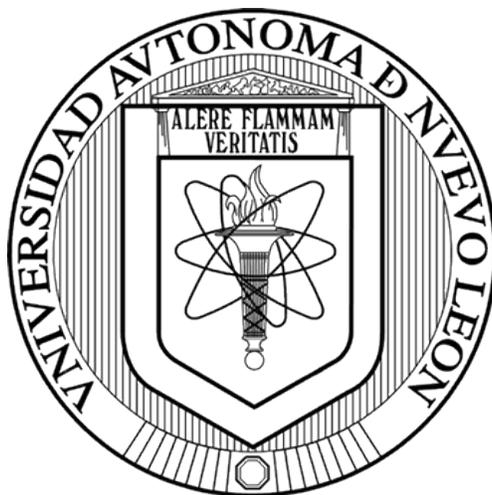


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



DESARROLLO DE UN PROCESO DE REMOCIÓN DE NUTRIENTES DE
EFLUENTES EUTRÓFICOS POR UN CONSORCIO DE MICROALGAS NATIVAS DE
NUEVO LEÓN, MÉXICO CULTIVADAS EN UN NUEVO FOTOBIORREACTOR

Por

Q.B.P. JULIO CÉSAR BELTRÁN ROCHA

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRIA EN CIENCIAS con orientación en
QUÍMICA ANALÍTICA AMBIENTAL

JULIO, 2014

MAESTRÍA

“DESARROLLO DE UN PROCESO DE REMOCIÓN DE NUTRIENTES DE EFLUENTES
EUTRÓFICOS POR UN CONSORCIO DE MICROALGAS NATIVAS DE NUEVO LEÓN,
MÉXICO CULTIVADAS EN UN NUEVO FOTOBIORREACTOR”

Aprobación de la tesis:

Dr. Ulrico Javier López Chuken

Director de Tesis

Dra. Icela Dagmar Barceló Quintal

Codirectora de Tesis

Dr. Juan Francisco Villareal Chiu

Dr. Jorge Luis Guzmán Mar

Dr. Eugenio Hernández Fernández

Dra. Aracely Hernández Ramírez

Subdirectora de Estudios de Posgrado

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) perteneciente a la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), por brindarme la oportunidad de seguir desarrollándome.

A Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey (SADM) por el suministro de muestras que hacen partir este estudio y a la División de Ciencias Básicas e Ingeniería (CBI), correspondiente a la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) por proporcionarme infraestructura necesaria para la finalización del presente proyecto.

A mi asesor: el Dr. Ulrico Javier López Chuken por la amistad y mostrarme una valiosa e invaluable perspectiva de cómo hacer las cosas con criterio, practicidad y aplicabilidad.

A mi co-asesora: Dra. Icela Dagmar Barceló Quintal por su apreciable orientación llena de experiencia en el desarrollo de esta tesis. Familia Solís-Barceló les agradezco su cordial recepción.

Al comité de tesis: conformado por el Dr. Juan Villareal Chiu, Dr. Jorge Guzmán Mar y Dr. Eugenio Hernández Fernández por sus apreciables consejos durante la realización de este trabajo.

A la catedrática: M.C. Isabel del Carmen Sáenz Tavera por ilustrarme un panorama que desconocía de la ciencia con gran dedicación, paciencia y profesionalismo.

A los compañeros de laboratorio: Emiliano Santos, Mariano Candelario, Uriel Vázquez y Erik Barrón que de una u otra forma estuvieron conmigo.

A los compañeros y amigos de posgrado: Carlos Ríos, Teresa Vargas, Jonathan Sánchez y Viridiana Sepúlveda por permitirme integrarme y poder haber llevado muy buenas conversaciones.

A Claudio Guajardo quien es un buen amigo y ejemplo personal de buenas enseñanzas.

A Alejandro Perales por ser mi amigo y hermano de ideales, que siempre está presente.

A los amigos: Adán Villanueva, Víctor Medellín, Amador Jara, Ewry Zarate, Rocio Ramírez y Edgardo Chairez que aunque no los vea muy seguido los llevo en mi cabeza.

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme la oportunidad y privilegio de llevar todos estos días existiendo.

A mi madre Bertha Rocha Ortiz, por su gran cariño, esfuerzo, apoyo incondicional y buen ejemplo, que me ha dedicado durante y para mi formación como persona consciente.

A mi padre Eulalio Guadalupe Beltrán Flores, por el ejemplo de perseverancia y esfuerzo, además de encausar con confianza y cariño mi camino en la vida.

A mis hermanos: Diana, Jorge, Laura, Bertha, por el gran cariño, confianza y apoyo durante esta etapa de transición y desarrollo profesional.

A Melisa Ivonne López Ramírez, mi compañera de vida que con vasto afecto le agradezco su amor, calidez, paciencia y tantas cosas más.

RESUMEN

Nombre: Q.B.P. Julio César Beltrán Rocha
Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Ciencias Químicas

Fecha de Graduación: Julio, 2014

Título del Estudio: “DESARROLLO DE UN PROCESO DE REMOCIÓN DE NUTRIENTES DE EFLUENTES EUTRÓFICOS POR UN CONSORCIO DE MICROALGAS NATIVAS DE NUEVO LEÓN, MÉXICO CULTIVADAS EN UN NUEVO FOTOBIOREACTOR”

Número de páginas: 118

Candidato para el grado de Maestría
en Ciencias con orientación en Química
Analítica Ambiental

Área de Estudio: Biotecnología Ambiental Aplicada

Propósito y Método del Estudio: La eutrofización causada por enriquecimiento de N y P afecta más de 400 ecosistemas costeros y 40% de lagos y reservorios a nivel mundial. El uso de tratamientos basados en microalgas es aplicable cuando se cumplen condiciones que no limiten el crecimiento y asimilación de nutrientes por las microalgas, condiciones cumplidas por efluentes de Plantas de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) del Estado de Nuevo León, México. En estas se presentan concentraciones de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} suficientes para contribuir a la eutrofización local. Debido a esto, en el presente proyecto se desarrolló un sistema de tratamiento en efluentes PTAR basado en el uso de consorcios de microalgas nativas, evaluando un nuevo fotobiorreactor de bajo esfuerzo de corte (patente *MX/a/2012/014898*), con el objetivo de mejorar la calidad fisicoquímica (disminución de contaminantes inorgánicos) para el pulimento de descargas eutróficas previo a su incorporación a cuerpos de agua receptores, todo esto, con el valor agregado de ser un proceso natural, sustentable, que utiliza especies nativas y asimismo obtener biomasa como subproducto potencialmente valioso.

Contribuciones y Conclusiones: De entre 30 consorcios de microalgas nativos colectados en el Estado de Nuevo León, se evaluaron a intemperie (sistema estático de cultivo) 12 consorcios en efluentes reales eutróficos PTAR, bajo los criterios de: 1) asimilación de nutrientes y 2) conductividad eléctrica/productividad, seleccionando los consorcios 1301 (01) y 1312 (12), que posteriormente se evaluaron en un estudio a intemperie con el doble papel de la reducción de nutrientes en un efluente eutrófico real PTAR, para el cumplimiento de la directiva de la Unión Europea 91/271/ECC ($< 1, 2 \text{ mg/L P}$ y $< 15, 10 \text{ mg/L N}$) y producción de biomasa utilizando en un sistema de fotobiorreactores alimentado por energía solar y sometido a 3 distintos tratamientos: 1) mezcla (M), 2) mezcla más 12 horas diarias de aireación (M+A) y 3) mezcla más 12 horas diarias de aireación con enriquecimiento de CO_2 (M+ ACO_2). En el presente estudio se logró el objetivo principal de la investigación, siendo esto el mejoramiento de la calidad de descarga y el consecuente cumplimiento de la directiva 91/271/CEE, en efluentes eutróficos (PTAR) a través del tratamiento de reducción de N y P. Las tasas de reducción de NT de: 64.40, 67.74 y 75.53% a 30 días con los tratamientos: 12M, 12M+A y 12M+ ACO_2 respectivamente, y asimismo los tratamientos 01M, 01M+A y 01M+ ACO_2 presentaron reducciones de NT: 67.46, 82.80 y 79.00% a 26 días. Por otra parte, la remoción de P en el efluente logró el cumplimiento de la directiva 91/271/CEE, indicando altos porcentajes de eliminación de fósforo con 93.45, 89.96 y 89.96% para los tratamientos 01M, 01M+A y 01M+ ACO_2 . Respectivamente, los tratamientos 12M, 12M+A y 01M+ ACO_2 resultaron en reducciones de 94.32, 89.52 y 79.91%. De esta forma se demostró la viabilidad y sustentabilidad de la mejora de calidad de descarga en efluentes eutróficos PTAR utilizando el sistema de fotobiorreactores, que derivó en el cumplimiento a la normativa de descarga más estricta a nivel mundial (Directiva 91/271/CEE). Los altos porcentajes de minerales (29.26 a 53.04% BS) obtenidos en la biomasa resultante, sugieren fuertemente la aplicación de esta biomasa como un biofertilizante de bajo costo, en suelos deficientes en los mismos.

Asesor: Dr. Ulrico J. López Chuken: _____

ABREVIACIONES Y SÍMBOLOS USADOS

ACV	análisis del ciclo de vida
BS	base seca
CE	conductividad eléctrica
COT	carbono orgánico total
DBO	demanda bioquímica de oxígeno
DLD	debajo del límite de detección
DQO	demanda química de oxígeno
EE	error estándar
EE PTAR	efluente eutrófico proveniente de la planta tratadora de aguas residuales
EE PTAR TM	efluente eutrófico proveniente de la planta tratadora de aguas residuales tratado con microalgas
$\text{g/m}^2 \cdot \text{d}$	productividad por área de biomasa al día
$\text{g/L} \cdot \text{d}$	productividad volumétrica de biomasa
LMP	límite máximo permisible
L:O	fotoperiodo luz:oscuridad
NH_3 , $\text{NH}_3\text{-N}$	amoníaco, nitrógeno de amoníaco
NH_4^+ , $\text{NH}_4^+\text{-N}$	amonio, nitrógeno de amonio
NID	nitrógeno inorgánico disuelto
NO_2^- , $\text{NO}_2^-\text{-N}$	nitrito, nitrógeno de nitrito
NO_3^- , $\text{NO}_3^-\text{-N}$	nitrato, nitrógeno de nitrato
N Org	nitrógeno orgánico
NT	nitrógeno total
OD	oxígeno disuelto
PO_4^{3-} , $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$	fosfato, fósforo de fosfato
PT	fósforo total
PTAR	plantas de tratamiento de aguas residuales municipales
RPM	revoluciones por minuto
SDT	sólidos disueltos totales
SIMA	sistema integral de monitoreo ambiental
SS	sólidos sedimentables totales
SST	sólidos suspendidos totales
SSV	sólidos suspendidos volátiles
Vca	voltaje de corriente alterna
Vcc	voltaje de corriente continua
vvm	volumen de aire por volumen de medio por minuto

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	I
ABREVIACIONES Y SÍMBOLOS USADOS	II
ÍNDICE	III
LISTA DE TABLAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VIII
Capítulo 1. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN	1
1.1.- Introducción.....	1
1.2.- Justificación.....	4
Capítulo 2. ANTECEDENTES	5
2.1.- Definición de eutrofización y efectos adversos.....	5
2.2.- Cuantificación de la eutrofización.....	6
2.3.- Fuentes de nutrientes eutróficos.....	8
2.4.- Contaminación con descargas residuales a cuencas hidrográficas vinculadas con las áreas costeras en México.....	10
2.5.- Descarga de efluentes residuales tratados a cuerpos receptores.....	11
2.6.- Normativa Mexicana de descargas de agua residuales tratada.....	12
2.7.- Normativa internacional de descargas de agua residuales.....	14
2.8.- Tratamiento convencional en aguas residuales.....	15
2.9.- Microalgas y estudios de tratamiento de aguas residuales.....	16
2.10.- Tratamiento de remoción de nutrientes por microalgas en efluentes PTAR.....	18
2.11.- Factores que influyen la eliminación de nutrientes en el tratamiento terciario a base de microalgas.....	18
2.12.- Producción de biomasa y subproductos generados a partir del cultivo de microalgas.....	19
2.13.- Identificación y extracción de sustancias bioactivas a partir de microalgas cultivadas.....	22
2.14.- Aplicaciones comerciales de los extractos de microalga.....	24
Capítulo 3. HIPÓTESIS, OBJETIVOS	25
3.1.- Hipótesis.....	25
3.2.- Objetivos.....	25
3.2.1.- Objetivo general.....	25
3.2.2.- Objetivos específicos.....	26
Capítulo 4. MATERIALES Y MÉTODOS	27
4.1.- Área de trabajo.....	27
4.2.- Estrategia general del proyecto.....	28
4.3.- Muestreo y caracterización de efluentes eutróficos PTAR del Estado de Nuevo León, México.....	29

4.4.- Prueba preliminar del efecto de filtración del EE PTAR en la productividad y remoción de nutrientes por un consorcio de microalgas.....	30
4.5.- Colecta, propagación y acondicionamiento de consorcios de microalgas nativos del Estado de Nuevo León, México.....	31
4.6.- Selección de consorcios de microalgas para prueba de recuperación de nutrientes (N y P) de EE PTAR.....	33
4.7.- Propagación de consorcios seleccionados e inducción de formación de aglomerados esféricos.....	34
4.8.- Preparación de inóculo de consorcios microalgales (01 y 12) para la prueba de tratamiento de un EE PTAR.....	35
4.9.- Escalamiento, construcción y características generales del sistema de fotobiorreactores de bajo esfuerzo de corte (patente <i>MX/a/2012/014898</i>).....	36
4.10.- Diseño del experimento de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	38
4.11.- Bitácora de experimentación durante la evaluación del proceso de remoción de nutrientes.....	43
4.12.- Parámetros fisicoquímicos monitoreados durante la evaluación del proceso de remoción de nutrientes en EE PTAR.....	43
4.13.- Productividad de biomasa de los consorcios microalgales 01 y 12 durante el tratamiento del EE PTAR.....	46
4.14.- Caracterización fisicoquímica de biomasa de microalgas.....	47
4.15.- Análisis del ciclo de vida (ACV) del proceso en el sistema de fotobiorreactores.....	47
4.16.- Análisis estadísticos.....	48
4.17.- Disposición de residuos.....	48
Capítulo 5. RESULTADOS	49
5.1.- Colecta, propagación y acondicionamiento de consorcios de microalgas nativos del Estado de Nuevo León, México.....	49
5.2.- Prueba preliminar del efecto de filtración del EE PTAR en la productividad y remoción de nutrientes por un consorcio de microalgas.....	50
5.3.- pH, CE y productividad en experimento de selección de consorcios de microalgas para prueba de recuperación de nutrientes (N y P) de EE PTAR.....	51
5.4.- Remoción de nutrientes (NO_3^- -N y PO_4^{3-} -P) en experimento de selección de consorcios de microalgas para prueba de recuperación de nutrientes (N y P) de EE PTAR.....	54
5.5.- Propagación de consorcios seleccionados e inducción de formación de aglomerados esféricos.....	55
5.6.- Cinética de pH, CE, OD durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	56
5.7.- Cinética de remoción de solubles inorgánicos N-NO_2^- , N-NO_3^- , N-NH_4^+ durante evaluación del tratamiento en EE PTAR con el sistema de fotobiorreactores.....	58
5.8.- Cinética de remoción de NT durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	62
5.9.- Cinética de remoción nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y nitrógeno orgánico (N Org) durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	64
5.10.- Cinética de remoción de PO_4^{3-} -P durante la evaluación del tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	67
5.11.- Comportamiento de la concentración de COT durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	69

5.12.-	Micronutrientes durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	71
5.13.-	Productividad (producción/biomasa) en consorcios microalgales 01 y 12 durante el tratamiento del EE PTAR.....	72
5.14.-	Caracterización fisicoquímica de biomasa de microalgas.....	73
5.15.-	Análisis del ciclo de vida del proceso (ACV) en el sistema de fotobiorreactores.....	74
Capítulo 6. DISCUSIÓN		76
6.1.-	Prueba preliminar del efecto de filtración del EE PTAR en la productividad y remoción de nutrientes por un consorcio de microalgas.....	76
6.2.-	Selección de consorcios de microalgas para pruebas de recuperación de nutrientes (N y P) de EE PTAR.....	77
6.3.-	Propagación de consorcios seleccionados e inducción de formación de aglomerados esféricos.....	80
6.4.-	Efecto de la temperatura ambiental y horas de luz durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	80
6.5.-	Efecto de la concentración del inóculo durante evaluación del tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	81
6.6.-	pH en el efluente durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores y características de descarga.....	82
6.7.-	Comportamiento de CE y OD durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	84
6.8.-	Cinética de remoción de solubles inorgánicos N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻ , N-NH ₄ ⁺ durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	86
6.9.-	Cinética de remoción de NT, NID y N Org durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	88
6.10.-	Cinética de remoción de PO ₄ ³⁻ -P durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	90
6.11.-	Comportamiento de la concentración de COT durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	92
6.12.-	Micronutrientes durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores.....	94
6.13.-	Productividad (producción/biomasa) en consorcios microalgales 01 y 12 durante el tratamiento del EE PTAR.....	95
6.14.-	Caracterización fisicoquímica de biomasa de microalgas.....	97
6.15.-	Análisis del ciclo de vida del proceso (ACV) en el sistema de fotobiorreactores.....	100
Capítulo 7. CONCLUSIONES		102
PERSPECTIVAS Y APLICACIONES		104
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		105

LISTA DE TABLAS

	Página
Capítulo 2	
2.1.- Efectos adversos de eutrofización en cuerpos de agua y áreas costeras (Smith, 2003).....	5
2.2.- Criterios internacionales para la clasificación del estado trófico en agua.....	7
2.3.- Criterios de calidad de agua superficial de lagos o reservorios (CNEPA, 2002).....	8
2.4.- Fuentes y rutas de entrada de nutrientes en sistemas costeros (basado en Selman <i>et al.</i> , 2008).....	8
2.5.- Características de fuentes difusas y puntuales de contaminantes químicos en cuerpos receptores de agua, reconocidos por los estatutos de Estados Unidos de América (modificado por Novotny y Olem 1994).....	9
2.6.- Nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) contenidos en diferentes flujos de residuos (Cai, Park y Li, 2013).....	10
2.7.- Normas típicas de descarga en mg/L (Ayers y Westcot, 1985; WHO, 1989).....	11
2.8.- Clasificación de calidad fisicoquímica de agua de descarga en sistemas receptores (basado en LAWA, 1998).....	12
2.9.- Límites máximos permisibles para contaminantes básicos en descarga de agua residual tratada en cuerpos receptores (NOM-001-SEMARNAT1996).....	13
2.10.- Estándares de efluentes para descarga en agua dulce superficial en diversos países europeos (Jacobsen y Warn, 1999).....	14
2.11.- Eliminación de nitrógeno y fósforo por diversos géneros de microalgas y cianobacterias en procesos por lotes axénicos de diferentes flujos de residuos reales y sintéticos (Cai, Park y Li, 2013).....	17
2.12.- Factores que influyen en la alta tasa de conversión en el cultivo de microalgas en exteriores (Becker, 1988).....	19
2.13.- Productividades de biomasa en fotobiorreactores cerrados bajo condiciones de intemperie (Brennan, 2010).....	20
2.14.- Aplicaciones biotecnológicas de productos a partir de microalgas (Wan-Loy, Chu, 2012).....	21
2.15.- Características antibacterianas estudiadas en principios activos obtenidos a partir de microalgas (Amaro <i>et al.</i> , 2011).....	22
2.16.- Características antivirales estudiadas en principios activos obtenidos a partir de microalgas (Amaro <i>et al.</i> , 2011).....	23
2.17.- Características antifúngicas estudiadas en principios activos obtenidos a partir de microalgas (Amaro <i>et al.</i> , 2011).....	23
2.18.- Estado de la producción comercial de microalgas en 2010 (Brennan y Owende, 2010).....	24
Capítulo 4	
4.1.- EE PTAR “Dulces Nombres” del Estado de Nuevo León, México (resultados promedio de año 2011 a 2012).....	29
4.2.- Intervalo de horas de luz diarias durante el periodo experimental (tomado de SIMA).....	40

4.3.-	Protocolo de planificación de actividades diarias durante el desarrollo de los experimentos de tratamiento de efluentes eutróficos (18/Dic/2013 al 17/Ene/2014).....	43
4.4.-	Parámetros para la determinación de metales por espectroscopia de absorción atómica (EAA) de flama.....	45
4.5.-	Parámetros fisicoquímicos analizados en el EE PTAR durante el tratamiento remoción de nutrientes eutróficos y frecuencia de análisis.....	45

Capítulo 5

5.1.-	Consortios microalgales nativos del Estado de Nuevo León, México utilizados en el presente proyecto.....	50
5.2.-	Resultados de evaluación preliminar (remoción y productividad) por el consorcio microalgal I10.....	51
5.3.-	Cinética de recuperación de biomasa por sedimentación (NMX-AA-004-1977).....	55
5.4.-	Concentraciones de pH, CE y OD en controles 1SEN y 2CEN durante evaluación de tratamientos de EE PTAR.....	58
5.5.-	Concentración de NT durante el tratamiento con los consorcios 01 y 12. Porcentajes de remoción por tratamiento.....	63
5.6.-	Concentración de Nitrógeno Inorgánico Disuelto y Nitrógeno Orgánico durante tratamiento con los consorcios de microalgas 01 y 12. Porcentajes de remoción por tratamiento.....	66
5.7.-	Valor inicial y final de fósforo en el tratamiento. Porcentajes de remoción por tratamiento aplicado en el sistema de fotobiorreactores usando los consorcios 01 y 12.....	68
5.8.-	Concentración de COT en el EE PTAR durante tratamiento con los consorcios 01 y 12. Porcentajes de remoción por tratamiento.....	70
5.9.-	Concentración inicial y final de iones metálicos en tratamiento.....	71
5.10.-	Porcentajes de remoción de compuestos inorgánicos al final de 30 días de tratamiento en el sistema de fotobiorreactores utilizando microalgas.....	72
5.11.-	Productividad g (base seca)/L durante tratamiento. Solidos sedimentables.....	73
5.12.-	Cosecha total en gramos, productividad g/L, % de generación de biomasa y productividad expresados en BS.....	73
5.13.-	Composición de Biomasa de consorcios microalgales generada en EE PTAR.....	74
5.14.-	Consumo y suplementación de energía eléctrica. Enriquecimiento de CO ₂ en tratamiento M+ACO ₂	75

...

LISTA DE FIGURAS

	Página
Capítulo 2	
2.1.- Bioprocesos con microalgas para la producción de productos diversos de consumo (Chisti, 2007).....	20
Capítulo 4	
4.1.- Diagrama de flujo del procedimiento experimental general del proyecto.....	28
4.2.- Intervalo de temperatura ambiental durante el periodo de prueba preliminar del efecto de filtración (tomado de SIMA).....	31
4.3.- Intervalo de temperatura ambiental durante acondicionamiento de consorcios de microalgas (tomado de SIMA).....	32
4.4.- Intervalo de temperatura ambiental durante selección de consorcios de microalgas (tomado de SIMA).....	34
4.5.- Intervalo de temperatura ambiental durante el periodo experimental (tomado de SIMA)...	39
4.6.- Características generales del sistema de fotobiorreactores (patente Mx/a/2012/014898)...	42
4.7.- Fases de un Análisis de Ciclo de Vida (ISO 1997).....	48
Capítulo 5	
5.1.- Ubicación de muestreo subcuenca hidrológica San Juan, Estado de Nuevo León, México.	49
5.2.- pH inicial y al término de tratamiento en el EE PTAR TM en experimento de selección de consorcios de microalgas.....	52
5.3.- CE inicial y al término de tratamiento en el EE PTAR TM en experimento de selección de consorcios de microalgas.....	52
5.4.- Productividad BS (mg/L) obtenida de consorcios microalgales al término del experimento de selección de consorcios de microalgas.....	53
5.5.- Resultados de correlación (r) de productividad (BS) y CE al término del experimento de selección de consorcios de microalgas.....	53
5.6.- Concentración inicial y final de PO_4^{3-} -P (mg/L) en EE PTAR TM.....	54
5.7.- Concentración inicial y final de NO_3^- -N (mg/L) en EE PTAR TM.....	55
5.8.- Cinética de valores de pH en EE PTAR durante tratamiento por consorcios microalgales 01 y 12.....	56
5.9.- Cinética de valores de CE (mS/m) en EE PTAR durante tratamiento por consorcios microalgales 01 y 12.....	57
5.10.- Cinética de valores de OD (mg/L) en EE PTAR durante tratamiento por consorcios microalgales 01 y 12.....	58
5.11.- Cinética de concentración de NO_2^- -N en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12.....	59
5.12.- Cinética de concentración de NO_3^- -N en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12.....	60

5.13.-	Cinética de concentración de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12.....	61
5.14.-	Cinética de concentración de $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ en controles 1SEN y 2CEN durante periodo experimental.....	61
5.15.-	Cinética de concentración de NT en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12.....	63
5.16.-	Cinética de concentración de NT en controles 1SEN y 2CEN durante periodo experimental.....	64
5.17.-	Cinética de concentración de NID en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12.....	65
5.18.-	Cinética de concentración de NID en controles 1SEN y 2CEN durante periodo experimental.....	65
5.19.-	Cinética de concentración de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12.....	67
5.20.-	Cinética de concentración de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ en controles 1SEN Y 2CEN durante periodo experimental.....	68
5.21.-	Cinética de concentración de COT en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12.....	69
5.22.-	Cinética de concentración de COT en controles 1SEN y 2CEN durante periodo experimental.....	70
5.23.-	Esquema de evaluación del ACV en el sistema de fotobiorreactores para el tratamiento de EE PTAR.....	75

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

1.1.- Introducción

La eutrofización del agua es uno de los problemas ambientales más desafiantes a nivel mundial y que tiene como consecuencia graves desequilibrios en los ecosistemas acuáticos. Tal es el caso de las denominadas “zonas muertas” presentes en muchos litorales, que han aparecido y se han extendido desde la década de los 60’s (Diaz, 2001). Las zonas muertas se caracterizan por tener una disminución del oxígeno disuelto (OD) llegando a estados de hipoxia y anoxia. Las zonas muertas se han reportado en más de 400 sistemas en el mundo, afectando una superficie total de 245,000 kilómetros cuadrados (Diaz y Rosenberg, 2008). Estas zonas se han desarrollado principalmente en los mares continentales adyacentes a zonas pesqueras, tales como el mar Báltico, Kattegat (mar entre Dinamarca y Suecia), mar Negro, mar Oriental de China y la zona norte del Golfo de México (Diaz y Rosenberg, 2008).

La eutrofización se define desde el punto de vista ambiental como el enriquecimiento de agua con nutrientes especialmente N y P, a un ritmo tal que no puede ser compensado de forma natural por eliminación o mineralización total (Khan y Ansary, 2005). Aunque ocurre de forma natural y estacional, se ha acelerado considerablemente por el aumento de la población e intervención antropogénica que ha incrementado la tasa de nutrientes desechados hacia los cuerpos de agua (*i.e.* descargas eutróficas; Nixon, 1995; US EPA, 2000).

Dentro de las principales causas de descargas eutróficas se encuentran la aplicación no controlada y excesiva de fertilizantes en la agricultura, el vertido de efluentes orgánicos industriales con nulo o escaso tratamiento y los desechos pecuarios (Smith, 2003; Yang *et al.*, 2008). Todo esto resulta en cambios en el equilibrio fisicoquímico y ecológico de sistemas acuáticos tales como ríos, lagos, bahías, embocaduras y golfos. La legislación mexicana (NOM-001-SEMARNAT-1996) establece un límite máximo permisible en las

descargas de agua residual tratada en un rango de 15 a 60 mg/L para nitrógeno total (NT) y de 5 a 30 mg/L para fósforo total (PT) dependiendo del cuerpo receptor (ríos, aguas costeras, suelo, embalses naturales y artificiales). Sin embargo, el criterio más importante a considerar y más relevante desde el punto de vista ambiental es la concentración final en el sistema receptor, donde valores de \geq de 0.2 mg/L de N y \geq de 0.01 mg/L de P indican contaminación por eutrofización en cuerpos de agua (CNEPA, 2002).

Aunque los procesos que ocurren en los cuerpos receptores de agua afectados por descargas eutróficas no se han entendido en su totalidad, se sabe que el aporte excesivo de nutrientes tiene como consecuencia una respuesta ecológica negativa que resulta en una proliferación masiva de algas, fitoplancton y plantas acuáticas, la cual inicialmente eleva la actividad fotosintética, resultando en una gran cantidad de biomasa y OD (oxígeno disuelto). Asimismo, la oxidación de la materia orgánica incrementa la cantidad de sólidos en el agua, lo que aumenta la turbidez del medio y la acumulación de sedimentos en los cuerpos de agua (Liu y Qui, 2007), reduciendo la incidencia de la radiación solar fotosintéticamente activa y por consiguiente ocasionando mortandad de especies acuáticas (Hautler *et al.*, 2009). La acumulación de sustancias tóxicas como toxinas de algas marinas (Heisler *et al.*, 2008), favoreciendo la proliferación de organismos invasivos resistentes (Lotze *et al.*, 2006). Pero sobre todo, las consecuencias que engloba la eutrofización resultan cruciales debido a que los recursos hídricos y acuáticos pueden perderse completamente (Postel y Carpenter, 1997).

Las microalgas son microorganismos que se caracterizan por una mayor productividad primaria neta por unidad de área en comparación con otros organismos fotosintéticos, tales como las plantas superiores. Esta eficiencia fotosintética excepcional resulta de un número de funciones fisiológicas internamente competitivas, ciclos rápidos de reproducción, bajos requerimientos de nutrientes, y la adaptación a una amplia gama de radiaciones solares (Gordon y Polle, 2007). Expresadas dichas características, se puede teorizar el uso de microalgas para sistemas de tratamiento biológico terciario para ciertas aguas residuales y efluentes con características eutróficas, siempre y cuando se cumplan ciertas condiciones que no limiten el crecimiento de las microalgas (*e.g.* bajas concentraciones de compuestos

ficotóxicos, baja materia orgánica, Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y turbidez (De la Noüe *et al.*, 1992) condiciones que pueden ser cumplidas ya sea directamente o mediante un tratamiento previo del agua a tratar. La ventaja primordial de un sistema avanzado de remoción de nutrientes de descargas eutróficas radica en que es un proceso tomado de la naturaleza que provee una perspectiva de aplicación real a gran escala, dada las dimensiones de las operaciones industriales, agrícolas y pecuarias y que se puede manipular de acuerdo a los objetivos del tratamiento, además presenta en teoría costos competitivos y aplicación directa bajo condiciones reales (De la Noüe *et al.*, 1992., Kebede Westhead *et al.*, 2006).

De acuerdo a su calidad final, la biomasa obtenida de microalgas cultivadas para la remoción de nutrientes puede tener una diversidad de aplicaciones, tales como la obtención de proteína o suplementos alimenticios para humanos o animales (Becker, 2004; 2007), compuestos para la industria (Razif, 2010) o incluso aplicaciones ambientales como la biosorción de metales (Perales, 2006), además de servir como reinóculos para consumo de nutrientes en aguas residuales (Boelee, 2012).

1.2.- Justificación

La eutrofización de cuerpos de agua se presenta como un problema prioritario a nivel mundial que afecta la mayoría de las aguas superficiales en la actualidad. Este problema es tan relevante que en su última actualización (2014), el mapa virtual Google Earth incluye entre sus criterios de clasificación geográfica en el mundo, las “zonas muertas”, como se les denomina a las zonas afectadas por este problema. A nivel nacional, en el Golfo de México se descargan cantidades considerables de N y P como resultado de actividades agrícolas, industriales y pecuarias. Las descargas más importantes provienen de la cuenca del río Mississippi que ha ocasionado un daño irreversible creando la zona muerta del Golfo de México, la cual es ya la mayor extensión de hipoxia antropogénica en el hemisferio occidental, sin embargo a nivel regional las cuencas del río Bravo y del río Pánuco contribuyen de manera significativa a esta problemática en el Golfo de México. Dado que la descarga de efluentes tratados provenientes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales (PTAR) muestra una composición adecuada para el cultivo de microalgas bajo condiciones controladas de operación, además de ser permanentemente descargado a agua superficial (24h, 365 días al año). El presente proyecto plantea el desarrollo de un sistema de tratamiento biológico terciario que sea funcional bajo las condiciones ambientales y climáticas típicos de la región, realizado en un nuevo tipo de fotobiorreactores, para efluentes residuales municipales que previamente cumplan con la NOM-001-SEMARNAT-1996, lo cual resulte en la mejora de la calidad fisicoquímica de dichas descargas hacia cuerpos receptores de agua, con consecuentes reducciones de N y P ($< 1, 2 \text{ mg/L P}$ y $< 15, 10 \text{ mg/L N}$) y cumplimiento de la normativa de descarga más estricta a nivel mundial (directiva de la Unión Europea 91/271/ECC). Dando así, seguimiento y repuesta al marco de los objetivos de desarrollo del milenio de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), el Plan Nacional de Desarrollo 2012 y el Plan Estatal de Desarrollo 2015 del Estado de Nuevo León, los cuales incluyen como aspectos prioritarios la sustentabilidad y el desarrollo regional. Todo esto con el valor agregado de ser un proceso natural, solar y sustentable, que utilice especies nativas para solucionar problemáticas locales y asimismo obteniendo biomasa como subproducto potencialmente valioso.

Capítulo 2

ANTECEDENTES

2.1.- Definición de eutrofización y efectos adversos

La eutrofización, desde un punto de vista ecológico, puede definirse como la suma de los efectos del crecimiento excesivo de fitoplancton (microalgas) que da origen a un desequilibrio en la productividad primaria (organismos autótrofos) y secundaria (organismos heterótrofos) generando un cambio de nivel trófico causado por el enriquecimiento de nutrientes (Khan y Ansary, 2005). Esta definición es consistente con el uso histórico y hace hincapié en que la eutrofización es un proceso y no un estado trófico (Nixon, 1995).

El efecto adverso de la eutrofización en sistemas marinos y costeros, causa una amplia variedad de síntomas indeseables, que están directa o indirectamente relacionados con el crecimiento excesivo de plantas acuáticas (Tabla 2.1). Los impactos ecológicos adversos causados por la eutrofización se pueden clasificar en base a tres aspectos: (1) reducción de la biodiversidad y la sustitución de las especies dominantes, (2) aumento de la toxicidad del agua, y (3) aumento de la turbidez del agua y disminución de la vida útil en los sistemas acuáticos (Dodds *et al.*, 2009).

**Tabla 2.1.- Efectos adversos de eutrofización en cuerpos de agua y áreas costeras
(Smith, 2003)**

- Incremento de la biomasa de fitoplancton
- Cambios en la composición del fitoplancton y floración de especies las cuales en una gran mayoría pueden ser tóxicas o no consumidas eficazmente por herbívoros acuáticos
- Incremento de productividad, biomasa y la composición de especies adheridas a microalgas (perifiton)
- Incremento de productividad, biomasa y la composición de especies de macroalgas marinas
- Cambios en la productividad, biomasa y la composición de especies de plantas vasculares acuáticas
- Disminución de la producción deseable de peces y crustáceos
- Reducciones en la salud y el tamaño de las poblaciones de corales marinos
- Amenazas a especies acuáticas en peligro de extinción
- Problemas en el olor, sabor y filtración en el abastecimiento de agua potable
- Agotamiento del oxígeno en aguas profundas
- Disminuciones en el valor estético percibido del cuerpo de agua
- Impactos negativos económicos, incluidos los valores de propiedad y de disminución de los usos recreativos

2.2.- Cuantificación de la eutrofización

El grado de eutrofización depende de múltiples variables, incluyendo las características de la cuenca hidrológica, así como de los aspectos químicos y biológicos de los cuerpos de agua receptores (US EPA, 2000). De esta manera, existen diversos criterios para la clasificación del estado trófico en aguas superficiales (Tabla 2.2) y de calidad de agua superficial (Tabla 2.3), basados principalmente en la concentración de nutrientes (N y P), clorofila, turbidez de agua y OD (Yang *et al.*, 2008). McCool y Renard (1990) reportan que concentraciones en el agua a partir de 0.3 mg/L de N inorgánico y 0.015 mg/L de P inorgánico son los niveles en que la eutrofización podría representar un problema para los ecosistemas.

Tabla 2.2.- Criterios internacionales para la clasificación del estado trófico en agua

Estado Trófico	PT (µg/L)	Clorofila <i>a</i> (µg/L)		Transparencia ^a (m)		NT (µg/L)
		Media	Máximo	Media	Máximo	
Criterio OECD (Ryding y Rast, 1994)						
Ultra - Oligotrófico	< 4	< 1	< 2.5	> 12	> 6	- ^b
Oligotrófico	< 10	< 2.5	< 8	> 6	> 3	-
Mesotrófico	10 - 35	2.5 - 8	8 - 25	6 - 3	3 - 1.5	-
Eutrófico	35 - 100	8 - 25	25 - 75	3 - 1.5	1.5 - 0.7	-
Hipereutrófico	> 100	> 25	> 75	< 1.5	< 0.7	-
Criterio canadiense (Environment Canada, 2004)						
Ultra - Oligotrófico	< 4	< 1	< 2.5	> 12	> 6	-
Oligotrófico	4 - 10	< 2.5	< 8	> 6	> 3	-
Mesotrófico	10 - 20	2.5 - 8	8 - 25	6 - 3	3 - 1.5	-
Meso - eutrófico	20 - 35	-	-	-	-	-
Eutrófico	35 - 100	8 - 25	25 - 75	3 - 1.5	1.5 - 0.7	-
Hipereutrófico	> 100	> 25	> 75	< 1.5	< 0.7	-
Criterio Nürnberg (Nürnberg, 2001)						
Oligotrófico	< 10	< 3.5	-	-	-	< 350
Mesotrófico	10 - 30	3.5 - 9	-	-	-	350 - 650
Eutrófico	31 - 100	9.1 - 25	-	-	-	651 - 1200
Hipereutrófico	> 100	> 25	-	-	-	> 1200
Criterio Quebec (MDDEP, 2007)						
Oligotrófico	4 - 10	1 - 3	-	12 - 5	-	-
Mesotrófico	10 - 30	3 - 8	-	5 - 2.5	-	-
Eutrófico	30 - 100	8 - 25	-	2.5 - 1	-	-
Criterio Sueco (University of Florida, 1983)						
Oligotrófico	< 15	< 3	-	> 3.96	-	< 400
Mesotrófico	15 - 25	3 - 7	-	2.43 - 3.96	-	400 - 600
Eutrófico	25 - 100	7 - 40	-	0.91 - 2.43	-	600 - 1500
Hipereutrófico	> 100	> 40	-	< 0.91	-	> 1500
Criterio propuesto por Dodds <i>et al.</i>, 1998						
Estado Trófico	PT (mg/L)	NT (mg/L)	Clorofila sestónica (µg/L)	Media de clorofila bentónica (mg m ⁻²)		
Oligotrófico - Mesotrófico (límite)	0.025	0.7	10	20		
Mesotrófico - Eutrófico (límite)	0.075	1.5	30	70		
Criterio propuesto por Janus y Vollenweider, 1981						
Estado Trófico	Materia orgánica	Media de PT (µg/L)	Clorofila máxima (µg/L)	Transparencia ^a (m)		
Oligotrófico	baja	8.0	4.2	9.9		
Mesotrófico	media	26.7	16.1	4.2		
Eutrófico	alta	84.4	42.6	2.45		
Criterio propuesto por Forsberg y Ryding, 1980						
Estado Trófico	PT (µg/L)	NT(µg/L)	Clorofila (µg/L)	Transparencia ^a (m)		
Oligotrófico	< 15	< 400	< 3	> 4		
Mesotrófico	15 - 25	400 - 600	3 - 7	4 - 2.5		
Eutrófico	25 - 100	600 - 1500	7 - 40	2.5 - 1		
Hipereutrófico	> 100	> 1500	> 40	< 1.0		
Criterio propuesto por Chapra y Dobson, 1981						
Estado Trófico	PT (µg/L)	Clorofila (µg/L)		Transparencia ^a (m)		
Oligotrófico	< 11	< 2.9		> 5		
Mesotrófico	11 - 21.7	2.9 - 5.6		5 - 3		
Eutrófico	> 21.7	> 5.6		< 3		

^a Transparencia por profundidad de disco Secchi; ^b no disponible

Tabla 2.3.- Criterios de calidad de agua superficial de lagos o reservorios (CNEPA, 2002)

Clasificación de agua superficial					
Parámetro	Clase I	Clase II	Clase III	Clase IV	Clase V
Temperatura de Agua (°C)	Incremento máximo semanal ≤ 1 ; disminución máxima semanal ≤ 2				
pH	6 – 9				
OD (mg/L)	Saturación \geq 90%	≥ 6	≥ 5	≥ 3	≥ 2
DQO _{Mn} (mg/L)	≤ 2	≤ 4	≤ 6	≤ 10	≤ 15
DQO _{Cr} (mg/L)	≤ 15	≤ 15	≤ 20	≤ 30	≤ 40
DBO ₅ (mg/L)	≤ 3	≤ 3	≤ 4	≤ 6	≤ 10
NT (mg/L)	≤ 0.2	≤ 0.5	≤ 1.0	≤ 1.5	≤ 2.0
NH ₃ -N (mg/L)	≤ 0.15	≤ 0.5	≤ 1.0	≤ 1.5	≤ 2.0
NO ₂ -N (mg/L)	≤ 0.06	≤ 0.1	≤ 0.15	≤ 1.0	≤ 1.0
PT (mg/L)	≤ 0.01	≤ 0.025	≤ 0.05	≤ 0.1	≤ 0.2
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	≤ 0.001	≤ 0.004	≤ 0.01	≤ 0.03	≤ 0.065
Transparencia (m)	≥ 15	≥ 4	≥ 2.5	≥ 1.5	≥ 0.5
<i>Escherichia coli</i> (L ⁻¹)	≤ 200	≤ 2000	≤ 10000	≤ 20000	≤ 40000

OD: oxígeno disuelto; DQO_{Mn}: Demanda química de oxígeno por método de oxidación K₂MnO₄; DQO_{Cr}: Demanda química de oxígeno por método de oxidación cromo; DBO₅: Demanda bioquímica de oxígeno; NT: Nitrógeno total; PT: Fósforo Total.

