UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE GUANAJUATO

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Validación de un prototipo de fotobiorreacción a escala semipiloto (50 L) para el tratamiento de agua residual empleando un consorcio microalgal (*Scenedesmus obliquus, S. quadricauda y Chlorella vulgaris*)

TESIS

Que para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Presenta

Ing. Miguel Ángel Ruiz Medina

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Arturo Salinas Martínez

Agosto de 2016 Cortázar, Gto, México.

Cortázar, Gto., a 28 de junio del 2016
Asunto: Impresión de tesis
Oficio No.: MCBA-022-2016

ING. MIGUEL ÁNGEL RUIZ MEDINA
NÚMERO DE MATRÍCULA 14019004
P R E S E N T E :

De acuerdo al reglamento en vigor y tomando en cuenta el dictamen emitido por el jurado que le fue asignado para la revisión de su documento de tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Biotecnología Agroalimentaria, se le informa que se ha AUTORIZADO LA IMPRESIÓN del trabajo titulado:

"Validación de un prototipo de fotobiorreacción a escala semipiloto (50 L) para el tratamiento de agua residual empleando un consorcio microalgal (*Scenedesmus obliquus*, *S. quadricauda* y *Chlorella vulgaris*)".

Sin más por el momento, me despido de Usted comentándole que este oficio firmado por los integrantes de su comité, debe ser incluido en el documento.

A T E N T A M E N T E

Dr. Arturo Salinas Martínez
Director Interno

Dra. Liliana Reynoso Cuevas
Director Externo

M. en C. Guillermo Arzate Martínez
Asesor

Dra. Gabriela Medina Ramos
Asesora

UPG
Maestría en Ciencias en Biotecnología Agroalimentaria

Arturo Salinas Martínez
Coordinador MCBA

C.c.p. Archivo

Universidad Politécnica De Guanajuato

Maestría en Ciencias en Biotecnología Agroalimentaria

Validación de un prototipo de fotobiorreacción a escala semipiloto (50 L) para el tratamiento de agua residual empleando un consorcio microalgal (*Scenedesmus obliquus, S. quadricauda y Chlorella vulgaris*)

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Ciencias en Biotecnología Agroalimentaria

Presenta:

Ing. Miguel Ángel Ruiz Medina

Dirigido por:

Dr. Arturo Salinas Martínez

Sinodales:

Dr. Arturo Salinas Martínez
Director Interno

_____
Firma

Dra. Liliana Reynoso Cuevas
Director Externo

_____
Firma

M. en C. Guillermo Arzate Martínez
Asesor

_____
Firma

Dra. Gabriela Medina Ramos
Asesora

_____
Firma

DEDICATORIA

Dedico el trabajo que llevó a la presentación de ésta tesis a toda mi familia, en especial a mis padres por su paciencia y sacrificio, son un apoyo fundamental en mi vida, a mis amigos por el apoyo brindado, a mis asesores por el apoyo en mi formación profesional. Y a las personas que, de alguna forma u otra, ayudaron para el desarrollo y culminación del proyecto y la redacción de esta tesis.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría comenzar agradeciendo a mis padres y a mi hermana por la fuerza de voluntad y motivación que me dan y a toda mi familia, por sus palabras de apoyo y motivación, gracias por ser parte fundamental en la realización de este proyecto.

A mis compañeros amigos de la maestría; Susy, Francisco y Roberto, por aportar siempre en busca de la culminación de nuestros proyectos de investigación, por permanecer unidos a pesar de las dificultades encontradas en el camino.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de Biotecnología Ambiental; Chio, Helena, Marlene, Quique y Valdy, por echarme la mano cuando lo necesitaba y hacer ameno el tiempo de trabajo en el laboratorio.

Al Dr. Arturo Salinas y a mis asesores por ser guías del presente trabajo.

A los amigos, compañeros y conocidos que no he mencionado pero que estuvieron presentes directa o indirectamente durante este proyecto.

A la Universidad Politécnica de Guanajuato por brindar el apoyo, materiales y espacios para la realización del proyecto.

A la Dra. Gabriela Medina Ramos por su gestión ante CONACYT del apoyo recibido para la construcción del prototipo a escala semipiloto.

Al Ing. Marcos García y a la Junta Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Cortázar (JUMAPAC) por las facilidades otorgadas para la realización de pruebas y toma de muestras.

