorar el intercambio de gases entre el medio de cultivo y el aire. Juega un rol importante en el aseguramiento de la distribución de la intensidad de luz, en una suficiente transferencia gaseosa de CO<sub>2</sub> y en el mantenimiento uniforme de pH (GA, 2003).

Favorece el intercambio gaseoso, evita la sedimentación celular, la formación de gradientes de las condiciones ambientales y de la concentración de nutrimentos; pero su función principal es permitir que todas las células puedan acceder a las zonas iluminadas en un fotobiorreactor. La fragilidad celular es con frecuencia un factor que limita la intensidad de agitación que puede aplicarse a un cultivo. En virtud de que la fragilidad celular y las características fotosintéticas, entre otros factores, pueden variar de cepa a cepa, los niveles óptimos de agitación dependerán de cada cepa cultivada.

La aireación se introdujo en los fotobiorreactores por medio de unas bombas para estanques, conectado a un distribuidor de varias mangueras para cada fotobiorreactor, la intensidad de la aireación fue la precisa para evitar un rompimiento celular de cada especie de microalgas, la aireación se mantuvo las 24 horas del día, para evitar sedimentación y una buena distribución de espacio, nutrientes y luz.

#### 4.4 ETAPA 3. Cinética de remoción de nutrientes (N y P), durante el desarrollo de las microalgas en los efluentes

Dentro de la tercera etapa del proyecto se comenzó con una cinética de 21 días para la remoción de nitrógeno y fosforo de cada una las muestras de agua residual, las cinéticas consisten en alimentar el alga con el agua residual que acondicionamos, dándole los tratamientos previos, para evitar la muerte del alga.

Como se planteó anteriormente en el apartado 7. Etapa 1 Acondicionamiento de las muestras, se muestran las tablas con las diluciones de cada una las muestras que se llevarían a cinética, a partir de diferentes consultas a trabajos con microalgas y en tratamiento de agua, se encontraron referencias de días para cinéticas de 6 hasta 30 días, tomando en consideración los ejemplos consultados, se tomaron 21 días de cinética con cada una de las microalgas, durante los 21 días se realizarían diariamente las determinaciones de temperatura, pH, conteo celular, biomasa, nitrógeno y fosforo, mientras que DQO se tomaría tres puntos; inicio, media y final de cinética.

Los efluentes recolectados son 3; porcina, avícola antes del cribado y avícola después del DAF, cada una de las muestras tendrá su réplica, lo cual nos da un total de 6 fotobiorreactores montados con el agua residual y el medio algal especificado, en un ambiente con las condiciones óptimas de luz, pH y aireación. El volumen total de cada fotobiorreactor ha sido especificado en la tabla 1. Porcentaje de medio algal y diluciones para *Spirulina* Máxima, el cual es de 850 ml exactamente. Se empezó con la cinética de *Spirulina* para poder tener una organización en los resultados obtenidos, evitando ser confundidos con los de la otra especie, terminado el tiempo de cinética de remoción con la especie *Spirulina*, se empezó con la cinética de remoción con la especie de *Chlorella*. A continuación, se muestran las imágenes de las cinéticas montadas en laboratorio de cada una de las especies.





Ilustración 29 Cinética Spirulina (montada)



Ilustración 30 Cinética Spirulina (montada)

#### 4.4.1 Temperatura

La temperatura termodinámica, también denominada temperatura absoluta, es una de las magnitudes fundamentales que definen el Sistema Internacional de Unidades (SI) y cuya unidad es el kelvin, simbolizado como K. Esta unidad se utiliza tanto para expresar valores de temperatura termodinámica como intervalos de temperatura. Por acuerdo del Comité Internacional de Pesas y Medidas en 1989, la Escala Internacional de Temperatura (ITS-90) se define operacionalmente en términos de técnicas de medición por termometría de presión de vapor, termometría de gas, termometría con resistencia de platino y pirometría óptica. Es usual expresar la temperatura con base en la escala Celsius (°C), definida con relación a la temperatura termodinámica por:  $t(^{\circ}\text{Celsius}) = T(\text{kelvin}) - 273,15 \text{ K}$ . (Economía, 2014)

Las temperaturas elevadas en el agua pueden ser indicadores de actividad biológica, química y física, lo anterior tiene influencia en los tratamientos y abastecimientos para el agua, así como en la evaluación limnológica de un cuerpo de agua, por lo que es necesario medir la temperatura como un indicador de la presencia de compuestos y contaminantes, a través del método de prueba que se establece en la presente norma mexicana. El valor de temperatura es un criterio de calidad del agua para la protección de la vida acuática y para las fuentes de abastecimiento de agua potable, es también un parámetro establecido como límite máximo permitido en las descargas de aguas residuales y una especificación de importancia en los cálculos de balance de energía y de calor de los procesos industriales.

La temperatura fue tomada diariamente, directamente de los fotobiorreactores, llevado a la bitácora para un registro y organización de los datos, fue tomada con un termómetro de laboratorio, esta se tomaba primero antes cualquier determinación y de sacar muestra.



Ilustración 31 Termómetro

#### 4.4.2 pH

Conceptualmente, el pH en fase acuosa se define como el logaritmo negativo de la actividad del ion hidronio (protón hidratado,  $H^+$ ):  $pH = -\log a_{H^+}$ . De esta definición no puede inferirse directamente el procedimiento de medición de esta magnitud debido a que no es posible determinar de manera experimental la actividad de iones individuales. Por acuerdo internacional se define la diferencia de pH entre dos disoluciones X y P de manera "operacional", esto es, con base en la operación o procedimiento para realizar experimentalmente la determinación.

A una temperatura especificada, la determinación del pH proporciona un valor característico relacionado con el nivel de acidez intrínseca de la disolución examinada. Por el procedimiento de asignación del valor de pH a las disoluciones patrón,  $pH(P)$ , se puede considerar que el pH de una disolución es un número representativo de la actividad del ión hidronio y en disoluciones cuyas concentraciones en electrolitos sean más pequeñas que 0,01 M, el valor del pH difiere poco del logaritmo del valor numérico de la concentración de protones hidratados, expresada en  $\text{mol L}^{-1}$ . El valor de pH es un parámetro regulado por límites máximos permisibles en descargas de aguas residuales al alcantarillado o a cuerpos receptores, también es un parámetro

de calidad del agua para usos y actividades agrícolas, para contacto primario y para el consumo humano. (industrial, 2000)

El pH fue tomado diariamente durante la cinética al igual que la temperatura antes de cualquier otra determinación, el equipo para la medición del pH fue un potenciómetro mostrado en la descripción de la etapa inicial en el punto 6.4, las lecturas fueron registradas en la bitácora para su graficación en los resultados. Tomando en cuenta que el pH es un parámetro que debe mantenerse constante para el desarrollo de las microalgas.

#### 4.4.3 Conteo celular

Es importante conocer la concentración de biomasa generada, esta se lleva a cabo principalmente por dos métodos: cámara de Neubauer y por espectrofotometría. El objetivo de contar algas no es solamente establecer la población (densidad) de células por mililitro que hay en un recipiente, sino también determinar numéricamente el grado de división celular en un determinado tiempo. Los resultados permiten estimar en cierto modo la situación de un cultivo y relacionarlo con la curva de crecimiento de esa población algal. (Burgos, 2013)

A pesar del desarrollo tecnológico que ha tenido lugar en los laboratorios, el conteo visual con hematócitosmetro o cámara de Neubauer sigue siendo el método más utilizado. El conteo directo de células es importante en los cultivos de microalgas ya que es necesario conocer la concentración celular.

La cámara de Neubauer, hemátímetro o hemocitómetro, es un instrumento de laboratorio que consiste en una placa de vidrio especial grueso. Esta cámara sirve para realizar recuentos de algunos tipos celulares como hematíes, glóbulos blancos y plaquetas, aunque puede ser usado para recuento de esporas, espermatozoides, parásitos, etc.

Presenta unas características muy peculiares, pues consta de 3 zonas, una central para el recuento y dos zonas de soporte. Cada cámara posee dos zonas de recuento o retículos, una en la parte superior y otra en la parte inferior. Estos poseen múltiples divisiones en forma cuadrículada. Las zonas de conteo son los cuadros medianos que se encuentran en las 4 esquinas de ambos retículos, más el cuadrado central. El montaje de la cámara debe realizarse con mucho cuidado, pues cualquier detalle influye en el conteo de las células. Son muchos los errores que se pueden cometer, pero si alguno de ellos ocurre se debe desmontar la cámara, limpiar y volver a montar. Entre los principales errores se pueden mencionar los siguientes:

Rebosar la cámara o realizar un llenado insuficiente, dejar secar la cámara, intentar quitar el exceso de líquido con gasa, inclinar la cámara al transportarla, llenar una cámara sucia o mojada, no mezclar bien la dilución o la muestra, entre otros. Todos estos errores darán como resultado un valor irreal. (Gil, s.f.)



Ilustración 32 Cámara de Neubauer

La retícula se encuentra compuesta por nueve cuadros de  $1 \text{ mm}^2$  cada uno (cuadro azul en la figura inferior). Los cuatro cuadros de  $1 \text{ mm}^2$  localizados en cada esquina poseen a su vez 16 cuadros de  $0.0625 \text{ mm}^2$ . El cuadro central (también de  $1 \text{ mm}^2$ ) se encuentra compuesto por 25 cuadros de  $0.04 \text{ mm}^2$  (en verde). Estos cuadros a su vez se encuentran compuestos por cuadros menores de tan solo  $0.0025 \text{ mm}^2$  (en negro). Dada la profundidad de la cámara de tan solo  $0.1 \text{ mm}$ , cada una de estas unidades corresponde a volúmenes fijos conocidos. (Humana, 2013)

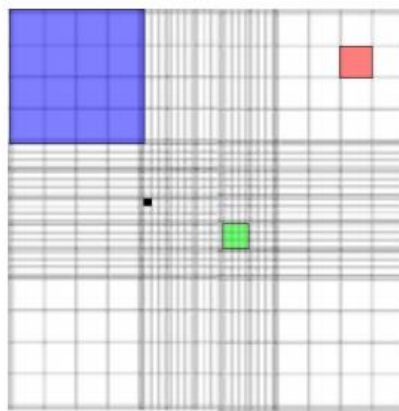


Ilustración 33 Distribución de la cuadrícula

El conteo celular se realizó diariamente, tomando directamente del fotobiorreactor la cantidad de un mililitro con una pipeta milimétrica, calibrada a un 1 mililitro, sobre la parte central de la cámara debe estar puesta un cubre objeto, ambos limpios y secos.

Posteriormente se llena la cámara cuidadosamente con la punta de la pipeta milimétrica, evitando la entrada de aire, soltando suavemente hasta que las zonas de capilaridad se hayan llenado en su totalidad. Una vez llena exactamente la cámara se deja reposar por 2 minutos mínimo para dejar que las células se precipiten y eso nos permita visualizar mejor las células o partículas, así obteniendo una mayor exactitud en los resultados.

Una vez lista la cámara se monta en la platina del microscopio y se enfoca con el objetivo de 10X y luego se pasa al objetivo 40X dependiendo del tipo de célula que se quiera observar. Para mejorar la visualización es posible que se tenga que disminuir el paso de luz, pero dependerá de lo que se desea observar.