CNEPA: Environmental Protection Agency of China

2.3.- Fuentes de nutrientes eutróficos

El flujo de nutrientes hacia medios acuáticos se debe principalmente a la suma de descargas de múltiples fuentes, como las incluidas en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4.- Fuentes y rutas de entrada de nutrientes en sistemas costeros (basado en Selman *et al.*, 2008)

Fuentes	Rutas de entrada		
	Aire	Agua superficial	Agua subterránea
Combustión de combustibles fósiles	❖		
Sistemas sépticos			❖
Escorrentamiento de aguas pluviales urbanas		❖	
Industria		❖	
Aguas residuales urbanas/ aguas residuales		❖	
Fertilizantes agrícolas	❖	❖	❖
Explotaciones ganaderas	❖	❖	❖
Acuicultura		❖	

Las entradas de contaminantes químicos tales como nitrógeno y fósforo a cuerpos de agua se clasifican como fuentes difusas o puntuales (Tabla 2.5). Las fuentes difusas a menudo se derivan de extensas áreas de tierra siendo transportados por tierra, bajo tierra, o a través de la atmósfera a las aguas receptoras, por lo que consecuentemente las fuentes difusas tienden a ser difíciles de medir y regular. Las fuentes puntuales como vertidos de agua residual tratada tienden a ser continuas, con poca variabilidad en tiempo, con relativa facilidad de ser medidas y asimismo ser tratadas en el punto de origen (Carpenter *et al.*, 1998). La Tabla 2.6 muestra los niveles de nitrógeno y fósforo en diferentes aguas residuales provenientes de fuentes puntuales.

Tabla 2.5.- Características de fuentes difusas y puntuales de contaminantes químicos en cuerpos receptores de agua, reconocidos por los estatutos de Estados Unidos de América (modificado por Novotny y Olem 1994)

Fuentes difusas
<ul style="list-style-type: none"> - Escorrentía de agricultura (Incluyendo el flujo de retorno de la agricultura de regadío) - Escorrentía de los pastos y sierra - Escorrentía urbana de áreas sin alcantarillado y áreas con una población < 100 000 - Lixiviación de fosas sépticas y aguas de escorrentía de sistemas sépticos fallidos - Escorrentía de sitios de construcción < 2 hectáreas - Escorrentía de minas abandonadas - Deposición atmosférica sobre la superficie de agua - Actividades en suelo que generan contaminantes, tales como la tala, la conversión de humedales, la construcción y el desarrollo en suelos o cursos de agua
Fuentes puntuales
<ul style="list-style-type: none"> - Efluentes aguas residuales (municipales e industriales) - Escorrentía y lixiviación de sitios de disposición de residuos - Escorrentía y lixiviación de corrales de engorda de animales - Escorrentía de minas, campos de petróleo, sitios industriales sin alcantarillado - Desagües pluviales de las ciudades con una población > 100 000 - Desbordamientos por la combinación de tormentas y alcantarillas sanitarias - Escorrentía de sitios de construcción > 2 hectáreas

Tabla 2.6.- Nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) contenidos en diferentes flujos de residuos (Cai, Park y Li, 2013)

Categoría de aguas residuales	Descripción	NT (mg/L)	PT (mg/L)	Cociente de N/P
Aguas residuales municipales	Aguas residuales	15 – 90	5 – 20	3.3
Aguas residuales de animales	Ganado vacuno	185 – 2636	30 – 727	3.6 – 7.2
	Aves de corral	802 – 1825	50 – 446	4 – 16
	Ganado porcino	1110 ^a – 3213	310 – 987	3.0 – 7.8
	Coral de engorda vacuno	63 – 4165	14 – 1195	2.0 – 4.5
Aguas residuales industriales	Textil	21 – 57 ^a	1.0 – 9.7 ^b	2.0 – 4.1
	Elaboración de vino	110 ^a	52	2.1
	Curtiduría	273 ^a	21 ^b	13.0
	Fábrica de papel	1.1 – 10.9	0.6 – 5.8	3.0 - 4.3
	Molino de olivo	532	182	2.9
Efluentes con digestión anaeróbica	Estiércol de ganado lechero	125 – 3456	18 – 250	7.0 – 13.8
	Estiércol de aves de corral	1380 – 1580	370 – 382	3.6 - 4.3
	Lodos de depuración	427 – 467	134 – 321	-
	Desperdicios de alimentos y estiércol de ganado lechero	1640 – 1885 ^a	296 – 302	-

^aNo especificado, ^a Nitrógeno Total Kjeldahl, ^b Ortofosfatos totales (PO₄³⁻P)

2.4.- Contaminación con descargas residuales a cuencas hidrográficas vinculadas con las áreas costeras en México

La cantidad de nutrientes que contienen las aguas residuales supera en muchas ocasiones la capacidad de asimilación de los cuerpos de agua costeros y los ecosistemas marinos, por lo que se generan severos impactos en ecosistemas pelágicos y bentónicos, tales como eutrofización, hipoxia y alteración en la composición y abundancia de la biodiversidad local (Berman *et al.*, 2005). Otra consecuencia se atribuye por la concentración de compuestos de nitrógeno en los efluentes de agua residual en el cual hay un efecto de toxicidad del amonio no ionizado para peces y otros organismos acuáticos (Lincoln y Earle, 1990).

La contaminación por las descargas municipales a cuencas hidrográficas vinculadas con las áreas costeras en México es referida a 20 cuencas de un total de 218, en las que se ubica el 93% de la población y tiene lugar el 72% de la producción industrial, generando el 89% de la carga total contaminante. En las cuencas de los ríos Panuco, Lerma, San Juan y Balsas se reciben el 50% de las descargas de agua residual. Otras cuencas altamente contaminadas corresponden a las de los ríos Blanco, Papaloapan, Culiacán y Coatzacoalcos. A nivel nacional, en 2009 se trataron únicamente el 37.1% de las aguas residuales municipales que se generaron y el 19.3% de las aguas residuales no municipales, incluyendo a las industriales (CONAGUA, 2011).

2.5.- Descarga de efluentes residuales tratados a cuerpos receptores

Si los efluentes no son reutilizados, son descargados directamente hacia el ambiente en sistemas acuáticos sensibles, por lo que se han establecido normas y límites para la descarga, que pueden diferir entre países. Por ello se considera como regla general que cuanto más sensible sea el medio receptor de la descarga, mayor deberá ser la calidad del efluente. Algunos límites habituales de descarga adoptados mundialmente en una gran cantidad de países industrializados y en países en vías de desarrollo, son presentados en la Tabla 2.7.

Tabla 2.7.- Normas típicas de descarga en mg/L (Ayers y Westcot, 1985; WHO, 1989)

Parámetro	Descarga en agua superficial		Aguas superficiales sensibles a eutrofización	Uso de efluentes en riego y acuicultura
	Alta calidad	Baja calidad		
DBO	20	50	10	100 ¹
SST	20	50	10	< 50 ¹
N Kjeldahl	10	-	5	-
N Total	-	-	10	-
P Total	1	-	0.1	-
Coliformes fecales (NMP/100 mL)	-	-	-	< 1000
Huevos de helmintos	-	-	-	< 1
SAR	-	-	-	< 5
SDT	-	-	-	< 500 ²

- No hay normas establecidas, ¹ norma agronómica, ² No hay restricciones sobre la selección de cultivos, SST sólidos suspendidos totales, SDT sólidos disueltos totales, SAR relación de absorción de sodio,

De esta manera, la WHO ha declarado que los estándares de calidad ambiental relacionados al deterioro de la calidad del agua en los cuerpos receptores deberá ser el mínimo posible. Así, las valoraciones del agua residual tratada en las PTARs son utilizadas comúnmente para estimar la calidad del efluente, donde ésta se evalúa de acuerdo a una serie de parámetros descritos en la Tabla 2.8.

Tabla 2.8.- Clasificación de calidad fisicoquímica de agua de descarga en sistemas receptores (basado en LAWA, 1998)

Clase	PT	NO ₃ N	NH ₄ N	NT	AOX		
	mg/L*						
I	≤ 0.05	≤ 1.0	≤ 0.04	≤ 1.0	„0“		
I – II	≤ 0.08	≤ 1.5	≤ 0.10	≤ 1.5	≤ 0.01		
II	≤ 0.15	≤ 2.5	≤ 0.30	≤ 3.0	≤ 0.025		
II – III	≤ 0.30	≤ 5.0	≤ 0.60	≤ 6.0	≤ 0.05		
III	≤ 0.60	≤ 10	≤ 1.20	≤ 12	≤ 0.1		
III –IV	≤ 1.20	≤ 20	≤ 2.40	≤ 24	≤ 0.2		
IV	> 1.20	> 20	> 2.40	> 24	> 0.2		
Clase	Concentración total de metal						
	Pb ^{A,S}	Cd ^A	Cr ^S	Cu ^S	Ni ^S	Hg ^A	Zn ^S
	mg/Kg**						
I	≤ 25	≤ 0.3	≤ 80	≤ 20	≤ 30	≤ 0.2	≤ 100
I – II	≤ 50	≤ 0.6	≤ 90	≤ 40	≤ 40	≤ 0.4	≤ 150
II	≤ 100	≤ 1.2	≤ 100	≤ 60	≤ 50	≤ 0.8	≤ 200
II – III	≤ 200	≤ 2.4	≤ 200	≤ 120	≤ 100	≤ 1.6	≤ 400
III	≤ 400	≤ 4.8	≤ 400	≤ 240	≤ 200	≤ 3.2	≤ 800
III – IV	≤ 800	≤ 9.6	≤ 800	≤ 480	≤ 400	≤ 6.4	≤ 1600
IV	> 800	> 9.6	> 800	> 480	> 400	> 6.4	> 1600

AOX: Compuestos Orgánicos Halogenados, ^A: ecosistema acuático, ^S: Sólidos suspendidos y sedimentos, *: en comparación con el percentil 90, **: comparado con el percentil 50. Clase I: nivel de base natural (original), I – II: impacto antropogénico muy bajo, II: bajo impacto, II – III: impacto significativo, III: de alto impacto, III – IV: de muy alto impacto

2.6.- Normativa Mexicana de descargas de agua residuales tratada

En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de agua residual en cuerpos receptores (Tabla 2.9). Fue publicada en el Diario Oficial de la Federación, con fecha 6 de Enero de 1997y tiene como objeto proteger la calidad del agua y posibilitar sus usos y su observancia es obligatoria para los responsables de dichas descargas. Ésta norma específica

los tipos de cuerpos receptores y fija los límites máximos permisibles para contaminantes básicos, patógenos y tóxicos. Así como los tiempos de cumplimiento en función del tipo de descarga y la concentración de contaminantes.

Tabla 2.9.- Límites máximos permisibles para contaminantes básicos en descarga de agua residual tratada en cuerpos receptores (NOM-001-SEMARNAT-1996)

Parámetro	Límites máximos permisibles (mg/L, excepto cuando se especifique)		
	NOM-001		
	(A)	(B)	(C)
	PM/PD	PM/PD	PM/PD
Temperatura (°C)	NA ^{1,7} 40/40 ⁴	40/40	40/40
Grasas y Aceites	15/25	15/25	15/25
Materia flotante	Ausente		
Sólidos Sedimentables (mL/L)	1/2 ^{1,4} NA ⁷	1/2	1/2
Sólidos Suspendidos Totales	150/200 ^{1,4} NA ⁷	75/125	40/60
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	150/200 ^{1,4} NA ⁷	75/150	30/60
Nitrógeno total	40/60¹ NA^{4,7}	40/60^{2,3} 15/25⁶ NA^{5,8}	15/25
Fósforo total	20/30¹ NA^{4,7}	20/30^{2,3} NA^{5,8}5/10⁶	5/10
Arsénico total	0.2/0.4 ^{1,7} 0.1/0.2 ⁴	0.1/0.2 ^{2,6,8} 0.2/0.4 ^{3,5}	0.1/0.2
Cadmio total	0.2/0.4 ¹ 0.1/0.2 ⁴ 0.05/0.1 ⁷	0.1/0.2 ^{2,6,8} 0.2/0.4 ^{3,5}	0.1/0.2
Cianuro total	2/3 ^{1,7} 1/2 ⁴	1/2 ^{2,6,8} 2/3 ^{3,5}	1/2
Cobre total	4/6	4/6	4/6
Cromo total	1/1.5 ¹ 0.5/1 ^{4,7}	0.5/1 ^{2,6,8} 1/1.5 ^{3,5}	0.5/1
Mercurio total	0.01/0.02 ^{1,4} 0.005/0.01 ⁷	0.005/0.01 ^{2,8} 0.01/0.02 ^{3,5,6}	0.005/0.01
Níquel total	2/4	2/4	2/4
Plomo total	0.5/1 ¹ 0.2/0.4 ⁴ 5/10 ⁷	0.2/0.4 ^{2,6,8} 0.5/1 ^{3,5}	0.2/0.4
Zinc total	10/20	10/20	10/20
pH (sin unidades)	5-10		
Coliformes fecales NMP/100ml	1000/2000	1000/2000	1000/2000
<i>Salmonella sp</i> (NMP/g en base seca)	-	-	-
Huevos de Helminto	1 ⁷ RNR 5 ⁷ RR (H/L)	-	-

PM Promedio mensual
PD Promedio diario
NA No es aplicable
RR Riego restringido
RNR Riego no restringido
(A), (B) y (C) Tipo de cuerpo receptor según la Ley Federal de Derechos

¹ Uso en riego agrícola (Ríos)
² Uso público urbano (Ríos)
³ Uso en riego agrícola (Embalses naturales y artificiales)
⁴ Explotación pesquera, navegación y otros usos (Aguas costeras)
⁵ Recreación (Aguas costeras)

⁶ Estuarios (Aguas costeras)
⁷ Uso en riego agrícola (Suelo)
⁸ Humedales naturales (Suelo)
- No especificado

2.7.- Normativa internacional de descargas de agua residuales

Dada la creciente preocupación con respecto a la conservación del ambiente y de sus recursos naturales, se han fijado normativas estrictas para el control de las descargas donde se especifican los límites permisibles para la descarga de efluentes, a países desarrollados. Tal es el caso de la Directiva 91/271/CEE de la UE (1991) que establece las normas para la DQO, DBO, SST, N total y P total que se han adoptado en distintos países europeos (Tabla 2.10).

Tabla 2.10.- Estándares de efluentes para descarga en agua dulce superficial en diversos países europeos (Jacobsen y Warn, 1999)

País	Habitantes en miles	DQO mg/L	DBO ₅ mg/L	SST mg/L	NT mg/L	PT mg/L	Tipo de tratamiento o comentario
Unión Europea	> 2	125	25	35	-	-	Secundario
	10 - 100	125	25	35	15	2	Terciario
	> 100	125	25	35	10	1	Terciario
Austria	0.05 - 0.5	90	-	-	-	-	Secundario
	0.5 - 5	75	20	-	-	2	Terciario
	5 - 50	75	20	-	-	1	Terciario
	> 50	75	15	-	-	1	Terciario
	> 10	75	15	-	-	0.5	Terciario
Suiza	0.2 - 2	-	20	20	-	-	Secundario
	2 - 10	-	20	20	-	0.8	Terciario
	> 10	-	15	15	-	0.8	Terciario
Francia	> 2	125	25	35	-	-	-
	10 - 100	125	25	35	15	2	-
	> 100	125	25	35	10	1	-
Italia	-	160	40	80	10	0.5	Lagos < 10 Km de la costa
	-	160	40	80	-	10	
Países Bajos	1.8 - 18	125	20	30	15	2	Terciario
	18 - 90	125	20	30	10	2	Terciario
	> 90	125	20	30	10	1	Terciario
Eslovaquia	< 0.05	-	60	50	-	-	-
	0.05 - 0.5	-	50	40	-	-	-
	0.5 - 5	140	40	35	-	-	-
	5 - 25	120	35	30	-	5	-
	25 - 100	100	30	25	-	3	-
	> 100	90	20	20	-	1.5	-

- No especificado

2.8.- Tratamiento convencional en aguas residuales

Las sustancias orgánicas e inorgánicas que se liberan en el ambiente como consecuencia de las actividades domésticas, agrícolas e industriales conducen a la contaminación crónica de las cuencas hidrológicas nacionales. Los procesos de tratamiento convencional primario y secundario de aguas residuales se han introducido en un número creciente de lugares, con el fin de eliminar materiales fácilmente establecidos (tratamiento primario) y para la oxidación de la materia orgánica presente en el agua residual (tratamiento secundario) (Abdel-Raouf *et al.*, 2012).

De esta manera a la fecha se encuentran métodos biológicos, fisicoquímicos, y mecánicos para tratar desechos y efluentes generados del sector agroindustrial y acuícola, con alto contenido de nutrientes en formas orgánicas y/o inorgánicas. (Bernet, 2009). Sin embargo, estas técnicas sólo logran la eliminación de la mayoría de los contaminantes orgánicos, pero con un efecto mínimo sobre la eliminación de los contaminantes inorgánicos (Travieso, 2006). Esto no genera una solución a los altos contenidos de nitratos, amonio e iones fosfato, causantes de la eutrofización del agua y de floración de microalgas (Sawamada *et al.*, 1998). La eliminación de contaminantes inorgánicos suele requiere de costosos métodos fisicoquímicos (Benemann, 1979), especialmente la eliminación de fósforo, que es el contaminante más difícil de eliminar (de-Bashan y Bashan, 2010). El proceso terciario convencional destinado a la eliminación del NH_3 , NO_3^- y PO_4^{3-} es aproximadamente cuatro veces más elevado que el tratamiento primario (Oswald, 1988b).

2.9.- Microalgas y estudios de tratamiento de aguas residuales

Las microalgas son organismos fotosintéticos procariotas o eucariotas de rápido crecimiento, que toleran condiciones adversas debido a su estructura multicelular o unicelular simple, requiriendo prácticamente solo luz solar y nutrientes inorgánicos simples. Ejemplos de microalgas procariotas son las cianobacterias (Cyanophyceae) y de microalgas eucariotas son las algas verdes (Chlorophyta) y las diatomeas (Bacillariophyta) (Li *et al.*, 2008 a, b).

El biotratamiento de aguas residuales con microalgas para la eliminación de N y P y fue propuesto en la década de los cincuenta por Oswald y Gotaas (1957). Desde entonces, se han realizado numerosos estudios a escala de laboratorio y piloto de este proceso (Tabla 2.11). De esta manera varias plantas de tratamiento de agua residual con diferentes versiones de estos sistemas se han construido (Shelef *et al.*, 1980; Oswald, 1988a, b; Shi *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2008). La aplicación más común del tratamiento de agua residual con uso de microalgas tiene por objeto la recuperación de nutrientes (Carlsson *et al.*, 2007), que es básicamente un efecto de su asimilación por las microalgas durante su crecimiento. Sin embargo, otros fenómenos también se producen, tales como la volatilización de NH_3 y la precipitación de fósforo en forma de fosfato de calcio $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$ como resultado del aumento del pH inducido por la interacción con las microalgas (Hammouda, *et al.*, 1994). Asimismo el biotratamiento con microalgas resulta interesante debido a sus capacidades fotosintéticas y su conversión de energía solar en biomasa (De la Noüe y De Pauw, 1988). Por otra parte la producción de microalgas para la producción de biocombustibles (biodiesel, biometano) y mitigación de emisiones de CO_2 (fijación fotosintética) se encuentran bajo investigación (Carlsson *et al.*, 2007).

Tabla 2.11.- Eliminación de nitrógeno y fósforo por diversos géneros de microalgas y cianobacterias en procesos por lotes axénicos de diferentes flujos de residuos reales y sintéticos (Cai, Park y Li, 2013)

Género y especie	Flujo de residuos	Tipo de proceso	Tiempo de remoción (d)	NT		PT	
				Concentración inicial (mg/L)	Eficiencia de remoción (%)	Concentración inicial (mg/L)	Eficiencia de remoción (%)
Categoría Chlorophyta							
<i>Chlorella</i> sp.	Abono digerido	Lote	21	100 - 240	76 - 83	15 - 30	63 - 75
*: la muestra fue diluida a concentraciones de 10, 15, 20 y 25% con posterior filtración (1.5 µm), no especifican condiciones de tratamiento							
<i>C. kessleri</i>	Medio sintético	Lote	3	168	8 - 19 ^b	10 - 12	8 - 20 ^c
*: temperatura regulada (30°C) a 300 rpm, con luz artificial a diferentes fotoperiodos							
<i>C. pyrenoidosa</i>	Agua residual agroindustrial	Lote alimentado	5	267	87 - 89	56	70
*: la muestra se ajustó a pH de 6.5 y se esterilizo en autoclave (121°C/20min), el tratamiento fue realizado en una incubadora con luz artificial 40.5 µmol m ⁻² s ⁻¹ con un fotoperiodo 14:10 y temperatura de 27 ± 1°C							
<i>C. sorokiniana</i>	Medio sintético esterilizado	Lote	10	-	-	22	45 - 72
*: temperatura regulada (26±2°C), iluminación constante de 60 µmol m ⁻² s ⁻¹ y pH de 6.8 a 7.0							
<i>C. vulgaris</i>	Medio sintético	Lote	1 - 10	13 - 410	23 - 100 ^a	5 - 8	46 - 94 ^c
*: aireación enriquecida con CO ₂ , pH de 6.5 a 7.0, iluminación continua a 4100 lux y temperatura de 20 ± 2°C							
<i>C. vulgaris</i>	Agua residual agroindustrial	Lote	5 - 9	3 - 36	30 - 95 ^a	112	20 - 55
*: filtración a 0.45µm, esterilización (20min) y dilución 1:1 con agua dulce, temperatura de 20±2°C e iluminación continua 60 µmol m ⁻² s ⁻¹ y aeración con difusión de burbujas							
<i>C. vulgaris</i>	Agua residual municipal	Lote	2 - 10	48 - 1550	55 - 88	4 - 42	12 - 100
*: temperatura 25 ± 1°C, intensidad de luz 135 µE m ⁻² s ⁻¹ y aeración con burbujeo							
<i>C. reinhardtii</i>	Medio sintético	Lote	10 - 30	129	42 - 83 ^a	120	13 - 14 ^c
*: temperatura 25 ± 1 °C, aireación enriquecida con CO ₂ , iluminación continua 120 µmol m ⁻² s ⁻¹							
<i>Scenedesmus</i> sp	Medio sintético	Lote	0.2 - 4.5	14 - 44	30 - 100 ^{a, b}	1.4 - 6.0	30 - 100 ^c
*: temperatura 20 ± 2°C intensidad luminosa 6500 ± 300 lux, fotoperiodo 13:11 LO, agitación por burbujeo							
<i>S. dimorphus</i>	Agua residual industrial	Lote	9	-	-	112	20 - 55
*: filtración a 0.45µm, esterilización (20 min) y dilución 1:1 con agua dulce, temperatura de 20 ± 2°C e iluminación continua 60 µmol m ⁻² s ⁻¹ y aeración con difusión de burbujas							
<i>S. obliquus</i>	Agua residual municipal	Lote	0.2 - 8	27	79 - 100 ^a	12	47 - 98
*: inóculo algal hiperconcentrado, dilución 1:1 de agua residual con agua de mar estéril, bajo condiciones ambientales							
Categoría Cyanobacteria							
<i>Arthrospira</i> sp.	Efluentes anaerobios porcinos	Semi - continuo	-	-	84 - 96 ^a	-	72 - 87 ^c
*: se evaluó una solución diluida con 2% (v/v) del efluente residual, con ajuste de pH inicial (8.8) y durante el tratamiento se controló el pH de 9.5, bajo condiciones ambientales							
<i>A. platensis</i>	Agua residual agroindustrial	Lote	15	2 - 3	96 - 100 ^a	18 - 21	87 - 99 ^c
*: condiciones controladas mantenimiento de pH 8, distintas suplementaciones de nutrientes							
<i>Oscillatoria</i> sp.	Agua residual municipal	Continuo	14	498	100	76	100
*: dilución 1:1 con agua marina estéril, bajo condiciones ambientales							
Categoría Diatomea							
<i>P. tricornutum</i>	Agua residual municipal	Continuo	14	498 - 835	80 - 100	76 - 116	50 - 100
*: dilución 1:1 con agua marina estéril, bajo condiciones controladas							
Categoría Haptophyta							
<i>I. galbana</i>	Medio sintético esterilizado	Lote	8	377	99	-	-
*: temperatura 20 ± 1°C, bajo distintas intensidades de iluminación continua, aireación de 4.5 L/min y salinidad ajustada 33‰							

* Condiciones experimentales en tratamiento previo del residuo y/o condiciones durante tratamiento: ^a Nitrógeno amoniacal, ^b Nitrato, ^c Ortofosfatos totales. ‰ La décima parte de un porcentaje. - No especificado

2.10.- Tratamiento de remoción de nutrientes por microalgas en efluentes PTAR

El nitrógeno en las aguas residuales de una PTAR se deriva principalmente de interconversiones metabólicas. Asimismo el 50% o más de fósforo surge de detergentes sintéticos. Las principales formas químicas en que se encuentran estos nutrientes en los efluentes son: NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- y PO_4^{3-} , coincidentemente causantes de eutrofización (Horan, 1990).

El uso de microalgas ha destacado como tratamiento alternativo secundario o tratamiento biológico terciario para la (eliminación de nutrientes) debido a que ofrece un enfoque rentable por el menor costo de implementación y operación bajo condiciones ambientales (en sistemas fotobiorreactores solares), con alta eficiencia en remoción de compuestos solubles inorgánicos (N y P) causantes de eutrofización (Chen, *et al.*, 2011; Evonne y Tang, 1997). Asimismo el uso de microalgas es un proceso que no produce contaminación secundaria, en contraste a tratamientos terciarios estrictamente fisicoquímicos que pueden conducir a la generación de subproductos nocivos (De la Noüe *et al.*, 1992)

2.11.- Factores que influyen en la eliminación de nutrientes en el tratamiento terciario a base de microalgas

La absorción de nutrientes y la consecuente productividad de las microalgas en el tratamiento biológico de agua residual son afectadas fuertemente por la disponibilidad de nutrientes y las complejas interacciones entre los factores físicos tales como el pH (Azov y Shelef, 1987), intensidad de luz, temperatura (Talbot y De la Noüe, 1993) y factores bióticos. El primer factor biótico con influencia significativa en el crecimiento de algas es la densidad inicial (inóculo), que posee una correlación positiva directa con la eficiencia de eliminación de nutrientes y productividad (Lau *et al.*, 1995). Por el contrario, la alta densidad de algas lleva al autosombreado, acumulación de autoinhibidores y una reducción en la eficiencia fotosintética (Fogg, 1975; Darley, 1982).

El éxito del tratamiento de depuración con microalgas depende principalmente de una fuerte investigación en los sistemas de crecimiento; por ejemplo, mediante el desarrollo e innovación en nuevos fotobiorreactores que optimicen el cultivo y faciliten la separación de la biomasa (López-Chuken y Parra, 2012), siendo el último proceso unitario el más crítico desde el punto de vista de costos. Además es importante la comprensión de los factores (físicos, químicos y biológicos) que afectan la tasa del crecimiento bajo condiciones ambientales naturales, como aquellos descritos en la Tabla 2.12.

Tabla 2.12.- Factores que influyen la alta tasa de conversión en el cultivo de microalgas en exteriores (Becker, 1988)

Factores	Parámetros
Factores abióticos, físicos y químicos	Luz (cantidad y calidad) Temperatura Concentración de nutrientes O ₂ , CO ₂ pH Salinidad Tóxicos químicos
Factores bióticos	Patógenos (bacterias, hongos, virus) Predación por zooplancton Competencia entre especies
Factores operacionales	Mezclado Tasa de dilución Profundidad Adición de bicarbonato Frecuencia de cosecha

2.12.- Producción de biomasa y subproductos generados a partir del cultivo de microalgas

La biomasa de microalga generada a partir de estos procesos tiene el potencial de ser empleado para la creación de diversos productos de alto interés comercial. La Figura 2.1 muestra un diagrama esquemático conceptual para el desarrollo de productos a partir de cultivos de microalgas.

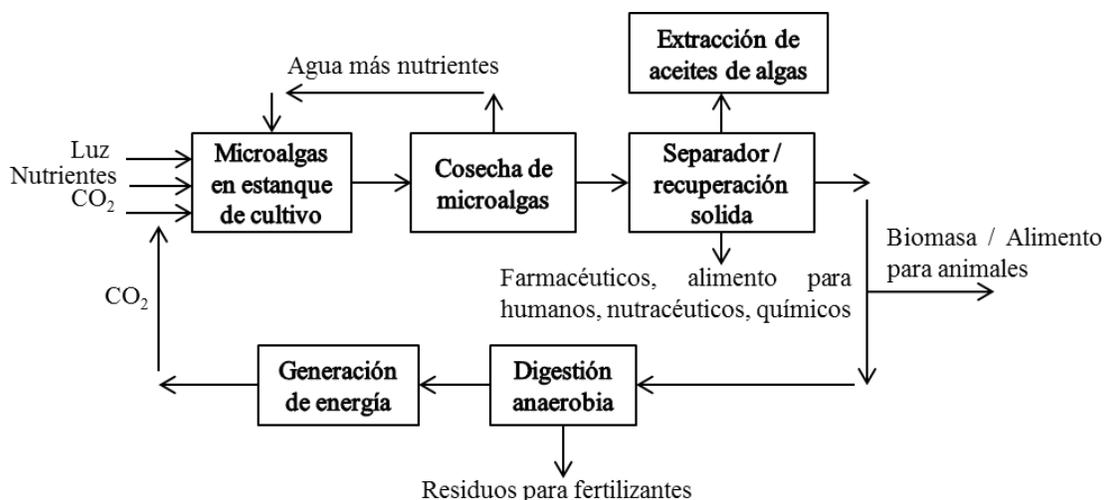


Figura 2.1.- Bioprocesos con microalgas para la producción de productos diversos de consumo (Chisti, 2007)

Un número creciente de estudios se han realizado para explorar las técnicas, procedimientos y procesos de producción de grandes cantidades de biomasa de microalgas para fines productivos (Spolaore *et al.*, 2006), donde los valores reportados de productividad de microalgas en fotobiorreactores de distinto tipo se muestran en la Tabla 2.13.

Tabla 2.13.- Productividades de biomasa en fotobiorreactores cerrados bajo condiciones de intemperie (Brennan, 2010)

Especies	Tipo de reactor	Volumen (L)	Productividad BS (g/m ² •d)	Productividad BS (g/L•d)
<i>Porphyridium cruentum</i>	Tubular	200	-	1.5
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Tubular	200	20	1.2
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Tubular	200	32	1.9
<i>Chlorella sorokiniana</i>	Tubular	6	-	1.47
<i>Arthrospira platensis</i>	Tubular	11	47.7	2.7
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Tubular Helicoidal	75	-	1.4
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Tubular Paralelo	25	13	0.05
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Cilíndrico	55	-	0.06
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Tubular	55	-	0.41
<i>Nannochloropsis sp.</i>	Placas planas	440	-	0.27
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Placas planas	25	10.2	-
<i>Arthrospira</i>	Tubular	146	25.4	1.15
<i>Chlorella</i>	Placas planas	400	22.8	3.8
<i>Chlorella</i>	Placas planas	400	19.4	3.2
<i>Tetraselmis</i>	Cilíndrico	ca. 1000	38.2	0.42
<i>Chlorococcum</i>	Parábola	70	14.9	0.09
<i>Chlorococcum</i>	Cúpula	130	11.0	0.1

- No especificado, BS: Base seca

Sin embargo, pocos estudios combinan los beneficios entre la producción de biomasa generada por la remoción biológica de contaminantes en descargas eutróficas (Aslan y Kapdan, 2006) y las aplicaciones, en relación con su uso como biocombustibles, alimento en acuicultura, biofertilizantes en agricultura o incluso en compuestos químicos de alto valor tales como: ácidos grasos poliinsaturados, ficobiliproteínas, carotenoides, aminoácidos tipo micosporina, polisacáridos, ficotoxinas u otras especialidades (Mata *et al.*, 2010., Wan Loy Chu 2012) ver Tabla 2.14.

Tabla 2.14.- Aplicaciones biotecnológicas de productos a partir de microalgas (Wan-Loy Chu, 2012)

Producto	Aplicaciones	Microalgas productoras
Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)		
Ácido eicosapentaenoico (EPA)	Suplementos nutricionales, alimento para acuicultura	<i>Pavlova</i> , <i>Nannochloropsis</i> , <i>Monodus</i> y <i>Phaeodactylum</i>
Ácido docosahexaenoico (DHA)	Suplementos nutricionales, alimento para acuicultura, fórmula infantil	<i>Cryptocodiuimu</i> y <i>Schizochytrium</i>
Ácido gama-linolenico (GLA)	Suplementos nutricionales	<i>Spirulina</i>
Ácido araquidónico (AA)	Suplementos nutricionales	<i>Porphyridium</i>
Ficobiliproteínas		
Ficocianina	Colorante natural para alimentos saludables y cosméticos (lápices labiales y delineadores de ojos) antioxidante	<i>Spirulina platensis</i>
Ficoeritrina	Agente fluorescente, herramienta para la investigación biomédica, herramienta de diagnóstico	Alga roja (e.g. <i>Porphyridium cruentum</i>)
Carotenoides		
β-caroteno	Colorante para alimentos, antioxidante, propiedades preventivas de cáncer	<i>Dunaliella salina</i>
Astaxantina	Pigmento para salmón, antioxidante	<i>Haematococcus pluvialis</i>
Aminoácidos tipo micosporina	UV-detección de agentes patógenos, protector solar	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>
Polisacáridos	Viscosificantes, lubricantes y floculantes para aplicaciones industriales, agente antiviral	<i>Porphyridium cruentum</i>
Ficotoxinas		
Ácido okadaico, gonyautoxina e yessotoxinas	Herramientas experimentales para investigaciones sobre enfermedades neurodegenerativas	Dinoflagelados (e.g. <i>Amphidinium</i> , <i>Prorocentrum</i> y <i>Dinophysis</i>)
Lípidos		
Triglicéridos e hidrocarburos	Biocombustibles	<i>Chlorella protothecoides</i> <i>Botryococcus braunii</i>

2.13.- Identificación y extracción de sustancias bioactivas a partir de microalgas cultivadas

La amplia biodiversidad genética de microalgas distribuida por toda la biosfera, con adaptaciones a todo tipo de condiciones ambientales, ha contribuido a una gran diversidad de compuestos químicos que son capaces de sintetizar, esto representa un potencial único aplicado para la llamada “biotecnología azul”. La investigación en microalgas con enfoque a la identificación y potencial producción de nuevos compuestos bioactivos: antibacterianos (Ghasemi *et al.*, 2004), antivirales (Borowitzka, 1995) y antifúngicos (Ghannoum y Rice, 1999) con distintos mecanismos de acción que puedan dar lugar a agentes terapéuticamente útiles ha ido en aumento (Amaro *et al.*, 2011), ejemplos de estudios de efectos bioactivos se observan en la Tablas 2.15 a 2.17.

Tabla 2.15.- Características antibacterianas estudiadas en principios activos obtenidos a partir de microalgas (Amaro *et al.*, 2011)

Microalga	Principio activo	Microorganismo objetivo
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Ácido eicosapentaenoico	<i>Listonella anguillarum</i> , <i>Lactococcus garvieae</i> , <i>Vibrio</i> spp.
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Ácidos grasos de cadena corta	-
	Ácidos grasos de cadena corta (ácido butanoico y lactato de metilo)	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Skeletonema costatum</i>	Ácidos grasos de cadena larga saturados e insaturados	<i>Vibrio</i> spp.
<i>Euglena viridis</i>	Extractos orgánicos	<i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Edwardsiella</i> , <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i>
<i>S. costatum</i>	Extra-metabolitos	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Staurastrum gracile</i>	Extractos metanólicos	-
<i>Pleurastrum terrestre</i>		
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>		
<i>Klebsormidium crenulatum</i>		
<i>Chlorococcum</i> sp.	Extracto acuoso	-
<i>Chlorococcum</i> HS-101	Ácido α -linolénico	-
<i>Chlorokybus atmophyticus</i>	Extracto de acetona	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Extractos metanólicos y hexanólico	<i>S. aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhi</i>
<i>Chlorella vulgaris</i>		

- No especificado

Tabla 2.16.- Características antivirales estudiadas en principios activos obtenidos a partir de microalgas (Amaro *et al.*, 2011)

Microalga	Principio activo	Mecanismo de acción	Virus objetivo
<i>Navicula directa</i>	Polisacárido	Inhibición de la hialuronidasa	HSV1 y 2, virus de Influenza A
<i>Gyrodinium impudicum</i>	Exopolisacárido p-KG03	La inhibición (o desaceleración) del efecto citopático	Virus de la encefalomiocarditis
<i>Dunaliella primolecta</i>	Feoforbida α -, β -compuestos	Inhibición del efecto citopático	HSV1
<i>Chlorella autotrophica</i>	Polisacáridos sulfatados	Inhibición de la replicación <i>C. autotrophica</i> : 47.4-67.4 % <i>Ellipsoidon</i> sp.: > a 44 %	VHSV, ASFV
<i>Ellipsoidon</i> sp.			
Criptomonas	Aloficocianina	Inhibición del efecto citopático, demora la síntesis del virus de ARN	Enterovirus 71
<i>Cochlodinium polykrikoide</i>	Polisacáridos sulfatados extracelulares	Inhibición del efecto citopático	Virus de la influenza A y B, VRS A y B, HSV-1

Tabla 2.17.- Características antifúngicas estudiadas en principios activos obtenidos a partir de microalgas (Amaro *et al.*, 2011)

Microalga	Principio activo	Microorganismo objetivo
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Extractos metanólicos	<i>Candida kefir</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Chlorella vulgaris</i>		-
<i>Oocystis</i> sp.		-
<i>Scenedesmus obliquus</i>		-
<i>Amphidinium</i> sp.	Karatungiol	<i>A. niger</i> , <i>Trichomonas foetus</i>
<i>Goniodoma pseudogoniaulax</i>	Goniodomina A	-
<i>Gambierdiscus toxicus</i>	Compuestos de poliéter (ácido gambierico A y B)	-
<i>Prorocentrum lima</i>	Compuestos de poliéter	-
<i>Dinophysis fortii</i>		-
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Ácido butanoico y lactato de metilo	<i>Candida albicans</i>
<i>Haematococcus pluvialis</i>	-	<i>A. niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium herquei</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Helminthosporium</i> sp., <i>Alternaria brassicae</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>C. albicans</i>

- No especificado

2.14.- Aplicaciones comerciales de los extractos de microalgas

La comercialización de microalgas empezó como aditivo de alimenticio en Japón al inicio de 1960 con un cultivo de *Chlorella* sp. la cual continuó durante las décadas de 1970 y 1980, expandiéndose mundialmente, principalmente a Estados Unidos, India, Israel y Australia ver Tabla 2.18 (Spolaore *et al.*, 2006., Pulz y Scheinbenbogan, 1998., Borowitzka, 1999). Para el año 2004, la industria de microalgas ha llegado a producir hasta 7000 toneladas de materia seca por año (Pulz y Gross, 2004).