RESUMEN

En la actualidad, el rápido crecimiento de la población mundial ha generado demandas de recursos naturales que han diezmado el equilibrio ecológico del planeta. En México uno de los recursos naturales más afectados es el agua, ya que un 64 % del volumen empleado es vertido sin ser tratado. Existen tecnologías de tratamiento eficientes, sin embargo, la mayoría de éstas generan residuos peligrosos como productos secundarios. Una alternativa a los tratamientos convencionales es la implementación del cultivo fotoautotrófico de microalgas como tratamiento de aguas residuales. En el presente trabajo se busca validar un prototipo tecnológico a escala semi-piloto de 50 L para la remoción de nitrógeno, fósforo y materia orgánica, en aguas residuales urbanas, empleando un consorcio microalgal (*Scenedesmus obliquus*, *S. quadricauda* y *Chlorella vulgaris*) nativo del Río Laja en Cortázar Gto., México. Se probaron, a escala 1 de 5 L, tres sistemas de fotobiorreacción, empleando cada uno una columna de burbujeo con 2.5 L de volumen de trabajo conectada a un fotobiorreactor con las configuraciones A (Placas planas), B (Placas planas con divisiones internas) y C (Tubular helicoidal). Como parte de la caracterización de los fotobiorreactores se cuantificó su capacidad para producir biomasa microalgal empleando medio basal Bold, mostrando mejores resultados la configuración C con una tasa de crecimiento específico de 0.082 días^{-1}. Se probaron los sistemas empleando aguas residuales urbanas como medio de cultivo inyectando 1 VVM de aire en la columna de burbujeo, la iluminación se suministró con 2 lámparas fluorescentes de 30 watts en ciclos de luz/oscuridad de 12 h., se determinó el contenido de nitrógeno, fósforo, materia orgánica y densidad celular cada 3 h durante 12 h. El mejor tratamiento probado fue el sistema C con una tasa de abatimiento de nitrógeno de 8.43 ± 0.32 mg/L·h. Con base en la geometría del sistema C, se construyó el prototipo a escala 10 de 50 L conservando el número de Reynolds calculado y empleando luz solar en lugar de iluminación artificial, las tasas de abatimiento obtenidas en ambas escalas 5 L (N 8.43, MO 9.74 mg/L·h) y 50 L (N 8.28, MO 10.74 mg/L·h) resultaron estadísticamente iguales. Por lo que, se recomienda realizar un nuevo estudio a un factor de escala mayor (500 L) con el objetivo de determinar las condiciones de operación adecuadas para ser aplicado como método de tratamiento secundario biológico en el tratamiento de aguas residuales urbanas a escala industrial. Adicionalmente se probó el uso de coagulantes para recuperar la biomasa producida obteniendo hasta un 80 % de recuperación.