El recuento de grandes cuadros en cámara de Neubauer (cuadro en azul de la imagen anterior) esta expresada por la siguiente ecuación, la cual se aplica para el cálculo de la densidad celular de *Spirulina Máxima*.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} * 10000}{\text{número de cuadros}}$$

El recuento para el cuadro central de la cámara de Neubauer (cuadro verde) se aplica para el cálculo de la densidad célula de *Chlorella spp*.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} * 250\,000}{\text{número de cuadros}}$$

#### 4.4.4 Biomasa

La determinación de la biomasa es una de las variables más importantes de un bioproceso, ya que su determinación nos lleva a la comprensión de la eficiencia del mismo. Se trata de una variable clave para establecer las tasas de producción, de consumo de nutrientes y el cálculo de los balances de masa de cualquier proceso biológico. Los métodos clásicos de determinación de biomasa son métodos directos que se basan en el número de células o en el peso celular. Los métodos de enumeración celular son métodos de observación, basados en propiedades físicas o

en la actividad biológica. Actualmente hay un gran interés en métodos alternativos de determinación de la biomasa (Carmen Arnáiz, 2000)

La concentración y la actividad de la biomasa son dos parámetros de gran importancia para el diseño y control de los procesos biológicos. En la depuración biológica de aguas residuales, la determinación del peso seco es una medida muy usada para la caracterización de la biomasa. Sin embargo, este parámetro no es suficiente para describir la actividad biológica. Son necesarios, por tanto, otros métodos analíticos para una mayor comprensión del estado fisiológico de la biomasa. En este trabajo se realiza una revisión de los métodos más comunes aplicados al tratamiento biológico de aguas residuales, así como de las técnicas analíticas más avanzadas. (Carmen Arnaiz Franco, 2000)

La cantidad total de biomasa presente en una muestra puede medirse en términos de peso seco por unidad de volumen, ya sea como sólidos en suspensión totales (SST) o sólidos en suspensión volátiles (SSV). Las células se separan del líquido bien por centrifugación bien por filtración.

Para la determinación de la biomasa, como se ha plateado anteriormente esta se realizó diariamente durante la cinética, a través del método del peso seco por unidad de volumen de la muestra. Como primer paso se tomaba muestra directa de cada fotobiorreactor la cantidad de 5 mililitros para cada crisol, los crisoles eran limpiados y puestos en la estufa a 105° C durante 24 horas para alcanzar su peso constante.

Con los crisoles previamente llevados a peso constante se colocaban en un desecador aproximadamente 20 minutos, se pesaban y anotaban el peso del crisol, inmediatamente se colocaba el volumen de la muestra (5 mililitros), cada muestra conto con 4 crisoles para la determinación de biomasa, es decir; fotobiorreactor de muestra porcina y su réplica, cada uno 2 crisoles, lo que hacía un total de 12 crisoles diarios para obtener la biomasa.

Los crisoles ya con la muestra colocada en ellos se llevaban a la estufa durante 24 horas a una temperatura de 105°C para obtener el peso seco de la muestra colocada. Pasado el tiempo se colocaban de nuevo en el desecado para finalmente tomar el peso final de los crisoles, con la diferencia del peso 1 (P1) y el peso después de la estufa se lograba obtener el total de peso seco o biomasa obtenida por muestra.



Ilustración 34 Determinación de la biomasa

#### 4.4.5 Tasa de crecimiento celular

Número de células o masa celular por unidad.

$$\mu = \frac{\ln X_1 - \ln X_0}{\Delta t}$$

Donde:

$\mu$  = velocidad o tasa de crecimiento celular.

$X_1$  = densidad celular al tiempo t.

$X_0$  = densidad celular al tiempo inicial.

#### 4.4.6 Tiempo de duplicación

Tiempo necesario para que a partir de una célula se formen dos (para que una célula se duplique)

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Donde:

$t_d$  = tiempo de duplicación.

$\mu$  = velocidad o tasa de crecimiento.

#### 9.4.3 Número de generaciones

Numero de divisiones celulares en un determinado tiempo = generaciones.

$$ng = \frac{\log x_1 - \log x_0}{\log 2}$$

#### 4.4.7 Carbohidratos

El método de Antrona, permite la cuantificación de una amplia gama de carbohidratos. En presencia de ácido sulfúrico concentrado, los carbohidratos son deshidratados a furfurales (o hidroxi-metil-furfurales) los cuales condensan con antrona (10-ceto9,10-dihidroantraceno) dando un complejo azul verdoso. La intensidad del color es cuantificada mediante medición de la absorbancia a 620 nm.

El medio ácido hidroliza el enlace glucosídico de la sacarosa y los monosacáridos resultantes reaccionan con la antrona produciendo un color verde-azulado.

#### 4.4.8 Proteínas Método de Lowry

La reacción que tiene lugar en el método de Lowry es bastante compleja y no del todo conocida. Se desarrolla en las siguientes fases:

1.- Reacción previa de la proteína en medio alcalino con iones  $\text{Cu}^{2+}$ , en presencia de tartrato para evitar la precipitación. Es esencialmente idéntica a la reacción de Biuret, formándose un complejo de coordinación entre el cobre y el nitrógeno peptídico.

2.- Reacción con el reactivo de Folin-Ciocalteu para fenoles (ácido fosfomolibdotungstico), que se reduce por medio de los grupos fenol (y en menor medida imidazol e indol) presentes en la proteína a un complejo de color azul oscuro, que se mide colorimétricamente. El complejo coloreado, cuya composición es desconocida, presenta dos máximos de absorción a las longitudes de onda de 560 y 680 nm. La elección de una u otra donde de la concentración proteica de la muestra estudiada.

Dado que este método da resultados variables se requiere una curva de calibración que se hace a partir de seroalbumina bovina.

#### 4.4.9 Clorofila

La determinación de la concentración de pigmentos fotosintéticos nos permite estimar la biomasa y la capacidad fotosintética del fitoplancton. La calidad, distribución y relación entre las distintas clases de pigmentos nos indica el estado fisiológico de la comunidad y la composición de fitoplancton en cuanto a grupos algales. La concentración de pigmentos varía ampliamente y depende del metabolismo algal de factores físico-químicos como la luz, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes.

Los pigmentos algales consisten principalmente en clorofilas (a, b y c) y carotenoides (carotenos y xantofilas). Para estimar su concentración el método consiste en extraer los



pigmentos mediante un solvente orgánico y leer en un espectrómetro la absorción de luz a la longitud de onda específica para cada pigmento.

Para *Chlorella spp* que contiene clorofila a y b expresada en  $\mu\text{g/mL}$ :

$$\text{Clorofila a} = 12.7 \cdot A_{663} - 2.69 \cdot A_{645}$$

$$\text{Clorofila b} = 22.9 \cdot A_{645} - 4.68 \cdot A_{663}$$

Para *Spirulina Máxima* expresada en  $\mu\text{g/mL}$ :

$$\text{Clorofila a} = 13.9 \cdot A_{665}$$

#### 4.5 Rendimiento de la biomasa

El rendimiento es la biomasa producida por cantidad de sustrato consumida. Para calcular dicho rendimiento se utiliza la siguiente expresión:

$$Y = \frac{X_t - X_0}{S_0 - S_t}$$

Donde:

$X_t$ = concentración de células en el tiempo y se calcula en el momento de fase estacionaria en el que el número de células es más elevado (mg/L) la cantidad de sustrato en el tiempo (t) que se obtiene el número de células más elevado  $S_t$ .

$X_0$ = concentración inicial de células del inoculo (mg/L) a la cantidad de sustrato al inicio del cultivo  $S_0$ .

##### 4.5.1 Productividad de la biomasa

La productividad de biomasa se determinó como productividad máxima ( $P_{\max}$ ) de acuerdo con la siguiente expresión.

$$P_{\max} = \frac{X_t - X_0}{t - t_0}$$

Donde:

$X_0$ = concentración inicial de biomasa (g/L) al tiempo  $t_0$ .

$X_t$ = concentración de biomasa (g/L) en cualquier tiempo t.

#### 4.5.2 Determinación de nitrógeno durante cinética

La determinación de nitrógeno se hizo diariamente para poder determinar a través de los datos obtenidos todos los días el porcentaje de remoción de nitrógeno del agua residual durante la cinética. El método empleado para la determinación de esta técnica se especificó anteriormente en la etapa inicial en el apartado 6.7. Determinación de Nitrógeno Taltal kjendahl.

Para determinación de nitrógeno tipo Kjeldahl que consta de:

Digestor con sistema de extracción de humos y destilador con sistema de condensación para mantener la temperatura por abajo de 29°C. Potenciómetro para medición de pH reproducible hasta 0,02 unidades de pH, con compensador de la temperatura y sus respectivos electrodos.

Balanza analítica con precisión de 0,1 mg y balanza granataria con precisión de 0,1 g

Nota: Todo el material usado en esta determinación debe ser exclusivo para este procedimiento. Para el lavado del material remojar durante 1 h en una disolución de ácido sulfúrico al 10 % y enjuagar con agua desionizada. Los detergentes con base de hidróxido de amonio o amoniaco no deben usarse para la limpieza del material. Su uso debe restringirse dentro del laboratorio.

El procedimiento se explica más ampliamente a continuación como lo especifica la norma NMX-AA-026-SCFI-2001, ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL KJELDAHL EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS.

Limpiar el equipo de destilación antes de utilizarlo, destilando una mezcla (1:1) agua-disolución hidróxido - tiosulfato de sodio hasta que el destilado esté libre de amonio.

Selección de volumen de muestra: Determinar el volumen de la muestra de acuerdo a la tabla, si es necesario, ajustar el volumen aproximadamente 500 mL y neutralizar a pH 7. Colocar la muestra medida en un matraz Kjeldahl de 800 mL.

Tabla 8. Selección de volumen de la muestra

| Cantidad de nitrógeno en la muestra (mg / L) | Volumen de muestra necesario (mL) |
|----------------------------------------------|-----------------------------------|
| 0-1                                          | 500                               |
| 1-10                                         | 200                               |
| 10-20                                        | 100                               |
| 20-50                                        | 50.0                              |
| 50-100                                       | 25.0                              |

Tomar una muestra dependiendo de las concentraciones esperadas, de acuerdo a la tabla 1 diluir con agua hasta 500 mL. Preparar un blanco con 500 mL de agua y darle el mismo tratamiento que a la muestra como sigue:

Añadir 25 mL de la disolución amortiguadora de boratos y ajustar el pH a 9,5 con disolución de hidróxido de sodio 6 N utilizando potenciómetro o papel indicador para verificar. Transferir la disolución a un matraz Kjeldahl y añadir unas cuentas de vidrio o perlas de ebullición. Conectar el matraz Kjeldahl al bulbo del aparato de destilación, destilar la muestra cuidando que la temperatura del condensador no pase de 302 K (29°C), recolectando el condensado con la punta del tubo del refrigerante sumergido en 50 mL de la disolución amortiguadora de boratos.

La destilación se completa cuando se hayan recolectado 300 mL de destilado aproximadamente, incluyendo los 50 mL de la disolución amortiguadora de Boratos con la disolución mezcla de indicadores. Retirar el matraz colector y titular con solución de ácido sulfúrico 0,02 N hasta que la solución vire de un verde esmeralda a morado.

Nitrógeno orgánico

Enfriar el residuo contenido en el matraz Kjeldahl.