Tabla 2.18- Estado de la producción comercial de microalgas en 2010 (Brennan y Owende, 2010)

Microalga	Producción anual	País Productor	Aplicaciones y productos	*Precio (€)	Cantidad
<i>Spirulina</i>	3000 toneladas peso seco	China, India, EUA, Myanmar, Japón	Nutrición humana Nutrición animal Cosméticos	36	Kg ⁻¹
			Ficobiliproteínas	11	mg ⁻¹
<i>Chlorella</i>	2000 toneladas peso seco	Taiwán, Alemania, Japón	Nutrición humana Cosméticos	36	Kg ⁻¹
			Acuicultura	**50	50 L ⁻¹
<i>Dunaliella salina</i>	1200 toneladas peso seco	Australia, Israel, EUA, Japón	Nutrición humana Cosméticos β - caroteno	215 – 2150	Kg ⁻¹
<i>Aphanizomnium flos-aquae</i>	500 toneladas peso seco	EUA	Nutrición humana	-	-
<i>Haematococcus pluvialis</i>	300 toneladas peso seco	EUA, India, Israel	Acuicultura	**50	L ⁻¹
			Astaxantina	7150	Kg ⁻¹
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	240 toneladas de aceite DHA	EUA	Aceite DHA	43	g ⁻¹
<i>Shizochytrium</i>	10 toneladas de aceite DHA	EUA	Aceite DHA	43	g ⁻¹

- No especificado, * Tipo de cambio de venta anual 2013: Peso Mexicano - Euro (MXN-EUR) 16.96\$mxn - 1€ ** Uso como alimento vivo en acuicultura

Capítulo 3

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1.- Hipótesis

Mediante un sistema de tratamiento basado en un nuevo fotobiorreactor, es posible reducir las concentraciones de N y P mejorando la calidad de descarga en efluentes tratados provenientes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales (PTAR), utilizando microalgas nativas, de forma sustentable, y obteniendo un producto secundario aprovechable.

3.2.- Objetivos

3.2.1.- Objetivo general

Desarrollar un sistema de remoción de nutrientes en efluentes eutróficos provenientes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales (PTAR), del Estado de Nuevo León, utilizando para esto microalgas nativas cultivadas en un nuevo fotobiorreactor.

3.2.2.- Objetivos específicos

- Muestrear, preseleccionar y caracterizar microalgas nativas de distintos sistemas acuáticos lenticos en localidades del Estado de Nuevo León, México.
- Muestrear y analizar agua tratada proveniente de una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales (PTAR), de la localidad de Nuevo León que cumpla los límites máximos permisibles en cuanto a contaminantes causantes de eutrofización según la NOM-001-SEMARNAT-1996.
- Evaluar un nuevo sistema fotobiorreactor de bajo esfuerzo de corte, sin costo energético, aplicado a la remoción de contaminantes eutróficos y a la producción de biomasa de microalga en el post-tratamiento de efluentes de una planta tratadora de aguas residuales municipales.
- Calcular la cinética de tasa de remoción porcentual de nutrientes contaminantes eutróficos y la cinética de tasa de crecimiento expresada en incremento porcentual de biomasa por día, durante la operación de un sistema fotobiorreactor condicionado al post-tratamiento de efluentes residuales de una planta tratadora de agua residual municipal por cultivo de microalgas.
- Cosechar, cuantificar y evaluar la calidad fisicoquímica de la biomasa generada de microalga, al final del tratamiento de producción y remoción de nutrientes asimilados durante el sistema fotobiorreactor de cultivo.
- Realizar un análisis de eficiencia del sistema fotobiorreactor por la técnica de análisis de ciclo de vida del proceso.

Capítulo 4

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.-Área de trabajo

Para la elaboración del presente estudio se contó con la infraestructura del Laboratorio de Investigación en Ciencias Ambientales (LICA), Laboratorio de Biotecnología (LB), Laboratorio de Fotocatálisis y Electroquímica Ambiental (LFEA) y el Laboratorio de Instrumentación Analítica (LIA) de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), además de la infraestructura proporcionada por la división de Ciencias Básicas e Ingeniería (CBI), perteneciente a la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), Unidad Azcapotzalco, México.

4.2.- Estrategia general del proyecto

A continuación se indica el planteamiento de la realización del proyecto y un diagrama de flujo como síntesis de las diferentes etapas y su interrelación (Figura 4.1).

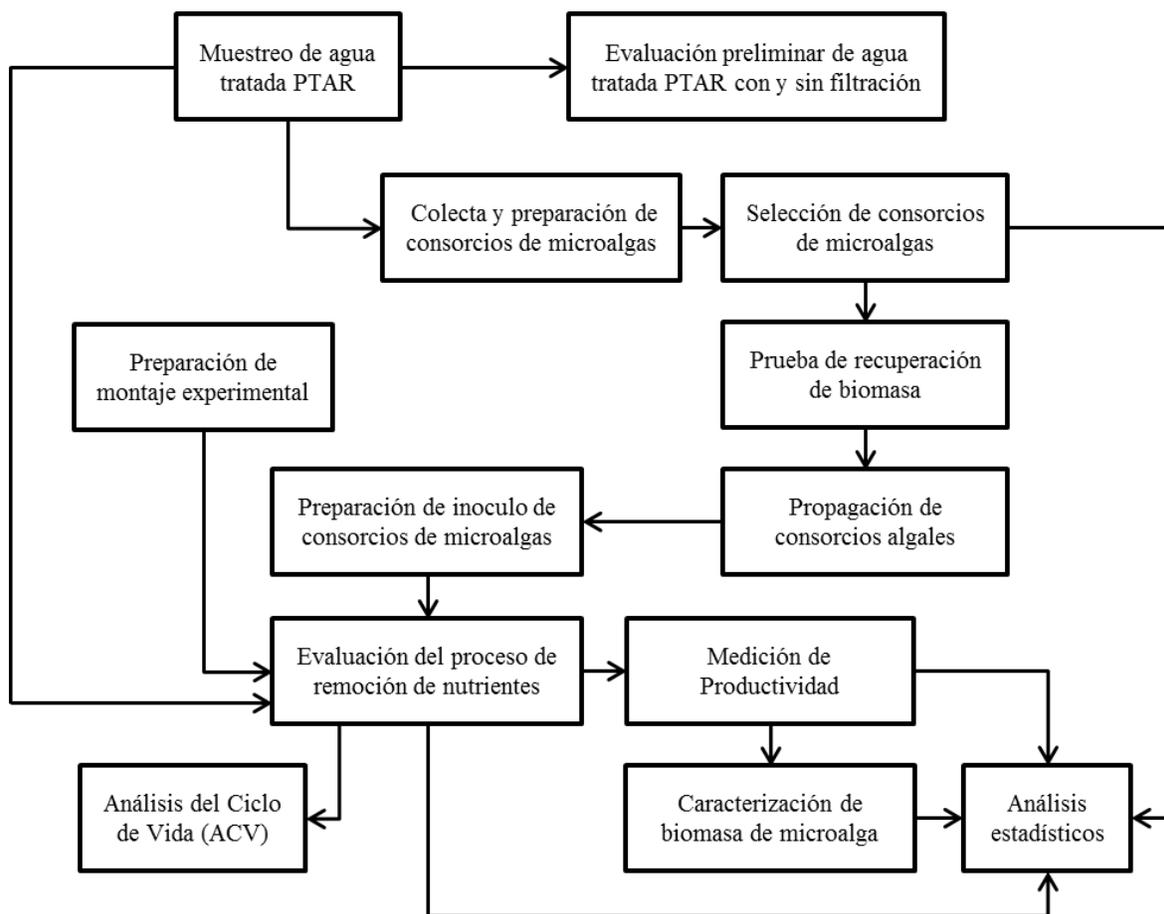


Figura 4.1.- Diagrama de flujo del procedimiento experimental general del proyecto

4.3.- Muestreo y caracterización de efluentes eutróficos PTAR del Estado de Nuevo León, México

Se contó con la autorización y colaboración de Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey (SADM) para la adquisición de efluentes eutróficos de la planta tratadora de aguas residuales (EE PTAR) “Dulces Nombres”, localizada en el municipio de Pesquería, Nuevo León, México. Reportes oficiales demuestran que cumplen con la NOM-001-SEMARNAT-1996 y cuentan con las características fisicoquímicas descritas en la Tabla 4.1. El muestreo del EE PTAR se realizó de acuerdo a la NMX-AA-003-1980, llevando a cabo dos muestreos en distintas fechas para la realización de dos pruebas independientes: 1) la selección del material biológico consorcios microalgales y 2) la evaluación del tratamiento en el sistema fotobiorreactor.

**Tabla 4.1.- EE PTAR “Dulces Nombres” del Estado de Nuevo León, México
(resultados promedio de año 2011 a 2012)**

Efluentes eutróficos PTAR			
Parámetros de calidad de agua	Valores de diseño		Resultados
	LMMI *	Promedio Mensual	Promedio Anual
pH	6 - 9	-	7.1
DBO ₅ (mg/L)	60	30	15
DQO (mg/L)	-	-	81
SST (mg/L)	60	30	54
SSV (mg/L)	-	-	43
SDT (mg/L)	-	-	N.D.
NH ₃ - N (mg/L)	10	2	5.4
N - Orgánico (mg/L)	10	5	4.4
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	-	-	5.6
Grasas y Aceites (mg/L)	20	10	5.0
Coliformes Totales (NMP/100mL)	10000	1000	361

- No especificado, N.D. No Determinado, * LMMI Límite máximo para muestras individuales, NMP/100 ml (Número más probable por 100 mL), SSV Sólidos suspendidos volátiles

4.4.- Prueba preliminar del efecto de filtración del EE PTAR en la productividad y remoción de nutrientes por un consorcio de microalgas

Se llevó a cabo una prueba preliminar consistente en la evaluación del efecto de una filtración previa del EE PTAR (1.5 μm) en la productividad de un consorcio de microalgas comparado con EE PTAR sin filtración previa y con un control de medio de enriquecimiento especializado L-C (López-Chuken, 2005). Esta prueba fue diseñada con el objetivo de establecer la conveniencia de utilizar el agua directamente de la descarga del efluente eutrófico o bien, era posible optimizar el tratamiento del agua mediante filtración previa (lo cual a gran escala tendría la desventaja de elevar costos de operación). Para esta prueba se cultivó el consorcio I10 perteneciente al cepario del LICA durante un periodo de 14 días (29/Mzo/2013 al 12/Abr/2013) bajo condiciones estáticas e intemperie, llevándose registro de la temperatura ambiental (alta, promedio y baja) reportada por el Sistema Integral de Monitoreo Ambiental (SIMA), de la cual se obtuvo un promedio general de $23.9 \pm 7.8^\circ\text{C}$ durante el desarrollo experimental (Figura 4.2), la ubicación del experimento fue en las coordenadas geográficas: $25^\circ39'31.0''\text{N}$ y $100^\circ11'17.3''\text{W}$. Los cultivos se realizaron a un volumen de 650 mL colocados en reactores plásticos de alta transparencia de capacidad de 1000 mL (3 réplicas) con reconstitución diaria de volumen con agua desionizada, de igual manera durante el periodo de evaluación los reactores plásticos fueron protegidos de la lluvia a través del uso de un parasol plástico de alta transparencia. Se determinaron los valores iniciales y finales de pH (AOAC, 1997, Método 973.41), nutrientes: Nitratos - NO_3^- (Método de reducción con cadmio cuperizado) y Fosfatos - PO_4^{3-} (Método de azul de molibdeno) con un kit de análisis colorimétrico semicuantitativo Aquarium Pharmaceuticals INC[®]. Al final del experimento, la productividad fue cuantificada en términos de rendimiento de peso seco, efectuando la separación de la biomasa mediante una filtración de un volumen de 500 mL en papel Whatman #40 y un secado de 48h a 70°C .

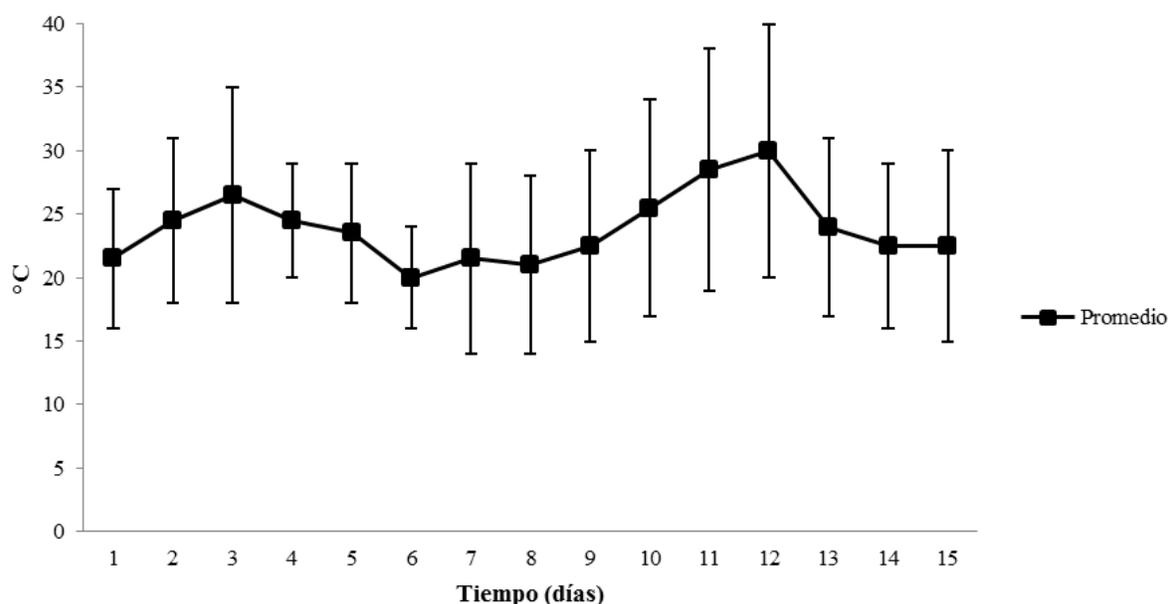


Figura 4.2.- Intervalo de temperatura ambiental durante el periodo de prueba preliminar del efecto de filtración (tomado de SIMA)

4.5.- Colecta, propagación y acondicionamiento de consorcios de microalgas nativos del Estado de Nuevo León, México

Se realizaron muestreos en campo para coleccionar 22 consorcios de microalgas provenientes de cuerpos de agua superficiales de zonas urbanas y suburbanas de la subcuenca hidrológica San Juan, en el Estado de Nuevo León, México. Los muestreos se realizaron en diferentes meses del año 2012 y 2013 mediante una colecta directa y almacenaje en tubos tipo falcón de 50 mL cubiertos con papel aluminio. El transporte y almacenamiento de las microalgas fue a 4°C en condiciones de obscuridad. Para eliminar material o sólidos indeseables presentes en las muestras, se realizó una separación de sólidos sedimentables, para esto, las muestra se dejaron reposar durante 1 hora en posición vertical y se colectó una alícuota de 15 mL de sobrenadante, que fue transferida a otro tubo similar limpio, para luego adicionar 30 mL de medio de cultivo balanceado L-C. Una vez habiendo semi-purificado los consorcios de microalgas, se siguieron dos etapas: 1) propagación con control de condiciones (luz y fotoperiodo) y 2) acondicionamiento a intemperie con

condiciones naturales de luz, fotoperiodo y temperatura. La etapa de propagación se realizó en circunstancias estacionarias e iluminación a 4,800 lux con un fotoperiodo de 24:0 Luz:Oscuridad (L:O), con dos agitaciones diarias durante 14 días, posterior a la propagación se llevó a acondicionamiento (segunda etapa) de 30 consorcios de microalgas, de los cuales 10 (claves 1401 - 1410) pertenecen al cepario del LICA, las condiciones experimentales fueron estáticas a intemperie en 1 réplica utilizando reactores cerrados plásticos de alta transparencia con adaptación para intercambio gaseoso a un volumen de 800 mL de medio L-C, estos se colocaron en el interior de un invernadero hidropónico construido de material acrílico de alta transparencia, con el fin de mantener conservados los reactores de la lluvia, asimismo la base del invernadero en la cual se encontraban los reactores fue cubierta en papel aluminio para el aumento de la reflectancia solar, el periodo de acondicionamiento fue de 6 días (25/07/2013 a 31/07/2013) con una temperatura promedio general de $31.1 \pm 7.2^{\circ}\text{C}$ de acuerdo al reporte de SIMA (Figura 4.3), el área experimental se situó en las coordenadas geográficas: $25^{\circ}43'31.5''\text{N}$ y $100^{\circ}19'00.7''\text{W}$.

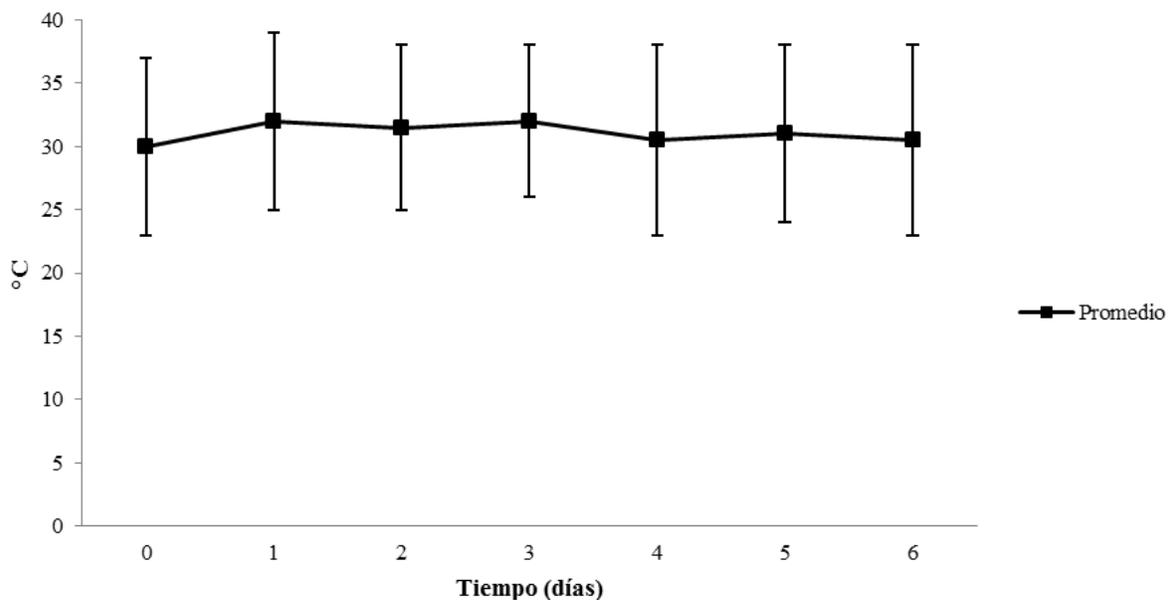


Figura 4.3.- Intervalo de temperatura ambiental durante acondicionamiento de consorcios de microalgas (tomado de SIMA)

4.6.- Selección de consorcios de microalgas para prueba de recuperación de nutrientes (N y P) de EE PTAR

Posterior a la etapa de acondicionamiento se preseleccionaron 12 consorcios de microalgas que mostraron signos visibles de crecimiento para una prueba preliminar de recuperación de N y P en EE PTAR. Para esto, se procedió a concentrar la biomasa de los 12 consorcios preseleccionados eliminando el medio enriquecido L-C (sobrenadante), a través de un doble lavado con agua desionizada y centrifugado a 5 min/4500 rpm. Sucesivamente se llevó a cabo un conteo celular directo en cámara de Neubauer, con el objetivo de estandarizar la concentración de inóculo en los 12 consorcios de microalgas a través de un ajuste por dilución, obteniendo una concentración final de 5.3×10^4 células/mL. De la concentración previamente ajustada se tomaron 6 mL (por replica) para inocular en reactores plásticos cerrados de alta transparencia de 500 mL de capacidad, con adaptación para intercambio gaseoso, estos fueron montados en la base interior de un invernadero hidropónico de laboratorio techado de material acrílico de alta transparencia, con el objeto de proteger los reactores de la precipitación pluvial, además la base (interior) fue cubierta en papel aluminio para el aumento de la reflectancia solar. Cada consorcio de microalgas se evaluó mediante 3 réplicas. A los reactores plásticos se les adicionó un volumen de 300 mL de EE PTAR, alcanzando una concentración final de 1.06×10^3 células/mL. Los tratamientos (cultivos) se mantuvieron bajo condiciones ambientales naturales (luz solar, fotoperiodo y temperatura) estáticas con 1 agitación diaria y reconstitución de volumen con agua desionizada por pérdidas de evaporación durante 12 días (01/08/2013 a 13/08/2013), donde la temperatura ambiental promedio registrada por SIMA fue de $30.7 \pm 7.4^\circ\text{C}$ (Figura 4.4), el experimento se situó en las coordenadas geográficas: $25^\circ 43' 31.5''\text{N}$ y $100^\circ 19' 00.7''\text{W}$. Se realizaron mediciones al inicio y al término de los tratamientos de los siguientes parámetros: Conductividad Eléctrica – CE (AOAC, 1997, Método 973.40), pH (AOAC, 1997, Método 973.41), $\text{NO}_3^- \text{-N}$ (Método de reducción con cadmio cuperizado) y $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$ (Método de azul de molibdeno) con un equipo colorimétrico (Aquarium Pharmaceuticals, Inc.[®]) acoplado a un espectrofotómetro genesys 20 Thermo Spectronic[®]. El análisis de rendimiento en peso seco (productividad) de la biomasa de microalgas se realizó al finalizar el tratamiento, previo a este análisis se tomó una alícuota de 3 mL del cultivo en suspensión

para su almacenaje y resiembra. El resto del cultivo fue filtrado (297 mL) en papel Whatman # 40 y colocado en estufa de convección Quincy Lab. Inc. 40GL[®] por 48h a 70°C. Con los resultados de dicha prueba se decidió la selección de los consorcios 1301 (01) y 1312 (12) con mejores resultados basándose en lo criterios de: 1) asimilación de nutrientes, 2) conductividad/productividad.

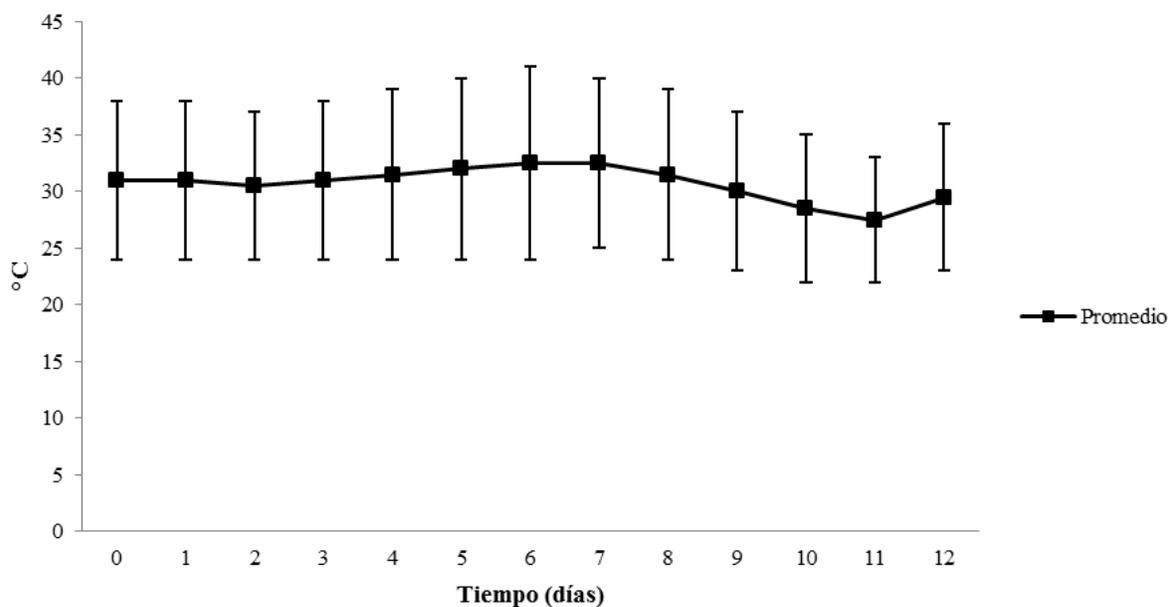


Figura 4.4.- Intervalo de temperatura ambiental durante selección de consorcios de microalgas (tomado de SIMA)

4.7.- Propagación de consorcios seleccionados e inducción de formación de aglomerados esféricos

Los consorcios microalgales seleccionados (01 y 12) se colocaron en propagación por triplicado en un equipo fotobio reactor (patente *MX/a/2012/014898*), adaptado de un equipo de prueba de jarras marca Phipps & Bird PB 700[®] con iluminación las 24h del día, a una intensidad de 4800 lux provenientes de la parte inferior del equipo y agitación a 100rpm y utilizando como medio de propagación EE PTAR a un volumen de 750 mL en reactores plásticos con capacidad de 1000 mL recubiertos en papel aluminio. Se llevó a cabo un

recambio de 1/3 (250 mL) del volumen total con EE PTAR cada 8 días durante un periodo de 5 meses para mantener a los cultivos activos y en fase de crecimiento.

Con el fin de conocer y poder establecer las condiciones para la separación de la biomasa al final de los experimentos (cosecha), se realizó una evaluación de la velocidad y eficiencia de recuperación porcentual de biomasa por gravedad en los consorcios 01 y 12. Dichos consorcios fueron cultivados en el fotobiorreactor (descrito en la sección 4.6), cuya principal característica es promover, sin el uso de aditivos), el crecimiento celular formando aglomerados esféricos (1 - 4 mm de diámetro). Dichos consorcios fueron comparados con el consorcio 1410 (control) cultivado bajo condiciones convencionales de cultivo (i.e. cultivo libre en suspensión con crecimiento celular homogéneo). Antes del inicio de dicha prueba, se determinó (por triplicado) los sólidos sedimentables (SS) en cada consorcio, utilizando conos Imhoff de 1000 mL y siguiendo el método NMX-AA-004-SCFI-2000, dicho resultado (mL/L) fue considerado como el 100% de la biomasa sedimentable. La evaluación de % de cosecha recuperado por sedimentación y velocidad de cosecha se realizó utilizando el principio de sedimentación por gravedad del método NMX-AA-004-SCFI-2000, modificado para realizar medidas en mL/L equivalentes al porcentaje de biomasa celular en los tiempos de: 3, 30, 60, 180 y 240 min.

4.8.- Preparación de inóculo de consorcios microalgales (01 y 12) para la prueba de tratamiento de un EE PTAR

La biomasa celular de los consorcios (01 y 12) previamente propagados y sometidos a las pruebas de % y velocidad de recuperación de biomasa por sedimentación se colectó en 1 cono de sedimentación Imhoff con capacidad de 1000 mL. A partir de la medida de biomasa fresca, se calculó indirectamente el % de peso seco ($100 - \% \text{humedad}$) (AOAC, 1997, Método 930.15). Para los consorcios (01 y 12) se obtuvieron valores de 1.48% de peso seco. La preparación del inóculo a partir de biomasa fresca consistió en pesar por triplicado para cada consorcio 41 g con equivalencia a 40 mL de SS y 0.607 g de peso seco.

4.9.- Escalamiento, construcción y características generales del sistema de fotobiorreactores de bajo esfuerzo de corte (patente MX/a/2012/014898)

El equipo de prueba de jarras modificado como fotobiorreactor y descrito en la sección 4.6 fue utilizado para pruebas preliminares, propagación y mantenimiento de inóculos en laboratorio. Sin embargo, para las pruebas reales se construyeron una serie de fotobiorreactores acoplados en un sistema de tratamiento de efluentes eutróficos para ser utilizados bajo condiciones reales. El sistema consistió en una serie de 6 fotobiorreactores (patente MX/a/2012/014898) de bajo esfuerzo de corte, contruidos de acrílico transparente en forma de tanque cilíndrico con capacidad máxima de 21 litros, dichos tanques en sus paredes internas fueron acopladas con 4 mamparas de 2×2 cm para optimizar las condiciones de mezcla. Los fotobiorreactores se construyeron con una tapa removible superior con adaptación para incluir un sistema de aireación, agitación e intercambio de gases.

Los sistemas complementarios en los fotobiorreactores individuales consistieron en: 1) sistema de mezclado, 2) sistema de aireación y 3) sistema de enriquecimiento de aire con CO₂ con verificación visual de flujo de salida. Estos se describen a continuación:

1) Sistema de mezclado

El sistema de mezclado de cada fotobiorreactor fue construido a partir de un ventilador de 12Vcc Cooler Master® modelo R4-S4S-10AK-GP, un eliminador regulado de 1.5 a 12 Vcc Steren® modelo ELI-2500, y un eje impulsor (rotor) constituido de una varilla de acrílico transparente con aspa adaptada a partir de un cincho de plástico. El eje impulsor fue acoplado a la parte central del ventilador por medio de un roscado macho/hembra desarmable y colocado en la parte superior de los fotobiorreactores (en la tapa). Además el sistema de agitación contó con una cubierta superior (parasol) de plástico transparente semirígido para protección de la lluvia y una base constituida de 2 piezas de unicel colocadas en paralelo de las laterales del ventilador.

El sistema de agitación y mezcla una vez ensamblado contó con las siguientes especificaciones: 6 velocidades regulables 150 a 900 RPM y protección contra inclemencias del clima (lluvia, viento del Estado de Nuevo León, México).

2) Sistema de aireación

Para el sistema de aireación del sistema de tratamiento se utilizó una bomba de aire marca Petco® modelo AC-9904 con capacidad total de 9.0 L/min, filtro de partículas y 4 salidas de flujo de aire (1 salida individual se utilizó para cada fotobiorreactor sometido a tratamiento con aireación). Para la conexión de salida a la bomba de aire se utilizó una manguera flexible de silicón de 11/36" de diámetro interno (d.i), enlazada a un regulador de caudal de aire para acuarios marca Elite®, consecutivamente la manguera de silicón (11/36" d.i) se insertó a una válvula antirretorno que asimismo se utilizó como reductor y conector de una manguera de 1/8" d.i. que fue introducida por la tapa superior del fotobiorreactor. Una vez al fondo del tanque, dicha manguera fue acoplada a un tubo de acrílico transparente de 1/8" d.i. con forma de "L" en donde la parte horizontal (inferior) cubría el radio del cilindro y asimismo acondicionado para contar con 12 perforaciones equidistantes de 5/64" d.i. empleados para una dispensación homogénea de aire en el tanque.

3) Sistema de enriquecimiento de aire con CO₂ con verificación visual de flujo de salida

Se empleó un cilindro de aluminio con capacidad de 9 kg con gas CO₂ grado 2.9 alimenticio (99.9% de pureza), dispensado a 1 psi por un regulador de presión de gas CO₂ UL listed® modelo 857A (rango de presión de salida regulada de 0 a 60 psi), el cual fue acoplado a un conjunto de mangueras de plástico flexible para gas LP y conexiones con el propósito de reducir su diámetro interno y evitar la posible pérdida de presión de salida de gas CO₂ al ser inyectado de manera regulada y dispensado por el sistema de verificación visual (burbujeo) de flujo de salida. El conjunto de mangueras y conexiones fue el siguiente: una manguera de hule de 1/2" d.i. con adaptación a una válvula de paso de baja presión para gas natural o LP IUSA® 1/2"x1/2", que de forma subsiguiente se ajustó a una

unión “T” cónica IUSA[®] 1/2”x1/4”x1/4”, la cual desempeña dos funciones: generar dos salidas de dispensación de gas CO₂ con reducción de diámetro interno (1/4”), cada extremo de la manguera (individualmente) se conectó a un sistema de regulación que consistió en 2 válvulas antirretorno plásticas Petco[®] conectadas entre sí por una manguera de 11/36” d.i e interrumpidas por un regulador de caudal de aire (para regulación de flujo de salida). Seguidamente a la salida de la segunda válvula antirretorno se conectó un segmento de manguera unido a una aguja hipodérmica G-21 Becton Dickinson[®] de 0.8x40 mm (salida de inyección de gas CO₂), que posteriormente se insertó al sistema de verificación visual (sección en la cual se provocaba el burbujeo de agua por la salida del CO₂). Este fue diseñado, a razón de las muy bajas presiones de salida de CO₂ (<1 psi), que fácilmente podrían ser afectadas por obstrucciones en las mangueras o cambios de presión de salida, por lo que era necesario verificar visualmente el ingreso del CO₂ al flujo de aire previo a su ingreso al fotobiorreactor. El sistema de verificación visual se ensambló utilizando el cuerpo de una jeringa hipodérmica (cerrado herméticamente con un tapón de caucho) de 5 mL Becton Dickinson[®] enroscado a una segunda aguja G-21 Becton Dickinson[®] que se inyectaba a la manguera del sistema de flujo de aireación. Se debe de señalar que la parte visual de la inyección y salida del CO₂ del sistema de verificación visual se encontraba en el cuerpo de la jeringa hipodérmica, sección que en su interior contenía agua desionizada que al iniciar el flujo unidireccional de CO₂ presentaba burbujeo.

4.10.- Diseño del experimento de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

El montaje y realización de los experimentos se desarrollaron bajo condiciones meteorológicas naturales a la intemperie (*i.e.* sin control de horas luz, temperatura, lluvia, humedad relativa del aire y viento), el área experimental se ubicó en las coordenadas geográficas: 25°39'31.0"N y 100°11'17.3"W. Los 6 fotobiorreactores fueron montados sobre una mesa (1.22 x 2.44 m) cubierta en papel aluminio para aumentar el albedo de superficie y hacer más eficiente la irradiación solar a los fotobiorreactores. El componente mecánico del sistema de tratamiento (sistema de mezcla y aireación) fue alimentado por

energía producida en un panel solar Nature Power® modelo 40065 compuesto de: 1) 4 paneles solares amorfos de 18 watts con potencia total máxima de 72 watts y corriente total máxima de 4.8 Amps, 2) inversor de 400 watts para voltajes de entrada entre 10-15 Vcc y salida de 110 Vca (voltaje de corriente alterna) y 3) controlador de carga con corriente de entrada solar máxima de 8 Amps, potencia de entrada solar máxima de 120 watts y voltaje de 12 V. Asimismo como componente de almacenaje de energía se utilizó un acumulador recargable de 12 V y 1000 Amps marca LTH® modelo L-65-800 con potencia de almacenaje de 12 kW (kilowatt). El periodo en el cual se realizó el experimento constó de 30 días (18 de diciembre del 2013 al 17 de enero del 2014), periodo donde se tomó el reporte oficial del SIMA de los valores de temperatura ambiental (alta, promedio y baja) de la cual se encontró un promedio general de 13.13 ± 4.97 °C (Figura 4.5), asimismo se hizo registró de las horas de luz durante este periodo obteniendo un promedio general de $10:33.74 \pm 2.96:00$ min (Tabla 4.2) abarcado el horario de encendido (7:00 a 19:00 h) de los tratamientos 2 y 3 (aireación, aireación más enriquecimiento de CO₂).

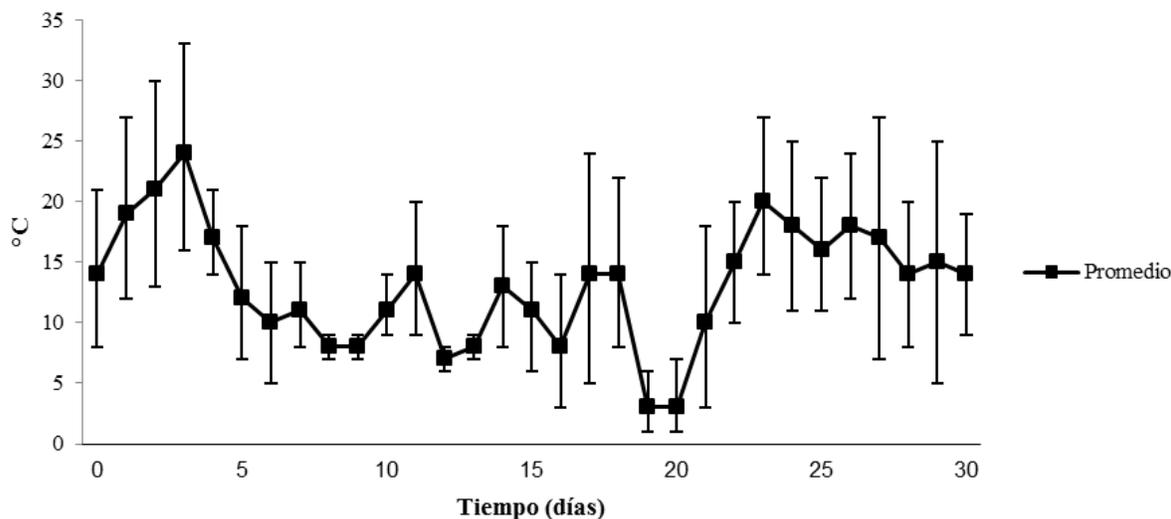


Figura 4.5.- Intervalo de temperatura ambiental durante el periodo experimental (tomado de SIMA)

Tabla 4.2.- Intervalo de horas de luz diarias durante el periodo experimental (tomado de SIMA)

Día experimental	Salida del sol (h)	Puesta del sol (h)	Horas de luz	Día experimental	Salida del sol (h)	Puesta del sol (h)	Horas de luz
0	07:22	17:54	10 h, 32 min	16	07:34	18:05	10 h, 31 min
1	07:23	17:55	10 h, 32 min	17	07:34	18:06	10 h, 32 min
2	07:23	17:55	10 h, 32 min	18	07:34	18:07	10 h, 33 min
3	07:24	17:56	10 h, 32 min	19	07:35	18:07	10 h, 32 min
4	07:24	17:56	10 h, 32 min	20	07:35	18:08	10 h, 33 min
5	07:25	17:57	10 h, 32 min	21	07:35	18:09	10 h, 34 min
6	07:25	17:57	10 h, 32 min	22	07:35	18:10	10 h, 35 min
7*	07:26	17:58	10 h, 32 min	23	07:35	18:10	10 h, 35 min
8*	07:26	17:58	10 h, 32 min	24	07:35	18:11	10 h, 36 min
9*	07:26	17:59	10 h, 33 min	25	07:35	18:12	10 h, 37 min
10	07:27	18:00	10 h, 33 min	26	07:35	18:13	10 h, 38 min
11	07:27	18:00	10 h, 33 min	27	07:35	18:13	10 h, 38 min
12*	07:27	18:01	10 h, 34 min	28	07:35	18:14	10 h, 39 min
13*	07:28	18:02	10 h, 34 min	29	07:35	18:15	10 h, 40 min
14*	07:34	18:04	10 h, 30 min	30	07:35	18:16	10 h, 41 min
15	07:34	18:05	10 h, 31 min	Promedio	10 h, 33.74 min \pm 2.96 min		

*Hubo presencia de precipitación

Una vez montados los fotobiorreactores y habiendo verificado su correcto funcionamiento, se colocaron 18 L de EE PTAR en cada uno de ellos colectada ese mismo día (NMX-AA-003-1980). La fecha de inicio del experimento fue el 18 de diciembre del 2013. El montaje experimental del sistema de fotobiorreactores se presenta en la Figura 4.6.

En el sistema de fotobiorreactores, los consorcios de microalgas seleccionados en las pruebas preliminares (01 y 12) fueron sometidos a 3 tratamientos experimentales, siendo cada fotobiorreactor una réplica única. Estos tratamientos se muestran a continuación:

- **M: Tratamiento Experimental (Mezcla)**

Agitación continua (24 h/día) a 900 ± 25 RPM.

- **M + A: Tratamiento Experimental (Mezcla + aire)**

Agitación continua (24 h/día) a 900 ± 25 RPM más 12 horas diarias de aireación a 0.1 de volumen de aire por volumen de medio por minuto (vvm), durante las horas luz (7:00 a 19:00h).

- **M + ACO₂: Tratamiento Experimental (Mezcla + aire enriquecido con CO₂)**

Agitación continua (24 h/día) a 900 ± 25 RPM más 12 horas diarias de aireación a 0.1 (vvm) y enriquecimiento por 10 mL/min de CO₂ equivalentes a 5.55×10^{-4} vvm durante las horas de luz (7:00 a 19:00h).

Asimismo durante el desarrollo de los experimentos de tratamiento de EE PTAR, se colocaron, en el mismo sitio experimental, 2 controles: 1CEN (con exposición natural y 2SEN (sin exposición natural) conteniendo un volumen de 1.2 L de EE PTAR sin algún tipo de tratamiento previo, bajo condiciones naturales estáticas en botellas plásticas (PET) transparentes con capacidad de 1.5 L, selladas con una torunda para evitar contaminación pero que al mismo tiempo permitía el intercambio gaseoso. El control 1CEN consistió en una exposición natural a la luz solar, a diferencia del control 2SEN que fue envuelto con papel aluminio evitando la incidencia de la luz solar. Estos controles se planearon para poder observar cambios en la concentración de N y P en el EE PTAR por la influencia de las condiciones ambientales y posible crecimiento de microalgas silvestres no inoculadas.