ABSTRACT

Currently, the rapid growth of the world´s population has generated demands for natural resources that have decimated the planet's ecological balance. In Mexico, one of the most affected natural resource is water, since 64 % of the water used in urban settlements is poured into rivers and lakes without being appropriately treated. Efficient treatment technologies exist. However, most of these have hazardous byproducts. An alternative to conventional treatments is the association of photoautotrophic microalgae cultivation with wastewater treatment. This work seeks to validate a technological prototype at semipilot scale (50 L) for the removal of nitrogen, phosphorus and organic matter in urban wastewater by using a microalgal consortium (*Scenedesmus obliquus, S.quadricauda and Chlorella vulgaris*), native to the Laja River in Cortazar Gto., Mexico. Three photobioreaction systems were tested at scale factor 1 (5 L) comprised of a bubbling column (2.5 L working volume) connected to a photobioreactor with either configuration; A (flat plates), B (flat plates with internal divisions) or C (helical tubular). As part of the characterization of the photobioreaction systems, their capability to produce microalgal biomass was quantified using basal Bold media. System C showed better results with a specific growth rate of 0.082 $days^{-1}$. The systems were tested using urban waste water as culture medium injecting 1 VVM air in the bubble column, lighting was supplied with 2 30 watts fluorescent lamps in light/dark cycles of 12 h., the contents of nitrogen, phosphorus, organic matter and cell density were determined every 3 h for 12 h. The best configuration of the ones tested was the system C with nitrogen depletion rate of 8.43 ± 0.32 mg/L·h. The geometry of the system C was used to build a semipilot scale (50 L) maintaining the calculated Reynolds number and using sunlight instead of artificial lighting, the depletion rates obtained on both scales 5 L (N 8.43 and OM 9.74 mg/L·h) and 50 L (N 8.28 and OM 10.74 mg/L·h) were statistically equal. The time to comply with the parameters stated in NOM-001-SEMARNAT-1996 was estimated to be 12 h. Therefore, it is recommended to perform a new study applying a larger scale factor (500 L) in order to determine the operating conditions for its application as a biological secondary treatment in the urban wastewater treatment on an industrial scale. Additionally, the use of coagulants for recovering the biomass was tested. Obtaining up to 80% recovery using ferric chloride at a dose of 0.1 mg/L.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS 1
ÍNDICE DE TABLAS 2
LISTA DE ABREVIATURAS 3
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN 5
1.1 Descripción del problema 5
1.2 Planteamiento del problema 7
1.3 Marco de referencia 8
1.3.1 Contaminación del agua 8
1.3.2 Aguas residuales 9
1.3.3 Nutrientes y otros contaminantes en el agua residual 10
1.3.3.1. Materia orgánica 10
1.3.3.2 Nitrógeno 11
1.3.3.3 Fósforo 12
1.3.3.4 Otros agentes contaminantes del agua 13
1.3.4 Tratamiento de aguas residuales 14
1.3.5 Procesos biológicos como tratamiento secundario 16
1.3.5.1 Procesos de tratamiento aerobio 16
1.3.5.2 Procesos de tratamiento anaerobio 17
1.3.6 Normativa Mexicana de descargas de agua residual tratada 18
1.3.7 Aplicación de microalgas al tratamiento de aguas residuales 19
1.3.8 Interacción alga-bacteria 21
1.3.9 Cultivo de microalgas 21
1.3.9.1 Temperatura 22
1.3.9.2 Luz 23
1.3.9.3 Agitación 23
1.3.9.4 Nutrientes 24
1.3.9.5 Métodos de cultivo 26
1.4 Importancia del estudio para la disciplina 29
1.5 Objetivos 30

1.5.1 Objetivo general 30
1.5.2 Objetivos específicos 31
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA 32
2.1 Materiales 32
2.1.1 Material biológico 32
2.1.2 Sistemas de fotobiorreacción a escala 1 32
2.1.3 Sistemas de fotobiorreacción a escala 10 34
2.2 Métodos 36
2.2.1 Métodos analíticos 36
2.2.1.1 Nitrógeno total 36
2.2.1.2 Fósforo total 36
2.2.1.3 Materia orgánica 36
2.2.1.4 Densidad celular 37
2.3 Metodología experimental 37
2.3.1 Determinación de los parámetros cinéticos del consorcio en los sistemas 37
2.3.2 Determinación del número de Reynolds 38
2.3.3 Pruebas de tratamiento de aguas residuales en los prototipos a escala 1 (5L). 39
2.3.4 Pruebas del tratamiento de aguas residuales en la configuración con el sistema helicoidal a escala 10 (50 L) 40
2.3.5 Prueba de uso de coagulantes 41
2.3.6 Determinación del porcentaje de floculación 41
2.3.7 Cálculo del costo de tratamiento 42
2.4 Diseño experimental. 42
2.4.1 Análisis estadístico. 43
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. 44
3.1 Prototipos a escala 1 (5 L) 44
3.1.1 Pruebas de crecimiento celular y parámetros cinéticos del consorcio microalgal en los sistemas a escala 1. 44
3.1.2 Pruebas de tratamiento de aguas residuales en las tres configuraciones a escala 1 (5 L). 49
3.2 Prototipo de fotobiorreacción a escala 10 (50 L). 59
3.2.1 Pruebas de tratamiento de aguas residuales en la configuración con el sistema helicoidal a escala 10 (50 L). 60

3.3 Factibilidad técnica-económica del uso de coagulantes 62
CONCLUSIONES 65
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de construcción de los sistemas de fotobiorreacción a escala 1……....33

Figura 2. Diagrama de construcción de la columna de burbujeo a escala 10 (25 L de trabajo)……...…….....34

Figura 3. Diagrama de construcción del fotobiorreactor helicoidal escala 10 de 25 L…….……...35

Figura 4. Prototipos a escala 1 compuestos por una columna de burbujeo y un fotobiorreactor cerrado. a) sistema A, b) sistema B, c) sistema C…….....44

Figura 5. Comportamiento de la densidad celular en el tiempo (fase exponencial)……..45

Figura 6. Abatimiento de nitrógeno en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1……...….50

Figura 7. Abatimiento de fósforo en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1……..……...51