Digestión: Adicionar cuidadosamente 50 mL de reactivo para la digestión al matraz de destilación y mezclar perfectamente. Añadir unas cuentas de vidrio o piedras de ebullición. Si

se encuentran presentes grandes cantidades de materia orgánica libre de nitrógeno adicionar 50 mL de reactivo de digestión por cada gramo de materia sólida en la muestra. Mezclar y calentar a ebullición bajo una campana de extracción, (eliminar los vapores de  $\text{SO}_3$ ) hasta que el volumen de la disolución se reduzca aproximadamente entre 25 mL y 50 mL y se observe gran desprendimiento de vapores blancos (estos vapores pueden oscurecerse cuando la muestra presenta grandes cantidades de materia orgánica). Continuar la digestión durante 30 min más.

En este período, la disolución cambia de turbia hasta ser transparente e incolora o con una ligera coloración amarillo pálido. Durante la digestión el matraz Kjeldahl debe permanecer inclinado. Enfriar el matraz y su contenido, diluir a 300 mL con agua y mezclar.

Cuidadosamente añadir 50 mL de la disolución de hidróxido-tiosulfato de sodio, para formar una capa alcalina en el fondo del matraz, conectar el matraz a un equipo de destilación y sumergir la punta del condensador en un matraz que contenga 50 mL de disolución de ácido bórico y la mezcla de indicadores por abajo del nivel de esta disolución. Agitar hasta asegurarse que está completamente mezclado, el pH de la disolución debe ser mayor a 11,0.

**Destilación** Destilar y coleccionar aproximadamente 200 mL de destilado, no permitir que la temperatura en el condensador suba por arriba de  $29^{\circ}\text{C}$ . Cuando se alcance un volumen aproximado de 250 mL en el matraz colector del destilado, sacar la punta del condensador del destilado sin retirarlo del matraz y continuar la destilación durante 1 min o 2 min para limpiar el condensador. **Titulación del destilado** Titular el volumen destilado con disolución valorada de ácido sulfúrico 0,02 N hasta el cambio del indicador de verde esmeralda a morado. 9.7 **Blanco** Llevar un blanco durante todos los pasos del método.

#### 4.5.3 Determinación de fósforo durante cinética

Se realizó la determinación de fósforo diariamente durante las cinéticas con cada especie, para poder comprobar y observar el porcentaje de remoción. La técnica se llevó cabo bajo el método colorimétrico 4500-PB 4. Digestión con ácido sulfúrico- ácido nítrico, empleando el espectrofotómetro, que se encuentra en el punto 6.7. Determinación de fósforo dentro de la etapa inicial de caracterización de los efluentes. A continuación, se presentan algunas especificaciones del método más detalladamente.

Digestión de la muestra Preparación de la muestra por medio de la digestión con persulfato. Usar 50 mL o la porción adecuada de la muestra bien mezclada. Adicionar una gota de fenolftaleína. Si aparece un color rojo, adicionar gota a gota ácido sulfúrico concentrado hasta que desaparezca el color. Posteriormente adicionar 1 mL de disolución de ácido fuerte y 0,4 g de persulfato de amonio o 0,5 g persulfato de potasio.

Calentar hasta que rompa la ebullición y mantenerla sobre la placa de calentamiento, por 30 min o 40 min o hasta que el volumen final alcanzado sea de 10 mL. Los compuestos organofosforados pueden requerir de 1,5 h a 2 h para su digestión completa. Enfriar, diluir a 30 mL con agua, adicionar una gota de fenolftaleína, y neutralizar hasta desvanecer a un color rosa pálido con la disolución de hidróxido de sodio. Alternativamente, calentar por 30 min en un autoclave u olla de presión de 98 kPa a 137 kPa. Enfriar, añadir una gota de fenolftaleína y neutralizar hasta desvanecer a un color rosa pálido con la disolución de hidróxido de sodio.

Aforar a 100 mL con agua destilada. En algunas muestras puede formarse un precipitado en esta fase, pero no se debe filtrar. Mezclar bien para cualquier subdivisión de la muestra. El precipitado (posiblemente de fosfato de calcio) se re disuelve bajo condiciones ácidas de la prueba colorimétrica para determinar fósforo.

#### 4.5.4 DQO, durante cinética

La demanda química de oxígeno, se realizó en tres puntos de la cinética, debido a la preparación de los reactivos para llevar a cabo la técnica. Dentro de los 21 días de duración se tomaron tres días para sacar muestra, tomando el primer día de cinética, intermedio y el último día de cinética para poder manejar los datos y encontrar el comportamiento de la demanda química de oxígeno dentro de los Fotobiorreactores.

## CAPITULO V. RESULTADOS

### 5.1 Resultados de la caracterización de los efluentes

Anteriormente se explicó con detalle las determinaciones fisicoquímicas que se realizaron después de la obtención de los efluentes, para conocer la composición y tener un panorama de las condiciones en las que se encontraba el agua residual y que posteriormente nos ayudaría para su acondicionamiento. Los parámetros fueron considerados de acuerdo al Proyecto de Norma Mexicana PROY- NOM-001-SEMARNAT 2017, que establece los límites permisibles de contaminación en las descargas de agua residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

Tabla 9. Límites Permisibles de contaminantes que establece la PROY-NOM-001-SEMARNAT 2017.

| Parámetros (*)<br>(miligramos por litro, excepto cuando se especifique)                                        | Ríos, arroyos, canales, drenes |      |      | Embalses, lagos y lagunas |      |      | Zonas marinas mexicanas y estuarios |      |       | Suelo |      |       |     |      |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------|------|---------------------------|------|------|-------------------------------------|------|-------|-------|------|-------|-----|------|------|
|                                                                                                                | P.M                            | P.D. | V.I. | P.M                       | P.D. | V.I. | P.M                                 | P.D. | V. I. | P.M   | P.D. | V. I. | P.M | P.D. | V.I. |
| Temperatura (°C)                                                                                               | 35                             | 35   | 35   | 35                        | 35   | 35   | 40                                  | 40   | 40    | 35    | 35   | 35    | 35  | 35   | 35   |
| Grasas y Aceites                                                                                               | 15                             | 18   | 21   | 15                        | 18   | 21   | 15                                  | 18   | 21    | 15    | 18   | 21    | 15  | 18   | 21   |
| Sólidos Suspendidos Totales                                                                                    | 60                             | 72   | 84   | 20                        | 24   | 28   | 20                                  | 24   | 28    | 30    | 36   | 42    | 100 | 120  | 140  |
| Demanda Química de Oxígeno                                                                                     | 150                            | 180  | 210  | 100                       | 120  | 140  | 85                                  | 100  | 120   | 60    | 72   | 84    | 150 | 180  | 210  |
| Continuación de la tabla 8.- Límites Permisibles de contaminantes que establece la PROY-NOM-001-SEMARNAT 2017. |                                |      |      |                           |      |      |                                     |      |       |       |      |       |     |      |      |
| Carbón Orgánico Total*                                                                                         | 38                             | 45   | 53   | 25                        | 30   | 35   | 21                                  | 25   | 30    | 15    | 18   | 21    | 38  | 45   | 53   |
| Nitrógeno Total                                                                                                | 25                             | 30   | 35   | 20                        | 25   | 30   | 25                                  | 30   | 35    | NA    | NA   | NA    | NA  | NA   | NA   |
| Fósforo Total                                                                                                  | 15                             | 18   | 21   | 12                        | 15   | 18   | 15                                  | 18   | 21    | NA    | NA   | NA    | NA  | NA   | NA   |

|                                             |           |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---------------------------------------------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Huevos de Helmintos<br>(huevos/litro)       | NA        | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | NA   | 1    |      |      |      |      |
| <i>Escherichia coli</i> ,<br>(NMP/100 ml)   | 1000      | 1200 | 1400 | 1000 | 1200 | 1400 | 1000 | 1200 | 1400 | 1000 | 1200 | 1400 | 1000 | 1200 | 1400 |
| <i>Enterococos fecales*</i><br>(NMP/100 ml) | 1000      | 1200 | 1400 | 1000 | 1200 | 1400 | 1000 | 1200 | 1400 | 1000 | 1200 | 1400 | 1000 | 1200 | 1400 |
| pH<br>(UpH)                                 | 6.5 - 8.5 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |

#### 5.1.1 Caracterización de la muestra porcina cruda

Tomando en cuenta los parámetros que se encuentran en la siguiente tabla, se caracterizó la muestra cruda, sin ningún tipo de tratamiento o dilución para poder realizar una comparación de acuerdo con la norma anterior de los límites máximos permisibles

Tabla 10. Caracterización de la muestra porcina.

| Parámetros fisicoquímicos    | Muestra porcina     | Unidades     |
|------------------------------|---------------------|--------------|
| Temperatura                  | 23                  | °C           |
| pH                           | 7.70                |              |
| Grasas y aceites             | 3050                | mg/L         |
| Sólidos Totales              | 2940                | mg/L         |
| Sólidos volátiles totales    | 940                 | mg/L         |
| Sólidos suspendidos totales  | 2445                | mg/L         |
| Demanda química de oxígeno   | 513.68              | mg/L         |
| Nitrógeno total              | 33.183              | mg/L         |
| Fosforo total                | 3.8848              | mg/L         |
| <b>Parámetros biológicos</b> |                     |              |
| Huevos de Helmintos          | 0                   | Huevos/litro |
| Enterococos fecales          | 1.1x10 <sup>7</sup> | NMP/100 mL   |

De acuerdo a la norma establecida NOM-001-SEMARNAT 2017, presentada anteriormente podemos observar que en la mayoría de parámetros el agua residual porcina sobrepasa los límites máximos permisibles, dentro de las grasas y aceites el límite máximo permisible es de 21 mg/L, mientras que en el agua residual porcino tenemos 3050 mg/L lo cual nos indica que

el agua tiene un alto contenido de grasas no permitidas de acuerdo a la norma, del mismo modo la materia solida presente en el agua sobrepaso lo permitido llegando a un 2445 mg/L, cuando lo permitido es tan solo un 84 mg/L. De acuerdo a la norma el contenido de fosforo se encuentra aún por debajo del máximo permisible, sin embargo, la remoción que se estima debe reducir el contenido de fosforo aún más. El límite máximo permisible para la existencia de Coliformes fecales es de 1400 mg/L, tenemos dentro del agua una existencia muy elevada de coliformes fecales que alcanza un  $1.1 \times 10^7$  mg/L, debido a la composición y origen del agua residual se debe la concentración de coliformes, ya que los lavados que se hacen dentro de la granja van directo a la fosa séptica de donde se ha tomado la muestra.

#### 5.1.2 Caracterización de la muestra avícola antes del cribado

Se llevó a cabo la caracterización de la primera muestra avícola recolectada, la cual no ha sido pasada por la fase del cribado dentro de la planta. Los resultados de los parámetros se encuentran en la siguiente tabla para su comparación con la norma.