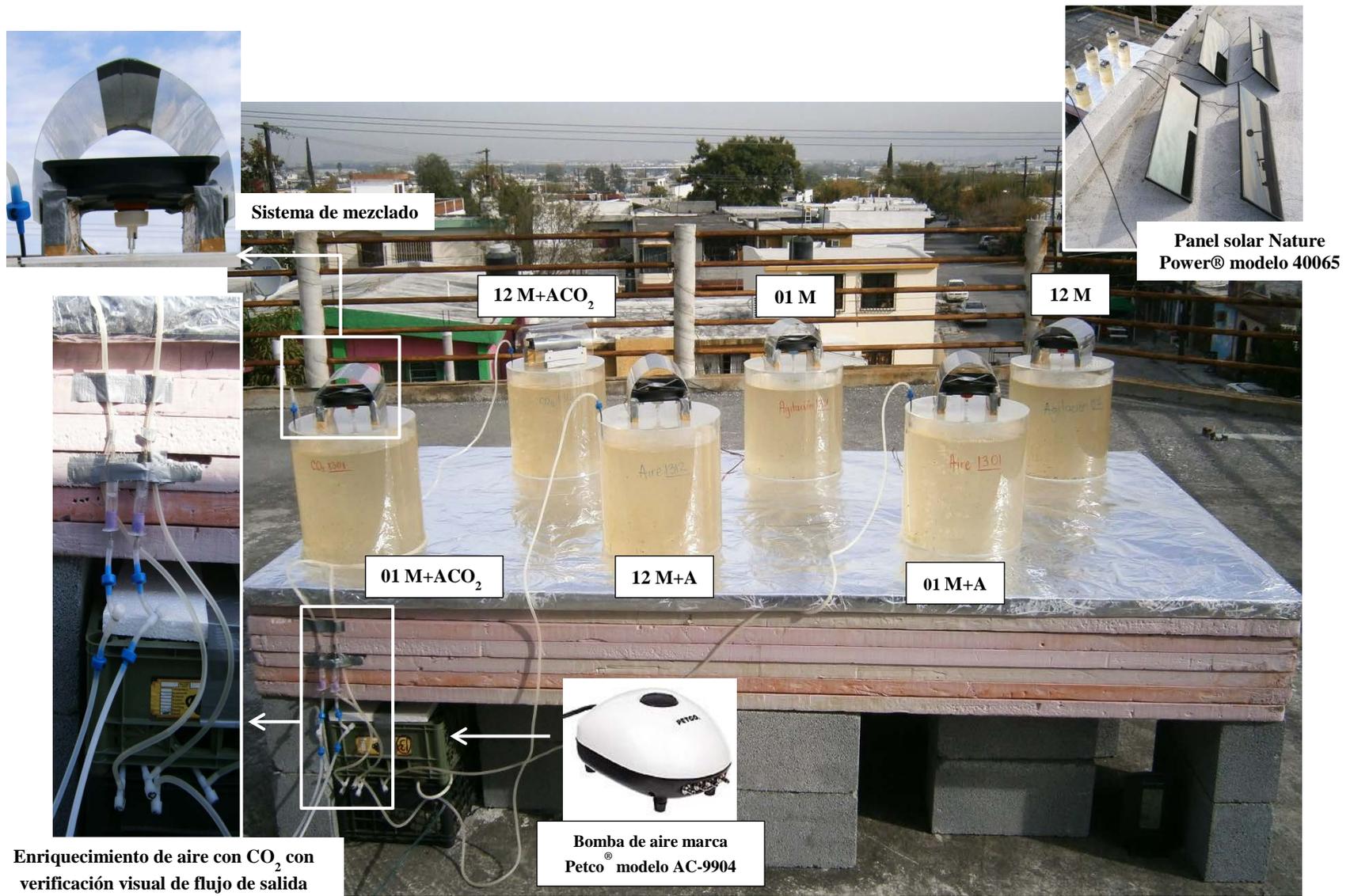


Figura 4.6.- Características generales del sistema de fotobiorreactores (patente Mx/a/2012/014898)

4.11.- Bitácora de experimentación durante la evaluación del proceso de remoción de nutrientes

La bitácora experimental que engloba las actividades diarias realizadas durante el desarrollo de la evaluación del tratamiento de descargas eutróficas en el sistema de fotobiorreactores se observa en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3.- Protocolo de planificación de actividades diarias durante el desarrollo de los experimentos de tratamiento de efluentes eutróficos (18/Dic/2013 al 17/Ene/2014)

Hora	Actividad
7:00	Encendido de sistema de aireación, abertura de cilindro de gas CO ₂ para enriquecimiento de aire. Revisión del correcto funcionamiento del sistema de agitación. Limpieza exterior de los fotobiorreactores
8:00	Chequeo de fugas en sistemas de aireación y enriquecimiento de CO ₂ . Revisión de flujo de salida (mL/min) en inyección de CO ₂ . Limpieza de paneles solares y verificación de carga en baterías
9:00	Apagado de sistema de agitación y aireación (25 min) para toma de muestra
9:25	Toma de muestra de agua (50 mL). Encendido de sistema de agitación y aireación
10:30	Análisis de características fisicoquímicas en agua (Tabla 4.5)
19:00	Apagado de sistema de aireación y cerrado de cilindro de gas CO ₂ . Revisión del correcto funcionamiento del sistema de agitación
20:00	Revisión de flujo de salida (mL/min) en sistema de aireación

4.12.- Parámetros fisicoquímicos monitoreados durante la evaluación del proceso de remoción de nutrientes en EE PTAR

Para la realización de los análisis de concentración de NT, COT y preparación de la muestra requerido en la determinación de iones metálicos en el EE PTAR, se realizó primeramente un pretratamiento consistente en la filtración al vacío de las muestras del EE PTAR a través de un filtro Millipore® de 0.45 µm utilizando un equipo de filtración Millipore® XX1104700 Sterifil®.

El NT en muestras de agua se evaluó utilizando un analizador Analytik Jena, Multi C/N 3000®. En la determinación de NT, los constituyentes que contienen nitrógeno en el agua se oxidan termocatalíticamente a una temperatura mayor a 700°C, generando monóxido de nitrógeno (NO), el cual es posteriormente detectado cuantitativamente por un detector electroquímico que produce una señal proporcional a la cantidad de NO generado.

El COT, se cuantifico utilizando un analizador de carbono orgánico total marca Shimadzu modelo TOC-V CSH[®], fundamentado en una oxidación catalítica a 650°C, en la cual como producto de combustión se genera agua que se vaporiza y se elimina mediante una posterior condensación. Esta combustión además ocasiona carbono (orgánico e inorgánico) que se oxida a CO₂ y es transportado a través de una corriente de aire y es cuantificado mediante un detector de infrarrojos no dispersivo (NDIR) obteniendo la concentración de carbono total (CT). Para la determinación del carbono inorgánico (CI), que contempla básicamente dióxido de carbono disuelto, carbonatos y bicarbonatos, se obtiene mediante la acidificación de la muestra con ácido clorhídrico, proceso en el que se produce CO₂, el cual es analizado por el NDIR. La concentración de COT queda establecida por la diferencia del CT – CI. Previo al análisis se estandarizó el equipo para la determinación de CT con biftalato de potasio como referencia (C₈H₅KO₄) y carbonato de calcio (CaCO₃) para la determinación de CI.

Para la cuantificación de los iones metálicos: sodio (Na), potasio (K), magnesio (Mg), hierro (Fe) y calcio (Ca), cobre (Cu) y aluminio (Al), se efectuó un tratamiento de muestra previo consistente en la toma de 10 mL de muestra de EE PRTR con adición de 5 mL de HNO₃, colocándose posteriormente en un horno de microondas CEM-MARS 5[®], utilizando un programa establecido a 180 psi/190°C durante un lapso de 25 min. Seguidamente se colectó la muestra digerida y se diluyó con agua desionizada a un volumen de 25 mL. Las muestras preparadas se conservaron en refrigeración (4°C) para su posterior análisis en un equipo de espectroscopia de absorción atómica (EAA) de flama Thermo Elemental SOLAAR M6[®] con flama de aire-acetileno, óxido nitroso-Acetileno y corrección de fondo con lámpara de deuterio. Los parámetros que fueron utilizados para la cuantificación de metales en las muestras de EE PTAR (día 0 y 30 experimental) se presentan en la Tabla 4.4. Para la determinación de cada metal se realizó una curva de calibración, preparada a partir del estándar (material de referencia certificado) con concentración de 1,000 mg/L JT Baker[®].

Tabla. 4.4- Parámetros para la determinación de metales por espectroscopia de absorción atómica (EAA) de flama

Metal	Longitud de onda (nm)	Rango de trabajo óptimo (µg/L)	Ancho de ranura (nm)
Na	589.0	0.002 - 1.0	0.2
K	766.5	0.03 - 2.0	1.0
Ca	422.7	0.01 - 3	0.5
Mg	285.2	0.003 - 1	0.5
Fe	248.3	0.06 - 15	0.2
Cu	324.7	0.03 - 10	0.5
Al	309.3	0.03 - 250	0.5

Los análisis fisicoquímicos de la composición del EE PTAR inicial sin inocular (día 0 experimental) y frecuencia de análisis para los tratamientos (M, M+A y M+ACO₂) con los consorcios (01 y 12) evaluados se observan en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5.- Parámetros fisicoquímicos analizados en el EE PTAR durante el tratamiento remoción de nutrientes eutróficos y frecuencia de análisis

Parámetro utilizado	Método utilizado	Frecuencia	Día experimental
pH	AOAC, 1997, Método 973.41	Diario	0, 2 al 30
Conductividad Eléctrica (CE)	AOAC, 1997, Método 973.40	Diario	0, 2 al 30
Oxígeno Disuelto (OD)	NMX-AA-012-SCFI-2001	Diario	0, 2 al 30
NO ₂ ⁻ -N*	Método de diazotización	Intermitente	0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30
NO ₃ ⁻ -N*	Método de reducción con cadmio cuperizado		
NH ₄ ⁺ -N*	Método de salicilato		
PO ₄ ³⁻ -P*	Método de azul de molibdeno		
Nitrógeno Total (NT)	ISO/TR 11905-2:1997	Intermitente	0,10,20,26,30
Nitrógeno Inorgánico Disuelto (NID)	Determinación indirecta: se calcula como la suma de las formas disueltas de: NO ₂ ⁻ -N, NO ₃ ⁻ -N, NH ₄ ⁺	Intermitente	0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30
Nitrógeno Orgánico (N-Org)	Determinación indirecta: se calcula a partir de la diferencia entre NT y NID	Intermitente	0,10,20,26,30
Carbono Orgánico Total (COT)	Oxidación catalítica por combustión (680°C) con detector de infrarrojos no dispersivo (NDIR)	Intermitente	0, 6,12,18,24,30
Preparación de muestra para análisis de iones metálicos	Digestión asistida por calentamiento con radiación de microondas	Inicial y final	0, 30
Iones metálicos: Na, K, Mg, Fe, Ca, Cu, Al	Absorción atómica (EAA) de flama	Inicial y final	0, 30

* Realizado con un equipo colorimétrico (Aquarium Pharmaceuticals, Inc.®) acoplado a un espectrofotómetro genesys 20 Thermo Spectronic®

Las mediciones realizadas en los controles (1SEN y 2CEN) incluyeron los siguientes parámetros: pH, CE, OD, NO_2^- -N, NO_3^- -N, NH_4^+ -N, NID, PO_4^{3-} -P, NT, N-Org, COT en muestras tomadas a 10, 20 y 30 días del experimento y se analizaron los metales: Na, K, Mg, Fe, Ca, Al y Cu al termino del experimento (día 30) con los métodos anteriormente citados.

4.13.- Productividad de biomasa de los consorcios microalgales 01 y 12 durante el tratamiento del EE PTAR

Se realizaron cuantificaciones del rendimiento de los consorcios de microalgas 01 y 12 en peso seco generadas tras 10, 20 y 30 días de ser inoculados e iniciar la evaluación de remoción de nutrientes en los distintos tratamientos (M, M+A y M+ ACO_2). El procedimiento constó en un muestreo aleatorio simple y filtración de un volumen de 180 mL, para posteriormente colocar el elemento filtrante (papel Whatman #40 previamente llevado a peso constante 48 h a 70°C) y las células retenidas a un secado en estufa de convección Quincy Lab. Inc. 40GL[®] por 48 h a 70°C. Para la cosecha al final del experimento (día 30), además se realizó la determinación de Sólidos Sedimentables - SS (NMX-AA-004-SCFI-2000). Para asegurar cosechar la totalidad de la biomasa (incluyendo la biomasa remanente en suspensión) al final de los experimentos se utilizó un equipo de filtración consistente en un embudo Büchner y un matraz kitasato con capacidad de 500 mL conectado a una bomba de vacío (General Electric 5KH33DN16JK[®]), empleando como material filtrante manta cielo plegada. A la biomasa fresca colectada se le efectuó un tratamiento de secado (48 h / 70°C) en estufa de convección Quincy Lab. Inc. 40GL[®] obtenido el peso seco total en gramos. Asimismo, a partir de la cantidad de biomasa seca total cosechada (g de biomasa en base seca) se realizaron los cálculos de: g/L de biomasa seca, % de generación de biomasa con respecto a la concentración inicial de inóculo de microalgas y determinación de productividad g/L•d (calculado a partir de 30 días de experimentación).

4.14.- Caracterización fisicoquímica de biomasa de microalgas

La biomasa cosechada y deshidratada de los consorcios (01 y 12) tras los diferentes tratamientos (M, M+A y M+ACO₂) fue caracterizada realizando los siguientes análisis: Humedad (AOAC, 1997, Método 930.15), Nitrógeno Total Kjeldahl (AOAC, 1997, Método 984.13), Cenizas (AOAC, 1997, Método 942.05), Lípidos (Extracto etéreo) (NOM-086-SSA1-1994) y Fósforo Total (AOAC, 1997, Método 965.17).

4.15.- Análisis del ciclo de vida del proceso (ACV) en el sistema de fotobiorreactores

Con el fin de demostrar la sustentabilidad del proyecto, se realizó un análisis de masa, energía y valor económico en el ACV del proceso del sistema fotobiorreactor para el cultivo de microalgas, utilizando el método propuesto por Reynolds *et al.* (2000). Este método está basado en la norma ISO (International Organization for Standardization) 14040, que determina cuatro fases o etapas básicas para los estudios de ACV: definición del objetivo y alcance, análisis de inventario, evaluación de impacto y la interpretación de resultados como se ilustra Figura 4.7. Hay que recordar que durante la parte más importante del presente proyecto, esto es, en la parte operativa del sistema de fotobiorreactores utilizado en el proceso de tratamiento del efluente eutrófico, no hubo: 1) uso de reactivos químicos, 2) consumo energético de toma de corriente y, 3) generación de residuos peligrosos. Debido a esto, aunque resulta evidente la sustentabilidad del sistema, el ACV fue realizado a manera de validar la sustentabilidad del proceso.

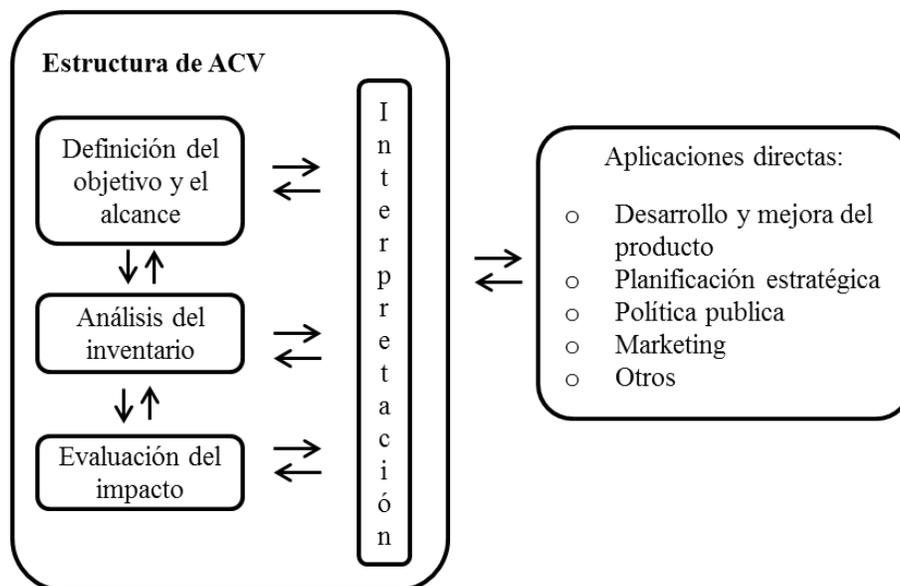


Figura 4.7.- Fases de un Análisis de Ciclo de Vida (ISO 1997)

4.16.- Análisis estadísticos

Los resultados de la composición fisicoquímica y productividad se calcularon para cada replicado (*i.e.* fotobiorreactor) efectuándose un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA). En los casos que se presentaron diferencias significativas, se llevó a cabo una comparación múltiple de medias por el método de Tukey ($\alpha= 0.05$), utilizando el programa estadístico SPSS (versión 11.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

4.17.- Disposición de residuos

Los residuos generados durante la realización del proyecto de investigación se dispusieron y clasificaron de acuerdo a las características de los mismos y a los reglamentos establecidos por la Facultad de Ciencias Químicas, UANL, por medio de los contenedores proporcionados por el departamento de Medio Ambiente y Seguridad, mismo que se aseguró de llevar a cabo las labores pertinentes de almacenaje previo a la disposición final de los residuos: Colector A: residuos ácidos, Colector P: plástico, Colector V: vidrio, Cubeta verde: basura industrial (papel filtro, guantes).

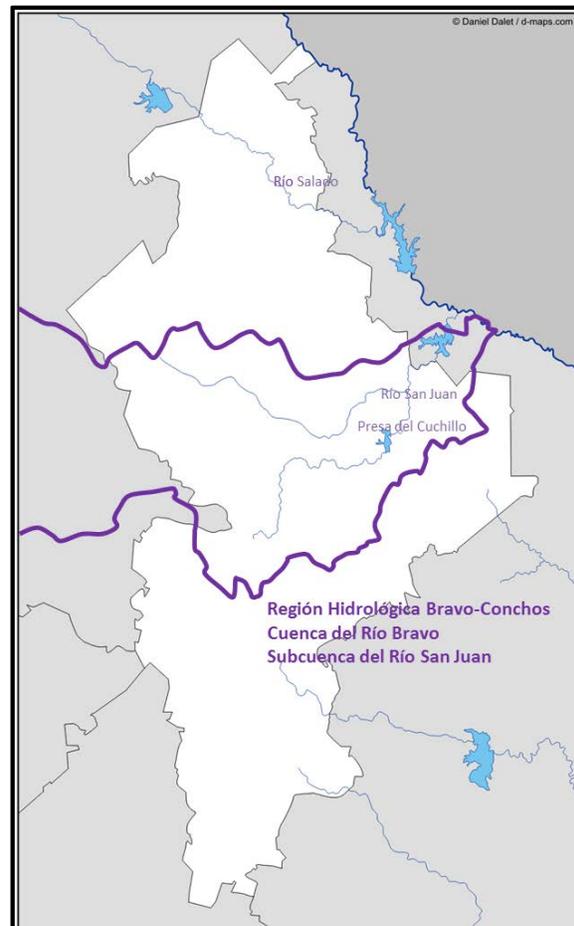
Capítulo 5

RESULTADOS

5.1.- Colecta, propagación y acondicionamiento de consorcios de microalgas nativos del Estado de Nuevo León, México

La Figura 5.1 indica la subcuenca hidrología que abarca los 22 sitios de muestreo efectuados en aguas superficiales del centro del Estado de Nuevo León. La Tabla 5.1 muestra la totalidad de 32 consorcios de microalgales, así como 12 consorcios preseleccionados a partir de la propagación y acondicionamiento para la prueba de recuperación de nutrientes eutróficos (N y P) y selección de consorcios de microalgas.

Figura 5.1.- Ubicación de muestreo subcuenca hidrología San Juan, Estado de Nuevo León, México



**Tabla 5.1.- Consorcios microalgales nativos del Estado de Nuevo León, México
utilizados en el presente proyecto**

Consortios microalgales			
Clave	Lugar de colecta / Municipios	Clave	Lugar de colecta / Municipios
1301**	Arroyo los Tinajas (Guadalupe)	1313	Río Salinas (Ciénega de Flores)
1302	Río Pesquería (Apodaca)	1314***	Río la Silla (Guadalupe)
1303***	Río la Silla (Monterrey)	1315*	Río la Silla (Guadalupe)
1304**	Manantial el Mezquital (Apodaca)	1316**	Agua de charco. Col San Miguel (Apodaca)
1305	Río la Estanzuela (Monterrey)	1317	Agua de charco. Cd. Universitaria (San Nicolás de los Garza)
1306*	Río la Silla. Parque la "Pastora" (Monterrey)		
1307***	Río Nacataz (García)	1318	Lago de pesca. Parque "Niños Héroes" (Monterrey)
1308	Quintas las Sabinas (Juárez)	1319*	Río la Silla en "Parque Tolteca" (Guadalupe)
1309*	Río la Silla (Monterrey)	1320*	Río la Silla. Puente San Antonio (Guadalupe)
1310***	Río la Silla (Monterrey)	1321	Canal de desagüe Río la Silla (Guadalupe)
1311*	Río Nacataz (García)	1322	Río la Silla (Guadalupe)
1312**	Río Santa Catarina (Santa Catarina)	1401 – 1410. Cepario LICA FCQ/UANL.(1402, 1403,1406,1407)**	

* Muestreo a diferentes alturas. ** Consortios seleccionados para prueba de recuperación de nutrientes. *** Muestreo a diferentes alturas

5.2.- Prueba preliminar del efecto de filtración del EE PTAR en la productividad y remoción de nutrientes por un consorcio de microalgas

La concentración de NO_2^- y NH_4^+ en el EE PTAR previo y después de 14 días (30-03-2013 al 12-04-2013) de tratamiento bajo condiciones naturales estáticas a base del consorcio microalgal I10, se encontraron en ambos casos bajo del límite de detección (DLD) < 0.001 mg/L. Las concentraciones iniciales en el EE PTAR (100 mg/L de NO_3^- y 2 mg/L de PO_4^{3-}), fueron removidas en un $\approx 90\%$ y $\approx 100\%$ para NO_3^- y PO_4^{3-} , respectivamente al final de la prueba. El pH presentó un aumento ≈ 1.3 unidades con respecto al valor inicial (7.1). La productividad obtenida tras los tratamientos se encontró en el orden de 0.40 g/L con una mayor productividad en relación a 0.24 g/L cosechado de un medio enriquecido especializado (medio L-C) cultivado bajo las mismas condiciones (Tabla 5.2).

Tabla 5.2.- Resultados de evaluación preliminar (remoción y productividad) por el consorcio microalgal I10

Parámetro	Concentración efluente PTAR			
	Inicial		Final	
	Sin Filtrar	Filtrado (1.5µm)	Sin Filtrar	Filtrado (1.5µm)
NO ₃ ⁻ (mg/L)*	100 ± 0.0	100 ± 0.0	10 ± 0.0	10 ± 0.0
PO ₄ ³⁻ (mg/L)*	2 ± 0.0	2 ± 0.0	DLD	DLD
pH	7.1 ± 0.1	7.1 ± 0.1	8.3 ± 0.1	8.5 ± 0.1
% Remoción	EE PTAR Sin filtrar		EE PTAR Filtrado 1.5µm	
NO ₃ ⁻ (%)	≈ 90		≈ 90	
PO ₄ ³⁻ (%)	≈ 100		≈ 100	
Productividad final (g/L)	Sin filtrar	Filtrado	Control	
	0.41±0.03	0.40±0.01	0.24±0.02	

*Análisis semicuantitativo (kit colorimétrico Aquarium Pharmaceuticals Inc[®]), DLD= Debajo de límite de detección. PO₄³⁻ (< 0.001 mg/L), NO₃⁻ (< 0.01 mg/L). Promedio (n= 3) ± Error Estándar (EE).

5.3.- pH, CE y productividad en experimento de selección de consorcios de microalgas para prueba de recuperación de nutrientes (N y P) de EE PTAR

El intervalo de valores pH en el EE PTAR tratado con microalgas (TM) tras la cosecha en el experimento de selección de consorcios de microalgas fue de 7.06 a 8.12, siendo el valor inicial de pH de 7.42. Se observa que en todos los casos el pH tuvo incrementos con excepción del consorcio 1312, cuyo pH disminuyó a 7.06 (Figura 5.2). La CE en el EE PTAR se encontró con una concentración inicial de 159.31 mS/m con un rango de valores de 136.87 - 157.64 mS/m en el EE PTAR TM, significando reducciones del 1.05 a 14.09%, destacando 2 cultivos (1301 y 1312) con un decremento de 7.28 y 14.09% respectivamente (Figura 5.3). La productividad final del experimento (biomasa de microalgas), expresada en base seca (BS) resultó en el orden de 9.89 a 165.61 mg/L (Figura 5.4). La producción final de biomasa presentó un alto coeficiente de correlación de Pearson ($r = -0.91$) con la conductividad eléctrica (Figura 5.5), donde los consorcios 1301 y 1312 mostraron los mayores decrementos de CE y las productividades más altas con 74.22 y 165.61 mg/L, correspondientemente.

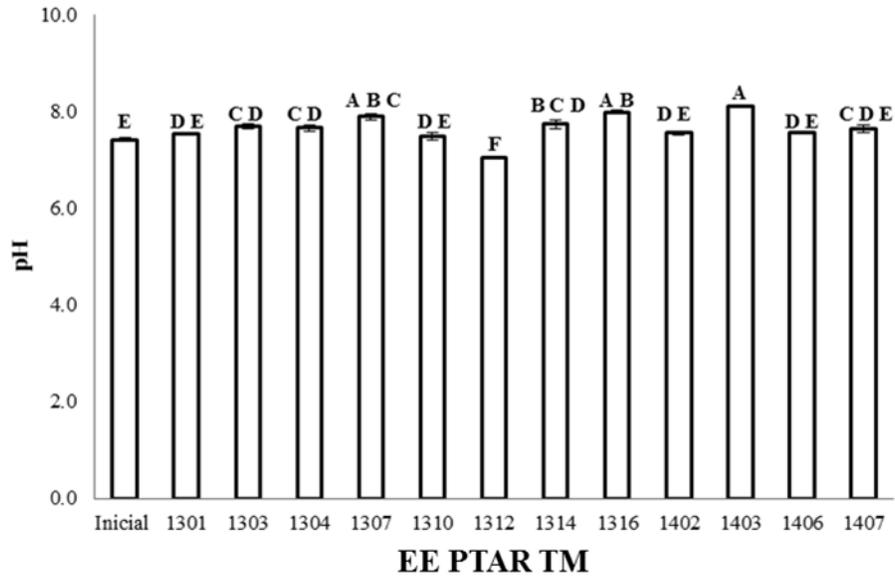


Figura 5.2.- pH inicial y al término de tratamiento en el EE PTAR TM en experimento de selección de consorcios de microalgas. Promedio (n= 9) ± EE. ANOVA 1 Vía. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey, $\alpha= 0.05$)

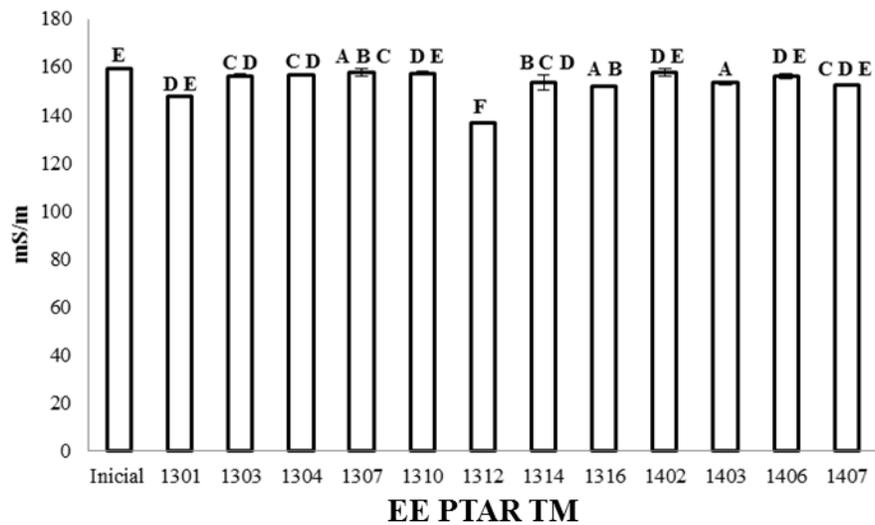


Figura 5.3.- CE inicial y al término de tratamiento en el EE PTAR TM en experimento de selección de consorcios de microalgas. Promedio (n= 9) ± EE. ANOVA 1 Vía. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey, $\alpha= 0.05$)

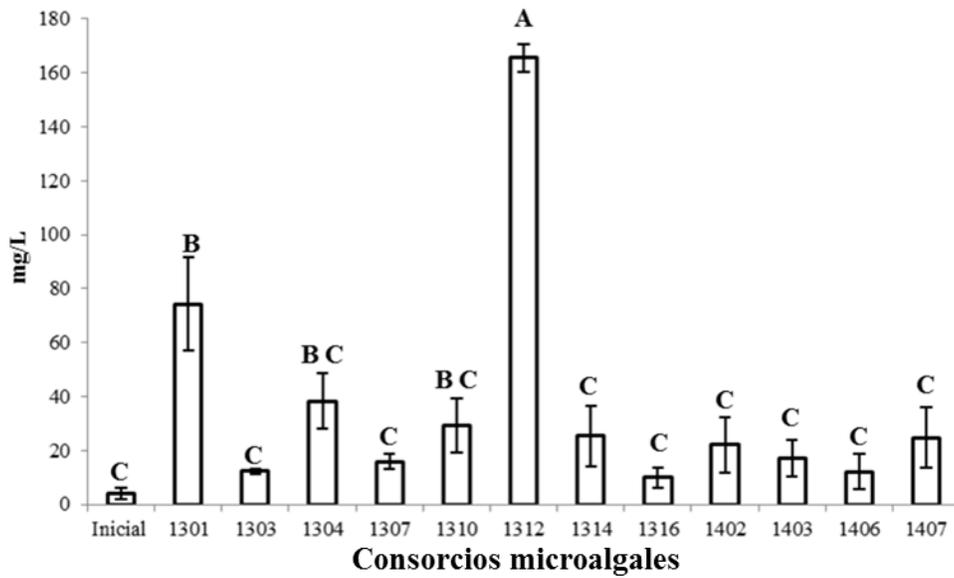


Figura 5.4.- Productividad BS (mg/L) obtenida de consorcios microalgales al término del experimento de selección de consorcios de microalgas. Promedio (n= 3) ± EE. ANOVA 1 Vía. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey, $\alpha= 0.05$)

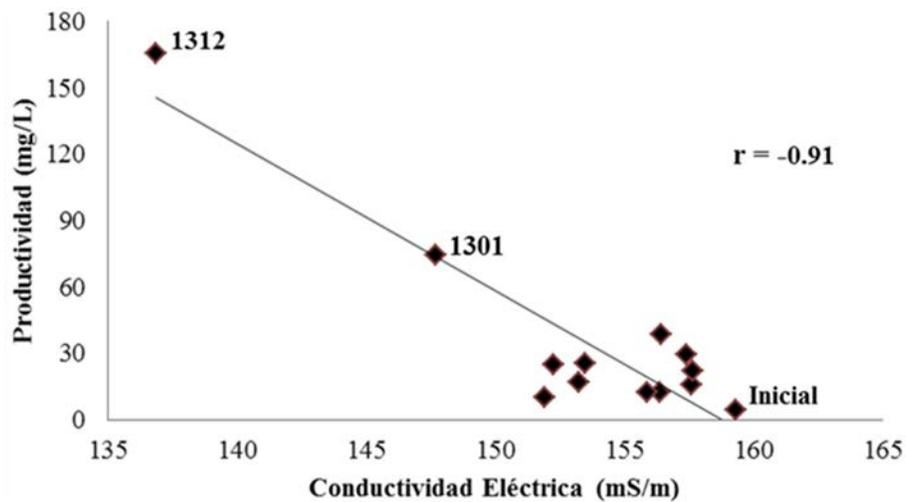


Figura 5.5.- Resultados de correlación (r) de productividad (BS) y CE al término del experimento de selección de consorcios de microalgas. Prueba *t* de student, * $P < 0.05$

5.4.- Remoción de nutrientes (NO_3^- -N y PO_4^{3-} -P) en experimento de selección de consorcios de microalgas para prueba de recuperación de nutrientes (N y P) de EE PTAR

Las concentraciones inicial EE PTAR fueron de 1.64 mg/L de PO_4^{3-} -P y 55.38 mg/L de NO_3^- -N, logrando tasas de remoción de 60.37 a 79.27% para P y de 74.34 a 91.08% para N correspondientemente, mejorando notablemente la calidad del agua tratada con concentraciones residuales de 0.34 a 0.65 mg/L de P y 4.94 a 14.21 mg/L de N al término de 12 días de tratamiento (Figura 5.6 y 5.7) ubicándose dentro los Límites Máximos Permisibles que indica la directiva 91/271/CEE ($< 1, 2 \text{ mg/L P y } < 15, 10 \text{ mg/L N}$).

Basado en la presente prueba de selección de consorcios y tomando en cuenta como criterios principales a: 1) remoción de nutrientes y 2) CE/productividad, se eligieron a los consorcios 1301 (01) y 1312 (12), por presentar porcentajes de remoción para NO_3^- -N de 91.08 al 84.99% y PO_4^{3-} -P de 79.27% al 78.97%. De igual forma los consorcios 01 y 12 mostraron los mayores decrementos de CE y las productividades más altas.

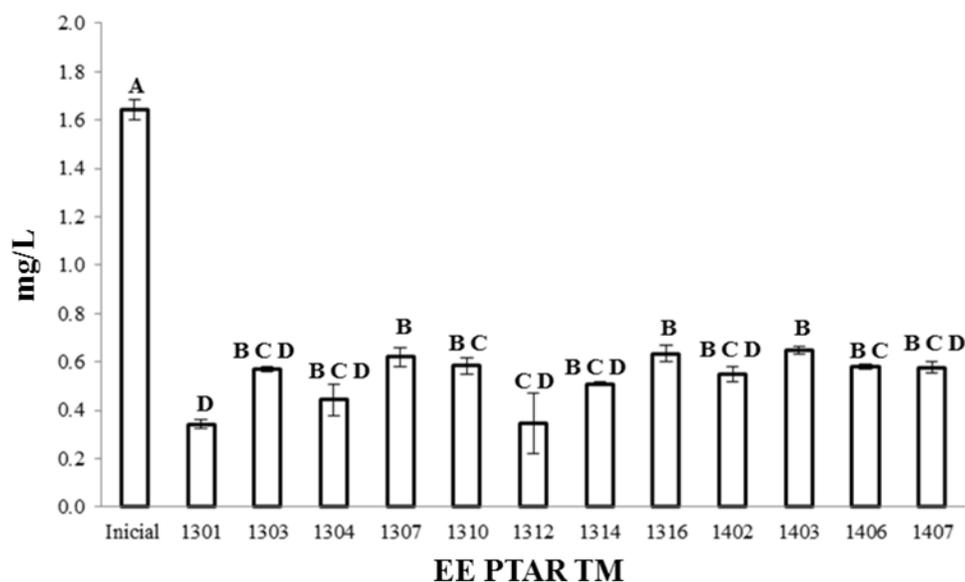


Figura 5.6.- Concentración inicial y final de PO_4^{3-} -P (mg/L) en EE PTAR TM. Promedio (n= 6-9) \pm EE. ANOVA 1 Vía. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey, $\alpha= 0.05$)

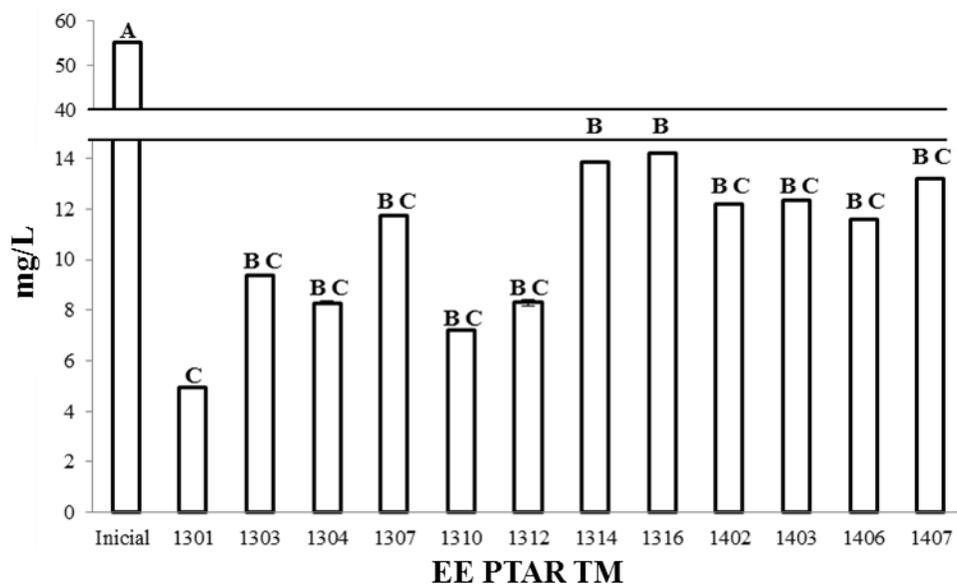


Figura 5.7.- Concentración inicial y final de NO₃⁻-N (mg/L) en EE PTAR TM Promedio (n= 6-9) ±EE. ANOVA 1 Vía. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey, α= 0.05)

5.5.- Propagación de consorcios seleccionados e inducción de formación de aglomerados esféricos

Bajo las condiciones de cultivo (fotobiorreactor escala laboratorio 1 L) en los consorcios 01 y 12 se logró inducir la formación de microesferas (≈ 3 - 5 mm), las cuales produjeron una casi inmediata clarificación del EE PTAR en aproximadamente 2 min, logrando una cosecha del 100% de biomasa producida. Asimismo el cultivo control (cultivado bajo las mismas condiciones de temperatura y luz, pero con la diferencia de ser un cultivo estático), obtuvo una cosecha de alrededor del 90% sin alcanzar una clarificación total, posterior a un lapso de 240 min (Tabla 5.3).

Tabla 5.3.- Cinética de recuperación de biomasa por sedimentación (NMX-AA-004-1977)

Consortio microalgal	Tiempo de recuperación (min)	% de recuperación
01	≈ 2	100
12	≈ 2	100
Control	3	75
	30	81
	60	81
	180	89
	240	91

5.6.- Cinética de pH, CE, OD durante la evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

La variación de pH durante el experimento de tratamiento de EE PTAR indicó una relativa estabilidad entre los tratamientos M, M+A y M+ACO₂ durante los primeros 11 días de evaluación con valores de 8.58 a 8.89 de pH (Figura 5.8), no obstante se obtuvieron valores de 10.85 a 11.29 de pH al día 30 para los tratamientos M y M+A, asimismo, el tratamiento M+ACO₂ a base de enriquecimiento de CO₂ para los consorcios 01 y 12 obtuvo valores de pH ≈ 8 al término de la evaluación (día 30). De igual manera los controles (1SEN y 2CEN) indicaron incrementos significativos de pH con respecto al valor inicial (7.23), obteniendo concentraciones al día 30 de 8.39 y 10.82 de pH para el control 1SEN y 2CEN respectivamente (Tabla 5.4).