Figura 8. Abatimiento de materia orgánica en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1 ……...…....52

Figura 9. Comportamiento de la concentración celular en los sistemas a escala 1…….....53

Figura 10. Comparación de las tasas de abatimiento de contaminantes obtenidas en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1: a) Tasas de abatimiento de nitrógeno, b) Tasas de abatimiento de fósforo, c) Tasas de abatimiento de materia orgánica. Tukey α <0.05…….55

Figura 11. Prototipo de fotobiorreacción a escala 10…….59

Figura 12. Abatimiento de nutrientes en el sistema de fotobiorreacción a escala 10.....60

Figura 13: Eficiencia de los coagulantes sulfato de aluminio y cloruro férrico……63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Matriz del diseño experimental……...…...43

Tabla II. Densidad celular máxima y tiempo hasta alcanzar la fase estacionaria en las configuraciones de fotobiorreacción……...……..46

Tabla III. Parámetros cinéticos del consorcio microalgal nativo cultivado en los sistemas de fotobiorreacción……47

Tabla IV. Número de Reynolds a la entrada de los sistemas de fotobiorreacción……...…….48

Tabla V. Caracterización proximal de las aguas residuales urbanas recolectadas de la PTAR Insurgentes……49

Tabla VI. Comparación de medias obtenidas para tasas de consumo de nutrientes entre los tratamientos y corridas testigo……...58

Tabla VII. Comparación de tasas de abatimiento entre los sistemas helicoidales a escala laboratorio (5L) y 10 (50L)…….....62

LISTA DE ABREVIATURAS

˚C	Grados centígrados
µ	Tasa de crecimiento especifico
µm	Micrómetros
ANOVA	Análisis de varianza
BBM	Medio Basal Bold
C	Carbono
cm	Centímetro
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
DBO5	Demanda bioquímica de oxígeno al quinto día
DQO	Demanda química de oxígeno
EPA	U. S. Environmental Protection Agency
FBR	Fotobioreactor
g	Gramo
h	Hora
L	Litro
m	Metro
mL	Mililitro
MO	Materia orgánica
N	Nitrógeno
NH_3	Amoniaco
NH_4^+	Amonio

nm	Nanómetro
O	Oxígeno
OD	Densidad óptica
P	Fósforo
PET	Tereftalato de polietileno
PTAR	Planta tratadora de aguas residuales
PVC	Policloruro de vinilo
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
TRH	Tiempo de retención hidráulica
UV	Ultra violeta
Vis	Visible
VVM	Volumen de gas por volumen de medio por minuto
W	Watt

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción del problema.

El gran aumento de las poblaciones urbanas así como el desarrollo y el crecimiento industrial han derivado en problemas ambientales emergentes como la escasez y la contaminación del agua siendo de los problemas más graves a los que se enfrenta actualmente la humanidad. El origen de ésta contaminación son las actividades humanas, desde las aguas de uso doméstico hasta aquellas provenientes de procesos agrícolas e industriales.

México es un país en vías de desarrollo en el que la descarga de aguas residuales aumenta día con día. Las descargas son realizadas en cuerpos de agua como ríos y lagos, sin embargo el ritmo al que ingresan las cargas de nutrientes como (N) y fósforo (P) han rebasado la capacidad de los sistemas ecológicos para su manejo, favoreciendo la proliferación de fitoplancton llegando a estados de eutrofización, término que se define desde el punto de vista ambiental como el enriquecimiento de agua con nutrientes (Khan y Ansari, 2005), la eutrofización es causante de zonas muertas en cuerpos de agua debido al consumo del oxígeno disuelto, lo que deriva en el desequilibrio trófico del cuerpo de agua en cuestión al imposibilitar el desarrollo de otras formas de vida en el mismo, además, las aguas contenidas en el cuerpo eutrofizado pueden llegar a afectar la estabilidad de otros sistemas hidrológicos como mantos acuíferos, costas y mares. De acuerdo con el INEGI (2010), en Guanajuato las principales actividades económicas dentro del sector primario son la agricultura, ganadería, aprovechamiento forestal, pesca y caza; mientras que en el sector secundario domina la industria manufacturera. Algunas de éstas actividades son consideradas como las principales causantes de descargas con altos contenidos de nutrientes (Yang *et al*., 2008). Otra fuente importante de descarga de aguas residuales son las provenientes de manchas urbanas, de las cuales, a nivel nacional, sólo el 36 % reciben tratamiento antes de ser vertidas (SEMARNAT, 2008). En la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) Insurgentes

del municipio de Cortázar se reciben 605 m^3/día de aguas residuales compuestas principalmente por efluentes domésticos e industriales.