Tabla 11. Caracterización de la muestra avícola antes del cribado.

| <b>Parámetros fisicoquímicos</b>   | <b>Muestra avícola antes del cribado</b> | <b>Unidades</b> |
|------------------------------------|------------------------------------------|-----------------|
| <b>Temperatura</b>                 | 25                                       | °C              |
| <b>pH</b>                          | 7.21                                     |                 |
| <b>Grasas y aceites</b>            | 4970                                     | mg/L            |
| <b>Solidos totales</b>             | 2000                                     | mg/L            |
| <b>Solidos volátiles totales</b>   | 1460                                     | mg/L            |
| <b>Solidos suspendidos totales</b> | 1300                                     | mg/L            |
| <b>Demanda química de oxígeno</b>  | 2321.4                                   | mg/L            |
| <b>Nitrógeno total</b>             | 48.3318                                  | mg/L            |
| <b>Fosforo total</b>               | 2.4822                                   | mg/L            |
| <b>Parámetros biológicos</b>       |                                          |                 |
| <b>Huevos de Helminths</b>         | 0                                        | Huevos/litro    |
| <b>Enterococos fecales</b>         | $4.6 \times 10^9$                        | NMP/100 mL      |

La composición de la muestra recolectada avícola varía de acuerdo con el manejo que se da al rastro de aves, sin embargo, es un agua residual con altos índices en sus contaminantes, como se muestra en la tabla, los resultados rebasan la mayor parte de los límites permisibles de la norma, la primera observación se hace en las grasas y aceites, podemos notar que esta aumenta en comparación con la muestra porcina, debido a la gran cantidad de grasas en la matanza de las aves. Los sólidos suspendidos totales rebasan mayormente los límites permisibles, el fosforo



se encuentra por debajo del límite, sin embargo, con el tratamiento se busca un porcentaje bajo para una mejor condición del agua tratada, de igual manera con la muestra porcina los coliformes fecales se encuentran en un porcentaje elevado con un  $4.6 \times 10^9$

De la misma muestra avícola, después del DAF, los resultados se muestran en la siguiente tabla. Se pueden comparar los resultados entre ambas muestras. A pesar de ser de la misma naturaleza, se observan diferencias entre los resultados.

La muestra avícola después del DAF tiene una concentración mayor de fosforo que la muestra avícola antes del cribado, esto debido a que el agua ya lleva un tratamiento con coagulantes y floculantes.

### 5.1.3 Caracterización de la muestra avícola después del DAF

Los parámetros de la caracterización de la segunda muestra avícola después del DAF, nos daremos cuenta en que parámetros el tratamiento de coagulantes puede afectar la muestra avícola, aunque sea de la misma naturaleza de la anterior, sin embargo, el punto de muestreo es diferente en todo el sistema de tratamiento de la planta.

Tabla 12. Resultados de la muestra avícola después del DAF

| <b>Parámetros fisicoquímicos</b>   | <b>Muestra avícola después del DAF</b> | <b>Unidades</b> |
|------------------------------------|----------------------------------------|-----------------|
| <b>Temperatura</b>                 | 25                                     | °C              |
| <b>pH</b>                          | 7.06                                   |                 |
| <b>Grasas y aceites</b>            | 970                                    | mg/L            |
| <b>Sólidos totales</b>             | 1440                                   |                 |
| <b>Sólidos volátiles totales</b>   | 800                                    | mg/L            |
| <b>Sólidos suspendidos totales</b> | 1020                                   | mg/L            |
| <b>Demanda química de oxígeno</b>  | 1593.76                                | mg/L            |
| <b>Nitrógeno total</b>             | 51.5779                                | mg/L            |
| <b>Fosforo total</b>               | 3.9281                                 | mg/L            |
| <b>Parámetros biológicos</b>       |                                        |                 |
| <b>Huevos de Helminetos</b>        | 0                                      | Huevos/litro    |
| <b>Enterococos fecales</b>         | $4.6 \times 10^9$                      | NMP/100 mL      |

La segunda muestra tomada de Alpésur, se tomó después de un tratamiento con coagulantes por lo que los resultados nos dan un porcentaje mayor de fosforo, nos permite saber que el porcentaje de remoción debe ser más alto para esta muestra avícola para estar dentro del límite

máximo permisible de acuerdo con la norma. Se rebasa de la misma forma todos los demás parámetros considerados.

Estos resultados nos sirvieron para conocer la cantidad de contaminantes que contiene las muestras y así poder hacer una comparativa de la remoción de nitrógeno y fosforo después de tratarla con microalgas

## 5.2 Resultados del acondicionamiento de la muestra

Debido a la alta concentración de contaminantes presentes en las muestras, se hizo un acondicionamiento de la muestra que implica tamizado, centrifugado y dilución. Con dicho acondicionamiento se retiraron gran cantidad de sólidos. A causa de este acondicionamiento se realizó una caracterización con los parámetros que consideramos más relevantes. Los resultados obtenidos se muestran las siguientes tablas.

### 5.2.1 Acondicionamiento de la muestra porcina

Como se presenta anteriormente, dentro de los resultados nos damos cuenta de que las muestras de agua residual se encuentran con una toxicidad elevada, rebasando la mayoría de los parámetros, se llevó a cabo un acondicionamiento para la asimilación de las microalgas a estas, en el punto 7. Etapa 1, donde se describe la caracterización de las muestras.

Tabla 13. Muestra porcina acondicionada

| Parámetros fisicoquímicos   | Muestra porcina   | Unidades   |
|-----------------------------|-------------------|------------|
| Temperatura                 | 26                | °C         |
| pH                          | 8.42              |            |
| Sólidos totales             | 750               | mg/L       |
| Sólidos volátiles totales   | 144               | mg/L       |
| Sólidos suspendidos totales | 275               | mg/L       |
| Demanda química de oxígeno  | 160.16            | mg/L       |
| Nitrógeno total             | 12.2633           | mg/L       |
| Fosforo total               | 1.2614            | mg/L       |
| Parámetros biológicos       |                   |            |
| Enterococos fecales         | $1.1 \times 10^7$ | NMP/100 mL |

Dentro del apartado del condicionamiento de la muestra para poder llevar a cabo la asimilación del agua residual por las algas se tomó en cuenta los pre tratamientos como el tamizado, centrifugación y dilución para disminuir la toxicidad del agua residual y llevarse a cabo el tratamiento en las cinéticas, en la tabla anterior nos podemos dar cuenta la disminución en la

mayoría de los parámetros, en la tabla de la caracterización del agua cruda porcina se encuentra de sólidos totales un total de 2940 mg/L mientras en el agua acondicionada un total de 750, la demanda química de oxígeno del agua cruda es de un 513.78 mg/L disminuyó con el acondicionamiento hasta un 160.16 mg/L, sin embargo los coliformes fecales se mantienen en el mismo porcentaje aun con el acondicionamiento  $1.1 \times 10^7$ .

#### 5.2.2 Acondicionamiento de la muestra avícola antes del cribado

De la misma forma se le dio tratamientos previos a la muestra avícola antes del cribado para realizar las cinéticas, a continuación, los resultados de los parámetros después del acondicionamiento, con el objetivo de disminuir la toxicidad de la muestra.

Tabla 14. Muestra avícola antes del cribado acondicionada

| <b>Parámetros fisicoquímicos</b>   | <b>Muestra avícola antes del cribado</b> | <b>Unidades</b>   |
|------------------------------------|------------------------------------------|-------------------|
| <b>Temperatura</b>                 | 25                                       | °C                |
| <b>pH</b>                          | 7.28                                     | UpH               |
| <b>Sólidos totales</b>             | 330                                      | mg/L              |
| <b>Sólidos volátiles totales</b>   | 148                                      | mg/L              |
| <b>Sólidos suspendidos totales</b> | 275                                      | mg/L              |
| <b>Demanda química de oxígeno</b>  | 160.16                                   | mg/L              |
| <b>Nitrógeno total</b>             | 15.3291                                  | mg/L              |
| <b>Fosforo total</b>               | 0.8112                                   | mg/L              |
| <b>Parámetros biológicos</b>       |                                          |                   |
| <b>Enterococos fecales</b>         | <b><math>4.6 \times 10^8</math></b>      | <b>NMP/100 mL</b> |

El acondicionamiento de la muestra avícola antes del cribado se llevó a cabo de la misma manera que la porcina, obteniendo una disminución de los parámetros. La temperatura y el pH se encuentra estables, los sólidos totales en el agua cruda se encuentra en 2000 mg/L disminuyendo hasta 330 mg/L, el nitrógeno total original del agua cruda está en un 48.3318 mg/L con el acondicionamiento se empieza con un total de nitrógeno de 15.3291 mg/L, unos de nutrientes en exceso a remover en el agua cruda tiene una cantidad de 2.4822 mg/L, se disminuyó hasta un 0.8112 mg/L.

#### 5.2.3 Acondicionamiento de la muestra avícola después del DAF

Los parámetros de la caracterización de la muestra cruda avícola después del DAF sobrepasan la mayoría de los límites máximos permisibles por lo tanto el acondicionamiento de esta también se llevó a cabo para poder realizar las cinéticas. A continuación, los resultados después del acondicionamiento.

Tabla 15. Resultados de la muestra avícola después del DAF acondicionada

| Parámetros fisicoquímicos    | Muestra avícola después del DAF | Unidades   |
|------------------------------|---------------------------------|------------|
| Temperatura                  | 26                              | °C         |
| pH                           | 7.25                            |            |
| Solidos totales              | 1090                            | mg/L       |
| Solidos volátiles totales    | 470                             | mg/L       |
| Solidos suspendidos totales  | 282                             | mg/L       |
| Demanda química de oxígeno   | 423.57                          | mg/L       |
| Nitrógeno total              | 27.7727                         | mg/L       |
| Fosforo total                | 2.2311                          | mg/L       |
| <b>Parámetros biológicos</b> |                                 |            |
| Enterococos fecales          | 1.1X10 <sup>8</sup>             | NMP/100 mL |

Para la cinética de remoción ha sido necesario aplicar tratamiento previo al agua y una dilución para la asimilación por parte de las algas, dentro de este acondicionamiento podemos darnos cuenta que los resultados de los parámetros han sido disminuidos considerablemente, teniendo así una manera más efectiva de remoción de nitrógeno y fosforo que es el objetivo del proyecto. Sin embargo, para poder estar de acuerdo a los límites de la norma se llevará a cabo el tratamiento con microalgas.

### 5.3 Remoción de nitrógeno y fosforo en las muestras de agua residual porcina y avícola con la especie *Spirulina Máxima*

La remoción de fósforo ha sido tema de diferentes investigaciones, que aportan diferentes porcentajes de remoción. En nuestro caso, se distinguen remociones de hasta un 83% para la muestra avícola. En la siguiente grafica se observa el comportamiento de la cinética y las concentraciones obtenidas día a día.

### 5.3.1 Remoción de fosforo

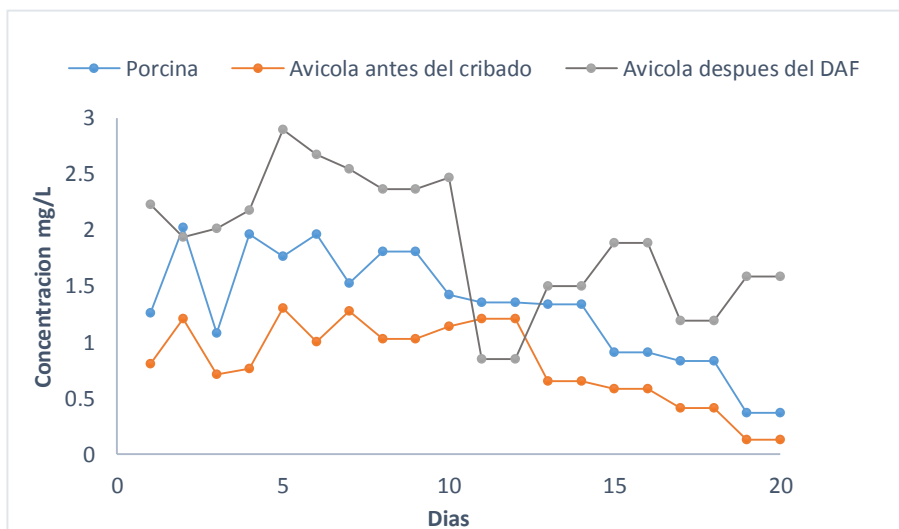


Ilustración 35 Remoción de fósforo con *Spirulina Máxima*

Como se puede observar, la muestra que ha tenido un mayor porcentaje de remoción es la muestra avícola antes del cribado, con un valor del 83.24% con una concentración final de 0.024. A comparación de la muestra avícola después del DAF que tiene un valor de 29.10% de remoción. Por otro lado, la muestra porcina obtuvo una remoción de 70.69%.