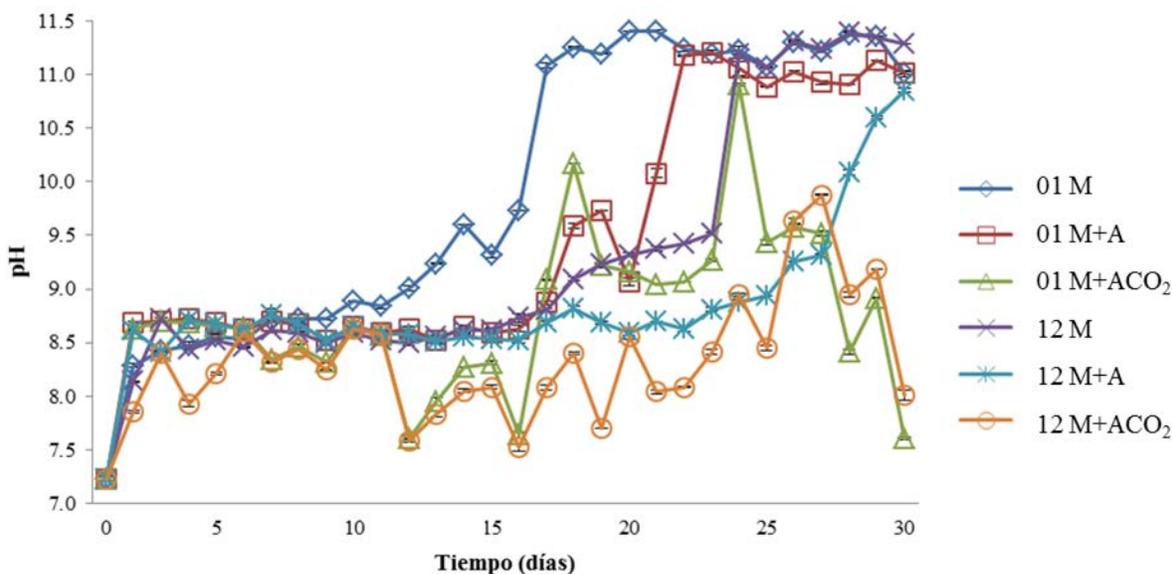


Figura 5.8.- Cinética de valores de pH en EE PTAR durante tratamiento por consorcios microalgales 01 y 12. Promedio (n= 2) ± EE

La CE del EE PTAR presentó un valor inicial de 133.30 mS/m y en general se mantuvo relativamente estable durante los primeros 12 días del proceso de remoción de nutrientes, resultando con un intervalo entre 125.05 a 131.05 mS/m para los consorcios 01 y 12, sin embargo, se observaron tendencias de decremento a partir del día 13 para el consorcio 1301 con el tratamiento M y consecutivamente en los tratamientos M+A y M+ACO₂ al día 17.

Asimismo, el consorcio 12 en sus respectivos tratamientos mostró decrementos considerables posteriores a los 20 días de tratamiento (Figura 5.9). La CE registrada en el control 1SEN no presentó cambios representativos durante el periodo experimental; sin embargo, se obtuvo un decremento por parte del control 2CEN al término de la etapa experimental (Tabla 5.4).

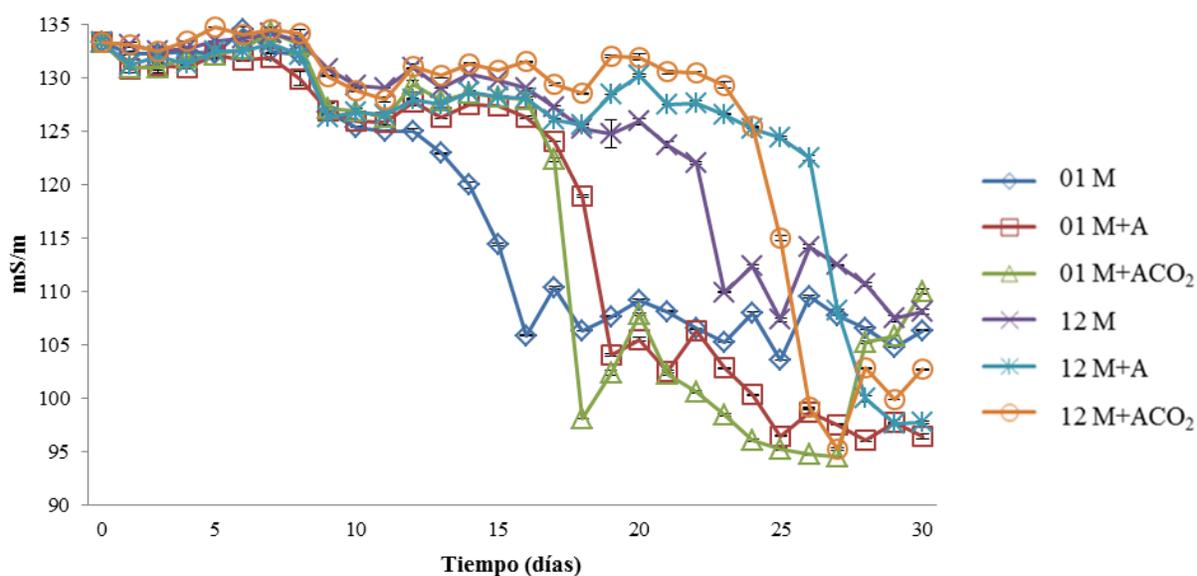


Figura 5.9.- Cinética de valores de CE (mS/m) en EE PTAR durante tratamiento por consorcios microalgales 01 y 12. Promedio (n= 2) ± EE

La cinética de concentración de oxígeno disuelto (OD) en el EE PTAR durante el periodo experimental mostró un aumento considerable en referencia al valor inicial de 5 mg/L para los diferentes consorcios microalgales (01 y 12) posterior a 8 días de iniciar el tratamiento, consecuentemente mostró una relativa estabilidad durante el resto del tratamiento con similitud de comportamiento en todos los tratamientos aplicados a los consorcios microalgales (Figura 5.10). De igual modo los controles 1SEN y 2CEN mostraron aumentos en los valores de OD con concentraciones finales de 10.01 y 10.72 mg/L de OD respectivamente (Tabla 5.4).

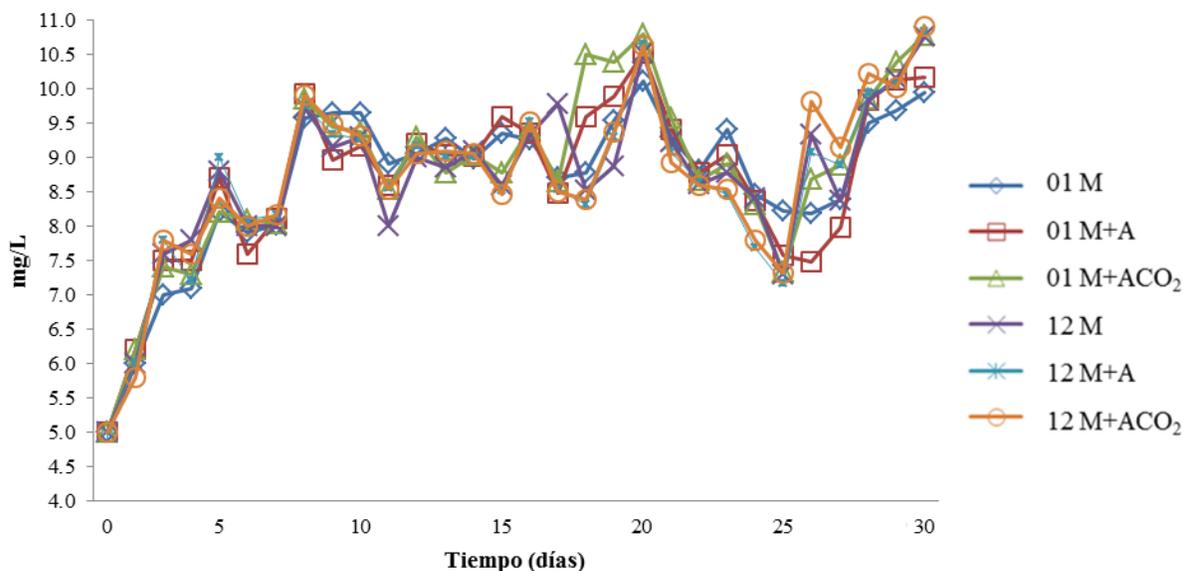


Figura 5.10.- Cinética de valores de OD (mg/L) en EE PTAR durante tratamiento por consorcios microalgales 01 y 12. Valores puntuales, n= 1 por día

Tabla 5.4.- Concentraciones de pH, CE y OD en controles 1SEN y 2CEN durante evaluación de tratamientos de EE PTAR

Muestra	Día	pH	CE (mS/m)	OD (mg/L)*
EE PTAR	0	7.23 ± 0.01	133.30 ± 0.20	5.30
Control	1SEN	10	8.46 ± 0.03	133.25 ± 0.7
		20	8.37 ± 0.03	135.80 ± 0.28
		30	8.39 ± 0.00	132.25 ± 0.35
	2CEN	10	8.30 ± 0.00	133.10 ± 0.14
		20	8.63 ± 0.02	135.20 ± 0.14
		30	10.82 ± 0.00	108.80 ± 0.00

Promedio (n= 2) ± EE. * Valores puntuales, n= 1 por día

5.7.- Cinética de remoción de solubles inorgánicos $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$, $N-NH_4^+$ durante la evaluación del tratamiento en EE PTAR con el sistema de fotobiorreactores

Se presentó un incremento de NO_2^- -N en el EE PTAR TM con los consorcios 01 y 12, a partir de una concentración inicial de 0.03 mg/L en el EE PTAR. Los aumentos máximos alcanzados en distintos días por los consorcios y sus diferentes tratamientos se encontraron entre 0.13 a 0.23 mg/L, equivalentes a un aumento porcentual (en relación a la concentración inicial) de 433.33 a 766.66%, respectivamente. Asimismo, tras haber

alcanzado este aumento, se presentó un descenso de NO_2^- -N obteniendo concentraciones menores a 0.01 mg (< 33.33% de la concentración original), con excepción de los tratamientos M y M+A del consorcio 12 que tras 30 días de tratamiento alcanzaron concentraciones de 0.13 y 0.16 mg/L (433.33 y 533.33%, respectivamente) (Figura 5.11). La concentración de NO_2^- -N en el control 1SEN y 2CEN no presentó aumentos a 20 días del periodo experimental, sin embargo al día 30 presentaron aumentos de 0.42 y 0.10 mg/L (1400.00% y 333.33%) correspondientemente (Figura 5.14).

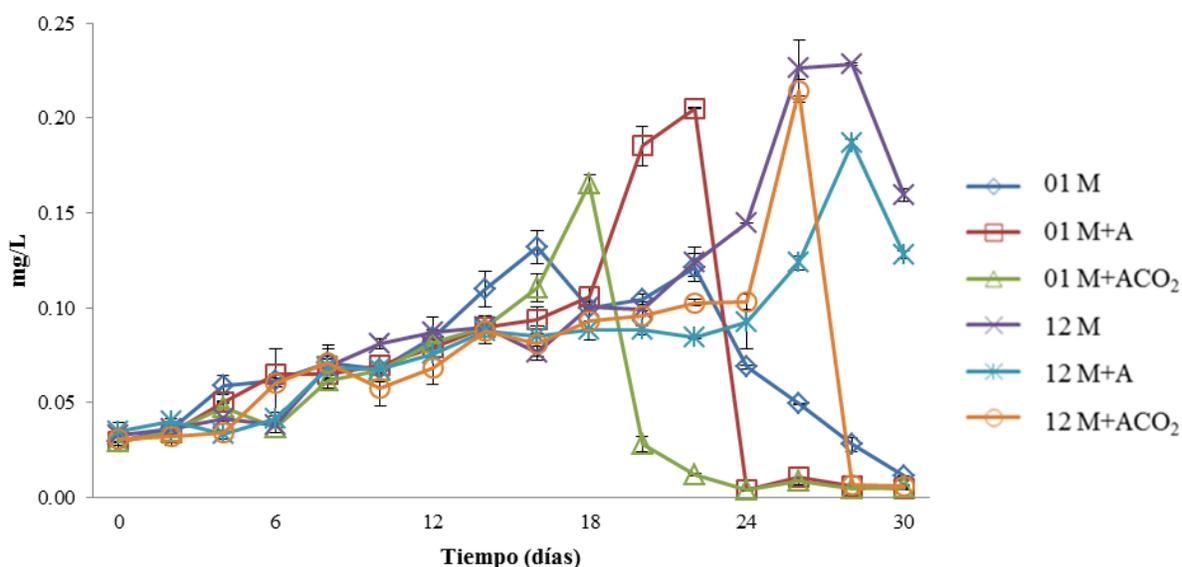


Figura 5.11.- Cinética de concentración de NO_2^- -N en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12. Promedio (n= 2) \pm EE.

El aumento de NO_2^- -N fue asociado con una disminución de nitrato NO_3^- -N en el EE PTAR TM, presentando una concentración inicial de 13.40 mg/L de NO_3^- -N y manteniéndose relativamente estable a 16 y 22 días de tratamiento por los consorcios microalgales 01 y 12. El consorcio 01 bajo el tratamiento M+ACO₂ mostró una rápida eficiencia de remoción, al presentar una concentración de 1.02 mg/L de NO_3^- -N a 20 días de tratamiento la cual corresponde a una reducción del 92.39%. A 30 días de tratamiento se obtuvo una remoción de NO_3^- -N entre 76.96 y 98.55% (Figura 5.12). El control 1SEN mostró una concentración al final del periodo de 11.96 mg/L de NO_3^- -N con una reducción equivalente de 10.75% contrastando con el control 2CEN que llevó una reducción de 40.50% y concentración final de 7.97 mg/L de NO_3^- -N (Figura 5.14).

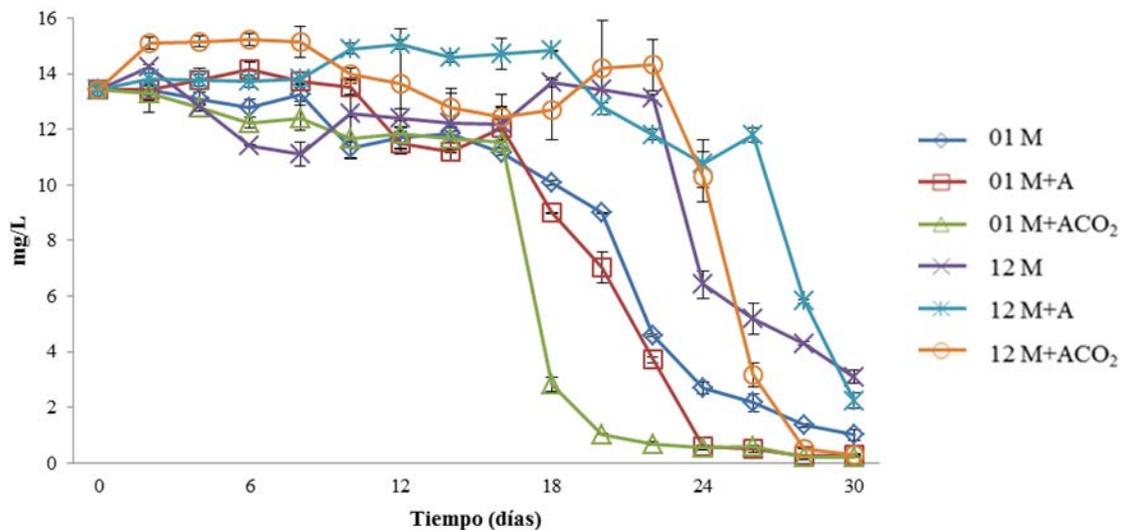


Figura 5.12.- Cinética de concentración de NO_3^- -N en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12. Promedio ($n= 2$) \pm EE

El NH_4^+ -N, en el EE PTAR se presentó en una concentración inicial de 0.23 mg/L. A lo largo del tratamiento en el sistema de fotobiorreactores en presencia de los consorcios microalgales 01 y 12, se lograron observar tres tendencias, tanto aumento, estabilización, como disminución de la concentración de nitrógeno amoniacal (NH_4^+ -N). La mayor disminución se logró en el tratamiento M, seguidos por los tratamientos M+ACO₂ y M+A en ambos consorcios. Las tasas de eliminación al día 30 de tratamiento con respecto al valor inicial se encontraron en el intervalo de 73.91 a 91.30% equivalentes a una concentración residual en el EE PTAR TM de 0.02 y 0.06 mg/L de NH_4^+ -N (Figura 5.13). Los controles 1SEN y 2CEN mostraron similitud con respecto a los cambios en la concentración de NH_4^+ -N en los tratamientos a base de los consorcios microalgales, además de obtener reducciones de 65.21 y 82.60% correspondientes a las concentraciones de 0.08 y 0.04 mg/L de NH_4^+ -N para el control 1SEN y 2CEN respectivamente tras 30 días de experimentación a intemperie (Figura 5.14).

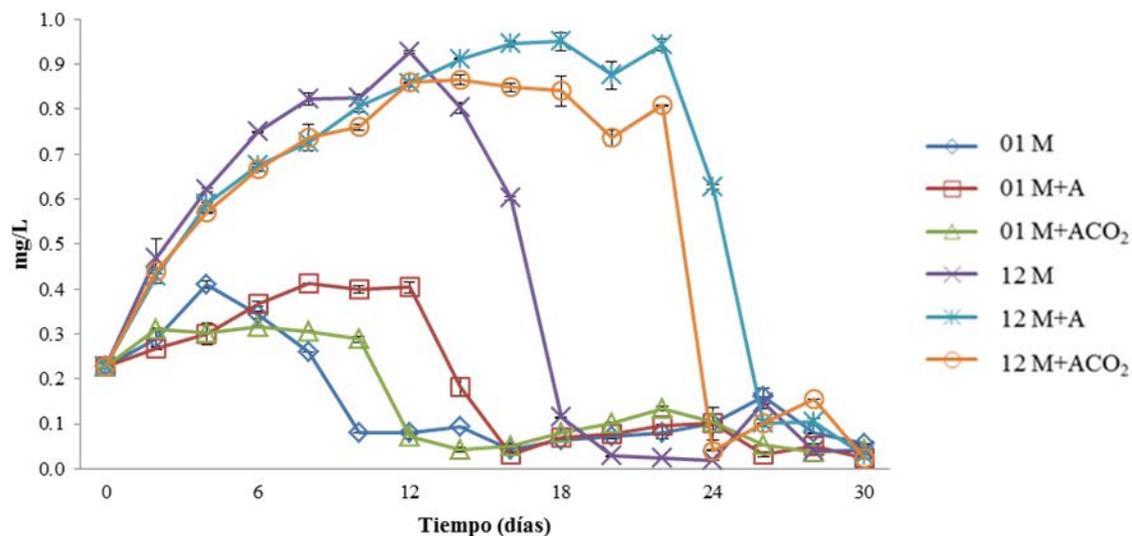


Figura 5.13.- Cinética de concentración de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12. Promedio ($n= 2$) \pm EE

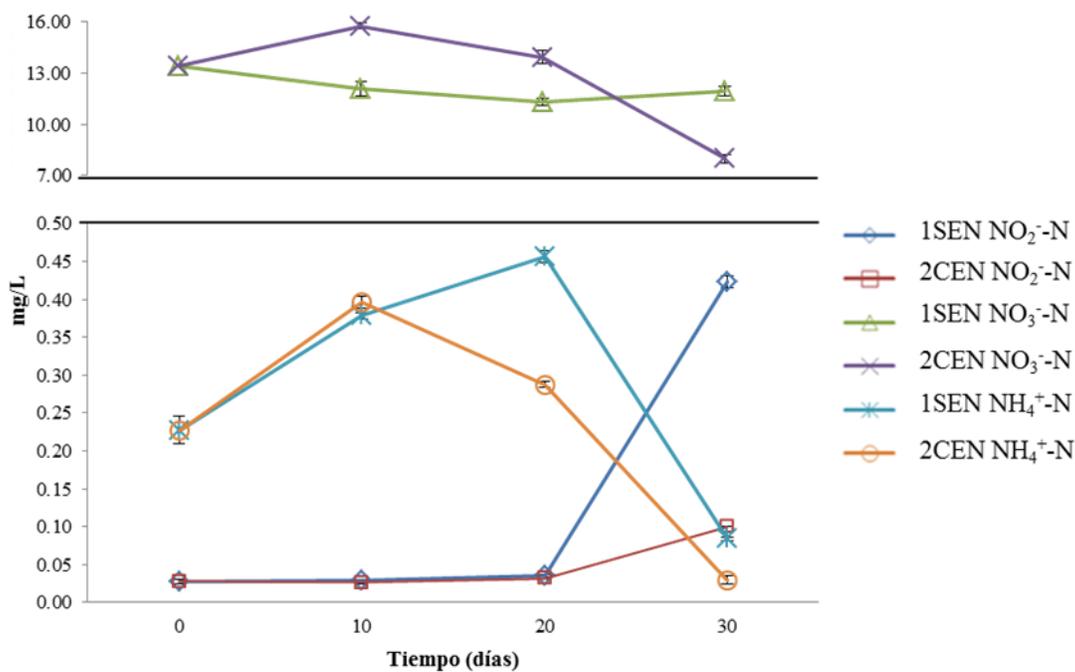


Figura 5.14.- Cinética de concentración de $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ en controles 1SEN y 2CEN durante periodo experimental. Promedio ($n= 2$) \pm EE

5.8.- Cinética de remoción de NT durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

La concentración inicial de NT en el EE PTAR fue de 17.33 mg/L. Posterior a 10 días de tratamiento en el sistema de fotobiorreactores utilizando los consorcios 01 y 12 se encontraron concentraciones de 13.78 y 14.86 mg/L de NT equivalentes a reducciones porcentuales de 20.48 y 14.25%, consecuentemente, a los 20 días de la evaluación se observó una marcada disminución de NT por parte de los tratamientos aplicados en el consorcio 01 a diferencia del consorcio 12. La medición realizada a 26 días indica el efecto de la actividad de asimilación de nutrientes por parte del consorcio 12. Consecutivamente al término de la evaluación se observaron incrementos de NT en los 3 tratamientos aplicados con el consorcio 01 (Figura 5.15). Las tasa de eliminación del NT a 30 días de evaluación para el consorcio 12 se mantuvieron con tendencias al decremento de la concentración de nitrógeno total con porcentajes de remoción totales de 64.40, 67.74 y 75.53% para los tratamientos M, M+A y M+ACO₂, respectivamente. Asimismo se observaron menores porcentajes de eliminación del NT para los tratamientos M, M+A y M+ACO₂ aplicados en el consorcio 01 el cual a 26 días de haberse aplicado alcanzaron porcentajes de asimilación de 67.46, 82.80 y 79.00% concerniente a los tratamientos M, M+A y M+ACO₂ (Tabla 5.5). El control 1SEN presentó estabilidad durante el periodo experimental (30 días) finalizando con una concentración de 16.88 mg/L de NT equivalente a una reducción de 2.60%, de igual forma el control 2CEN, mantuvo estabilidad durante los 20 primeros días del periodo experimental, sin embargo al final alcanzó una concentración de 10.96 mg/L de NT, indicando un valor de remoción de 36.76% (Figura 5.16 y Tabla 5.5).

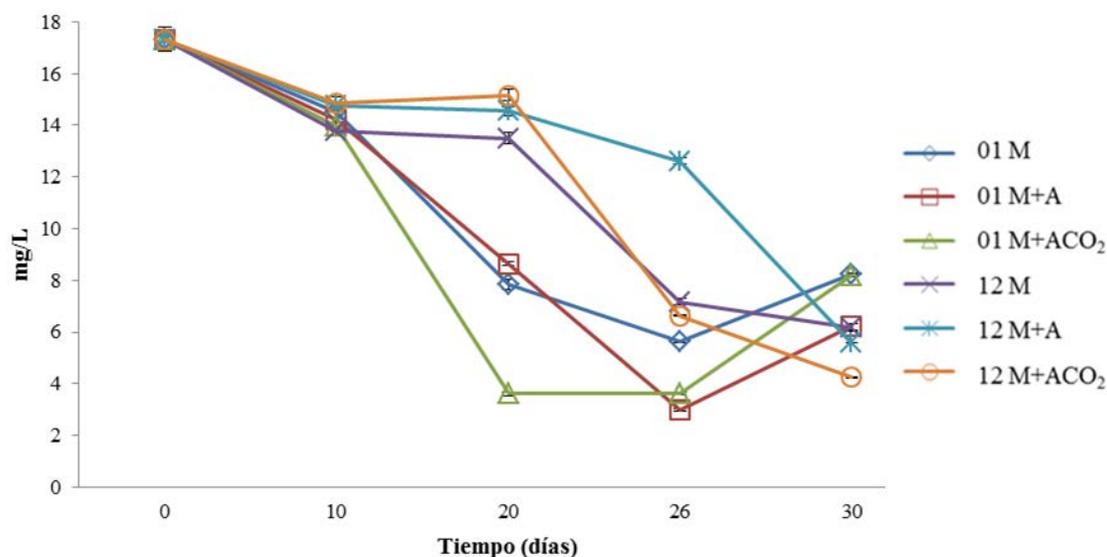


Figura 5.15.- Cinética de concentración de NT en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12. Promedio (n= 3) ± EE

Tabla 5.5.- Concentración de NT durante el tratamiento con los consorcios 01 y 12. Porcentajes de remoción por tratamiento

Muestra		Nitrógeno Total (NT)					
EE PTAR		17.33 ± 0.48 mg/L					
Consortio microalgal	Día	Tratamiento M		Tratamiento M+A		Tratamiento M+ACO ₂	
		mg/L	%remoción NT	mg/L	%remoción	mg/L	%remoción
01	10	14.51 ± 0.21	16.27	14.23 ± 0.09	17.89	13.96 ± 0.16	19.45
	20	7.84 ± 0.19	54.76	8.65 ± 0.06	50.09	3.62 ± 0.07	79.11
	26	5.64 ± 0.06	67.46	2.98 ± 0.05	82.80	3.64 ± 0.05	79.00
	30	8.22 ± 0.07	52.57	6.20 ± 0.13	64.22	8.17 ± 0.05	52.86
12	10	13.78 ± 0.20	20.48	14.74 ± 0.03	14.95	14.86 ± 0.24	14.25
	20	13.50 ± 0.23	22.10	14.56 ± 0.17	15.98	15.17 ± 0.21	12.46
	26	7.18 ± 0.11	58.57	12.61 ± 0.12	27.24	6.64 ± 0.03	61.68
	30	6.17 ± 0.13	64.40	5.59 ± 0.02	67.74	4.24 ± 0.03	75.53
Control 1 SEN			Control 2 CEN				
Día	mg/L	%remoción NT	Día	mg/L	%remoción NT		
10	16.81 ± 0.10	3.00	10	16.24 ± 0.16	6.29		
20	18.10 ± 0.41	NA	20	16.76 ± 0.39	3.29		
30	16.88 ± 0.08	2.60	30	10.96 ± 0.15	36.76		

NA: no aparente. Promedio (n= 3) ± EE

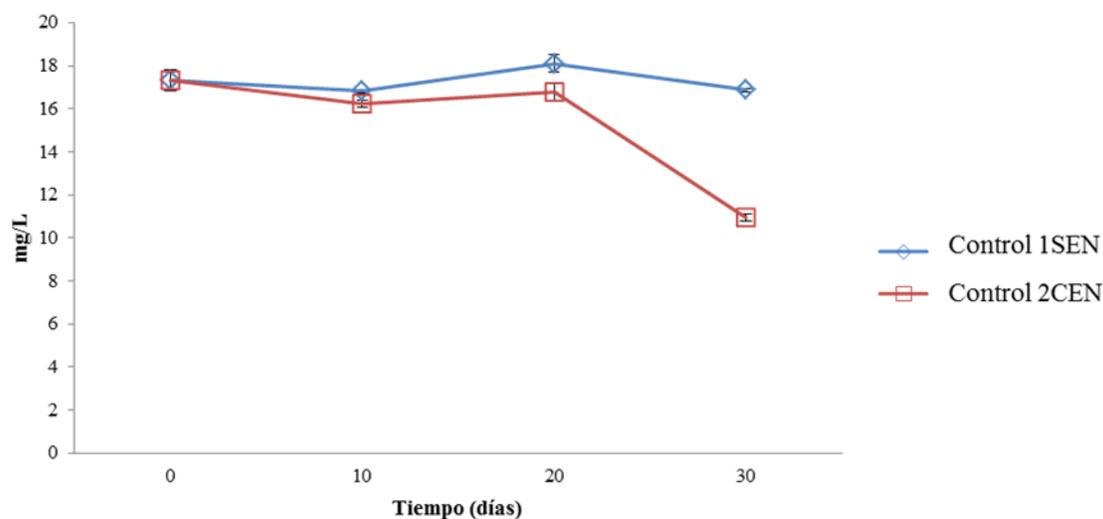


Figura 5.16.- Cinética de concentración de NT en controles 1SEN y 2CEN durante periodo experimental. Promedio (n= 3) ± EE

5.9.- Cinética de remoción nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y nitrógeno orgánico (N Org) durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

La concentración inicial de NID en el EE PTAR fue de 13.66 mg/L. Utilizando los consorcios microalgales 01 y 12 se presentaron distintas tasas de remoción de NID en el agua, destacando el consorcio 01, el cual empleando el tratamiento M+ACO₂ obtuvo una reducción de 91.56% a 20 días de tratamiento, seguido de los tratamientos M+A y M con porcentajes de 46.66 y 31.94%, respectivamente. De igual manera, el consorcio microalgal 12 no presentó asimilación aparente de NI a 20 días de haber iniciado el tratamiento, sin embargo al término de la evaluación exhibió porcentajes de asimilación de 75.95, 82.49 y 97.66% correspondientes a los tratamientos M, M+A y M+ACO₂, respectivamente, mientras que el consorcio 01 resultó con tasas de asimilación de 92.19, 97.68 y 98.13% para los tratamientos M, M+A y M+ACO₂ respectivamente (Figura 5.17 y Tabla 5.6).

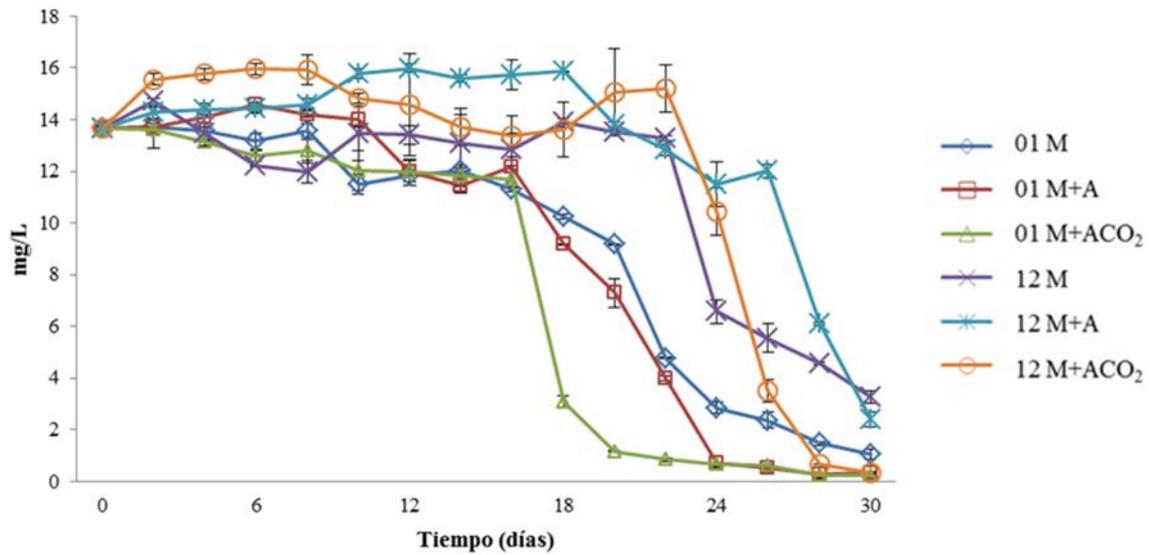


Figura 5.17.- Cinética de concentración de NID en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12

El control 1SEN no presentó reducciones considerables al mantenerse estable durante el periodo experimental (30 días) con una concentración final de 12.46 mg/L (disminución de 8.77%), sin embargo el control 2CEN mantuvo concentraciones ligeramente superiores a las iniciales durante 20 días, no obstante, a 30 días la concentración decreció a 8.10 mg/L de NID (40.69% del valor inicial) (Figura 5.18 y Tabla 5.6).

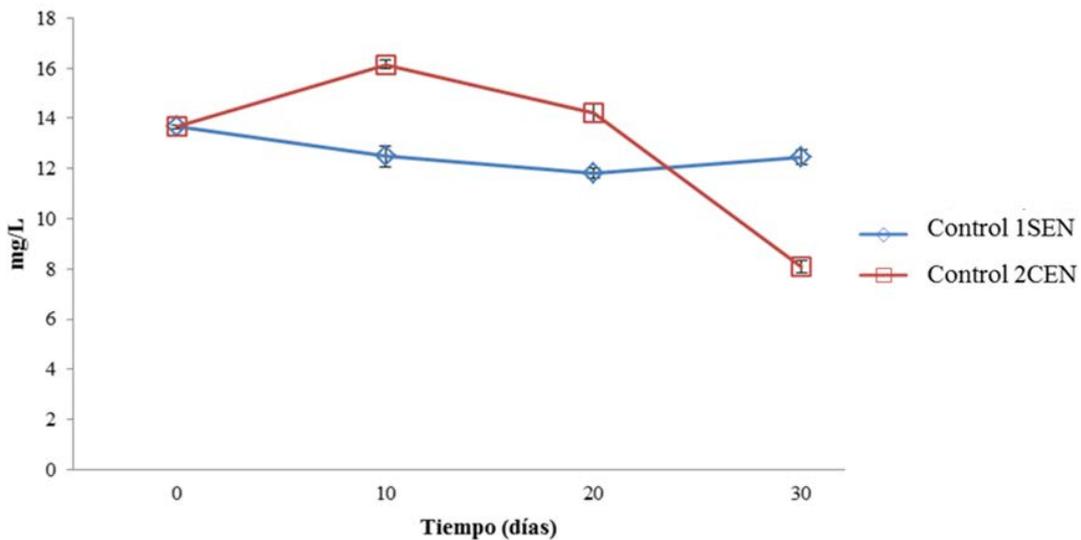


Figura 5.18.- Cinética de concentración de NID en controles 1SEN y 2CEN durante periodo experimental

Tabla 5.6.- Concentración de Nitrógeno Inorgánico Disuelto y Nitrógeno Orgánico durante tratamiento con los consorcios de microalgas 01 y 12. Porcentajes de remoción por tratamiento

Muestra		Nitrógeno Total (NT)			Nitrógeno Inorgánico Disuelto (NID)			Nitrógeno Orgánico N Org = (NT – NID)		
EE PTAR		17.33 ± 0.48 mg/L			13.66 ± 0.07 mg/L			3.67 mg/L		
Consortio microalgal	Día	Tratamiento M			Tratamiento M+A			Tratamiento M+ACO ₂		
		NO mg/L	NID mg/L	% remoción NID	NO mg/L	NID mg/L	% remoción NID	NO	NID mg/L	% remoción NID
01	10	3.02	11.49 ± 0.38	15.90	0.24	13.99 ± 0.26	NA	1.93	12.03 ± 0.76	11.97
	20	NA	9.30 ± 0.02	31.94	1.36	7.29 ± 0.57	46.66	2.47	1.15 ± 0.02	91.56
	26	3.27	2.37 ± 0.31	82.63	2.43	0.55 ± 0.12	96.01	3.01	0.63 ± 0.00	95.35
	30	7.15	1.07 ± 0.19	92.19	5.88	0.32 ± 0.05	97.68	7.93	0.24 ± 0.00	98.23
12	10	0.30	13.48 ± 1.04	1.33	NA	15.77 ± 0.20	NA	0.05	14.81 ± 0.19	NA
	20	NA	14.95 ± 0.02	NA	0.76	13.80 ± 0.12	NA	0.13	15.04 ± 1.68	NA
	26	1.63	5.55 ± 0.57	59.39	0.60	12.01 ± 0.26	12.04	3.14	3.50 ± 0.43	74.40
	30	2.88	3.29 ± 0.24	75.95	3.20	2.39 ± 0.28	82.49	3.92	0.32 ± 0.00	97.66
Control 1SEN					Control 2CEN					
Día	NO	NID	%remoción NID	Día	NO	NID	%remoción NID			
10	4.33	12.48 ± 0.40	8.63	10	0.09	16.15 ± 0.17	NA			
20	6.29	11.81 ± 0.21	13.56	20	2.54	14.22 ± 0.38	NA			
30	4.42	12.46 ± 0.28	8.77	30	2.86	8.10 ± 0.24	40.69			

NA: no aparente

El N-Org del EE PTAR inicial fue de 3.67 mg/L. Durante el desarrollo experimental, utilizando el consorcio 01, se presentaron disminuciones de concentración en el agua a 10, 20, 26 días de la etapa experimental, asimismo al término de la evaluación, presentó un aumento, resultando en concentraciones de 7.15, 5.88 y 7.93 mg/L de N Org para los tratamientos M, M+A y M+ACO₂, respectivamente. Igualmente, el consorcio 12 presentó disminución en el N Org para los tratamientos M y M+A, exceptuando al tratamiento M+ACO₂ que finalizó el tratamiento con una concentración de 3.92 mg/L a 30 días. El análisis de N Org en el control 1SEN exhibió aumentos, a diferencia del control 2CEN que lo disminuyó durante el periodo de evaluación (Tabla 5.6).

5.10.- Cinética de remoción de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ durante la evaluación del tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

El EE PTAR contenía una concentración inicial de 2.29 ± 0.04 mg/L de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$. Dicha concentración fue relativamente estable durante los primeros 20 días de la evaluación en los tratamientos M+A y M+ ACO_2 del consorcio 12 y tratamiento M+ ACO_2 perteneciente al consorcio 01, encontrándose con valores de 1.93, 2.20 y 1.90 mg/L de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$, respectivamente (Figura 5.19). De igual forma el consorcio 01 bajo los tratamientos M y M+A, manifestaron diferentes tasas de asimilación de P a partir de 8 días, el consorcio 12 enriquecido con CO_2 (M+ ACO_2) exhibió actividad de asimilación de fósforo a partir de 14 días (Figura 5.19). Las tasas de eliminación porcentual de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$, a 30 días de tratamiento fueron de 93.45, 89.96, 89.96% para el consorcio 01 con los tratamientos M, M+A y M+ ACO_2 , respectivamente. Asimismo el consorcio 12 presentó remociones de 94.32, 89.52 y 79.91% correspondientes a los tratamientos M, M+A y M+ ACO_2 (Tabla 5.7).

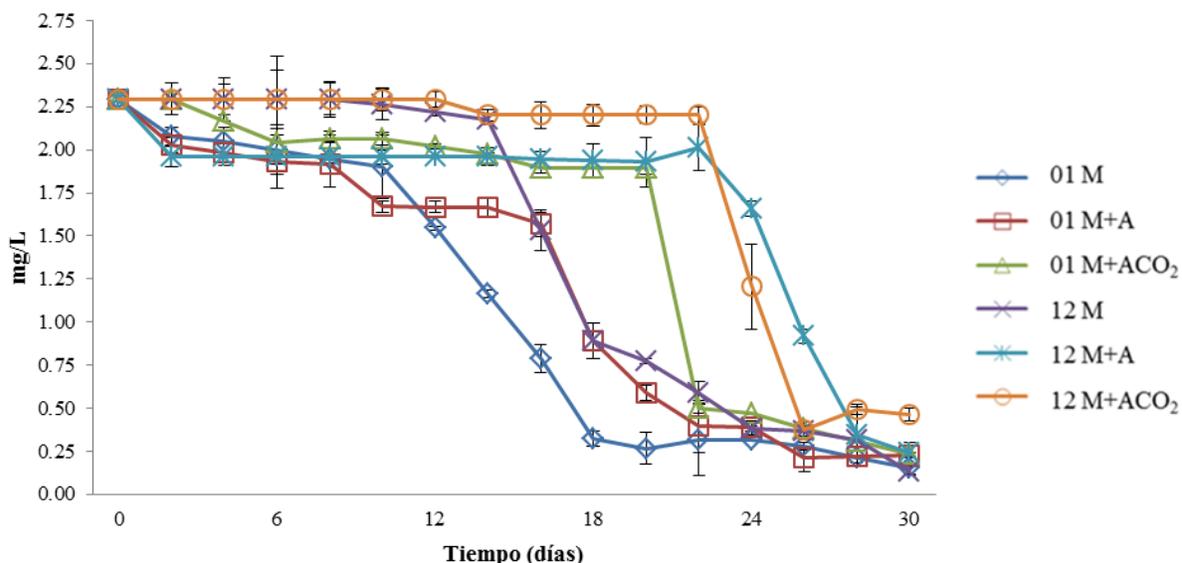


Figura 5.19.- Cinética de concentración de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12. Promedio (n= 2) \pm EE

Tabla 5.7.- Valor inicial y final de fósforo en el tratamiento. Porcentajes de remoción por tratamiento aplicado en el sistema de fotobiorreactores usando los consorcios 01 y

12

Concentración de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$			
EE PTAR		$2.29 \pm 0.04 \text{ mg/L}^b$	
Consortio microalgal	Tratamiento	mg/L	%remoción
01	M	$0.15 \pm 0.03^{d,e}$	93.45
	M+A	0.23 ± 0.02^e	89.96
	M+ACO ₂	0.23 ± 0.01^e	89.96
12	M	0.13 ± 0.03^e	94.32
	M+A	$0.24 \pm 0.06^{d,e}$	89.52
	M+ACO ₂	0.46 ± 0.03^d	79.91
Control	1SEN	2.62 ± 0.08^a	NA
	2CEN	0.76 ± 0.01^c	66.81

Promedio (n= 2) ± EE. ANOVA 1 Vía. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey, $\alpha= 0.05$). NA: no aparente

Durante el periodo experimental, el control 1SEN mantuvo la concentración de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ relativamente estable, aumentando la concentración de fósforo inorgánico disuelto y obteniendo una concentración final de 2.62 mg/L de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$. Por otro lado, el control 2CEN indicó una reducción considerable de 66.81% con un valor final obtenido de 0.76 mg/L de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ (Tabla 5.7 y Figura 5.20).