La muestra después del DAF es la que se encuentra con un porcentaje más bajo, debido a que la muestra después del DAF se encuentra con coagulante en su composición y su toxicidad es más elevada, por lo cual se necesitaría de más días en cinética para esta muestra para obtener una mejor remoción de fosforo, sin embargo, en general la remoción fue eficiente para una cinética de 20 días.

### 5.3.2 Remoción de nitrógeno

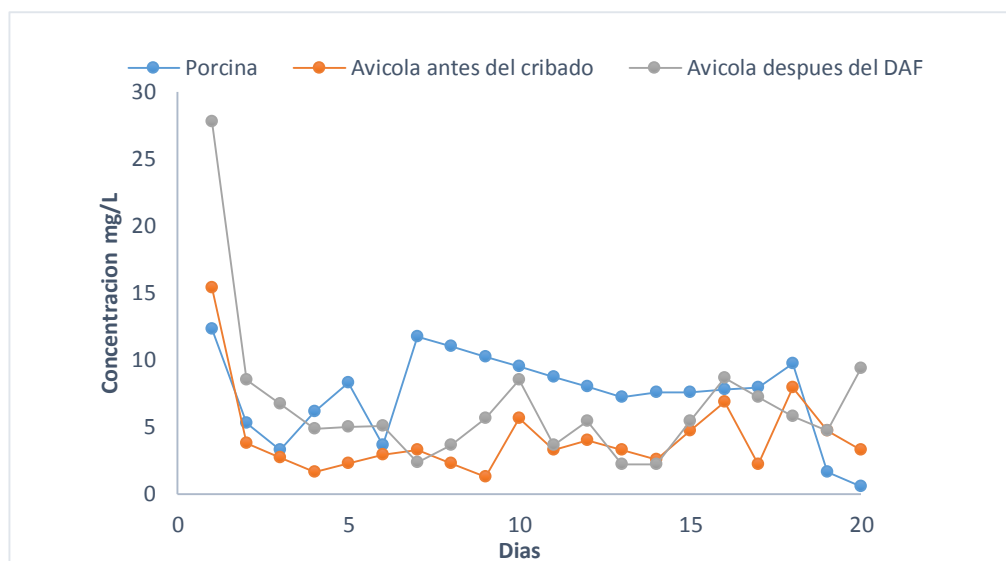


Ilustración 36 Remoción de Nitrógeno con *Spirulina Máxima*

En la tabla anterior podemos observar la remoción de nitrógeno dentro de la cinética con el alga *Spirulina Máxima*, los porcentajes que se presentaron fueron favorables. Para la muestra porcina hubo una remoción casi en su totalidad con un 96.05% de remoción, la muestra avícola antes del cribado presento una remoción del 78.82% y para la segunda muestra avícola después de DAF fue el porcentaje de remoción más baja presentada en la cinética con un 66.23% de remoción durante los 20 días de cinética. En general se contó con una remoción de nitrógeno beneficiosa para el tratamiento de aguas residuales trabajadas, el alga *Spirulina Máxima* tuvo un comportamiento óptimo asimilando los niveles de contaminantes de las muestras de agua.

### 5.4 Remoción de nitrógeno y fosforo en el agua residual porcina y avícola con la especie *Chlorella Spp.*

En cuanto a la especie *Chlorella*, hemos notado que es un poco más resistente en cuanto a la tolerancia de contaminantes, pues requiere de menos dilución de los efluentes. En términos de remoción de fosforo, hubo un mayor porcentaje de remoción en la muestra avícola después del DAF, con un valor de 53.16 %.

#### 5.4.1 Remoción de fosforo

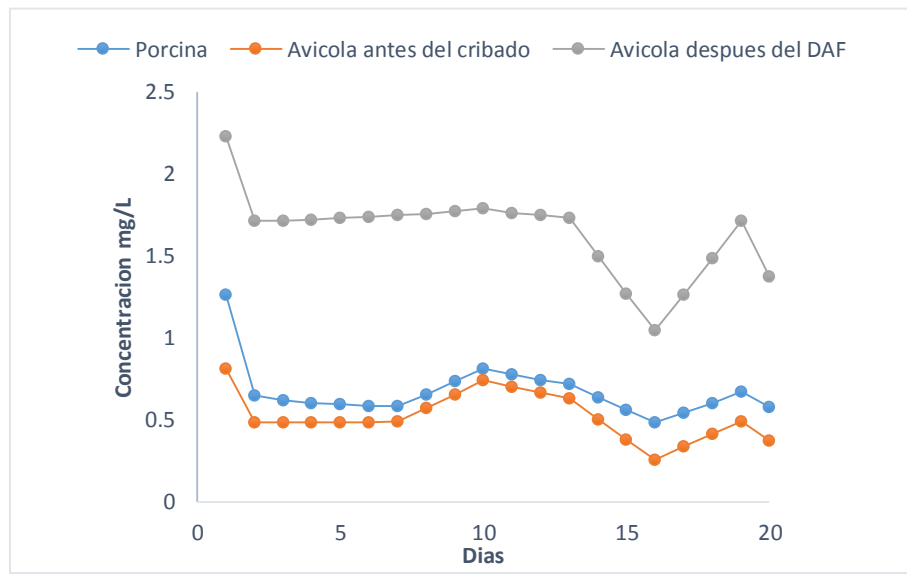


Ilustración 37 Remoción de fosforo con *Chlorella* Spp.

Como podemos ver en la anterior gráfica, la muestra avícola antes del cribado es la que tuvo una remoción más alta de fosforo, como sucedió en la cinética con la especie de *Spirulina* Máxima, teniendo en cuenta que la muestra avícola antes de cribado es la que contiene más materia orgánica, debido a que vienen directo del rastro de aves y no tiene ningún tratamiento previo al cribado, presento una remoción del 68.30%. De la misma forma la muestra avícola después del DAF sigue siendo la que presenta una remoción de fosforo más lenta en comparación de las demás con un 53.16%. Los porcentajes y el ritmo de remoción de las muestras porcina y avícola antes del cribado son similares en la mayoría de los días de cinética.

### 5.4.2 Remoción de nitrógeno

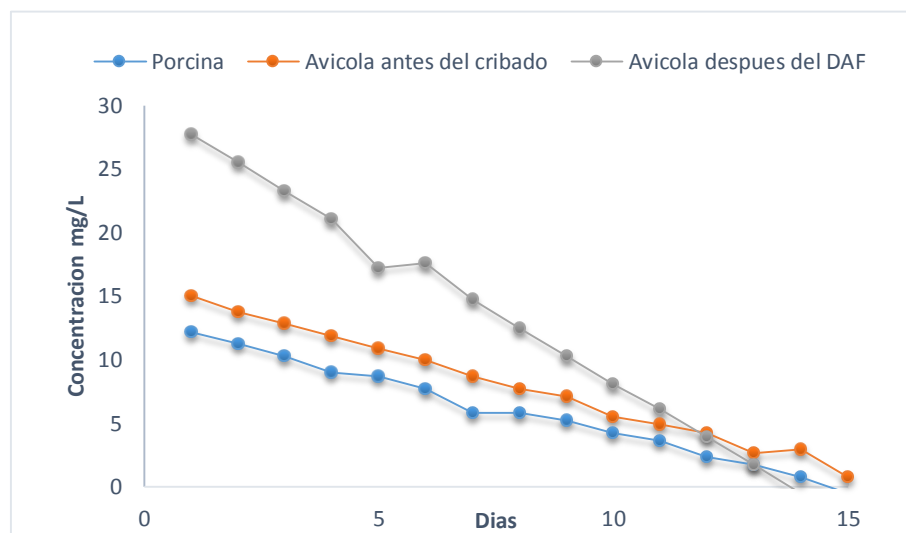


Ilustración 38 Remoción de nitrógeno con Chlorella Spp.

La remoción de nitrógeno con el alga *Chlorella* spp fue de los porcentajes más beneficiosos dentro de la cinética, como se puede observar en la figura 3.7, la muestra porcina a partir del día 15 de la cinética presentó un 100% de remoción, la determinación realizada el día 15 determino nula la presencia de nitrógeno. La muestra avícola antes del cribado e la misma manera dejo de presentar índices de nitrógeno, pero a partir del día 16, teniéndose un porcentaje de remoción del 100%, para la segunda muestra avícola después del DAF la remoción del 100% de nitrógeno se presentó el día 14 de los 20 días de cinética. La remoción de este nutriente en las aguas residuales fue exitosa teniendo un 100% de remoción en las tres muestras.

### 5.5 ETAPA 4. Caracterización de la biomasa producida y el agua residual tratada en los fotobiorreactores

La biomasa producida en los fotobiorreactores fue sometida a una caracterización, para poder determinar que usos se le pueden dar. A continuación, en la tabla se muestran las diferentes biomazas producida por los tres diferentes efluentes y su caracterización.

#### 5.5.1 Caracterización de la biomasa producida y agua residual por *Spirulina Máxima*

Dentro del marco teórico se encuentra la importancia de la biomasa en varios ámbitos de la sociedad, la caracterización de la misma nos ayudara a conocer su composición y poder determinar que uso específico se le puede dar a la biomasa producida.



Tabla 16. Biomasa producida por *Spirulina Máxima*.

| Efluente                     | Carbohidratos<br>(g/mL) | Proteínas (%) | Clorofilas (mg/mL) |
|------------------------------|-------------------------|---------------|--------------------|
| Porcina                      | 0.340424567             | 45.31109107   | 11.3702            |
| Avícola antes del<br>cribado | 0.209788624             | 58.38593327   | 25.3119            |
| Avícola después del<br>DAF   | 0.512791436             | 54.77908025   | 15.9572            |

Como se puede observar las tres diferentes biomásas producidas contienen en casi un 50 % de proteínas, por lo que puede ser utilizada como suplemento alimenticio. Los suplementos alimenticios de algas son muy comunes y altamente recomendados, se han desarrollado diferentes vitamínicos y complementos alimenticios, la producción de biomasa en los fotobiorreactores a escala industrial sería de un aprovechamiento económico de la misma. En cuando a los carbohidratos el porcentaje es menor pero no se encuentran ausentes.

En términos del agua tratada con la microalga, se hizo una caracterización final para observar la remoción de contaminantes. En la siguiente tabla mostramos la caracterización final de la muestra porcina.

Como se realizó al principio de la parte experimental, dentro de la etapa 1 es la caracterización de los efluentes, tal como se toman de los puntos de muestreo, pasado las cinéticas es el objetivo saber con qué condición se obtiene el agua, tomando los mismos parámetros de caracterización para comparar resultados y saber que tanto han disminuido los contaminantes y lo más importante estar dentro de la norma de los límites máximos permisibles de contaminantes en aguas

#### 5.5.2 Caracterización del agua tratada con *Spirulina Máxima*

Como se realizó al principio de la parte experimental, dentro de la etapa 1 es la caracterización de los efluentes, tal como se toman de los puntos de muestreo, pasado las cinéticas es el objetivo saber con qué condición se obtiene el agua, tomando los mismos parámetros de caracterización para comparar resultados y saber que tanto han disminuido los contaminantes y lo más importante estar dentro de la norma de los límites máximos permisibles de contaminantes en aguas.

A continuación, se muestran las gráficas con los parámetros de caracterización para el agua residual tratada.

### 5.5.3 Muestra porcina

Tabla 17. Agua residual tratada porcina con *Spirulina Máxima*.

| Parámetros fisicoquímicos    | Muestra porcina | Unidades   |
|------------------------------|-----------------|------------|
| Temperatura                  | 21              | °C         |
| pH                           | 12.08           |            |
| Sólidos totales              | 320             | mg/L       |
| Sólidos volátiles totales    |                 | mg/L       |
| Sólidos suspendidos totales  | 110             | mg/L       |
| Demanda química de oxígeno   | 265.02          | mg/L       |
| Nitrógeno total              | 0.5410          | mg/L       |
| Fosforo total                | 0.3696          | mg/L       |
| <b>Parámetros biológicos</b> |                 |            |
| Enterococos fecales          | 70              | NMP/100 mL |

En la tabla anterior nos damos cuenta que los parámetros han disminuido considerablemente en comparación con los resultados de la muestra cruda porcina. Las grasas y aceites es un parámetro que no se tomó a consideración debido a que en un principio el porcentaje de grasas era muy bajo, las grasas y aceites después del tratamiento con la especie se encuentran prácticamente nulas. La remoción de fosforo se ve claramente en principio con más del 3.8838 hasta un 0.3696, tomando en cuenta los parámetros se encuentran dentro de los límites máximos permisibles de la norma.

### 5.5.4 Muestra avícola antes del cribado

Dentro de la cinética la muestra avícola antes del cribado fue la que presento un comportamiento más eficiente, ya que la remoción de fosforo fue mayor en esta muestra que en las demás muestras tomadas. Se llevó a cabo la caracterización de la misma manera para conocer los parámetros, a continuación, se presentan los resultados.

Tabla 18.- Agua residual muestra avícola antes del cribado tratada con *Spirulina Máxima*

| Parámetros fisicoquímicos | Muestra antes del cribado | Unidades |
|---------------------------|---------------------------|----------|
| Temperatura               | 22                        | °C       |
| pH                        | 11.99                     |          |
| Sólidos totales           | 780                       | mg/L     |

|                                    |        |            |
|------------------------------------|--------|------------|
| <b>Sólidos volátiles totales</b>   |        | mg/L       |
| <b>Sólidos suspendidos totales</b> | 520    | mg/L       |
| <b>Demanda química de oxígeno</b>  | 403.51 | mg/L       |
| <b>Nitrógeno total</b>             | 3.2461 | mg/L       |
| <b>Fosforo total</b>               | 0.1359 | mg/L       |
| <b>Parámetros biológicos</b>       |        |            |
| <b>Enterococos fecales</b>         | 1100   | NMP/100 mL |

Como principal característica nos damos cuenta que la remoción de fosforo fue mayor a comparación de la muestra porcina, como era de esperarse los parámetros han disminuido comparablemente, entrando de acuerdo a la norma de límites máximos permisibles. La determinación de los coliformes fecales disminuyo considerablemente, teniendo en cuenta que este tipo de microorganismos deben ser prácticamente nulos si el agua se requiere para alguna actividad humana.

#### 5.5.5 Muestra avícola después del DAF

El agua residual tratada de la muestra avícola después del DAF, los parámetros se llevaron a cabo de la misma forma que las anteriores, teniendo en cuenta de antemano que esta muestra fue la que presento una remoción más lenta y baja que las demás muestras. La tabla siguiente muestra los parámetros obtenidos del agua tratada.

Tabla 19. Agua residual muestra avícola después del DAF tratada con *Spirulina Máxima*

| <b>Parámetros fisicoquímicos</b>   | <b>Muestra avícola después del DAF</b> | <b>Unidades</b> |
|------------------------------------|----------------------------------------|-----------------|
| <b>Temperatura</b>                 | 21                                     | °C              |
| <b>pH</b>                          | 11.80                                  |                 |
| <b>Sólidos totales</b>             | 620                                    | mg/L            |
| <b>Sólidos volátiles totales</b>   |                                        | mg/L            |
| <b>Sólidos suspendidos totales</b> | 80                                     | mg/L            |
| <b>Demanda química de oxígeno</b>  | 248.61                                 | mg/L            |
| <b>Nitrógeno total</b>             | 9.3778                                 | mg/L            |
| <b>Fosforo total</b>               | 1.5818                                 | mg/L            |
| <b>Parámetros biológicos</b>       |                                        |                 |
| <b>Enterococos fecales</b>         | 1100                                   | NMP/100 mL      |

Los parámetros de la misma forma han disminuido dentro de la norma, sin embargo, de manera menos notoria que las demás muestras. Otro punto importante de conocer la condición del agua

tratada es para saber que especie de microalga ha resultado mejor para una remoción de contaminantes para poder ser utilizada a un nivel industrial en una planta de tratamiento.

#### 5.6 Caracterización de la biomasa producida y agua residual por *Chlorella spp.*

La biomasa producida por *Chlorella spp* no fue muy abundante en comparación con la biomasa producida por *Spirulina Máxima*. Apenas si se juntaron 0.5 gramos de la biomasa, sin embargo, también fue sometida a una caracterización que se muestra en la Tabla 20.

20. Caracterización de la biomasa producida en los fotobiorreactores con *Chlorella spp.*

| <b>Efluente</b>                      | <b>Carbohidratos<br/>(g/mL)</b> | <b>Proteínas (%)</b> | <b>Clorofila<br/>A<br/>(mg/mL)</b> | <b>Clorofila<br/>B<br/>(mg/mL)</b> |
|--------------------------------------|---------------------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| <b>Porcina</b>                       | 0.15399619                      | 24.5716862           | 24.94551                           | 12.29994                           |
| <b>Avícola antes del<br/>cribado</b> | 0.145377846                     | 42.60595131          | 21.11533                           | 8.4971                             |
| <b>Avícola después<br/>del DAF</b>   | 0.129955547                     | 22.09197475          | 22.87846                           | 10.76124                           |

En términos del agua residuales, se realizó una caracterización final de los tres diferentes efluentes para determinar en qué condiciones terminaron los efluentes Podemos notar la diferencia en la caracterización de la biomasa se tiene más porcentaje de proteínas en la biomasa producida por los fotobiorreactores del alga *Spirulina Máxima* con un 58.38 % de proteínas producido en el fotobiorreactor de la muestra avícola antes del cribado. Sin embargo, la *Chlorella spp.* Dentro de los fotobiorreactores tiene una cantidad mayor de clorofila hasta un 12.2994 mg/mL.

Tabla 21. Caracterización final de la muestra porcina tratada con *Chlorella spp.*

| <b>Parámetros fisicoquímicos</b>      | <b>Muestra porcina</b> | <b>Unidades</b> |
|---------------------------------------|------------------------|-----------------|
| <b>Temperatura</b>                    | 21                     | °C              |
| <b>pH</b>                             | 8.15                   |                 |
| <b>Sólidos totales</b>                | 700                    | mg/L            |
| <b>Sólidos volátiles totales</b>      |                        | mg/L            |
| <b>Sólidos suspendidos totales</b>    | 260                    | mg/L            |
| <b>Demanda química de<br/>oxígeno</b> | 104.16                 | mg/L            |
| <b>Nitrógeno total</b>                |                        | mg/L            |
| <b>Fosforo total</b>                  | 0.4822                 | mg/L            |

| Parámetros biológicos |                     |            |
|-----------------------|---------------------|------------|
| Enterococos fecales   | 2.4X10 <sup>6</sup> | NMP/100 mL |

Durante las cinéticas el comportamiento del agua residual porcina fue la que presento mayor toxicidad y dificultad para disminuir los porcentajes de nitrógeno y fosforo, sin embargo, los parámetros del agua residual tratada disminuyeron considerablemente. El nitrógeno del agua cruda fue de 33.183 mg/L, mientras tanto en el agua tratada es de un, el fosforo del agua cruda 3.8848 con una cantidad final de 0.4822. Podemos considerar una remoción bastante favorable de nitrógeno y fosforo.

Tabla 22 Caracterización final de la muestra avícola antes de cribado tratada con *Chlorella Spp*

| Parámetros fisicoquímicos   | Muestra avícola antes del cribado | Unidades   |
|-----------------------------|-----------------------------------|------------|
| Temperatura                 | 21                                | °C         |
| pH                          |                                   | UpH        |
| Sólidos totales             | 400                               | mg/L       |
| Sólidos volátiles totales   |                                   | mg/L       |
| Sólidos suspendidos totales | 260                               | mg/L       |
| Demanda química de oxígeno  | 78.39                             | mg/L       |
| Nitrógeno total             |                                   | mg/L       |
| Fosforo total               | 0.2571                            | mg/L       |
| Parámetros biológicos       |                                   |            |
| Enterococos fecales         | 9X10 <sup>4</sup>                 | NMP/100 mL |

El agua avícola antes del cribado tratada con *Chlorella* mostro una remoción de nitrógeno y fosforo significativa, dentro de los parámetros iniciales de su caracterización disminuyeron en su totalidad, el nitrógeno del agua cruda fue de 48.3318 mg/L, disminuyendo hasta un 0%.

En cuanto al fosforo de la muestra avícola cruda fue de 2.4822 mg/L, y en el agua tratada un 0.2571 mg/L. la remoción de los nutrientes fue favorables también para el tipo de muestra y alga.

Tabla 23. Caracterización final de la muestra avícola después del DAF tratada con *Chlorella spp*

| <b>Parámetros fisicoquímicos</b>   | <b>Muestra avícola después del DAF</b> | <b>Unidades</b> |
|------------------------------------|----------------------------------------|-----------------|
| <b>Temperatura</b>                 | 20                                     | °C              |
| <b>pH</b>                          |                                        |                 |
| <b>Sólidos totales</b>             | 960                                    | mg/L            |
| <b>Sólidos volátiles totales</b>   |                                        | mg/L            |
| <b>Sólidos suspendidos totales</b> | 390                                    | mg/L            |
| <b>Demanda química de oxígeno</b>  | 63.61                                  | mg/L            |
| <b>Nitrógeno total</b>             |                                        | mg/L            |
| <b>Fósforo total</b>               | 1.4606                                 | mg/L            |
| <b>Parámetros biológicos</b>       |                                        |                 |
| <b>Enterococos fecales</b>         | 1.1X10 <sup>4</sup>                    | NMP/100 mL      |

La muestra avícola después del DAF tuvo una remoción aparentemente menor que las demás muestras en cinética, dentro de los sólidos totales la disminución fue mínima. La cantidad de nitrógeno en el agua cruda es de 51.5779 mg/L con una disminución hasta un 0%. El fósforo del agua cruda fue de 3.9281 mg/L hasta un 1.4606 mg/L, la remoción dentro de la cinética fue más lenta en comparación de los demás fotobiorreactores.