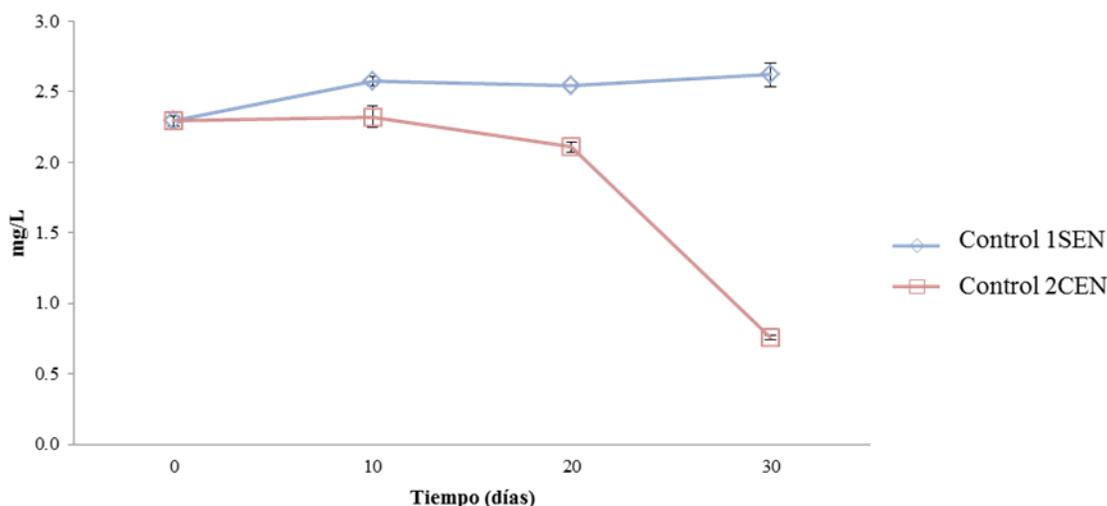


Figura 5.20.- Cinética de concentración de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ en controles 1SEN Y 2CEN durante periodo experimental. Promedio (n= 2) ± EE

5.11.- Comportamiento de la concentración de COT durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

El COT inicial en EE PTAR se encontró en una concentración de 18.28 mg/L. La Figura 5.21 muestra los cambios en el comportamiento del COT en el agua expuesta a los consorcios 01 y 12. Se encontraron decrementos porcentuales de 15.29 a 25.58%, a excepción del consorcio 12, con el tratamiento consistente de aireación enriquecida con CO₂ (M+ACO₂), el cual al día 30 mostró un incremento de 76.73 mg/L COT equivalente a un aumento de 322.06% con respecto al valor inicial (Tabla 5.8).

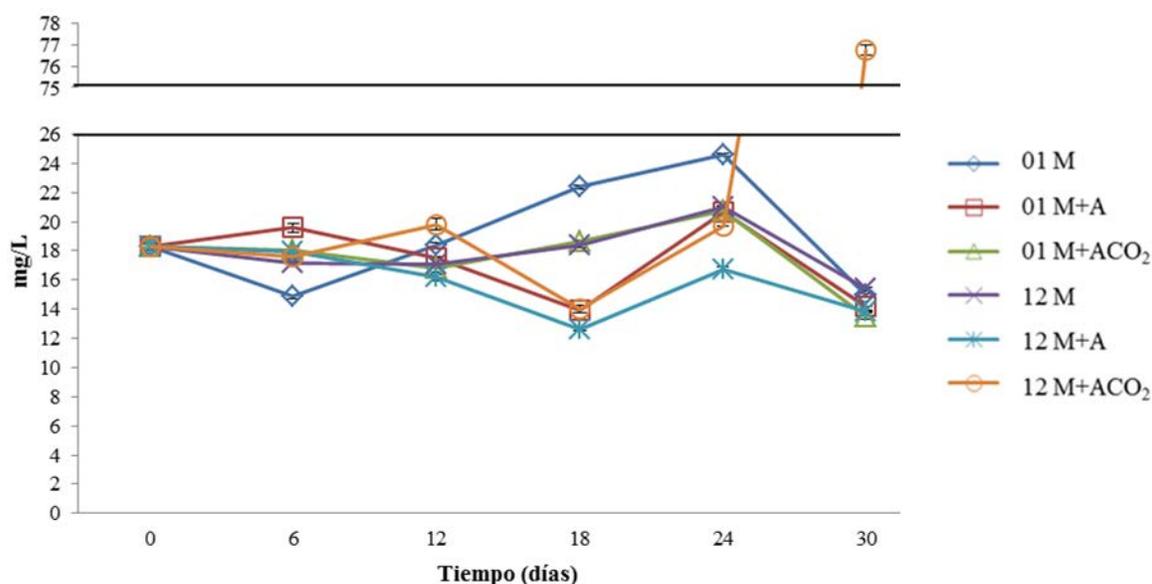


Figura 5.21.- Cinética de concentración de COT en EE PTAR durante tratamiento de remoción por consorcios microalgales 01 y 12. Promedio (n= 2) ± EE

La concentración de COT, en el control 1SEN, presentó una reducción de 43.38%, con una concentración de 10.35 mg/L a 30 días, sin embargo, el control 2CEN presentó una concentración final de 14.68 mg/L de COT, equivalente a una disminución de 19.69% (Tabla 5.8 y Figura 5.22).

Tabla 5.8.- Concentración de COT en el EE PTAR durante tratamiento con los consorcios 01 y 12. Porcentajes de remoción por tratamiento

Concentración de COT							
EE PTAR		18.28 ± 0.22 mg/L					
Consortio microalgal	Día	Tratamiento M		Tratamiento M+A		Tratamiento M+ACO ₂	
		mg/L	%remoción	mg/L	%remoción	mg/L	%remoción
01	6	14.86 ± 0.13	18.26	19.57 ± 0.32	NA	18.06 ± 0.25	0.66
	12	18.39 ± 0.18	NA	17.53 ± 0.07	3.58	16.82 ± 0.24	7.48
	18	22.37 ± 0.11	NA	13.92 ± 0.21	23.43	18.62 ± 0.11	NA
	24	24.60 ± 0.07	NA	20.70 ± 0.07	NA	20.75 ± 0.01	NA
	30	14.97 ± 0.09	17.66	14.17 ± 0.00	22.06	13.53 ± 0.25	25.58
12	6	17.18 ± 0.11	5.50	17.94 ± 0.21	1.32	17.59 ± 0.10	3.25
	12	17.04 ± 0.06	6.27	16.16 ± 0.18	11.11	19.81 ± 0.38	NA
	18	18.35 ± 0.12	NA	12.63 ± 0.13	30.53	14.02 ± 0.26	22.88
	24	21.05 ± 0.07	NA	16.76 ± 0.12	7.81	19.69 ± 0.01	NA
	30	15.40 ± 0.14	15.29	13.88 ± 0.04	23.65	76.73 ± 0.24	NA
Control 1SEN				Control 2CEN			
Día	mg/L	%remoción	Día	mg/L	%remoción		
10	12.62 ± 0.07	30.96	10	10.37 ± 0.45	43.27		
20	7.65 ± 0.35	58.15	20	13.79 ± 0.37	24.56		
30	10.35 ± 0.16	43.38	30	14.68 ± 0.20	19.69		

Promedio (n= 2) ± EE. NA: no aparente

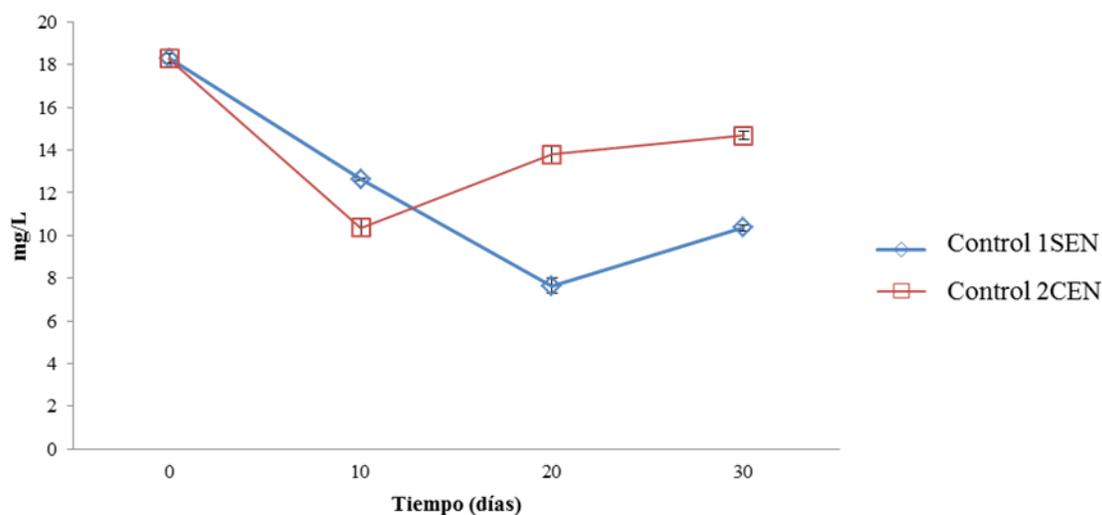


Figura 5.22.- Cinética de concentración de COT en controles 1SEN y 2CEN durante periodo experimental. Promedio (n= 2) ± EE

5.12.- Micronutrientes durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

Los niveles de aluminio en el EE PTAR, previo y después del tratamiento con microalgas, se encontraron por debajo de los límites detectables (< 0.03 mg/L). La concentración inicial de Cu, presentó una concentración inicial de 0.11 mg/L y al término del tratamiento a base de los consorcios 01 y 12 se encontró por debajo del límite de detección < 0.03 mg/L. Se encontraron diferencias estadísticas significativas con respecto a la concentración inicial de los iones metálicos: Na, K, Ca, Mg y Fe, con la excepción de la concentración de dos iones metálicos K y Mg a base del tratamiento M+ACO₂ con los consorcios 01 y 12 respectivamente (Tabla 5.9). Los porcentajes generales de remoción para los iones metálicos se encontraron en un rango entre 2.12 a 95.14% (Tabla 5.10).

Tabla 5.9.- Concentración inicial y final de iones metálicos en tratamiento

Muestra		Iones Metálicos (mg/L)					
		Na	K	Ca	Mg	Fe	Cu
EE PTAR		330.43 ± 0.73 ^a	32.46 ± 0.09 ^a	104.46 ± 0.61 ^a	21.01 ± 0.03 ^c	4.53 ± 0.00 ^a	0.11
Consortio algal	EE PTAR TM	Na	K	Ca	Mg	Fe	Cu
01	M	186.39 ± 0.42 ^f	26.56 ± 0.04 ^b	63.95 ± 0.46 ^d	1.76 ± 0.00 ^b	0.22 ± 0.00 ^e	DLD
	M+A	323.43 ± 2.04 ^b	24.47 ± 0.00 ^{bc}	44.50 ± 0.00 ^b	8.34 ± 0.02 ^f	0.33 ± 0.01 ^b	DLD
	M+ACO ₂	175.57 ± 1.12 ^g	22.54 ± 0.16 ^{cd}	54.34 ± 0.23 ^f	21.16 ± 0.03 ^b	0.27 ± 0.00 ^c	DLD
12	M	170.05 ± 0.64 ^h	18.92 ± 1.43 ^c	68.30 ± 0.23 ^c	10.70 ± 0.01 ^e	0.24 ± 0.00 ^d	DLD
	M+A	287.37 ± 0.92 ^e	25.99 ± 0.05 ^b	57.08 ± 0.23 ^e	2.05 ± 0.00 ^e	0.26 ± 0.01 ^{cd}	DLD
	M+ACO ₂	290.76 ± 0.21 ^{de}	29.91 ± 0.77 ^a	49.76 ± 0.23 ^g	1.56 ± 0.00 ⁱ	0.26 ± 0.01 ^{cd}	DLD
Control	1SEN	301.58 ± 0.21 ^c	21.67 ± 0.17 ^d	90.27 ± 0.23 ^b	21.36 ± 0.02 ^a	0.17 ± 0.00 ^e	DLD
	2CEN	294.58 ± 0.42 ^d	23.19 ± 0.09 ^{cd}	45.41 ± 0.23 ^h	20.67 ± 0.01 ^d	0.19 ± 0.00 ^f	DLD

DLD. debajo del límite de detección < 0.03 mg/L. Promedio (n= 3) ± EE. ANOVA 1 Vía. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey, α= 0.05)

En los controles 1SEN y 2CEN se presentaron ligeras reducciones en Na y Mg, sin embargo, en el caso del Fe, se presentaron remociones 96.25 y 95.81% (control 1SEN y 2CEN) similares a las obtenidas en el tratamiento con los consorcios. El K fue removido un 33.24 y 28.56% para el control 1SEN y 2CEN respectivamente. Asimismo se encontraron diferencias con la concentración de Ca removido, en la que el control 1SEN redujo solo 13.58% en comparación de 56.53% conseguida por el control 2CEN (Tabla 5.9 y 5.10).

Tabla 5.10.- Porcentajes de remoción de compuestos inorgánicos al final de 30 días de tratamiento en el sistema de fotobiorreactores utilizando microalgas

Iones metálicos	Remoción de metales (%)							
	Consorcio 01			Consorcio 12			Control	
	Tratamiento			Tratamiento				
	M	M+A	M+ACO ₂	M	M+A	M+ACO ₂	1SEN	2CEN
Na	43.59	2.12	46.87	48.54	13.03	12.01	8.73	10.85
K	18.18	24.61	30.56	41.71	19.93	7.86	33.24	28.56
Ca	38.78	57.40	47.98	34.62	45.36	52.36	13.58	56.53
Mg	91.62	60.30	NA	49.07	90.24	92.57	NA	1.62
Fe	95.14	92.72	94.04	94.70	94.26	94.26	96.25	95.81
Cu	debajo del límite de detección < 0.03 mg/L							

NA: no aparente

5.13.- Productividad (producción/biomasa) en consorcios microalgales 01 y 12 durante el tratamiento del EE PTAR

La concentración inicial de biomasa de microalga al momento del inóculo fue alrededor de 0.034 g (BS)/L (concentración total 0.607 g (BS)/18 L). Se observó una producción mayor de biomasa a 20 días de tratamiento por el consorcio 01, con densidades de 0.249, 0.241 y 0.255 g/L originadas en los tratamientos M, M+A y M+ACO₂, por otro lado, el consorcio 12 no presentó productividad significativa durante el mismo periodo; sin embargo, al término de los tratamientos (30 días) con los consorcios 01 y 12 alcanzaron producciones de biomasa en un intervalo de 0.315 a 0.880 g/L y distintos valores de sólidos sedimentables (biomasa sedimentada) en la que el tratamiento M+ACO₂ mostró mayor concentración de materia sedimentable concordando con la productividad obtenida en g/L (Tabla 5.11). De igual manera la cosecha total realizada al término de la evaluación (30 días) indicó recuperaciones de 6.037 a 12.341 g equivalentes a una producción de 0.398 a 807 g/L. Asimismo se obtuvieron porcentajes de generación de biomasa comprendidos entre 1181 y 2394% con respecto a la concentración inicial de inóculo (Tabla 5.12).

Tabla 5.11.- Productividad g (base seca)/L durante tratamiento. Sólidos sedimentables

Consortio microalgal	Tratamiento	Día 10 (g/L)*	Día 20 (g/L)*	Día 30 (g/L)**	SS (mL/L)
01	M	0.034	0.249	0.357 ± 0.002 ^c	5.82 ± 0.16 ^{de}
	M+A	0.036	0.251	0.523 ± 0.017 ^b	7.25 ± 0.25 ^c
	M+ACO ₂	0.057	0.255	0.848 ± 0.026 ^a	10.25 ± 0.25 ^b
12	M	0.054	0.046	0.334 ± 0.024 ^c	6.17 ± 0.29 ^{cd}
	M+A	0.038	0.032	0.315 ± 0.002 ^c	4.75 ± 0.25 ^e
	M+ACO ₂	0.081	0.061	0.880 ± 0.066 ^a	21.00 ± 1.00 ^a

* Valores puntuales, n= 1, **g/L de biomasa seca determinado a partir de muestreo aleatorio simple. Promedio (n= 2, 3) ± EE. ANOVA 1 Vía. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey, α= 0.05)

Tabla 5.12.- Cosecha total en gramos, productividad g/L, % de generación de biomasa y productividad expresados en BS

Consortio microalgal	Tratamiento	Cosecha (g)*	(g/L)**	% de generación de biomasa***	Productividad (g/L•d)**
01	M	6.627	0.425	1261	0.014
	M+A	7.689	0.504	1495	0.017
	M+ACO ₂	12.341	0.807	2394	0.027
12	M	6.037	0.398	1181	0.013
	M+A	6.103	0.404	1198	0.013
	M+ACO ₂	8.396	0.543	1611	0.018

* Valores puntuales, n= 1, ** determinado a partir de la cosecha total (g), *** % de generación de biomasa con respecto a la concentración inicial de inóculo

5.14.- Caracterización fisicoquímica de biomasa de microalgas

Al final del tratamiento, se encontró un porcentaje de NT entre 0.48 a 1.0% equivalentes a una concentración proteica de 3.00 a 6.25%. Estos valores fueron estadísticamente significativos en concentraciones crecientes de NT entre los tratamiento M+ACO₂, M+A y M, respectivamente (Tabla 5.13). La concentración de P en la biomasa al final del tratamiento fue de 0.34 a 0.65%, donde las concentraciones más altas de P total en los consorcios 01 y 12 fueron generadas por el tratamiento M, de igual manera se observaron concentraciones menores y similitudes en las concentraciones obtenidas entre los tratamientos M+A y M+ACO₂ (Tabla 5.13). Se alcanzaron diferencias significativas entre los valores obtenidos de ceniza con porcentajes ubicados entre 29.26 a 48.38%, en el cual los porcentajes más altos fueron cosechados por el consorcio 12 (Tabla 5.13). La producción de lípidos porcentual se ubicó en el rango de 0.45 a 4.33%, observándose

mayor incorporación de lípidos bajo el tratamiento M+ACO₂, siguiéndoles los tratamientos M y M+A con menor concentración respectivamente (Tabla 5.13).

Tabla 5.13.- Composición de Biomasa de consorcios microalgales generada en EE PTAR

Consortio microalgal	Tratamiento	Composición de biomasa expresada en Base Seca (%)				
		Nitrógeno Total Kjeldahl	Proteína*	Fósforo total**	Cenizas	Lípidos
01	M	1.00 ± 0.01 ^a	6.25 ± 0.08 ^a	0.57	44.13 ± 0.47 ^c	1.15 ± 0.42 ^b
	M+A	0.78 ± 0.00 ^c	4.88 ± 0.01 ^c	0.34	39.97 ± 0.21 ^d	0.78 ± 0.03 ^b
	M+ACO ₂	0.48 ± 0.01 ^e	3.00 ± 0.04 ^e	0.35	29.26 ± 0.30 ^e	3.40 ± 0.61 ^a
12	M	0.98 ± 0.00 ^a	6.14 ± 0.01 ^a	0.65	48.38 ± 0.01 ^b	0.93 ± 0.26 ^b
	M+A	0.83 ± 0.00 ^b	5.17 ± 0.02 ^b	0.51	53.04 ± 1.10 ^a	0.45 ± 0.19 ^b
	M+ACO ₂	0.58 ± 0.00 ^d	3.61 ± 0.02 ^d	0.54	42.97 ± 0.16 ^c	4.33 ± 0.26 ^a

*Proteína: NT x 6.25. Promedio (n= 2) ± EE. ANOVA 1 Vía. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey, α=0.05), ** Valores puntuales, n= 1

5.15.- Análisis del ciclo de vida del proceso (ACV) en el sistema de fotobiorreactores

Durante los 30 días de periodo experimental de evaluación del proceso de tratamiento del sistema de fotobiorreactores de bajo esfuerzo de corte, el consumo eléctrico requerido (Tabla 5.14), debido a la utilización del sistema de mezclado y aireación, aplicados en los tratamientos de M, M+A y M+ACO₂, fue suplementado con energía fotovoltaica generada a partir de la utilización de un panel solar Nature Power[®] modelo 40065. Este produjo un potencial de suplementación de 0.07 kW (durante las horas de luz solar diarias). Asimismo, este panel solar contó con una capacidad de almacenamiento (en acumulador) de hasta 12 kW. El EE PTAR bajo las condiciones de estudio no requirió de algún procesamiento previo, ni empleo de la adición de reactivos o catalizadores químicos, sin embargo en el tratamiento M+ACO₂ se evaluó el efecto de la aireación (1.8 vvm) enriquecida con CO₂ utilizando una mínima cantidad (5.55 x 10⁻⁴ vvm) ver Tabla 5.14.

La Figura 5.23 indica el esquema de evaluación del ACV, que contempla las características de entrada del EE PTAR (sin modificación alguna posterior a su descarga por la PTAR), el procesamiento a través del tratamiento a base en el sistema de fotobiorreactores y las salidas donde dada la naturaleza del tratamiento terciario, se alcanza un EE PTAR TM con alta calidad de descarga, sin generar ningún tipo de residuo o contaminación secundaria, donde además se produce un subproducto con un potencial valor económico (Figura 5.23).

Tabla 5.14.- Consumo y suplementación de energía eléctrica. Enriquecimiento de CO₂ en tratamiento M+ACO₂

Consumo eléctrico			
Tratamiento*	Tiempo de uso diario (h)	Consumo en kilowatts por hora (kWh)**	
		kW/h día	kW/h mes (30 días)
M	24	0.02	0.69
M+A	24	0.02	0.69
	12	0.06	1.80
M+ACO ₂	24	0.02	0.69
	12	0.06	1.80
Suplementación eléctrica por panel solar***			
Potencia de suplementación (kW)		Potencia de almacenaje en batería (kW)	
0.07		12	
Consumo de CO ₂ grado 2.9 (99.99% de pureza)			
Tratamiento	Flujo de enriquecimiento	Tiempo de uso diario (h)	Kg de CO ₂ (30 días de uso)**
M+ACO ₂	5.55 x 10 ⁻⁴ vvm	12	0.42

* Características de equipos con consumo eléctrico utilizados se describen en sección 4.9, ** Consumo aproximado según especificaciones técnicas, *** Características de suplementación de energía por panel solar se describen en sección 4.10

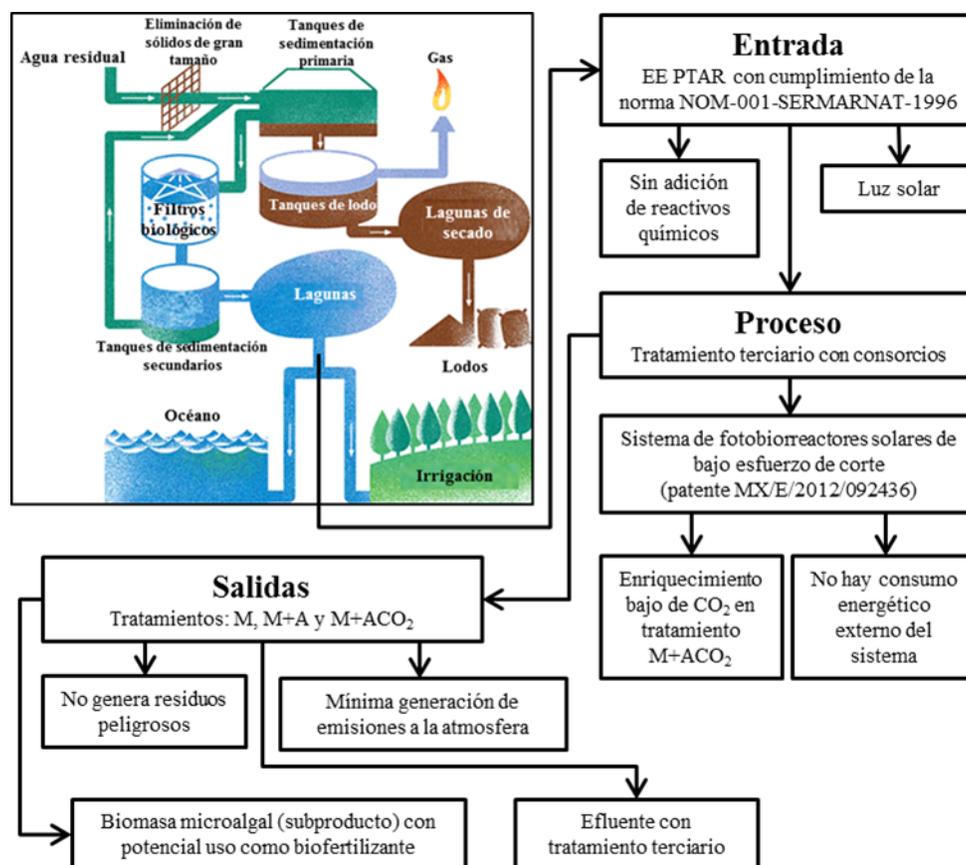


Figura 5.23.- Esquema de evaluación del ACV en el sistema de fotobiorreactores para el tratamiento de EE PTAR

Capítulo 6 DISCUSIÓN

6.1.- Prueba preliminar del efecto de filtración del EE PTAR en la productividad y remoción de nutrientes por un consorcio de microalgas

Al utilizar el consorcio de microalgas I10 y evaluar el tratamiento del EE PTAR bajo 2 condiciones distintas: EE PTAR (sin modificación) y EE PTAR filtrado a 1.5 μm (para disminuir partículas y carga bacteriana), no se observaron diferencias en la determinación de pH, nutrientes y productividad (Tabla 5.2). Además no se observó crecimiento de microorganismos no autótrofos (*i.e.* hongos, bacterias), lo que pudo demostrar que no es necesario un tratamiento previo al proceso de remoción de nutrientes por microalgas. Esto representa un ahorro en el costo general del proceso de remoción de nutrientes (De la Noüe *et al.*, 1992). En cuanto a los valores de pH estos presentaron un aumento de ≈ 1.3 unidades con respecto al valor inicial (7.1), lo cual se puede explicar debido al HCO_3^- producido por las microalgas durante la fotosíntesis (Falkowski y Raven, 2007).

Igualmente, los nutrientes (N y P) en sus principales formas NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- y PO_4^{3-} presentes en los efluentes de PTAR al final de los 14 días de duración de la prueba, resultaron tener concentraciones por debajo del límite de detección (DLD) para NO_2^- y NH_4^+ , (< 0.001 mg/L) probablemente debido a que estos materiales nitrogenados presentaron tendencias a ser convertidos a NO_3^- que es la forma termodinámica estable de nitrógeno en sistemas acuosos oxigenados (NRC, 1977).

Por otro lado, la carga de nutrientes (N y P), a pesar de cumplir con la norma NOM-001-SEMARNAT-1996 (< 100 mg/L de NO_3^- y < 2 mg/L PO_4^{3-}), corresponden a valores de 22.57 mg/L de NO_3^- -N y 0.65 mg/L de PO_4^{3-} -P, estos son capaces de afectar por eutrofización a sistemas receptores de aguas superficiales sensibles debido a que presentan valores > 10 mg/L de NT y > 0.1 mg/L de PT (Ayers y Westcot, 1985; WHO, 1989).

Debido a ello se considera como regla general que a mayor sensibilidad del medio receptor a presentar eutrofización, mejor deberá ser la concentración de descarga de N y P. Por lo que se han fijado normativas estrictas de descargas que contemplan la capacidad del sistema receptor, como la directiva 91/271/CEE aplicada en la Unión Europea que establece contempla categorías de LMP dependiendo de la población en habitante equivalente (h-e) (baja de 10,000 a 100,000 y alta > 100,000) con concentraciones de 2 y 1 mg/L de PT y de 15 y 10 mg/L de NT, respectivamente. En esta prueba preliminar, las concentraciones finales de fósforo tras el tratamiento con microalgas se encontraron por DLD (< 0.001 mg/L), asimismo el N presentó valores de 10 mg/L de N ubicándose dentro los LMP que indica la directiva 91/271/CEE, lo cual equivale a una remoción de ≈ 90 y $\approx 100\%$, respectivamente. Todo esto tras mantenerse en cultivo con microalgas (consorcio I10) en un periodo de 14 días bajo condiciones naturales estáticas.

En cuanto a la productividad, se generó mayor biomasa para los tratamientos en los EE PTAR, en comparación de un control de cultivo realizado en un medio enriquecido especializado (medio L-C), cosechando concentraciones de 0.40 y 0.24 g/L, respectivamente. Esto puede significar una ventaja para llevar a cabo tratamientos basados en microalgas, ya que el EE PTAR puede representar un medio de cultivo con nutrientes esenciales (N y P) y además servir para la generación de biomasa a bajo costo (Cai, Park y Li, 2013).

6.2.- Selección de consorcios de microalgas para pruebas de recuperación de nutrientes (N y P) de EE PTAR

Los 12 consorcios microalgales seleccionados fueron acondicionados bajo condiciones de intemperie para asegurar su actividad biológica apropiada. La preparación de inóculo consistió en ajustar la concentración inicial en 1.06×10^3 células/mL, este número de células aunque resultó bajo con respecto a 1.0×10^4 células/mL que es la cantidad recomendada en evaluaciones biológicas según la US EPA (2002), no presentó contaminación aparente por hongos o bacterias, encontrando cambios significativos en relación a la concentración

inicial del EE PTAR (sin filtración previa) en el: pH, CE, nutrientes (NO_3^- -N, PO_4^{3-} -P) y productividad.

El EE PTAR con concentración inicial de pH: 7.42 presentó variaciones entre 7.06 a 8.12 (Figura 5.2), rango de pH óptimo (> 7) para asimilar N y P (Giorgios y Georgakakis, 2011). Once de los cultivos incrementaron el pH en el EE PTAR TM, probablemente por efecto de la formación de HCO_3^- durante la fotosíntesis (Falkowski y Raven, 2007). Sin embargo, el tratamiento con el consorcio 1312 presentó un decremento de 0.36 unidades pH con respecto al valor inicial de 7.42, posiblemente por utilizar compuestos alcalinos (*e.g.* ión bicarbonato (HCO_3^-) asociado con cationes de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+}) o formar compuestos ácidos (*e.g.* H_2CO_3 ; Richmond, 1986).

Además de nutrientes esenciales (C, N y P), las microalgas requieren para su crecimiento otros macronutrientes (S, Ca, Mg y K) y micronutrientes (Mo, Fe, Ni, Cu, Zn, Co, B, Mn y Cl) (Giorgios y Georgakakis, 2011), asimismo se conoce que la suma de dichos elementos en sus diferentes especies químicas contribuyen a la conductividad eléctrica de una solución (*e.g.* aniones de cloruro, nitrato, sulfato y fosfato) (Yu *et al.*, 2005). En la presente prueba, se obtuvo un valor de CE inicial de 159.31 mS/m, valor que disminuyó significativamente ($P < 0.05$) al término de la evaluación (12 días), donde los consorcios 1301 y 1312 sobresalieron por su capacidad de consumo de solubles inorgánicos durante el crecimiento, logrando decrementos de 7.28 y 14.09%, respectivamente (Figura 5.3).

La biomasa generada a partir del tratamiento de EE PTAR en condiciones naturales (temperatura, luz, fotoperiodo) durante 12 días, puede observarse en la Figura 5.4, dando valores de 9.89 a 165.61 mg/L, aunque se percibe un contraste a valores de cosecha reportados entre 410 a 670 mg/L en un periodo de 9 días de cultivo en EE PTAR bajo condiciones controladas (Cho *et al.*, 2011), se indica que el EE PTAR es un medio idóneo para la producción de biomasa pese a no tener condiciones enfocadas (temperatura, luz y fotoperiodo óptimo) a la producción de biomasa en el tratamiento de mejora de calidad de descarga. Al final de la presente prueba destacaron los consorcios microalgales 1301 y 1312 con cosechas de 74.22 y 165.61mg/L respectivamente; sin embargo, el uso de factores

operacionales escalables de bajo costo (*e.g.* aireación y agitación) pueden influir altamente la tasa de conversión de contaminantes (nutrientes eutróficos) en biomasa (Eriksen, 2008). Igualmente se derivó una alta correlación lineal de Pearson de $r = -0.91$ ($P < 0.05$) (Figura 5.5) donde a mayor productividad, menor conductividad, concordando con Oswald (1988a), quien indicaba esta relación como parámetro de control del crecimiento del cultivo.

Se debe recordar que el efluente real evaluado proviene de una planta tratadora de agua residual y es permanentemente descargado a agua superficial posterior al cumplimiento de la norma NOM-001-SEMARNAT-1996, que incluye N y P total con un LMP en descarga de: 15 – 60 y 5 – 30 mg/L, respectivamente. Asimismo la directiva 91/271/CEE establece categorías de LMP con concentraciones de 2 y 1 mg/L de PT y de 15 y 10 mg/L de NT dependiendo de la población en habitante equivalente h-e y el cuerpo receptor. Sin embargo, es muy importante aclarar que aunque en México la norma NOM-001-SEMARNAT-1996 regula la concentración de N y P en descargas a aguas superficiales, no cuenta con regulaciones en cuanto al volumen total de efluentes descargados; esto resulta paradójico, ya que es posible cumplir con los niveles de N y P en las descargas, pero este exceso de N y P puede concentrarse en los cuerpos de agua receptores y rápidamente alcanzar concentraciones eutróficas, destacando que el criterio ambiental relevante es la concentración final en el cuerpo receptor (Veenstra *et al.*, 1997).

Las concentraciones de nutrientes (N y P) iniciales provenientes de las especies de NO_3^- y PO_4^{3-} en el efluente a tratar fueron de 1.64 mg/L de P y 55.38 mg/L de N, las cuales representan capacidad de eutrofización a sistemas receptores de alta calidad (Ayers y Westcot, 1985; WHO, 1989). Mediante el tratamiento con consorcios de microalgas nativos, en el presente estudio se encontraron tasas de asimilación de 60.37 a 79.27% para P y de 74.34 a 91.08% para N, mejorando notablemente la calidad del agua tratada (Figura 5.6 y 5.7). Las concentraciones finales de P tras el término del tratamiento terciario se encontraron en 0.34 a 0.65 mg/L de P, asimismo el N resultó en un rango de 4.94 a 14.21 mg/L, ubicándose dentro los LMP que indica la directiva 91/271/CEE.

6.3.- Propagación de consorcios seleccionados e inducción de formación de aglomerados esféricos

Además del producto final del proceso propuesto (agua con calidad mejorada), existe un importante subproducto (la biomasa de las microalgas). Es por esto que los parámetros a considerar para una mejor eficiencia del presente proceso a escala real consisten en una serie de necesidades que se deben cumplir: 1) medio de cultivo de bajo costo (en este caso el agua tratada, la cual no tiene costo), 2) sistemas de producción económicos y de fácil mantenimiento, y sobre todo 3) métodos de cosecha eficientes (Cai, Park y Li, 2013). Para este último, los métodos convencionales de recuperación de biomasa (*e.g.* centrifugación, adición de floculantes, filtración) contribuyen del 20 al 30% del costo total de la producción (Grima *et al.*, 2003), volviéndose crucial la selección de una técnica de cosecha para que el presente tratamiento y/o la producción de biomasa de microalgas sea económicamente viable (Schenk *et al.*, 2008). Para el presente proyecto se construyó un sistema de tratamiento, basado en fotobiorreactores (Patente: *MX/a/2012/014898*), cuya principal característica es el crear condiciones especiales para que las microalgas cultivadas logren autoinducirse *in vivo* un crecimiento en forma de microesferas ($\approx 3 - 5$ mm). Evaluando el método de recuperación basado en la inducción y posterior formación de microesferas en los consorcios 01 y 12, se logró una cosecha de 100% y casi inmediata clarificación en comparación con un cultivo control bajo condiciones similares (Tabla 5.3), lo que potencialmente podría representar un método factible de cosecha, siempre y cuando cumpla los requisitos de un sistema a escala real anteriormente mencionado.

6.4.- Efecto de la temperatura ambiental y horas de luz durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

Es bien sabido que un número de factores ambientales afecta la tasa de absorción de nutrientes por microalgas, estos incluyen: la concentración inicial de nutrientes, intensidad de la luz, pH extracelular, temperatura, y densidad de inoculación (Cai, Park y Li, 2013). En términos ambientales los factores limitantes más importantes en sistemas cerrados o

abiertos al aire libre son: la intensidad de la luz y la temperatura, siendo esta última la de más importancia durante la temporada invernal (Vonshak, 2003), periodo en el cual se realizó el experimento final al aire libre. Durante dicho tratamiento, se presentó una temperatura ambiental promedio de $13.13 \pm 4.97^{\circ}\text{C}$ (Figura 4.5) y un promedio aproximado de 10 h y 30 min de horas luz (fotoperiodo 10:30:13:30 h Luz/Oscuridad), condiciones que normalmente reducen la eficiencia fotosintética y generando estrés no deseado debido a una desincronización de temperatura con las horas de luz (irradiación), tal como lo demuestra un estudio realizado a intemperie en un sistema abierto utilizando *Spirulina* sp., donde las temperaturas más bajas surgían en la madrugada e inducían foto inhibición y aletargamiento en las funciones metabólicas (Vonshak *et al.*, 1982). Aunque los efectos de la temperatura e irradiación de una gran cantidad de especies de microalgas a nivel de laboratorio están bien documentados, la magnitud de los efectos por cambios de temperatura, cantidad y calidad de luz solar en la producción de biomasa o tratamientos a intemperie han sido muy poco reportados. No obstante existen algunos estudios que indican que una gran cantidad de especies de microalgas pueden tolerar con facilidad temperaturas de hasta 15°C menores a la óptima con consecuente retraso en su crecimiento y que a temperaturas superiores a 35°C pueden resultar en mortandad celular (FAO,1996; Mata *et al.*, 2010); sin embargo, esto último no se puede generalizar debido a que el efecto de la temperatura dependerá al tiempo de exposición, además de las distintas capacidades de adaptación entre especies, en ejemplos se han reportado que cepas de *Chlorella* sp. han indicado tolerancia y crecimiento a temperaturas superiores a 42°C (Sakai *et al.*, 1995).

6.5.- Efecto de la concentración del inóculo durante evaluación del tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

El primer factor biótico en influir significativamente el crecimiento de algas es la densidad celular inicial, donde a mayor densidad de microalgas se espera mejor crecimiento y consecuentemente mayor eficiencia en la eliminación de nutrientes (Lau *et al.*, 1995). Sin embargo, se debe considerar que una alta densidad de algas daría lugar a un auto-sombreado, acumulación de auto-inhibidores e igualmente una reducción en la eficiencia

fotosintética (Fogg, 1975; Darley, 1982). En el presente experimento, estas desventajas pudieron ser minimizadas en comparación a cultivos homogéneos dispersos dado el alto volumen de solución en comparación con el inóculo y sobre todo características de crecimiento celular aglomerado esférico del inóculo que reduce notablemente el autosombreado. La densidad inicial fue equivalente a 0.034 g/L (base seca) la cual puede considerarse una densidad inicial baja en comparación a otros estudios con microalgas que han utilizado 0.150 g/L en base seca (Costa *et al.*, 2002; de Morais *et al.*, 2007). Esto se debió a limitaciones en la cantidad de biomasa para realizar el inóculo, lo cual pudo a su vez convertirse en un factor de prolongación de la fase de latencia (Lau *et al.*, 1995).