## CAPITULO VI. CONCLUSIONES

La caracterización fisicoquímica de los efluentes nos permitió conocer las concentraciones de contaminantes que contienen y poder hacer pruebas para saber si las algas asimilaban la cantidad de contaminantes. Ambos tipos de muestras, porcina y avícola, demuestran ser efluentes tóxicos para las algas, por lo que se decidió hacer un acondicionamiento de los efluentes para evitar que ocurra una muerte celular.

A pesar de que la muestra se acondicionó, fue necesario hacer pruebas de dilución y se determinó que la dosis adecuada para *Spirulina Máxima* fueron, porcina 15% muestra y 85% agua, avícola antes del cribado 20% muestra y 80% agua, avícola después del DAF 30% muestra y 70% agua. Esto debido a que los tres diferentes efluentes mostraban niveles distintos de nitrógeno y fósforo.

Así mismo como para la especie *Chlorella spp*, se determinaron las dosis adecuadas de dilución, porcina 20% muestra y 80% agua, avícola antes del cribado 25% muestra y 75% agua, avícola después del DAF 25% muestra y 75% agua.

La remoción de nitrógeno utilizando la especie *Chlorella spp* para los tres diferentes efluentes, fue del 100% a partir de los días 14, 15 y 16 de la cinética, en cuanto a la especie *Spirulina Máxima*, el porcentaje mayor de remoción de nitrógeno fue de 96.05 % en la muestra porcina y para los efluentes avícolas, antes del cribado fue de 78.82 % y después del DAF fue de 66.23 %. Por tanto, la especie *Chlorella spp* muestra ser más eficiente en la remoción de nitrógeno.

Así mismo, la remoción de fósforo en la especie *Chlorella spp* el efluente porcícola presenta el mayor porcentaje de remoción teniendo un valor de 71.77 %, para los efluentes avícolas, antes del cribado fue de 68.30%, después del DAF fue de 53.16%. En comparación con la especie *Spirulina Máxima* que obtuvo valores de porcentaje de remoción de hasta 83.24 % en el efluente avícola antes del cribado, en los dos efluentes restantes, se presentó un menor porcentaje; efluente porcino 70.69% y avícola después del DAF 29.10%.

Debido a los porcentajes obtenidos, se determinó que la especie *Chlorella spp* es la más eficiente para la remoción de nitrógeno y fósforo en los efluentes de tipo porcícola y avícola.

Las condiciones para la propagación de las especies *Chlorella spp*. Y *Spirulina Máxima* (luz, iluminación, temperatura y burbujeo), son óptimos para la conservación y producción de las especies. Los fotobiorreactores utilizados para las cinéticas de 20 días, mostraron un

comportamiento eficiente, gracias a la forma vertical y con fondo curvo que evita asentamiento de biomasa en orillas.

La producción de la biomasa fue mayor para la especie *Spirulina Máxima*, en ella también se encontró una mayor cantidad de proteínas en comparación con la especie *Chlorella*, existen diversos beneficios de la biomasa para el ser humano y el ambiente, de manera que puede considerarse un fin de acuerdo con la producción de biomasa dentro de los fotobiorreactores.

El agua final tratada con las especies de microalgas, muestra físicamente características buenas tales como, clarificación e inodora, mediante su caracterización, los parámetros demuestran una óptima disminución de los contaminantes, estando dentro de la norma PROY-NOM-001-SEMARNAT 2017.



## CAPITULO VIII. FUENTES DE INFORMACION

### Bibliografía

FUSADES. (2014). Obtenido de FUSADES: <http://fusades.org/lo-ultimo/blog/la-contaminaci%C3%B3n-por-nutrientes-nitrogeno-y-fosforo>

A., R. (1989). *Handbook of microalgal mass culture* . E.U.A.

Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. (19 de enero de 2017). Obtenido de Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos: <https://espanol.epa.gov/espanol/contaminacion-por-nutrientes>

**a**guasresiduales.info. (25 de julio de 2014). Obtenido de <https://www.aguasresiduales.info/revista/blog/eliminacion-biologica-de-nitrogeno-y-fosforo-en-edars>

Almeria, U. d. (2014). *Ingeniería de procesos aplicada al cultivo de microalgas* . Obtenido de Ingeniería de procesos aplicada al cultivo de microalgas : <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-7-fotobiorreactores.html>

Álvarez, R. &. (s.f.). Efecto de la suplementación con cama de pollo sobre la producción de vacas de doble propósito pastoreando rastrojo de maíz durante la estación seca. *Instituto de Producción Animal (IPA)*.

Aqualia. (25 de mayo de 2018). Obtenido de Aqualia: <https://www.iagua.es/noticias/aema/eliminacion-nitrogeno-aguas-residuales>

Aranda, J. I. (2018). *AGUAS RESIDUALES PROVENIENTES DE LA INDUSTRIA AVICOLA*. Colombia: ResearchGate.

Avicultores, U. N. (miercoles de octubre de 2019). Obtenido de <http://www.una.org.mx/index.php/panorama/situacion-de-la-avicultura-mexicana>

Barsanti, L. y. (2006). . *Algae. Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. Taylor & Francis group.

biologicas, c. d. (s.f.). microalgas: seres diminutos con grandes aspiraciones . *CONACYT*.

Bourne, N. H. (1989). *funcionamiento del cultuvo de algas* .

Burgos, Y. (26 de Marzo de 2013). *Con la tecnología de Blogger*. Obtenido de <http://microalgasmodulo1.blogspot.com/2013/03/conteo-de-microalgas.html>

*Caracterizacion del agua residual* . (s.f.). Obtenido de [http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/simulacion/modulos/curso/uni\\_03/U3C3S6.htm#Anchor5](http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/simulacion/modulos/curso/uni_03/U3C3S6.htm#Anchor5)

- Cardenas, G. L. (2013). *Nitrógeno en aguas residuales: orígenes, efectos y mecanismos de remoción para preservar el ambiente y la salud pública*.
- Carmen Arnaiz Franco, L. I. (2000). *Tecnología del agua* . Obtenido de <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/34262>
- Carmen Arnáiz, L. I. (Octubre de 2000). *Tecnología del agua* . Obtenido de [http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/tvolke/00\\_Determin-BM.pdf](http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/tvolke/00_Determin-BM.pdf)
- Cedron, J. (2011). *Química general* . Obtenido de <http://corinto.pucp.edu.pe/quimicageneral/contenido/64-dilucion.html>
- CEDRSSA. (noviembre de 2018). Obtenido de <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/59Prospectiva%20de%20la%20Industria%20Avicola%202025.pdf>
- Cherlys Infante, E. A. (Junio de 2012). *Avances en Ciencias e Ingeniería* . Obtenido de Avances en Ciencias e Ingeniería : <file:///C:/Users/12/Downloads/Dialnet-PropagacionDeLaMicroalgaChlorellaSpEnCultivoPorLot-3965767.pdf>
- Coahuila, U. d. (2012). Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. *Revista de Divulgación Científica*.
- competividad, M. d. (2015). *Esfera del agua* . Obtenido de <https://www.esferadelagua.es/agua-y-tecnologia/contaminacion-del-agua-por-nitratos-y-tecnicas-para-su-tratamiento>
- Cubillos, R. (2017). *México y su importancia en el mercado porcino global* . Chile .
- Cultivo de microalgas* . (s.f.). Obtenido de <http://www.fao.org/3/ab473s/AB473S02.htm>
- Cultivo y elaboración de un producto comestible de Chlorella*. (s.f.). Obtenido de <https://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria17/21.pdf>
- Dapena, E. y. (s.f.). *cidta*. Recuperado el 15 de Octubre de 2020, de cidta: <https://cidta.usal.es/cursos/etap/modulos/libros/fosforo.pdf>
- Dapena, E. y. (s.f.). *Eliminación de fósforo en aguas residuales* .
- DS, H. (1998). *A closer look at the bacteriology of nitrification*. *Aquacultural Engineering*.
- E.Ronzano. (s.f.). *Eliminación de fósforo en las*.
- ecologica, M. p. (s.f.). *PRTR*. Obtenido de PRTR: <http://www.prtr-es.es/Fosforo-total,15600,11,2007.html>
- Economía, D. G. (23 de Enero de 2014). Obtenido de [http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa007-2014\\_01.pdf](http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa007-2014_01.pdf)
- Esparza, M. L. (2011). *Guía para la calibración y mantenimiento de equipos de laboratorio y saneamiento* . Organización Panamericana de Salud .

- Espejo, R. P. (s.f.). *Porcicultura intensiva y medio ambiente en México*. Mexico : Universidad Nacional Autónoma.
- Fao, E. c. (2018). Obtenido de [https://s3.amazonaws.com/inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/08/16072154/47Industria\\_Avicola\\_M%C3%A9xico.pdf](https://s3.amazonaws.com/inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/08/16072154/47Industria_Avicola_M%C3%A9xico.pdf)
- GA, K. A. (2003). Study of light as a parameter in the growth of algae in a photo-bio reactor (PBR). *ASAE*.
- Garzon, M. A. (2018). *Caracterización de aguas residuales porcinas y su tratamiento por diferentes procesos en México*. Mexico: Scielo.
- GARZÓN-ZÚÑIGA, M. A. (2014). *CARACTERIZACIÓN DE AGUAS RESIDUALES PORCINAS Y SU TRATAMIENTO POR*. Mexico .
- Gil, M. (s.f.). *Lifeder 2019*. Obtenido de <https://www.lifeder.com/camara-de-neubauer/>
- Gomez, F. (17 de noviembre de 2015). *Madrid+d*. Obtenido de <http://www.madrimasd.org/blogs/espirulina/2015/11/17/40/>
- Gutierrez, A. P. (2015). *USO POTENCIAL DE AGUAS RESIDUALES DE CRIADEROS DE CERDO*. Yucatan .
- Gutiérrez, E. (2010). *EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS*.
- Hartmut, L. J. (2001). Regulation of two carotenoid biosynthesis genes coding for phytoene synthase and carotenoid hydroxylase during stress-induced astaxanthin formation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant Physiology* 125.
- HERNÁNDEZ, J. A. (24 de Febrero de 2012). Obtenido de <https://red.uao.edu.co/bitstream/10614/3244/1/TME00998.pdf>
- Hernandez, N. C. (18 de abril de 2016). Perspectivas de la porcicultura Mexicana. *El economista*.
- Hernández-Pérez, A. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios . *Revista de biología Marina* .
- Humana, L. d. (13 de octubre de 2013). *Creative Commons*. Obtenido de [http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Cell\\_counts\\_SPA.pdf](http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Cell_counts_SPA.pdf)
- industrial, S. d. (2000). Obtenido de <https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2011/01/nmx-aa-008-scfi-2000.pdf>
- J, J. (s.f.). *fotobiorreactores optimizados para laproduccion de microalga* . mexico .
- J. Suarez, A. J. (enero de 2007). *Master en ingenieria del agua*. Obtenido de [file:///C:/Users/12/Downloads/master\\_\\_\\_TEMA\\_N\\_\\_\\_ELIMINACION\\_DE\\_FOSFORO.pdf](file:///C:/Users/12/Downloads/master___TEMA_N___ELIMINACION_DE_FOSFORO.pdf)
- José Cuevas Valdez. (15 de Marzo de 2018). Carne de cerdo, oportunidades de crecimiento en Mexico . *El economista* , pág. 1.