6.6.- pH en el efluente durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores y características de descarga

El pH inicial del EE PTAR, fue de 7.23, (tal como es descargado), concentración que se encuentra dentro del rango óptimo (> 7) para asimilar N y P (Giorgios y Georgakakis, 2011). En la evaluación experimental se observó una tendencia de incremento de pH debido a la acumulación de OH^- que se relaciona de manera directa con la fotosíntesis, donde a valores más altos de pH indican la mayor actividad fotosintética (Andrade y Costa, 2007, de Morais *et al.*, 2007), asimismo se ha observado que el crecimiento de microalgas en sistemas de lagunaje de alta carga (LAC) favorece el incremento de pH en el agua debido al consumo de CO_2 y HCO_3^- , con lo que con frecuencia se han reportado valores que exceden de pH 11 (Craggs, 2005; Heubeck *et al.*, 2007; Park y Craggs, 2010). La Figura 5.8 indica la cinética de los valores de pH obtenidos durante la evaluación de nutrientes, donde a 30 días de tratamiento se obtuvo un intervalo de 10.85 a 11.29 de pH para los tratamientos M y M+A, y un valor de $\text{pH} \approx 8$ para el tratamiento M+ ACO_2 , debido posiblemente al efecto de enriquecer el aire con CO_2 generando un efecto de amortiguación como resultado del balance de $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ (FAO, 1996). De igual manera durante el periodo de tratamiento se observaron concentraciones de pH mayores a 9.2 (Figura 5.8), valor sobre el cual de acuerdo con Rose *et al.*, (2002) suprimen el crecimiento del 100% de *E. coli*, bacterias patógenas y virus en 24 horas. De igual manera, Parhad y Rao (1962) encontraron que *E.*

coli no crece en las aguas residuales con un pH superior a 9.2. En el presente estudio, los controles 1SEN y 2CEN presentaron aumentos de pH con respecto al valor inicial (Tabla 5.4), dando valores de alrededor de 8.4 de pH para el control 1SEN durante el periodo experimental (30 días) posiblemente por la presencia de alcalinidad (sustancias hidrolizables en agua que generan OH^- como producto de su hidrólisis) (NMX-AA-036-SCFI-2001). El control 2CEN presentó el mismo comportamiento, con excepción del pH obtenido (10.82) a 30 días de exposición a la luz solar, este incremento posiblemente se generó por el efecto de crecimiento de microalgas endógenas del EE PTAR y la consecuente actividad fotosintética.

Es de importancia señalar que en los tratamientos M y M+A, a 30 días de evaluación se encontraron valores mayores a pH 10, lo cual rebasa lo establecido por la norma NOM-001-SEMARNAT-1996, que estipula un intervalo de pH de descarga en cuerpos receptores situado con concentraciones de 5 a 10 unidades de pH. Sin embargo una de las acciones a realizar previo a descargar un EE PTAR TM, en caso de rebasar este LMP debido al efecto fotosintético sumado a las sustancias hidrolizables (alcalinidad) presentes en el EE PTAR, es la de realizar un enriquecimiento con efluentes tratados para homogeneizar los valores de pH previos a su descarga definitiva (Cortes *et al.*, 2013).

No obstante la concentración final obtenida de pH del EE PTAR TM (intervalo de 10.8 a 11.3 de pH) para los tratamientos M y M+A, resulta interesante dado que se encuentran reportes que señalan que a pH altos en el agua es posible inducir la autofloculación de las microalgas, proceso que es considerado potencial y de bajo costo en la cosecha de biomasa microalgal (García *et al.*, 2014), en donde la biomasa es recuperada a través de la precipitación de sales de magnesio (≈ 0.75 mM de Mg) ya existentes en el medio (Schlesinger *et al.*, 2012), a razón de que el hidróxido de magnesio precipita a un pH por encima de 10.5 con la propiedad de conservar carga positiva a concentraciones superiores de 11.5 de pH. Esto se lleva a cabo por medio de una interacción entre la carga positiva del precipitado de hidróxido de magnesio y la superficie con carga negativa de las células de microalgas que resulta en la inducción de la floculación (Smith y Davis, 2012; Wu *et al.*, 2012). Dado que el EE PTAR TM en dos de los tratamientos (M, M+A) presentó valores

adecuados (> 10.5) para la autofloculación de las microalgas en el medio acuoso a través del efecto del crecimiento fotosintético sin necesidad de un ajuste de pH por la adición de una base (*e.g.* NaOH), es posible suponer grandes ahorros económicos en un sistema de tratamiento a gran escala debido a ahorros en la adición de floculantes (Lee *et al.*, 1998). El tratamiento M y M+A a base de los consorcios de microalgas 01 y 12 en el sistema de fotobiorreactores, se plantea como un método de tratamiento a evaluar en agua con concentraciones suficientes de magnesio pertenecientes de manera natural con la posibilidad potencial de generar la autofloculación o con la adición de sales de magnesio como único coste de cosecha en la floculación, facilitándose así la cosecha de biomasa durante el tratamiento y generación de biomasa.

6.7.- Comportamiento de CE y OD durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

La CE, mostró 12 días de estabilidad con valores de concentración cercanos al inicial (133.30 mS/m) (Figura 5.9), lo cual concuerda con la duración de la fase de latencia *lag* (periodo de adaptación celular al crecimiento) de los consorcios microalgales evaluados. La longitud de dicha fase es variable y en general es mayor cuanto más grande sea el cambio en la adaptación fisiológica del metabolismo celular para el crecimiento (FAO, 1996; Monod, 1949). De igual manera, ese mismo periodo de estabilidad se aprecia en los primeros 11 días de la cinética de comportamiento de pH (Figura 5.8). Posteriormente a la etapa de estabilidad se presentaron tendencias de decrementos en la CE, la cual concuerda con el inicio del crecimiento y generación de biomasa como lo indicó Oswald (1988a), causado por el consumo de nutrientes inorgánicos que en solución son relativamente buenos conductores eléctricos (Giorgios y Georgakakis, 2011 y Yu *et al.*, 2005). Sin embargo, el tratamiento M+ACO₂ con los consorcios microalgales, se presentó un aumento de la CE durante los días 28 - 30 de la evaluación (Figura 5.9), lo cual podría explicarse debido al inicio de la fase de declinación en dicho tratamiento (tasa de crecimiento negativo) caracterizada por la disminución de células vivas de forma exponencial con una constante k que depende de diferentes circunstancias (Monod, 1949) y por consiguiente la

liberación de componentes celulares al medio. En referencia al control 1SEN no se observaron cambios significativos ($P > 0.05$) en la CE durante el periodo de evaluación, sin embargo el control 2CEN una vez finalizado el periodo experimental (día 30) presentó un decremento de CE (108.80 mS/m), aparentemente por el crecimiento de microalgas silvestres no inoculadas, las cuales de igual manera exhibieron una relación donde la generación de biomasa algal consecuentemente disminuye la CE (Oswald, 1988a).

El oxígeno (O_2) es un producto de la fotosíntesis y su liberación en el agua contribuye a un mayor nivel de oxígeno disuelto (OD), por lo tanto, un aumento neto en el pH y los niveles de OD indica el crecimiento de algas (Giorgios y Georgakakis, 2011). El OD, indicó un incremento considerable durante los primeros 8 días de evaluación con los consorcios microalgales, no observándose efecto de la fase de latencia o diferencias considerables entre los 3 distintos tratamientos, representando una tasa de crecimiento de OD constante (Monod, 1949). Esto puede explicarse debido a que los 3 tratamientos tuvieron, aunque por diferentes mecanismos, cierto grado de aireación lo cual logró un enriquecimiento similar de oxígeno en el EE PTAR. Asimismo y posterior a los 8 días los niveles de concentración de OD se encontraron entre 7 y 11 mg/L (Figura 5.10), el cual es un intervalo óptimo para soportar la vida acuática, considerado por la CNEPA (2002) en el rango de muy buena calidad en aguas superficiales. Sin embargo se debe considerar que existe una relación inversa entre la temperatura y la concentración de OD (*i.e.* menor temperatura, mayor oxígeno disuelto) (Horne y Goldman, 1994), por lo que hay que recordar que el periodo experimental fue en temporada invernal y que la toma de muestra fue durante el día con presencia de luz, condición donde las algas producen oxígeno a través de la fotosíntesis elevando la liberación de oxígeno en el agua y aumentando el OD (Masojidek *et al.*, 2004). Independientemente de la actividad fotosintética el control 1SEN exhibió buena calidad de OD (≈ 10 mg/L), posiblemente debido a las condiciones de temperatura y a la no hermeticidad del recipiente, obteniendo un resultado similar con respecto al control 2CEN que presentó un ligero aumento de OD con respecto al control 1SEN (Tabla 5.4).

6.8.- Cinética de remoción de solubles inorgánicos N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺ durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

Abdel-Raouf (2012) señala que de forma general los tratamientos primarios y secundarios aplicados habitualmente en aguas residuales municipales resultan en efluentes clarificados aparentemente limpios que se descargan en cuerpos de aguas naturales; sin embargo, comúnmente se encuentran con concentraciones de N y P que causan eutrofización. Exactamente estas mismas características las presenta el EE PTAR utilizado en el presente proyecto, ya que tras recibir tratamiento secundario es descargado previo al cumplimiento de la norma NOM-001-SEMARNAT-1996 sin estar regulada la acumulación de N y P en los cuerpos de agua receptores. Durante el tratamiento realizado en el experimento final del presente proyecto, se observan concentraciones de especies de nitrógeno de NO₂⁻-N, NO₃⁻-N, NH₄⁺-N, que exhibieron distintas tendencias y decrementos en las concentraciones durante el periodo experimental de 30 días (Figura 5.11-5.13). Esto fue causado por los consorcios microalgales 01 y 12, quienes desarrollaron conversiones de nitrógeno inorgánico (NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺, NH₃, N₂) a su forma orgánica a través del proceso de asimilación, tal como se ha reportado para todas las algas eucarióticas (Cai, Park y Li, 2013).

La concentración de NO₂⁻ mostró tendencias de incremento durante el periodo experimental con un posterior descenso de concentración para los 3 tratamientos aplicados en los consorcios microalgales (01 y 12) (Figura 5.11), asimismo los controles 1SEN y 2CEN presentaron incrementos en la concentración de NO₂⁻, debido quizás a 2 distintas actividades por microorganismos, en la cual el control 1SEN aumentó la concentración de nitritos debido a la actividad de oxidación bacteriana que se caracteriza por una interconversión de NH₄⁺ a NO₂⁻ (Krekeler, 2008) y el control 2CEN posiblemente al desarrollo de microalgas (Figura 5.14). El aumento de NO₂⁻ fue acompañado por una disminución en la concentración de NO₃⁻ durante la evaluación del tratamiento, este fenómeno de comportamiento anteriormente se observó previamente en un estudio realizado con *Chlorella* sp. en un efluente PTAR (Wang *et al.*, 2010). Esto puede ser explicado debido a que la asimilación en organismos fotosintéticos implica dos transportes

y dos etapas de reducción para producir amonio en el cloroplasto (Fischer y Klein, 1988; Crawford, 1995). Por lo tanto, se genera NO_2^- en el proceso en que el NO_3^- es reducido a NH_4^+ y posiblemente parte del NO_2^- producido es excretado dentro del medio (Burhenne y Tischner 2000).

Aunque el NH_4^+ es la especie de N preferentemente asimilada por las microalgas debido a no requerir una reacción redox, el NO_3^- es la forma más oxidada y la forma termodinámica con mayor estabilidad en ambientes acuáticos oxidados, siendo por lo tanto la de mayor predominancia (Barsanti y Gualtieri, 2006). Sin embargo, el NO_3^- puede ser también una fuente de nitrógeno esencial para las microalgas, debido a que en presencia de NO_3^- se induce la actividad de la enzima nitrato reductasa, mostrando ventaja al amonio debido a que esta especie en exceso ($> 20 \text{ mg/L}$) puede tener un efecto represivo en el desarrollo de las algas (Morris y Syrett, 1963). En la presente experimentación, el NO_3^- fue la especie de nitrógeno inorgánico disuelto predominante en el agua PTAR con un valor inicial de 13.40 mg/L de NO_3^- -N, manteniendo relativa estabilidad en su concentración a 16 y 22 días de tratamiento por los consorcios microalgales 01 y 12 (Figura 5.12), igualmente el control 2CEN mantuvo estabilidad durante al menos 20 días, con una posterior reducción considerable al término de la evaluación a razón del crecimiento de algas y con diferencia del control 1SEN que obtuvo poca disminución de NO_3^- debido a la ausencia de luz solar y no presentar crecimiento aparente de organismos fotosintéticos. Esta estabilidad previa al decremento quizás fue debida a que la absorción de NO_3^- por las microalgas depende de la cantidad y calidad de luz solar irradiada (Converti, 2006), además de la adaptación celular por parte de los consorcios en la fase de latencia (Monod, 1949). Durante el tratamiento se observaron reducciones de NO_3^- (Figura 5.12) y aumentos de pH (Figura 5.8), esta relación anteriormente se ha reportado en estudios donde se ha asimilado NO_3^- como fuente de N, a diferencia del NH_4^+ como fuente principal de N, el cual es capaz de disminuir el pH hasta valores de 3.0, condición demasiado ácida para apoyar el crecimiento microalgal (Becker, 1994; Benemann, 1989).

El NH_4^+ durante el tratamiento presentó tres tendencias subsecuentes de comportamiento: aumento, estabilización y disminución de su concentración (Figura 5.13). Este tipo de

comportamiento posiblemente es explicado por la interconversión metabólica en la cual el NO_3^- es reducido a NH_4^+ por el efecto de la actividad fotosintética de las microalgas (Fischer y Klein, 1988; Crawford, 1995). Sin embargo, las formas de N: $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ son altamente dependientes de la temperatura y del pH, siendo este último posiblemente el factor más importante ocasionado en el agua durante el tratamiento por la actividad fotosintética desarrollada por los consorcios microalgales. Esto se debió a la formación de especies de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ en función del pH, tal como se explica en el diagrama de predominancia, donde concentraciones inferiores de 9.25 de pH favorecen la formación de NH_4^+ y valores superiores a 9.25 de pH, ocasiona que el NH_3 (gas) predomine sobre el NH_4^+ (Abeliovich y Azov, 1976, Giorgios y Georgakakis, 2011); esto fue una condición favorable presente bajo las condiciones del tratamiento, lo cual facilitó la remoción de nitrógeno en forma de NH_3 en relación al pH (Figura 5.8), mismo efecto que también exhibieron los controles 1SEN y 2CEN (Figura 5.14).

6.9.- Cinética de remoción de NT, NID y N Org durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

El N se puede encontrar en diversas formas (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , NH_3 , N_2) y para el caso de efluentes PTAR municipales e industriales este es reportado como nitrógeno total, nitrógeno orgánico o nitrógeno Kjeldahl (nitrógeno orgánico más amonio) (Smith *et al.*, 1999). El nitrógeno total (NT) comprende la suma de nitrógeno de nitratos (NO_3^- -N), nitrógeno de nitritos (NO_2^- -N), nitrógeno amoniacal (NH_3 -N) y nitrógeno orgánico unido orgánicamente (N Org) (Stenholm *et al.*, 2009). El efluente presentó una concentración inicial de 17.3 mg/L de NT en las cuales las tasa de eliminación de NT por parte de los 3 tratamientos a 30 días de evaluación para el consorcio 12 mantuvieron tendencias al decremento obteniendo reducciones en un intervalo de 64.40 a 75.53% (Figura 5.15 y Tabla 5.5). De forma similar, el consorcio 01 provocó reducciones importantes de NT en el agua previo al término de la evaluación (día 26) con porcentajes de asimilación ubicados entre 67.46 a 82.80%, sin embargo, una vez concluido el periodo experimental (día 30) los porcentajes de remoción disminuyeron con tasas porcentuales comprendidas entre 52.57 y

64.22% probablemente por el efecto de lisis celular (muerte celular) originada por la disminución de sustratos necesarios (C, N y P) o acumulación de productos inhibidores tóxicos para las células, condiciones definidas de la tasa de crecimiento nulo (Monod, 1949) (Figura 5.15 y Tabla 5.5), además del control 2CEN que obtuvo una disminución de 37.76% debido a que exhibió crecimiento de microalgas a diferencia del control 1SEN que solamente obtuvo una reducción de 2.60% (Figura 5.16 y Tabla 5.5). El alto consumo de N es debido a que es el segundo nutriente de mayor importancia a seguir después del carbono para el desarrollo de las microalgas (Becker, 1994). Sin embargo, se debe de considerar que las principales formas de nitrógeno inorgánico presentes en EE PTAR son NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- y que su suma conforman el Nitrógeno Inorgánico Disuelto (NID) (Horan, 1990) son las formas de N ambientalmente más relevantes y las que realmente causantes de la eutrofización de cuerpos acuáticos, ya que su presencia, en primera estancia, incrementa la productividad primaria (crecimiento de organismos fotosintéticos) ya que las especies que conforman el NID son altamente asimiladas por las microalgas (Chen, *et al.*, 2011 Evonne y Tang, 1997).

Una vez aclarado esto, se observa durante el desarrollo del presente proyecto una concentración inicial en el agua de 13.66 mg/L de NID previo a los tratamientos con los consorcios 01 y 12. Se pudo observar una tendencia similar de comportamiento con respecto a la cinética del NT, pero con tasas de remoción a 30 días de tratamiento notablemente superiores a las alcanzadas con el NT; con valores de 75.95, 82.49 y 97.66% correspondientes a los tratamientos: M, M+A y M+ACO₂ usando el consorcio 12, mientras que el consorcio 01 resultó con tasas de asimilación de 92.19, 97.68 y 98.13% para los tratamientos M, M+A y M+ACO₂, respectivamente (Figura 5.17 y Tabla 5.6).

Es importante destacar, que en los tratamientos utilizando el consorcio 01 no se observó una disminución del porcentaje de asimilación de NID al término de la evaluación, tal como sucedió con los porcentajes de reducción del NT (Tabla 5.5). Posiblemente la disminución del porcentaje de asimilación del NT se debió a un consumo significativo de nutrientes con el consecuente agotamiento de un sustrato necesario para el crecimiento de las microalgas, exceso de sustrato orgánico o debido a la acumulación de metabolitos

autoinhibidores para las células en el EE PTAR TM, lo cual es característico de la fase estacionaria (tasa de crecimiento nulo), en donde aunque no hay aumento neto de microorganismos, hay reproducción y la aparición de nuevas células que se compensan por la muerte celular de otras (Monod, 1949). Esto se hace factible dado que se observa un aumento considerable de N Org con el consorcio 01 en los tratamientos: M, M+A y M+ACO₂ al día 30 de experimentación (Tabla 5.6), el cual posiblemente se halla originado por lisis celular, además de tener concentraciones de pH muy superiores a las óptimas para cultivos de producción de microalgas (8.2-8.7) (FAO, 1996), alcanzando valores de alrededor de 11 unidades de pH para los tratamientos M y M+A durante los últimos días de evaluación y con valores que van de 7.61 a 10.61 de pH para las últimas 4 mediciones del tratamiento M+ACO₂. Esto no ocurrió en el caso de la remoción de NID en los tratamientos usando al consorcio 01, que como se muestra en la Tabla 5.6, tuvo una mayor eficiencia comparado con el NT.

Las concentraciones de NID durante y tras el periodo de evaluación indicaron distintas eficiencias en la capacidad de remoción de acuerdo a los tratamientos, obteniéndose de manera general el orden de M+ACO₂ > M+A=M. Los controles 1SEN y 2CEN mostraron las mismas tendencias presentadas en la reducción del NT con 2.60 y 37.76% para el control 1SEN y 2CEN respectivamente; sin embargo, se exhibieron mayores porcentajes de asimilación de NID obteniendo para el control 1SEN 18.77%, y el control 2CEN (con crecimiento microalgal) 40.69% pese a mostrar estabilidad a los primeros 20 días del desarrollo experimental (Figura 5.18 y Tabla 5.6).

6.10.- Cinética de remoción de PO₄³⁻-P durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

El consumo metabólico del N y P por las microalgas está estrechamente relacionado, por ejemplo, la abundancia del fósforo es de poca utilidad para el crecimiento de las microalgas si no hay nitrógeno y viceversa (Garbisu *et al.*, 1993). Ambos nutrientes están presentes en el EE PTAR de estudio que contiene compuestos inorgánicos tales como los iones NO₂⁻,

NO_3^- , NH_4^+ y PO_4^{3-} , cuya relevancia principal, como se ha mencionado antes, estriba en que una vez presentes en cuerpos de agua receptores tiene la capacidad de provocar floraciones de microalgas nocivas (Sawayama *et al.*, 1998). El P al igual que el N es el segundo macronutriente esencial para el desarrollo de las microalgas, aunque sus requerimientos son en menores cantidades; por ejemplo, se sabe que las microalgas no requieren de grandes cantidades de P, de hecho su composición es de menos de 1% de la misma, sin embargo, su real relevancia estriba en que es un nutriente muy importante como factor limitante de crecimiento (Grobbelaar, 2004; McKinney, 2004). No obstante, existen relaciones N/P óptimas donde se puede obtener la máxima eliminación de nutrientes, aunque estas relaciones N/P son altamente específicas dependiendo de la microalga en cuestión (Kunikane, 1984). El EE PTAR en el presente proyecto presentó una concentración de 2.29 ± 0.04 mg/L, la cual en apariencia podría ser una concentración no asimilable en una cantidad considerable debido a la baja relación N/P, no obstante existen reportes que han indicado que cuando se encuentra una cantidad suficiente de nitrógeno el fósforo es notablemente consumido (Laliberte *et al.*, 1997). Al término del tratamiento con el consorcio 01, se observaron porcentajes de eliminación de P muy similares y sin una diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) obteniendo un intervalo de 89.96 a 93.45%. Los tratamientos M y M+A efectuados con el consorcio 12 resultaron con valores de 94.32 y 89.52% de eliminación, si bien el tratamiento M+ ACO_2 presentó un valor de 79.91% a 30 días, previamente en el día 26 obtuvo 83.41% (Tabla 5.7). Estos resultados indican porcentajes de remoción eficiente aún y cuando de los tratamientos de reducción de contaminantes eutróficos, el P se señala como el más complejo de eliminar (de-Bashan y Bashan, 2010).

La forma química de P preferentemente utilizado por las microalgas es la del ortofosfato (PO_4^{3-}); en los sistemas acuáticos se dispone de una forma pentavalente en una mezcla disociada y particulada, donde además el P orgánico se vuelve disponible al hidrolizarse por enzimas extracelulares (Corell, 1998). El comportamiento de la remoción de P durante el tratamiento se observa en la Figura 5.19, que al igual que el N se debe tomar en cuenta que no solo es regulado por la absorción de las células, sino también por las condiciones externas, tales como el pH, pudiendo el P precipitar bajo condiciones de pH elevado (entre

9 y 11) formando ortofosfato de calcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, (Cai, Park y Li, 2013; Laliberte *et al.*, 1997). Dicha condición de pH elevado 9 - 11 se obtuvo durante la prueba de tratamiento del EE PTAR (Figura 5.8), indicando que además de la asimilación de P como nutriente, la remoción de P del agua pudo haber sido complementada por medio de precipitación química, así como por adsorción en superficie de las microalgas (Martínez, 2000).

Las concentraciones de P inorgánico soluble en los controles indicaron dos tipos de comportamiento: el control 1SEN presentó una relativa estabilidad asociada con un ligero aumento de 14.41% con respecto al valor inicial (2.29 ± 0.04 mg/L) al término de la evaluación (Figura 5.20 y Tabla 5.7), posiblemente debido a la oxidación y disolución de la materia orgánica residual presente en el EE PTAR, la cual pudo haber roto las ligaduras orgánicas del fósforo (C-P y/o C-O-P) (Corell, 1998); y el control 2CEN que tras 20 días de mantener una relativa estabilidad presentó un efecto de disminución de fósforo a razón del crecimiento de microalgas exhibido.

6.11.- Comportamiento de la concentración de COT durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

Considerando el requerimientos de nutrientes para el desarrollo de las microalgas, el carbono es el elemento más importante constituyendo comúnmente un 50% de la biomasa microalgal (Lee y Lee, 2001). La mayoría de las fuentes de carbono existentes en sistemas acuáticos se encuentran en formas oxidadas (inorgánicas), combinadas con el oxígeno molecular, como el dióxido de carbono (CO_2), bicarbonato (HCO_3^-) o carbonato (CO_3^{2-}), siendo estas fuentes utilizadas para la síntesis de moléculas orgánicas a través de la reducción química de la fotosíntesis (Falkowski y Raven, 2007). Aunque algunas especies de microalgas crecen utilizando compuestos orgánicos como fuentes de energía y/o fuentes de carbono (Vonshak, 1990; Rippka, 1972), las microalgas en general son organismos fotoautótrofos (Goldman, 1979). En el experimento utilizando el sistema de fotobiorreactores, se encontró una concentración inicial de 18.28 mg/L de COT en el EE PTAR, consiguiendo una relativa estabilidad a lo largo de la fase experimental (Figura

5.21), en donde al final de la evaluación se encontraron decrementos porcentuales de COT en el orden de 15.29 a 25.58%, con excepción del tratamiento M+ACO₂ usando el consorcio 12, el cual al día 30 mostró un incremento de 76.73 mg/L COT, lo cual es equivalente a un aumento de 322.06% con respecto al valor inicial (Tabla 5.8). Esto se explica a razón de que los consorcios microalgales fueran organismos que metabolizan el carbono por fotoautotrofia, caracterizado por utilizar como única fuente de energía la luz solar y utilizar exclusivamente los compuestos inorgánicos como única fuente de carbono (Chojnacka *et al.*, 2004), por lo que en tratamiento no se observa un consumo metabólico con consecuente reducción de carbono orgánico en el EE PTAR TM. Cabe señalar que tampoco se mostró un aumento de COT a excepción del consorcio 12 tratamiento M+ACO₂, concordando con estudios que indican que posterior a cierto punto de crecimiento estable de microalgas existe un aumento de COT debido a la fase de declinación caracterizada por lisis celular con consecuente aumento de carbono orgánico (Mata *et al.*, 2012), asimismo la concentración COT en los tratamientos se mantuvo estable a diferencia de lo reportado por Cho *et al.* (2011) quien obtuvo aumentos en la concentración de COT proporcional al aumento de la productividad de biomasa.

Los controles 1SEN y 2CEN indicaron distintas tasas de remoción de COT al término del periodo con 43.38 y 19.69%, respectivamente (Tabla 5.8), esta diferencia donde el control 1SEN obtuvo mayor decrecimiento (Figura 5.22), podría ser resultado de la actividad bacteriana presente en dicho control sin competencia con microalgas, y que pudo haber disociado el carbono orgánico de la materia orgánica (Krekeler, 2008), por otra parte la menor remoción de COT se obtuvo en el control 2CEN, tomando en cuenta que presentó crecimiento microalgal no inoculado, lo cual concuerda con el estudio realizado por Moawad (1968) que observó que los factores ambientales que fueron favorables para el crecimiento de las algas eran desfavorables para la supervivencia de bacterias.

6.12.- Micronutrientes durante evaluación de tratamiento de EE PTAR en el sistema de fotobiorreactores

En esta sección se presentan resultados de la concentración de iones metálicos (Na, K, Ca, Mg y Fe) en el efluente PTAR original y posterior al tratamiento en el sistema de fotobiorreactores. Hay que señalar que la concentración de dichos metales (micronutrientes) se encuentra de antemano bajo el cumplimiento de la norma NOM-001-SEMARNAT-1996 en el EE PTAR a tratar; sin embargo, resulta interesante conocer si el cultivo de microalgas, además de lograr la remoción efectiva de N y P, sirve también como un pulimento para mejorar la calidad del agua tratada en cuanto a su contenido de otros elementos.

Las microalgas han sido reportadas por su mayor eficiencia en la remoción de metales (*e.g.* micronutrientes) en comparación a bacterias y hongos, dado que poseen mecanismos de adsorción relacionados con su gran superficie y alta afinidad de unión (Wang *et al.*, 2009). Además, las microalgas presentan diversas eficiencias dada su amplia gama de tamaños, formas y composición de la pared celular, siendo esta última la característica principal en la unión de metales (Wang *et al.*, 2009). En el presente proyecto, la concentración de Al en el EE PTAR se encontró inicialmente por debajo de los límites detectables (< 0.03 mg/L), por otro lado el Cu con concentración inicial en el EE PTAR de 0.11 mg/L, quedó por debajo del límite de detección < 0.03 mg/L al término del tratamiento en el sistema de fotobiorreactores. En general, los porcentajes de remoción para los iones metálicos (Na, K, Ca, Mg y Fe,) se encontraron en un intervalo de 2.12 a 95.14%. Se observaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) en los iones: Na, K, Ca, Mg y Fe, con la excepción de la concentración de K y Mg a base del tratamiento M+ACO₂ con los consorcios 01 y 12, respectivamente (Tabla 5.9 y 5.10). Con respecto a los controles 1SEN y 2CEN no se presentaron reducciones importantes en Na y Mg; sin embargo, se presentaron remociones de hierro de 96.25 y 95.81% (control 1SEN y 2CEN) similares a las obtenidas en el tratamiento con los consorcios. El K se logró remover en un 33.24 y 28.56% para el control 1SEN y 2CEN, respectivamente. Asimismo, se encontraron diferencias con la concentración de Ca removido, en la que el control 1SEN redujo solo 13.58% en

comparación de 56.53% conseguida por el control 2CEN (Tabla 5.9 y 5.10). La disminución de minerales en los tratamientos a base de los consorcios y el control 2CEN que presentó crecimiento microalgal, pueden ser justificadas, debido al requerimiento por parte de las microalgas que además de consumir los elementos básicos (C, N, y S), requieren de componentes iónicos como Na, K, Fe, Mg, Ca y otros elementos trazas, de los cuales su absorción e interacción metabólica no se comprenden en totalidad (Cai, Park y Li, 2013).

Los decrementos de los minerales K, Ca y Fe, en los controles 1SEN y 2CEN (Tabla 5.10), posiblemente fueron debidos al consumo por actividad bacteriana, sin embargo resulta interesante que se encontraran distintos decrementos de Ca consumiendo 56.53% por parte del control 2CEN a diferencia de 13.58% en el control 1SEN que no tuvo crecimiento de algas.

En resumen, la alta tasa de remoción de Na, K, Ca, Mg y Fe del EE PTAR TM por el sistema de fotobiorreactores y por consiguiente, la acumulación de estos metales en la biomasa de las microalgas, sigue el potencial uso de dicha biomasa como un biofertilizante con alta concentración de micronutrientes aplicable para suelos deficientes en los mismos.

6.13.- Productividad (producción/biomasa) en consorcios microalgales 01 y 12 durante el tratamiento del EE PTAR

Los valores de productividad en g/L realizados durante el periodo experimental (días: 10, 20 y 30) indicaron un crecimiento favorable en todos los tratamientos con concentraciones a 30 días en un intervalo de 0.315 a 0.880 g/L (valor determinado a partir de muestreo aleatorio simple) y de 0.398 y 0.807 g/L (valor determinado a partir de la cosecha total) (Tabla 5.12). En concordancia con los resultados de COT, donde las concentraciones de biomasa no señalan el inicio de la fase de declinación (disminución de biomasa y aumento de COT), a excepción del tratamiento 12 M+ACO₂ que mostró incrementos de COT al

término de la evaluación (30 días) (Figura 5.21) y diferencias en la productividad determinada con valores de 0.880 y 0.543 g/L a partir de los análisis consistentes en el muestreo aleatorio simple y cosecha total respectivamente (Tabla 5.11 y 5.12) las cuales son posiblemente causadas por la lisis celular con consecuente aumento de carbono orgánico (Mata *et al.*, 2012). El resultado de productividad (BS) expresado a partir de la cosecha total resultó en recuperaciones de 6.04 a 12.34 g, equivalentes a porcentajes de generación de biomasa comprendidos entre 1181 y 2394% con respecto a la concentración inicial de inóculo 0.607 g (Tabla 5.12). Asimismo se obtuvo distintos valores de sólidos sedimentables (biomasa sedimentada), lo que también podría indicar distinta densidad de peso húmedo o absorción de agua debido a que las microalgas presentan distintos tamaños, con diámetros típicos entre 3-30 μm (Christenson y Sims, 2011; Grima *et al.*, 2003) que por consiguiente afecta su área superficial.

Estudios del desarrollo celular en microalgas en la fase exponencial han reportado que pueden duplicar su biomasa en periodos tan cortos como 3.5 h (Chisti, 2007; Metting, 1996; Spolaore *et al.*, 2006), mostrando alta actividad de desarrollo. Wang y Lan (2011) han estudiado la producción de biomasa en un medio simulado de agua residual urbana tras su tratamiento secundario mediante el cultivo de *Neochloris oleoabundans*, obteniendo una concentración de biomasa de 2.1 g/L, una producción de 0.233 g/L•d. Cabe señalar que dichos experimentos se realizaron bajo el control de condiciones óptimas de desarrollo celular (concentración adecuada de inóculo, fotoperiodo, luz, temperatura, pH, balance nutricional y esterilización del medio), en contraste, el presente experimento utilizó efluentes reales eutróficos de agua PTAR, bajo condiciones de intemperie en temporada invernal con temperaturas adversas y no optimas (Figura 4.5) con un promedio general de $13.13 \pm 4.97^\circ\text{C}$ y una densidad baja de inóculo de 0.034 g/L (BS) en comparación a otros estudios con microalgas que han utilizado 0.150 g/L (BS) (Costa *et al.*, 2002; de Morais *et al.*, 2007) limitaciones que son factores de la prolongación de la fase de latencia (Lau *et al.*, 1995) la cual posiblemente para los consorcios microalgales 01 y 12 se encontraron de 12 y 22 días respectivamente en referencia a los decrementos observados en la CE (Figura 5.9), el cual es debido al consumo de nutrientes inorgánicos que en solución son relativamente buenos conductores eléctricos (Giorgios y Georgakakis, 2011 y Yu *et al.*, 2005),

presentándose menor CE a mayor productividad (Oswald, 1988a). En razón a esto se obtuvieron concentraciones menores de productividad durante el tratamiento experimental del efluente real con productividades en el intervalo de 0.013 a 0.027 g/L•d (Tabla 5.12), sin embargo el efluente PTAR se presenta como un medio idóneo donde la investigación y mejoras en factores operacionales escalables económicamente (*e.g.* aireación) influirán altamente en la tasa de conversión de contaminantes (nutrientes eutróficos) en biomasa (Eriksen, 2008).

6.14.- Caracterización fisicoquímica de biomasa de microalgas

La importancia ambiental y prioridad de un tratamiento de agua basado en el uso de microalgas es la eliminación de contaminantes de manera eficiente, donde el control de cultivo para la obtención de una composición definida de una microalga específica es algo sin mucha relevancia (Gantar *et al.*, 1991; de la Noüe *et al.*, 1992); aun bajo estas condiciones, la biomasa generada de microalga, dependiendo de sus características, tendrá la capacidad de ser un subproducto potencialmente valioso (Mata *et al.*, 2010., Wan Loy Chu 2012). A la fecha, pocos estudios se han enfocado en considerar en forma combinada los aspectos prometedores de producir biomasa mientras se lleva a cabo simultáneamente la remoción biológica de contaminantes en descargas eutróficas (Aslan y Kapdan, 2006). Los resultados obtenidos en el sistema de fotobiorreactores de la composición de biomasa porcentual cosechada para nitrógeno total kjeldahl (proteína), fósforo total, cenizas y lípidos se observan en la Tabla 5.13. Se obtuvieron distintos resultados entre consorcios y tratamientos, debido a que la composición química de la biomasa de microalgas puede variar significativamente entre especies y/o bajo las diferentes condiciones de cultivo tales como: alcalinidad del medio, pH, temperatura, disponibilidad y concentración de nutrientes, tipo de luz, densidad celular, contaminación o depredación por otros organismo (Brown *et al.*, 1997).

El contenido de N de la biomasa puede variar de 1% a más del 10%, dependiendo de la cantidad, disponibilidad y tipo de fuente de nitrógeno en el medio en que se desarrolla

(Grobbelaar, 2004). La concentración de NT en la biomasa seca de las microalgas al final del experimento de tratamiento fue de 0.48 a 1.00% que equivalen a una concentración proteica de 3.00 a 6.25%, obteniendo diferencias estadísticas y concentraciones crecientes de nitrógeno entre los tratamientos $M+ACO_2 < M+A < M$, respectivamente (Tabla 5.13).

El fósforo es un macronutriente esencial y factor clave en el metabolismo energético de las algas y se encuentra en los ácidos nucleicos, lípidos, proteínas, y los compuestos intermedios del metabolismo de carbohidratos (Kuenzler, 1965). En el presente experimento, se obtuvieron concentraciones ubicadas en 0.34 a 0.65% (Tabla 5.13) concordando con reportes que indican que el contenido de P en la biomasa, generalmente se presenta a concentraciones menores de 1% de la misma (Grobbelaar, 2004; McKinney, 2004). La producción de lípidos por microalgas depende de las condiciones ambientales, los métodos de cultivo, y la fase de crecimiento (Thompson 1996, Tsuzuki *et al.*, 1990). El porcentaje de lípidos en cultivos puros de microalgas se ha reportado desde 1 al 85%, al ser expuestos a diferentes longitudes de cadena de carbono, grados de insaturación y polaridad (*e.g.* reviews en Chisti 2007, Metting 1996 y Enssani 1987). Sin embargo, el contenido de lípidos generados en consorcios microalgales cultivados en aguas residuales rara vez se han informado. Por ejemplo, se ha reportado una composición de 14 a 29% de lípidos en biomasa (base seca) en el cultivo de un consorcio de microalgas a intemperie durante un periodo de 6 días, en aguas residuales municipales y de la industria de lácteos (utilizando concentraciones de 10 y 25%, diluidas con agua de grifo), en aireación (1.5 L/min) enriquecida con CO_2 (0.015 mL/min), con control de pH y en una temperatura ambiental promedio de 30.6°C (Woertz *et al.*, 2009).

En el presente estudio se obtuvo una concentración de lípidos ubicada entre 0.45 a 4.33%, observándose un aumento estadísticamente significativo en los tratamientos con aireación enriquecida con CO_2 , siguiéndoles en ese orden los tratamientos M y M+A (Tabla 5.13). Cabe señalar que la acumulación de lípidos por las microalgas aumenta drásticamente bajo condiciones limitadas de nutrientes, en contraste a la acumulación de biomasa que se produce cuando los nutrientes son suficientes (Fan *et al.*, 2014). Basados en esta información, se podría sugerir el uso de sistemas de cultivo de microalgas basados en el

tratamiento de aguas utilizando dos etapas, la primera y de importancia ambiental, en la que hay reducción de nutrientes por el tratamiento al tiempo que maximiza el crecimiento celular y la segunda, en las que posteriormente las microalgas se desarrollan en un entorno bajo de nutrientes (Cai, Park y Li, 2013), lo cual en teoría, induciría la producción y acumulación de lípidos en las microalgas, las cuales como se ha mencionado anteriormente, tendrían un potencial uso para la producción de biocombustibles.

Las microalgas vivas son bioacumuladoras eficientes de iones metálicos (micronutrientes), sin embargo, muchos de los micronutrientes pueden ser tóxicos para la mayoría de especies de algas en altas concentraciones, sin embargo algunos de estos micronutrientes presentes en el agua tienen la propiedad de formar complejos precipitables con otros elementos esenciales, reduciendo así su disponibilidad y bioacumulación. No obstante se sabe que las microalgas pueden además proporcionar un método factible para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con metales, debido a que algunas cepas de algas son particularmente tolerantes a los metales pesados y su potencial para absorber metales se ha demostrado (Mehta *et al.*, 2005). Los porcentajes de cenizas (*i.e.* minerales) de la biomasa microalgal cosechada al final del experimento se encontraron con valores de 29.26 a 53.04% (Tabla 5.13), indicando una alta asimilación de minerales aún a bajas concentraciones de los mismo, dado que la descarga ya se encontraba en cumplimiento de la norma NOM-001-SEMARNAT-1996 previo al tratamiento avanzado propuesto en el presente proyecto en el sistema de fotobiorreactores. Esto es importante, ya que representa un pulimento y mejoramiento de la calidad del agua previo a su descarga definitiva. Bajo las condiciones de estudio y dadas las características del EE PTAR y la composición de la biomasa generada, sería poco recomendable sugerir el uso de dicha biomasa para la generación de biocombustibles dado que un aumento de contenido de cenizas típicamente resulta en una reducción en el valor calorífico de los combustibles (Tan y Lagerkvist), sin embargo se propone la utilización de la biomasa generada para su uso potencial como biofertilizante, debido a que el punto más importante a destacar referente al estudio de la composición de las microalgas en el presente estudio, es el alto contenido de minerales (hasta más del 50%) acumulados. Dichos minerales al ser micronutrientes (*e.g.* K, Mg, Ca, Na, Fe y Cu) convierten a la biomasa generada en un valioso recurso como un potencial

biofertilizante aplicado en zonas con suelos deficientes en micronutrientes y baja fertilidad originada por erosión (Mata *et al.*, 2010; Spolaore *et al.*, 2006), existiendo estudios que han indicado que el uso de microalgas secas como aditivos en suelos mejoran altamente la disponibilidad de nutrientes en las plantas y que estas a su vez mejoran todas las reacciones fisiológicas que llevan a un buen crecimiento, donde una cantidad de 2 a 3 g (microalgas secas) por Kg (suelo) pueden mejorar la fertilidad y suplementar a las plantas de los nutrientes necesarios para la obtención de buenos rendimientos, además de conducir a una menor contaminación del ambiente (Fayza A., Faheed y Zeinababd - el Fattah, 2008), de esta manera se contribuye al total aprovechamiento de los subproductos generados en el proceso (agua y biomassa).

6.15.- Análisis del ciclo de vida del proceso (ACV) en el sistema de fotobiorreactores

En el presente estudio, se realizó un análisis del ciclo de vida (ACV) a razón de determinar la sustentabilidad y demostrar la viabilidad de un tratamiento terciario fotosintético, aplicado en condiciones de intemperie (fotoperiodo, cantidad / calidad de luz, temperatura), que hace uso de consorcios de microalgas nativos en un sistema de fotobiorreactores de bajo esfuerzo de corte y coste energético (patente *MX/a/2012/014898*), evaluado bajo tres distintos tratamientos: M, M+A, M+ACO₂, del cual la suplementación eléctrica (para el sistema de mezclado y aireación) fue generada en su totalidad por el uso de un panel solar (Tabla 5.14) descartándose así el consumo eléctrico exterior en el ACV aplicado a la evaluación del tratamiento de remoción de contaminantes eutróficos (N y P) y mejora de calidad de descarga de un EE PTAR real (sin modificación *e.g.* por dilución o con adición de reactivos y catalizadores químicos). No obstante, el tratamiento M+ACO₂, diseñado para evaluar la variación en la composición fisicoquímica de la biomasa generada al estar suplementado por CO₂ (Park y Craggs, 2010), en la aireación (1.8 vvm) enriquecida con CO₂, presentó un consumo insignificante dada la baja tasa de suplementación (5.55×10^{-4} vvm) (Tabla 5.14) proporcionalmente menor al CO₂ capturado durante el crecimiento de la microalgas (Ación *et al.*, 2012), por lo tanto no contribuyendo a emisiones netas a la atmósfera. Debido a esto se determinó su exclusión dentro del cálculo final del ACV.

Aunado a estas características se ha indicado que el tratamiento terciario biológico con microalgas, el cual hace uso de la capacidad natural de las microalgas para la remoción y asimilación de N y P inorgánico para su crecimiento, tiene la posibilidad y ventaja de ser implementado a intemperie en una gran cantidad de sitios requiriendo prácticamente el uso de la luz solar (De la Noüe *et al.*, 1992; Sawayama *et al.*, 1998). Propiedad que da la aptitud de generar un efluente de alta calidad y ser ecológicamente más seguro (Oswald, 2003) no conduciendo a una contaminación secundaria, en contraste a otros tipos de procesos de tratamiento fisicoquímico (*e.g.* precipitación química, ozonización, osmosis inversa o adsorción con carbono) que en general pueden generar altos costos y contaminación secundaria (*e.g.* emisiones y químicos contaminantes) (Abdel-Raouf, 2012; Oswald, 1998b). De igual manera, la biomasa de microalga generada durante la mejora (tratamiento) de calidad del EE PTAR, no puede ser considerada un residuo, ya que puede ser cosechada para suministrar de manera sostenible la producción de bioproductos con alto valor económico (Rahman *et al.*, 2012; Christenson y Sims, 2011). En este caso de estudio dada la matriz del EE PTAR se sugiere su uso potencial como biofertilizante (sección 6.14).

En sumatoria las características principales del sistema en operación de fotobiorreactores para el tratamiento de EE PTAR se engloban en la Figura 5.23, donde se demuestra la sustentabilidad al no generar algún impacto ambiental, a consecuencia de: 1) no utilizar reactivos químicos, 2) ni consumo energético de toma de corriente, además de 3) no ocasionar contaminación.

Capítulo 7

CONCLUSIONES

Las zonas de colecta de microalgas, dentro de la subcuenca hidrológica San Juan presentaron una amplia biodiversidad de consorcios microalgales nativos, lo cual podría ofrecer una extensa gama de opciones potenciales viables para el mejoramiento fisicoquímico de la calidad de EE PTAR similares a los utilizados en el presente estudio con el fin de seleccionar los más efectivos bajo los extremos climáticos que existen en la región.

Se cumplió el objetivo principal de la investigación con el aumento de la calidad de descarga y cumplimiento de la directiva 91/271/CEE, en EE PTAR a través del tratamiento de reducción de N y P. Las tasas de reducción de NT fueron de: 64.40, 67.74 y 75.53% a 30 días con los tratamientos: 12M, 12M+A y 12M+ACO₂ respectivamente, asimismo los tratamientos 01M, 01M+A y 01M+ACO₂ presentaron reducciones de NT: 67.46, 82.80 y 79.00% a 26 días.

De igual forma, la remoción de P en el efluente mediante el procedimiento propuesto se logró el cumplimiento de la directiva 91/271/CEE, indicando altos porcentajes de eliminación de P con 93.45, 89.96 y 89.96% para los tratamientos 01M, 01M+A y 01M+ACO₂. Igualmente, los efluentes tratados 12M, 12M+A y 01M+ACO₂ resultaron en reducciones de p de 94.32, 89.52 y 79.91%.

Se observó una fase de latencia prolongada en los consorcios microalgales 01 y 12, con 12 y 22 días respectivamente, lo cual pudo haber sido producto de las condiciones climáticas tan extremas en las que se realizó el tratamiento (frío, poca irradiación) y por la baja proporción de inóculo. Se obtuvieron productividades finales microalgales de 0.013 a 0.027 g/L•d, asimismo durante el periodo experimental se evidenciaron tendencias positivas de crecimiento y estabilidad celular con excepción del tratamiento 12M+ACO₂ que posterior a 26 días aumento el COT por la fase de declinación.

La alta tasa de bioacumulación de 29.26 a 53.04% (BS) de minerales micronutrientes (*e.g.* K, Mg, Ca, Na, Fe y Cu) en la biomasa resultante del presente estudio permite sugerir su uso como biofertilizante en suelos deficientes en los mismos.

Se demostró la viabilidad de la mejora de calidad de descarga en efluentes PTAR, al tener altas remociones de N y P utilizando un tratamiento a base de microalgas nativas en un sistema de fotobiorreactores, sin el uso de reactivos químicos ni consumo energético de tomacorriente, ni generación de residuos peligrosos validado por un ACV, que dio cumplimiento a la normativa internacional de descarga más estricta (Directiva 91/271/CEE), con la ventaja de obtener un producto secundario potencialmente aprovechable y de alto valor económico.

PERSPECTIVAS Y APLICACIONES

La problemática actual desencadenada por la eutrofización a nivel regional, nacional y mundial en la mayoría de las aguas superficiales, demanda desarrollos tecnológicos prácticos de aplicación con descargas reales y bajo condiciones naturales. Lograr procesos sustentables en cuanto al tratamiento de agua para la mejora de calidad de efluentes, además de requerir sistemas funcionales, que sean escalables.

El presente estudio es preludio e indicación del potencial y las ventajas primordiales del uso ambiental de consorcios de microalgas nativas, aplicadas bajo condiciones reales de operación, en un sistema de fotobiorreactores de bajo costo y con características y factores operacionales de escalabilidad económica rentable (mezclado, aireación y enriquecimiento con CO₂) para el tratamiento avanzado y la alta mejora de la calidad fisicoquímica de efluentes eutróficos PTAR, los cuales son generados de manera permanente. Se pretende dar seguimiento y mejoramiento al sistema de fotobiorreactores construido y evaluado en el presente proyecto de manera experimental, pero sobre todo por medio de transferencia de tecnología y comercialización, una vez otorgadas la respectiva patente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC, 1976. American Association of Cereal Chemists. Approved methods of the AACC, St. Paul MN.

Acuner, E., Dilek, F.B., 2004. Treatment of tertian yellow 2G by *Chlorella vulgaris*. Process Biochemistry 142 (1–2), 623–631.

Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A.A. and Ibraheem, I.B.M., 2012. Microalgae and wastewater treatment. Saudi Journal of Biological Sciences. 19, 257-275. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>.

Abeliovich, A., Azov, Y., 1976. Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. Applied and Environmental Microbiology; 31:801–6.

Ación Fernández, F.G., González López, C.V., Fernández Sevilla, J.M., Molina Grima, E. 2012. Conversion of CO₂ into biomass by microalgae: how realistic a contribution may it be to significant CO₂ removal?. Applied Microbiology and Biotechnology; 96:577-586.

Amaro, H.M., Guedes, A.C., Malcata, F.X. 2011. Antimicrobial activities of microalgae: an invited review. Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances. Formatex Microbiology Book Series, Nova Science Publisher; 3:1272-1284.

Andrade, M.R., Costa, J.A.V., 2007. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. Aquaculture; 264:130–4.

AOAC, 1997. Official Methods of Analysis, 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Horwitz E. (editor). U.S.A.

Arvindhan, R., Rao, J.R., Nair, B.U., 2007. Removal of basic yellow dye from aqueous solution by sorption on green alga *Caulerpa scalpeliformis*. Journal of Hazardous Material 142 (1–2), 68–76.

Aslan, S., Kapdan I.K., 2006. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. Ecological Engineering; 28(1):64–70.

Ayers, R.S. and Westcot, D.W., 1985. Water Quality for Agriculture. FAO Irrigation and Drainage Paper No. 29. United Nations Food and Agriculture Organization, Rome.

Azov, Y., Shelef, G., 1987. The effect of pH on the performance of the high-rate oxidation ponds. Water Science and Technology. 19 (12), 381– 383.

Barsanti, L., Gualtieri, P., 2006. Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology. Boca Raton: CRC Press.

Becker, E.W., 2007. Micro-algae as a source of protein. Biotechnology Advances 25:207–210.

- Becker, E.W., 2004. Microalgae in human and animal nutrition. In: Richmond A, editor. Handbook of Microalgal Culture. Biotechnology and Applied Phycology. Oxford: Blackwell Science; p. 312–51.
- Becker, E.W., 1994. Microalgae, Biotechnology and Microbiology. Cambridge: Cambridge University Press.
- Benemann, J.R., 1989. The future of microalgal biotechnology, in Algal and cyanobacterial biotechnology, Cresswell R.C., Rees T.A.V., and Shah N., Editors. Longman scientific & technical: Harlow, Essex, England. p. 317–337.
- Benemann JR., 1979. Production of nitrogen fertilizer with nitrogen-fixing bluegreen algae. Enzyme and Microbial Technology; 1:83–90.
- Berman, M., Aragón, K. y Matson, P.A., 2005. Agricultural runoff fuels large phytoplankton blooms in vulnerable areas of the ocean. Nature 434(10): 211-214.
- Bernet, N., Beline, F., 2009. Challenges and innovations on biological treatment of livestock effluents. Bioresource Technology; 100:5431–6.
- Boelee, N.C., Temmink, H., Janseen, M., Buisman Cees, J.N., Wijffels Rene H., 2012, Scenario Analysis of Nutrient Removal from Municipal Wastewater by Microalgal Biofilms. Water; 4, 460-473.
- Borowitzka, M.A. 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. Journal of Applied Phycology. 7:65-68.
- Borowitzka, M.A., 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. Journal of Biotechnology; 70(1–3):313–21.
- Brenan, M., Owende, P., 2010. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extraction of biofuels and co-products. Renewable and Sustainable Energy Reviews 14, 557-577.
- Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K., Dunstan, G. A., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture; 151: 315-331.
- Burhenne, N., and Tischner, R., 2000. Isolation and characterization of nitrite-reductase-deficient mutants of *Chlorella sorokiniana* (strain 211-8k). Planta; 211, 440–445.
- Cai, T., Park, S. Y., and Li, Y., 2013. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. Renewable and Sustainable Energy Reviews; 19, 360–369.
- Cai-XiaoHua, Traina, S.J., Logan, T.J., Gustafson, T., Sayre, R.T., and Cai, X.H., 1995. Applications of eukaryotic algae for the removal of heavy metals from water. Molecular Marine Biology and Biotechnology; 4 (4), 338–344.
- Carlsson, A. S., Clayton, D., Moeller, R. and Van-Beilen, J.B., 2007. Micro- and macroalgae: Utility for industrial applications. EPOBIO project: Newbury, UK.

Carpenter, S.R., Caraco, N.F., Correll, D. L., Howarth, R. W., Sharpley, A. N., and Smith, V. H., 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*; 8:559-568.

Chapra, S.C. and Dobson, H.F.H. 1981. Quantification of the lake typologies of Naumann (surface quality) and Thienemann (oxygen) with special reference to the Great lakes. *Journal of Great lakes Research*. 7: 182-193.

Chen, C.Y., Yeh, K.L., Aisyah, R., Lee, D.J., and Chang, J.S. 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. *Bioresource Technology*; 102:71–81.

Chisti Y., 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*; 25: 294–306.

Christenson, L., and Sims, R., 2011. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances*; 29, 686-702.

Chojnacka, K., Marquez Rocha, F.J., 2004. Kinetic and Stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. *Biotechnology Advances*; 3: 21–34.

Cho, S., Luong, T.T., Lee, D., Oh, Y.K., Lee, T. 2011. Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. *Bioresource Technology*; 102 (18), 8639–8645.

CNEPA (Environmental Protection Agency of China), 2002. Environmental Quality Standard for Surface Water. GB3838 <http://www.cc.in.gov.cn/lncj/shownews.asp?>.

CONAGUA, 2011. Estadísticas del agua en México, Comisión Nacional del Agua. pp.185.

Costa, J.A.V., Colla, L.M., Duarte, Filho, P., Kabke, K., Weber, A., 2002. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*; 18: 603–7.

Converti, A., Scapazzoni, S., Lodi, A., Carvalho, J., 2006. Ammonium and urea removal by *Spirulina platensis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*; 33:8–16.

Corell, D.L., 1998. The role of phosphorus in the eutrophication of receiving waters: a review. *Journal of Environmental Quality*; 27:261–6.

Cortes Martínez, F., Sánchez Cohen, I., Betancourt Hernández, J., Ávila Garza, C.M. 2013. Cálculo de pago de derechos para descarga de agua residual con variaciones de pH. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 4, núm. 2, febrero-marzo, 2013, pp. 299-305

Craggs, R.J. 2005. Advanced integrated wastewater ponds. In: Shilton, A. (Ed.), *Pond Treatment Technology*, IWA Scientific and Technical Report Series, IWA, London, UK, pp. 282–310.

Crawford, N. M., 1995. Nitrate: Nutrient and signal for plant growth. *Plant Cell*; 7, 859–868.

Darley, W.M., 1982. *Algal Biology; A physiological Approach*. Basic Microbiology, vol. 9. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- De-Bashan L.E., Bashan Y., 2010. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects. *Bioresource Technology*; 101:1611–27.
- De la Noüe, J., Proulx, D., 1988. Tertiary treatment of urban wastewater by chitosan-immobilized *Phormidium* sp. In: Stadler, T., Mollion, J., Verdus, M.C., Kamaranos, Y., Morvan, H., Christaïen, D. (Eds.), *Algal Biotechnology*. Elsevier Applied Science, New York, pp. 159–168.
- De la Noüe, J., Laliberte, G., Proulx, D., 1992. Algae and waste water. *Journal of Applied Phycology*; 4, 247–254.
- De Morais, M.G., Costa, J.A.V., 2007. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. And *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*; 129:439–45.
- De Pauw, N., Verlet, H., De Leenheer, L., 1980. Heated and unheated outdoor cultures of marine algae with animal manure. In: Shelef, G., Soeder, C.J. (Eds.), *Algae Biomass*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 315–341.
- Diaz, R.J. and Rosenberg, R. 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*; 321:926-928.
- Diaz, R.J., 2001. Overview of hypoxia around the world. *Journal of Environmental Quality*; 30:275–281.
- Dodds, W.K., Bouska, W.W., Eitzmann, J.L., Pilger, T.J., Pitts, K.L., Riley, A.J., 2009. Eutrophication of U.S. freshwaters: analysis of potential economic damages. *Environmental Science and Technology*; 43:12–9.
- Dodds, W. K., Jones, J. R., and Welch, E. B., 1998. Suggested classification of stream trophic state: Distributions of temperate stream types by chlorophyll, total nitrogen, and phosphorus. *Water Research*; 32: 1455–1462.
- Environment Canada, 2004. National Guidelines and Standards Office. Water Policy and Coordination Directorate. Canadian Guidance Framework for the Management of Phosphorus in Freshwater system. Report No. 1-18.
- Enssani, E., 1987. Fundamental Parameters in Extraction of Lipids from Wastewater-grown Microalgal Biomass. Ph.D. dissertation, Department of Civil Engineering, University of California, Berkeley, 194.
- Eriksen, N.T., 2008. Jet Powered Engines. *Biotech The technology of microalgal culturing. Biotechnology Letters*.30 (9), pp.1525-1536.
- Escobar, R. J. J., 2001. Aguas Residuales del Pacifico Nordeste. Ponencia del Taller Latinoamericano sobre Manejo de Aguas Residuales Municipales, PNUMA (ORPALC)/PNUMA-PAM , Ciudad de México 13 de Septiembre de 2001.
- European Commission, 1991. Directive concerning urban wastewater treatment (91/271/EEC).
- Evonne, P.Y., Tang, 1997. Polar cyanobacteria versus green algae for tertiary wastewater treatment in cool climates. *Journal of Applied Phycology*; 9, 371–381.

Falkowski, P.G., Raven, J.A., 2007. Aquatic Photosynthesis. second ed. Princeton, NJ.: Princeton University Press, ISBN 978-0691115511.

Fayza, A., Faheed and zeinab abd-el Fattah., 2008. Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. The Journal of Agriculture Forestry and Social Sciences, Vol. 4, No. 4.

Fischer, P., & Klein, U., 1988. Localization of nitrogen-assimilating enzymes in the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Physiology; 88, 947–952.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1996. Manual on the production and use of live food for agriculture. FAO Fisheries technical paper 361. ISSN 0429-9345.

Fogg, G.E., 1975. Algal Cultures and Phytoplankton Ecology, second ed. The university of Wisconsin Press, Wisconsin, 175.

Forsberg, C. & Ryding, S. O., 1980. Eutrophication parameters and trophic state indices in 30 Swedish waste-receiving lakes. Archiv fur Hydrobiologie; 89, 189-207.

Gantar, M., Obreht, Z., Dalmacija, B., 1991. Nutrient removal and algal succession during the growth of *Spirulina platensis* and *Scenedesmus quadricauda* on swine wastewater. Bioresource Technology; 36:167–71.

Garbisu, C., Hall, D.O., Serra, J.L., 1993. Removal of phosphate from water by foam-immobilized *Phormidium laminosum* in batch and continuous-flow bioreactors. Journal of Chemical Technology and Biotechnology; 57, 181–189.

García Pérez, J., Beuckels, A., Vandamme, D., Depraetere, O., Foubert, I., Parra, R., Muylaert, K. 2014. Influence of magnesium concentration, biomass concentration and pH on flocculation of *Chlorella vulgaris*. Algal Research. 3, 24-29.

Gerhardt, M.B., Green, F.B., Newman, R.D., Lundquist, T.J., Tresan, R.B., Oswald, W.J., 1991. Removal of selenium using a novel algal bacteria process. Research Journal Water Pollution Control Federation; 63,779–805.

Ghannoum, M.A, Rice L.B. 1999. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 12:501-517.

Ghasemi Y, Yazdi MT, Shafiee A, Amini M, Shokravi S, Zarrini G. 2004. Parsiguine, a novel antimicrobial substance from *Fischerella ambigua*. *Pharmaceutical Biology*. 42:318-322.

Giorgos, M., Dimitris, G., 2011. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. Applied Energy; 88, pp.3389–3401.

Gordon, J.M., Polle, J.E.W., 2007. Ultrahigh bioproductivity from algae. Applied Microbiology and Biotechnology; 76:969–975.

Goldman, J.C., 1979. Outdoor algal mass cultures – I. Applications. Water Research.; 13:1–19.

- Grima, E.M., Belarbi, E.H., Fernandez, F.G.A., Medina, A.R., Chisti, Y. 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology Advances*; 20 (7-8):491–515.
- Grobbelaar, J.U., 2004. Algal nutrition: mineral nutrition. In: Richmond A, editor. *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.; p. 97–115.
- Hammouda, O., Gaber, A., and Abdel-Raouf, N., 1994. Microalgae and wastewater treatment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 31: p. 205–210.
- Hautier, Y., Niklaus, P.A., and Hector, A., 2009. Competition for light causes plant biodiversity loss after eutrophication. *Science*; 324:636–638.
- Heubeck, S., Craggs, R.J., Shilton, A. 2007. Influence of CO₂ scrubbing from biogas on the treatment performance of a high rate algal pond. *Water Science and Technology* 55, 193.
- Heisler, J., Glibert, P. M., Burkholder, J. M., Anderson, D. M., Cochlan, W., Dennison, W.C., Dortch, Q., Gobler, C.J., Heil, C.A., Humphries, E., Lewitus, A., Magnien, R., Marshall, H.G., Sellner, K., Stockwell, D.A., Stoeckert, D.K., Suddleson, M., 2008. Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus. *Harmful Algae*; 8, 3–13.
- Horan, N.J., 1990. *Biological Wastewater Treatment Systems. Theory and operation*. John Wiley and Sons Ltd. Baffins Lane, Chichester. West Sussex PO 191 UD, England.
- Horne, A.J., Goldman, C.R., 1994. *Limnology*. Second edition. McGraw-Hill. New York, EEUU; pp. 576.
- Hung, M.T, Liu, J.C., 2006. Microfiltration for separation of green algae from water. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*; 51:157–64.
- Ibraheem, I.B.M., 1998. Utilization of certain algae in the treatment of wastewater. Ph.D. Thesis, Fac. of Sci. Al-Azhar Univ., Cairo, Egypt, pp. 197.
- ISO.1997. ISO 14040: Environmental – Life cycle assessment – Principles and Framework. Geneva, Switzerland.
- International Standard ISO/TR 11905-2, International Organization for Standardization, Geneva.
- Jacobsen, B.N. and Warn, T., 1999. Overview and comparison of effluent standards for urban waste water treatment plants in European countries. *European Water Management*; 2 (6), 25-39.
- Janus, L.L. and Vollenweider, R.A. 1981. The OECD Cooperative Programme on Eutrophication: Summary Report - Canadian Contribution. *Inland Waters Directorate Scientific Series No. 131*, Environment Canada, Burlington, Ontario, Canada.
- Kaplan, D., Christiaen, D., Arad, S., 1988. Binding of heavy metals by algal polysaccharides. In: Stadler, T., Mollion, J., Verdus, M.C., Karamanos, Y., Morvan, H., Christiaen, D. (Eds.), *Algal Biotechnology*, Elsevier Applied Science, London; pp. 179–187.

- Kebede-Westhead, E., Pizarro, C., Mulbry, W., 2006. Treatment of swine manure effluent using freshwater algae: production, nutrient recovery and elemental composition of algal biomass at four effluent loading rates. *Journal of Applied Phycology*; 18 (1), 41–46.
- Khalaf, M.A., 2008. Biosorption of reactive dye from textile wastewater by nonviable biomass of *Aspergillus niger* and *Spirogyra* sp. *Bioresource Technology*; 99, 6631– 6634.
- Khan, F.A., Ansari, A.A., 2005. Eutrophication: An ecological vision. *The Botanical Review*; 71(4):449-482
- Krekeler, T., 2008. Decentralised Sanitation and Wastewater Treatment. Hannover, BGR. <http://www.bgr.bund.de/decentralised-sanitation-pdf>.
- Kuenzler, E.J., 1965. Glucose-6-phosphate utilization by marine algae. *Journal of Phycology*; 1:156–64.
- Kunikane, S., Kaneko, M., Maehara, R. 1984. Growth and nutrient uptake of green alga, *Scenedesmus dimorphus*, under a wide range of nitrogen/phosphorus ratio—I. Experimental study. *Water Research*; 18:1299–311.
- Lau, P.S., Tam, N.F.Y., Wang, Y.S., 1995. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. *Environ Pollution*; 89, 56–66.
- Laliberte , G., Lessard, P., Delanoue, J., Sylvestre, S., 1997. Effect of phosphorus addition on nutrient removal from wastewater with the cyanobacterium *Phormidium bohneri*. *Bioresource Technology*; 59:227–33.
- LAWA., 1998. Beurteilung der Wasserbeschaffenheit von Fließgewässern in der Bundes republik Deutschland – Chemische Gewässergüte klassifikation. Berlin.
- Lee, K., Lee, C.G., 2001. Effect of light/dark cycles on wastewater treatments by microalgae. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*; 6 (3), 194–199.
- Lee, S.J., Kim, S.B., Kim, J.E., Kwon, G.S., Yoon, B.D., Oh, H.M. 1998. Effects of harvesting method and growth stage on the flocculation of the green alga *Botryococcus braunii*. *Letters in Applied Microbiology*; 27:14–18.
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C.Q., Dubois-Calero, N., 2008(A). Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress*; 24(4):815–20.
- Li, Y., Wang, B., Wu, N., Lan, C.Q., 2008(B). Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid production of *Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 81(4):629–36.
- Lincoln, E.P., Earle, J.F.K., 1990. Waste water treatment with microalgae. In: Akatsuka, I. (Ed.), *Introduction to Applied Phycology*. SPB Academic Publishing by The Hague, The Netherlands; pp. 429–446.
- Lincoln, E.P., Hill, D.T., 1980. An integrated microalgae system. In: Shelef, G., Soeder, C.J. (Eds.), *Algae biomass*; pp. 229–243.

- Liu, W., Qiu, R.L., 2007. Water eutrophication in China and the combating strategies. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*; 82(9):781-786.
- López Chuken U.J. y Parra Saldivar R., 2012. Bioreactor de bajo esfuerzo de corte para el cultivo de microorganismos sensibles al estrés mecánico. Patente en trámite.
- López Chuken U.J., 2005. The effect of chloro-complexation on Cadmium uptake by plants. PhD Thesis. The University of Nottingham, United Kingdom.
- Lotze, H.K., Lenihan, H.S., Bourque, B.J., Bradbury, R.H., Cooke, R.G., Kay, M.C., Kidwell, S.M., Kirby, M.X., Peterson, C.H., Jackson, J.B.C., 2006. Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. *Science*; 312:1806–1809.
- Ma, A.N., Cheah, S.C., Chow, M.C., 1990. Current status on treatment and utilization of palm oil industrial wasters in Malaysia. Special coordination meeting of the working group on environmental biotechnology, Kuala Lumpur, October, 1990.
- Martin, C., De la Noüe, J., Picard, G., 1985 (A). Intensive culture of freshwater microalgae on aerated pig manure. *Biomass*; 7, 245–259.
- Martin, C., Picard, G., De la Noüe, J., 1985 (B). Epuration biologique du lisier de porcepar production de biomassd’algues unicellulaires. *MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*; 1, 173–184.
- Marungrueng, K., Pavasant, P., 2006. Removal of basic dye (Astrazon Blue FGR) using microalgae *Caulerpa lentillifera*. *Journal of Environment Management*; 78 (3), 268–274.
- Martínez, M.E., Sánchez, S., 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*; 73, 263- 272.
- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications. *Renewable Sustainable Energy Reviews*. 14 (1), 217–232.
- Mata, T., Melo, A., Simões, M., and Caetano, N., 2012. Parametric study of a brewery effluent treatment by microalgae *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*; 107, 151-158.
- Masojidek, J, Koblizˇek, M, Torzillo, G., 2004. Photosynthesis in microalgae. In: Richmond A, editor. *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.; p. 20–39.
- McCool, D. K., and Renard, K. G. 1990. Water erosion and water quality. *Advances in Soil Sciences*; 13: 175-185.
- McKinney, R., 2004. *Environmental pollution control microbiology: a fifty year perspective*. New York: CRC Press
- MDDEP (Ministère de développement durable, environnementetparcs). 2007. Available on-line at: http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/criteres_eau/index.htm. [Posted: 2002]
- Mehta, S.K., Gaur, J.P., 2005. Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*; 25:113–52.

- Metting, F.B., 1996. Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology*; 17(5-6):477-89.
- Moawad, S.K., 1968. Inhibition of coliform bacteria by algal population in microoxidation ponds. *Environ. Health*. 10, 106-112.
- Mohamed, N.A., 1994. Application of algal ponds for wastewater treatment and algal production. M.Sc. Thesis, Fac. of Sci. (Cairo Univ.) Bani-Sweef Branch.
- Mohn, F.H., 1988. Harvesting of micro-algal biomass, in *Micro-algal biotechnology*, Borowitzka M.A. and Borowitzka L.J., Editors. Cambridge University press: Cambridge; p. 395-414.
- Monod, J., 1949. The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology*; 3, 371-394.
- Morris, I, Syrett, P.J., 1963. The development of nitrate reductase in *Chlorella* and its repression by ammonium. *Archives of Microbiology*; 47:32-41.
- National Research Council, Safe Drinking Water Committee, 1977, *Drinking water and health*: National Academy of Sciences, v. 1.
- Nixon, S. W., 1995. Coastal marine eutrophication: A definition, social causes, and future concerns. *Ophelia*; 41: 199-219.
- NMX-AA-012-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de oxígeno disuelto en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-012-1980).
- NMX-AA-026-1980 Análisis de agua - Determinación de nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-026-1980).
- NMX-AA-028-SCFI-2001 Análisis de agua - Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO5) y residuales tratadas - Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-028-1981).
- NMX-AA-029-SCFI-2001 Análisis de agua - Determinación de fósforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-029-1981).
- NMX-AA-030-SCFI-2001 Análisis de agua - Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-030-1981).
- NMX-AA-036-SCFI-2001. Análisis de agua. Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-036-1980).
- NMX-AA-079-SCFI-2001 Análisis de agua - Determinación de nitratos en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-030-1981).
- NMX-AA-099-SCFI-2006 Análisis de agua - Determinación de nitrógeno de nitritos en aguas naturales y residuales - Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-099-1987).
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales.

Novotny, V., and Olem, H., 1994. Water quality: prevention, identification and management of diffuse pollution. Van Nostrand Reinhold, New York, New York, USA.

Nutrient recovery from waste water streams by microalgae: Status and prospects Ting Cai, Stephen Y. Park, Yebo Li n Department of Food, Agricultural and Biological Engineering, The Ohio State University, Ohio Agricultural Research and Development Center, 1680 Madison Ave., Wooster, OH 44691-4096, USA.

Nürnberg, G., 2001. Eutrophication and Trophic State. Lakeline; pp 29-33.

Oswald, W.J., 1988 (a). Large-scale algal culture systems (engineering aspects). In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J. (Eds), Microalgal Biotechnology, Cambridge University Press; pp. 357–394.

Oswald, W.J., 1988 (b). Micro-algae and wastewater treatment. In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J. (Eds.), Micro-algal Biotechnology, Cambridge University Press; pp. 305–328.

Oswald, W.J. 2003. My sixty years in applied algology. Journal of Applied Phycology. 15:99–106.

Oswald, W.J., Gotaas, H.B., 1957. Photosynthesis in sewage treatment. Transactions of American Society of Civil Engineers; 122, 73.

Parhad, N.M. and Rao, N.U., 1962. Effect of pH on Survival of *Escherichia coli*. Journal of the Water Pollution Control Federation; 34 pp 149-161.

Park, J.B.K., Craggs, R.J. 2010. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. Water Science and Technology 61, 633–639.

Perales Vela, HV, Peña Castro, J.M., Cañizares Villanueva, R.O., 2006. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. Chemosphere; 64: 1-10.

Phang, S.M., 1991. The use of microalgae to treat agro-industrial wastewater. In: Proceedings of a Seminar held at Murdoch Univ., Western Australia.

Phang, S.M., 1990. Algal production from Agro-industrial and agricultural wastes in Malaysia. Ambio: A Journal of the Human Environment; 19, 415–418.

Phang, S.M., Ong, K.C., 1988. Algal biomass production on digested palm oil mill effluent. Biological Wastes; 25, 177–191.

PNUMA, 2000. América Latina y el Caribe, en: Perspectivas del Medio Ambiente GEO-ALC del PNUMA Oficina Regional para América Latina y el Caribe, Costa Rica, p.144

PNUMA, 1999. Panorama General 2000, en: Perspectivas del Medio Ambiente Mundial PMAM. - División de Información y Evaluación Ambientales y Alertas Tempranas (DIEA y AT), PNUMA, Nairobi, Kenya, ([http://: www.unep.org](http://www.unep.org)).

Postel, S.L., Carpenter, S.R., 1997. Freshwater ecosystem services; p 195-214. In: G Daily, Ed, Nature's services. Island Press, Washington, DC, USA.

Pouliot, Y., Talbot, P., De la Noüe, J., 1986. Biotraitement du purin de poreparproduction de biomass. Entropie; 130 (131), 73–77.

Pulz, O., Gross, W., 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology; 65(6):635–48.

Pulz, O., Scheinbenbogan, K., 1998. Photobioreactors: design and performance with respect to light energy input. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology; 59:123–52.

Rahman, A., Ellis, J.T., Miller, C.D. 2012. Bioremediation of domestic wastewater and production of bioproducts from microalgae using waste stabilization Ponds. Journal of Bioremediation and Biodegradation 03 (06). <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6199.1000e113>.

Raynolds ,M, Fraser, R, Checkel, D., 2000. The relative mass energy- economic (RMEE) method for system boundary selection. The International Journal of Life Cycle Assessment; 5:37–46.

Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T. and Bux, F. 2011. Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. Applied Energy. 88:3411-3424.

Razif Harun, Manjinder Singh, Gareth M. Forde, Michael K. Danquah., 2010. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. Renewable and Sustainable Energy Reviews; 14 1037–1047.

Richmond, A., 1986. Handbook of microalgal mass culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science Ltd.

Rippka, R., 1972. Photoheterotrophy and chemoheterotrophy among unicellular blue-green algae. Archives of Microbiology; 87:93–8.

Rodrigues, A.M., Oliveira, J.F.S., 1987. Treatment of wastewaters from the tomato concentrate industry in high rate algal ponds. Water Science and Technology; 19, 43–49.

Rose, P.D., Hart, O.O., Shipin, O., Ellis, P.J., 2002. Integrated algal Ponding Systems and the Treatment of Domestic and Industrial Wastewater. Part 1: The AIWPS Model. Vol. 3 WRC Report No: TT 190/02.

Ryding, S.O., Rast, W., 1994. The Control of Eutrophication of Lakes and Reservoirs. Vol. I. UNESCO; p. 281

Sakai, N., Sakamoto, Y., Kishimoto, N., Chihara, M., Karube, I., 1995. *Chlorella* strains from hot springs tolerant to high temperature and high CO₂. Energy Conversion and Management; 36(6–9):693–6.

Sawayama, S., Hanada, S., Kamagata, Y., 2000. Isolation and characterization of phototrophic bacteria growing in lighted up flow anaerobic sludge blanket reactor. Journal of Bioscience and Bioengineering; 89 (4), 396–399.

- Sawayama, S., Rao, K.K., Hall, D.O., 1998. Nitrate and phosphate ions removal from water by *Phormidium laminosum* immobilized on hollow fibres in a photobioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 49, 463–468.
- Schenk, P., Thomas Hall, S., Stephens, E., Marx, U., Mussnug, J., Posten, C., 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *BioEnergy Research*; 1(1):20–43.
- Schlesinger, A., Eisenstadt, D., Bar-Gil, A., Carmely, H., Einbinder, S., Gressel, J. 2012. Inexpensive non-toxic flocculation of microalgae contradicts theories; overcoming a major hurdle to bulk algal production. *Biotechnology Advances*. 30 (397), 1023–30.
- Selman, M., Greenhalgh, S., Diaz, R. and Sugg, Z., 2008. Eutrophication and hypoxia in coastal areas: A global assessment of the state of knowledge. *World Resources Institute Policy Note*, No, 1. Washington D.C.; p.6.
- Shelef, G., Soeder, C.J., 1980. *Algal Biomass: production and use*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, p 852.
- Shi, J., Podola, B., Melkonian, M., 2007. Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. *Journal of Applied Phycology*; 19 (5), 417–423.
- Smith, B.T., Davis, R.H. 2012. Sedimentation of algae flocculated using naturally available, magnesium-based flocculants; *Algal Research*. 1 32–39.
- Smith, V.H., 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems a global problem. *Environmental Science and Pollution Research International*; 10, 126–139.
- Smith, V.H., Tilman, G.D. and Nekola, J.C., 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution*; 100 (1-3), 179-196.
- Soeder, C.J., Payer, H.D., Runkel, K.H., Beine, J., Briele, E., 1978. Sorption and concentration of toxic minerals by mass cultures of Chlorococcales. *Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* ; 21, 575–584.
- Spolaore, P., Joannis Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*; 101(2):87– 96.
- Stenholm, A., Holmström, S., Ragnarsson, A. 2009. Total nitrogen in wastewater analysis: comparison of Devarda's alloy method and high temperature oxidation followed by chemiluminescence detection. *Journal of Analytical Chemistry*; 64:1047–1053.
- Sunja, Cho., Thanh, Thao, Luong., Dukhaeng, Lee., You-Kwan, Oh., Taeho, Lee., 2011. Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production, *Bioresource Technology*; 102, pp.8639-8645.
- Talbot, P., De la Noüe, J., 1993. Tertiary treatment of wastewater with *Phormidium bohneri* (Schmidle) under various light and temperature conditions. *Water Research*; 27 (1), 153–159.
- Tan, Z., Lagerkvist, A., 2011. Phosphorus recovery from the biomass ash: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*; 15, 3588– 3602.

Thompson, G.A., 1996. Lipids and membrane function in green algae. *Biochemica et Biophysica*; 1306, 17-45.

Travieso, L., Benítez, F., Sánchez, E., Borja, R., Martín, A., Colmenarejo, M.F., 2006. Batch mixed culture of *Chlorella vulgaris* using settled and diluted piggery waste. *Ecological Engineering*; 28:158–65.

Tsuzuki, M., Ohnuma, E., Sato, N., Takaku, T., and Kayguchi, A., 1990. Effects of CO₂ concentration during growth on fatty acid composition in microalgae. *Plant Physiology*; 93, 851-856.

US EPA. 2002. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms. Third edition. US Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC.EPA-821-R-02-014. www.epa.gov/OST/WET/

US EPA. 2000. Nutrient Criteria Technical Guidance Manual, Lakes and Reservoirs. US Environmental Protection Agency, Office of Water, EPA-822-B00-001.

University of Florida. 1983. Trophic State: A Waterbody's Ability to Support Plants and Fish.

Veenstra, S., Alaerts, G.J. and Bijlsma, M., 1997. Technology Selection. In: Helmer, R. and Hespanol, I.: *Water Pollution Control - A Guide to the Use of Water Quality Management Principles*. WHO/UNEP, London, Published on behalf of the United Nations Environment Programme, the Water Supply & Sanitation, Collaborative Council and the World Health Organization by E. & F. Spon.

Vonshak, A., 2003. Outdoor mass production of *Spirulina*: the basic concept. In: Vonshak A, editor. *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*. London: Taylor & Francis; p. 79–99.

Vonshak, A., 1990. Recent advances in microalgal biotechnology. *Biotechnology Advances*; 8:709–27.

Vonshak, A., Abeliovich, A., Boussiba, S., 1982. Production of *Spirulina* biomass: effects of environmental factors and population density. *Biomass*; 2:175–185.

Wan Loy Chu., 2012. Biotechnological applications of microalgae. *International e - Journal of Science, Medicine & Education* 6 (Supplement 1): S24-S37.

Wang, L., Min, M., Li, Y., Chen, Y., Liu, Y., Wang, Y., Ruan, R., 2010. Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*; 162:1174–1186.

Wang, B., Lan, C., 2011. Biomass production and nitrogen and phosphorous removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. *Bioresource Technology*. 102(10), 5639-5644.

WHO., 1989. Health Guidelines for the Use of Wastewater in Agriculture and Aquaculture. WHO Technical Report Series No 517, World Health Organization, Geneva.

Woertz, I., Feffer, A., Lundquist, T., and Nelson, Y., 2009. Algae Grown on Dairy and Municipal Wastewater for Simultaneous Nutrient Removal and Lipid Production for Biofuel Feedstock. *Journal Environmental Engineering*; 135(11), 1115–1122.

Wu, Z., Zhu, Y., Huang, W., Zhang, C., Li, T., Zhang, Y. 2012. Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. *Bioresource Technology*; 110 496–502.

Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., Ying-xue, S., 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a fresh water microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*; 101:5494–500.

Yang, X., Wu, X., Hao, H., He, Z., 2008. Mechanisms and assessment of water eutrophication. *Journal of Zhejiang University Science ABC*; 9(3):197-209.

Yu, I.T., Su, J.J., Wu, J.F., Lee, S.L., Ju, C.C., Yen, H.T., 2005. Dietary modification for reducing electrical conductivity of piggery. *Wastewater*; 18 (9), pp.1343-1347.

Zaid-Iso, 1990. Water pollution in the Natural Rubber Industry. Special coordination Meeting of the working group on environmental biotechnology. Kuala Lumpur.

Zhu, G., Peng, Y., Li, B., Guo, J., Yang, Q., Wang, S., 2008. Biological removal of nitrogen from wastewater. *Reviews of Environmental Contamination Toxicology*; 192, 159–195.