- L. Travieso, F. B. (2008). UTILIZACION DE MICROALGAS PARA EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS PORCINOS LIQUIDOS . *Revista CENIC Ciencias Biológicas*.
- (2011). *La paradoja del fósforo*. Cuernavaca: Scielo .
- Lenntech. (2001). *centrifugadores* . Obtenido de <https://www.lenntech.es/centrifugacion.htm>
- Lenntech. (2005). *Eliminacion del fosforo del agua residual* .
- Lenntech BV. (s.f.). Obtenido de Lenntech BV: <https://www.lenntech.es/periodica/elementos/n.htm>
- Madrid, blogs . (6 de Abril de 2018). Obtenido de Madrid, blogs : <https://www.madrimasd.org/blogs/remtavares/2018/04/06/133585>
- Mérida, L. G. (2013). *Ciencia y tecnología* . Obtenido de file:///C:/Users/12/Downloads/Dialnet-Fotobiorreactor-4749461%20(1).pdf
- Microalgal Biotechnology. (2014). Obtenido de <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-3-nutrientes.html>
- microalgas, C. d. (s.f.). Obtenido de <http://www.fao.org/3/ab473s/AB473S02.htm>
- Moran, D. (17 de junio de 2014). *Biorefeneria algal* . Obtenido de <https://biorrefineria.blogspot.com/2014/06/2014-12fotobiorreactores.html>
- NMX-AA-005-SCFI-2000. (2000). ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE GRASAS Y ACEITES RECUPERABLES EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS . Mexico : Secretaria de comercio y eomento industrial .
- NMX-AA-026-SCFI-2010. (2010). ANÁLISIS DE AGUA - MEDICIÓN DE NITRÓGENO TOTAL KJENDAHL EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS . Mexico : Secretaria de economia .
- NMX-AA-029-SCFI-2001. (2001). ANÁLISIS DE AGUAS - DETERMINACIÓN DE FÓSFORO TOTAL EN AGUAS NAURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS- METODO DE PRUEBA . Mexico : Secretaria de economia DGN .
- NMX-AA-030/1-SCFI-2012. (2012). ANÁLISIS DE AGUA - MEDICIÓN DE LA DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS . Mexico : Secretaria de economia .
- NMX-AA-042-SCFI-2015. (2015). ANÁLISIS DE AGUA - ENUMERACIÓN DE ORGANISMOS COLIFORMES TOTALES, ORGANISMOS COLIFORMES FECALES( TERMOTOLERANTES) Y *escherichia Coli*. - METODO DEL NUMERO MAS PROBABLE EN TUBOS. Mexico: Secretaria de economia .
- Office), L. (. (s.f.). *Lenntech* . Obtenido de Lenntech: <https://www.lenntech.es/eliminacion-del-fosforo>

- Pedraza, G. X. (noviembre de 1989). Obtenido de <http://www.fao.org/AG/aGa/agap/FRG/FEEDback/lrrd/lrrd1/1/gloria.htm>
- Pedraza, G. X. (Noviembre de 1989). *Fundación CIPAV*. Obtenido de [http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/lrrd/lrrd1/1/gloria.htm#:~:text=La%20Spirulina%20maxima%2C%20una%20cianobacteria,\(Hargaravez%20y%20Viquez%201982\).](http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/lrrd/lrrd1/1/gloria.htm#:~:text=La%20Spirulina%20maxima%2C%20una%20cianobacteria,(Hargaravez%20y%20Viquez%201982).)
- Perdomo, T. (s.f.). *Lifeder.com*. Obtenido de <https://www.lifeder.com/microalgas/>
- Pesquera, S. d. (18 de Diciembre de 2018). *Gobierno de Mexico* . Obtenido de <https://www.gob.mx/siap/articulos/tipos-de-granjas-porcinas?idiom=es>
- PIÑERA, A. K. (2015). *MANUAL PARA EL CULTIVO DE*. Baja California Sur .
- PRAMAR. (s.f.). *TAMICES PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS. TAMIZADO*. Obtenido de <http://www.pramar.net/es/web/tratamiento-de-aguas/tecnologia-equipos/tamices>
- Pütz, P. (16 de Enero de 2010). *Canales sectoriales*. Obtenido de <https://www.interempresas.net/Quimica/Articulos/37743-Eliminacion-y-determinacion-de-fosfato.html>
- Quintero Rodriguez, E. (2016). Obtenido de <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/4/91.pdf>
- Rafael, M. G. (17 de julio de 2017). *BMeditores* . Obtenido de <https://bmeditores.mx/entorno-pecuario/historia/antecedentes-de-la-avicultura-en-mexico-1551>
- Reina, G. G. (s.f.). *Universitat de les Illes Balears*. Recuperado el Octubre de 2020, de Universitat de les Illes Balears: <https://fci.uib.es/Servicios/libros/conferencias/seae/Usos-y-aplicaciones-de-macroalgas-microalgas-y.cid221515>
- Salgado-Bernall, I. (2011). EFECTOS AMBIENTALES DE CONTAMINANTES QUIMICOS EN EL AGUA: UNA RESPUESTA DE BIOTECNOLOGIA PARA LA ELIMINACION . *Revista cubana de quimica* .
- Sanchez, M. L. (1 de febrero de 2017). *Porcicultura* . Obtenido de <https://www.porcicultura.com/destacado/El-medio-ambiente-en-la-porcicultura>
- Santos, A. M. (2014). *Uso y aplicaciones potenciales de las Microalgas*. Obtenido de <https://www.iit.comillas.edu/docs/IIT-14-027A.pdf>
- Sevilla, J. M. (2014). *Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas*. Obtenido de Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-3-nutrientes.html>
- Social, I. N. (13 de abril de 2018). *Gobierno de Mexico* . Obtenido de <https://www.gob.mx/inaes/es/articulos/porcicultura-una-actividad-milenaria?idiom=es>

- Soto, F. P. (2014). *la avicultura en Mexico: retos y perspectivas* . Mexico: Universidad Autonoma de Chapingo.
- Soya, M. (2016). *Evaluación del requerimiento de nitrógeno y Fósforo en Sistemas de Tratamiento Biológico Aerobio de Aguas Residuales*. Ciencia e Ingeniería Neogranadina.
- Trujillo, D. C. (2008). Obtenido de [https://repository.eafit.edu.co/xmlui/bitstream/handle/10784/393/BernardoDavid\\_TorresUrango\\_2008.pdf?sequence=3](https://repository.eafit.edu.co/xmlui/bitstream/handle/10784/393/BernardoDavid_TorresUrango_2008.pdf?sequence=3)
- Tuset, S. (s.f.). *condorchem*. Obtenido de condorchem: <https://blog.condorchem.com/tag/nitrogeno/>
- Urbano, T. (2020). *Agrotendencia* . Obtenido de Agrotendencia : <https://agrotendencia.tv/agropedia/el-cultivo-de-microalgas/>
- Veuthey, M. J. (21 de Marzo de 2018). Depuración de residuos agropecuarios, empleando microalgas. (Unernoticias, Entrevistador)
- Yaneisy García, A. O. (s.f.). *Intituto de Ciencia Animal* . Obtenido de <http://www.fertilizando.com/articulos/efecto%20residuales%20avicolas%20ambiente.asp>

## ANEXOS

### **Procedimiento para tecnica de grasas y aceites**

Procedimiento:

Medir el pH de las muestras el cual debe ser menor de 2, si no tiene este valor acidifique con ácido clorhídrico 1:1 ó ácido sulfúrico 1:1. Para muestras con un pH menor de 8 unidades generalmente es suficiente con adicionar 5 ml de ácido clorhídrico 1:1 ó 2 mL de ácido sulfúrico 1:1.

Preparar los matraces de extracción introduciéndolos a la estufa a una temperatura de 103°C - 105°C, enfriar en desecador y pesarlos, repetir el procedimiento hasta obtener el peso constante de cada uno de los matraces. Preparar el material filtrante colocando un papel filtro en el embudo Büchner, colocar el embudo en un matraz Kitazato y agregar 100 mL de la suspensión de tierra de diatomeas-sílice sobre el filtro, aplicar vacío y lavar con 100 mL de agua.

Transferir el total de la muestra acidificada al embudo Büchner preparado aplicando vacío hasta que cese el paso de agua. Medir el volumen de la muestra. Con ayuda de unas pinzas, transferir el material filtrante a un cartucho de extracción. Limpiar las paredes internas del embudo y el frasco contenedor de la muestra, así como la parte interna de la tapa del frasco con trozos de papel filtro previamente impregnados de disolvente (hexano; colocar los trozos de papel en el mismo cartucho).

Secar el cartucho en una estufa a 103°C - 105°C por un período de 30 min. Transcurrido este período colocar en el equipo Soxhlet. Adicionar el volumen adecuado de hexano al matraz de extracción previamente puesto a peso constante y preparar el equipo Soxhlet. Evitar tocar con las manos el cartucho y el matraz de extracción, para ello utilizar pinzas o guantes de látex. Colocar el equipo de extracción sobre la parrilla de calentamiento, controlar la temperatura del reflujo y extraer a una velocidad de 20 ciclos/hora durante un período de 4 h.

Una vez terminada la extracción retirar el matraz del equipo Soxhlet, y evaporar el disolvente. El matraz de extracción libre de disolvente se coloca en el desecador hasta que alcance la temperatura ambiente.

Pesar el matraz de extracción y determinar la concentración de grasas y aceites recuperables. (NMX-AA-005-SCFI-2000, 2000)

### **Preparación de la muestra para técnica de Coliformes fecales**

Preparación de la muestra e inoculación del medio Antes del examen, mezclar la muestra agitándola vigorosamente para lograr una distribución uniforme de los microorganismos dependiendo de la naturaleza del agua y el contenido bacteriano esperado, hacer las diluciones necesarias en esta etapa.

Incubación de los tubos Incubar los tubos inoculados de 24 h a 48 h  $\pm$  3 h a 35 °C  $\pm$  0,5 °C.

Revisión de los tubos en cultivo presuntivo Examinar los tubos de cultivo a las 24 h de incubación y registrar como reacción positiva aquellos que muestren turbidez y formación de gas en el interior del tubo invertido (tubo de Durham). Continuar la incubación por 24 h  $\pm$  3 h en aquellos tubos que no presenten estos cambios y examinar nuevamente.

Pruebas confirmativas: la formación de gas y turbidez son resultados presuntivos de coliformes y es necesario realizar pruebas confirmativas, sembrar cada uno de los tubos con reacción

positiva a tubos con caldos para prueba confirmativas según sea la determinación para coliformes totales, coliformes fecales termo tolerantes y/o E. coli.

### **Técnica demanda química de oxígeno (DQO)**

La demanda química de oxígeno es empleada como una medida del oxígeno equivalentemente de la materia orgánica contenida en una muestra que es susceptible a oxidación por un oxidante químico fuerte. 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. (NMX-AA-030/1-SCFI-2012, 2012)

Se llevó a cabo por el Micrométodo Colorimétrico 5220 D Standard Methods, para lo cual se utilizó una placa digestora (COD Reactor) marca Hach para suministrar el calor de reacción y un espectrofotómetro ODYSSEY DR2500 marca Hach para leer la transmitancia de la muestra.