Existen tecnologías de remediación química y biológica que permiten llevar a cabo un proceso de depuración satisfactorio de acuerdo a la normatividad vigente, siendo el caso para la legislación mexicana la NOM-001-SEMARNAT-1996. Sin embargo, en el caso de la remediación química, se requiere del uso de agentes químicos que deben ser eliminados antes de la disposición final del efluente. En cuanto a la remediación biológica el método más común es el de lodos activados que generan productos que deben ser tratados posteriormente como un residuo peligroso.

El tratamiento secundario de aguas residuales en fotobiorreactores con microalgas ha mostrado resultados satisfactorios, aunado a la ventaja de que la biomasa que se produce puede ser transformada en bioproductos que dan a estos tratamientos un valor agregado. De acuerdo a sus capacidades metabólicas, las microalgas adaptadas a cauces con exceso de nutrientes, como las del Río Laja, pueden aprovechar la presencia de dichas sustancias para su crecimiento, al mismo tiempo que puede ayudar a afrontar problemas como la escasez y la contaminación del agua, el control de las emisiones de CO_2 y otras sustancias tóxicas a la atmósfera, ayudar en la producción de alimentos en suficiencia y de calidad, manejo de residuos industriales, así como la atención de las demandas de obtención de biocombustibles alternos a los combustibles fósiles.

La implementación de un sistema de fotobiorreacción que utilice un consorcio microalgal nativo para el tratamiento de aguas residuales urbanas en Cortázar, Gto., tiene potencial como una herramienta biotecnológica para hacer frente a las necesidades de tratamiento de aguas residuales locales a fin de mantener el equilibrio ecológico de los cuerpos de agua en los que son liberados los efluentes.

1.2 Planteamiento del problema

¿Es posible desarrollar un proceso de escalamiento basado en criterios geométricos e hidrodinámicos en un sistema de fotobiorreacción destinado a procesar agua residual doméstica controlando los parámetros nitrógeno, fósforo y materia orgánica acordes con lo estipulado en la normatividad mexicana, empleando un consorcio nativo de microalgas formado por *Scenedesmus obliquus, S.quadricauda y Chlorella vulgaris*?

1.3 Marco de referencia

1.3.1 Contaminación del agua

Aun siendo el agua una sustancia abundante en el planeta Tierra, el 97.5% es agua salada contenida en los mares y los océanos, y sólo 2.5% es la llamada agua dulce. Esta última, en su mayoría, se encuentra en glaciares y capas de hielo, principalmente en Groenlandia y la Antártica. También una porción importante se encuentra atrapada en depósitos subterráneos profundos de difícil acceso y sólo 0.3% del agua dulce se localiza en lugares que podríamos llamar accesibles para ser utilizada por los seres vivos de las zonas continentales, incluyendo al hombre (SEMARNAT, 2008). El aumento de la población y su concentración en los núcleos urbanos, así como el desarrollo industrial, han provocado una alza en la demanda de agua dulce así como un incremento de las descargas de aguas residuales vertidas en los cuerpos de agua como ríos o mares, hasta el punto de no poder ser procesadas por los mecanismos naturales de depuración. La contaminación del agua se puede definir como la acción y efecto introducir materias o formas de energía o inducir condiciones en el agua que, de modo directo o indirecto, que impliquen una alteración perjudicial de su calidad en relación con sus usos posteriores o su función ecológica (Regodón, 2007; Tchobanoglous *et al*., 2003). Una de las consecuencias de la contaminación del agua es la eutrofización de cuerpos de agua que 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 Ansari, 2005).

1.3.2 Aguas residuales

Se puede definir como agua residual a las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, mineros y en general de cualquier otro uso junto con todos aquellos residuos líquidos o sólidos de composición variada acarreados por las aguas provenientes, pudiéndose incluir también aguas que proceden de la lluvia y las que discurren por calles y espacios libres, así como sus mezclas (NOM-001-SEMARNAT-1996; Tchobanoglous *et al*., 2003). La eliminación del agua residual se conoce como vertido (Durán, 2012; Tchobanoglous *et al*., 2003). De acuerdo con su procedencia las aguas residuales se pueden clasificar en (Gordon *et al*, 1973; Hernández, 2000):

a) Aguas residuales urbanas, aquellas generadas en los núcleos de población urbana como consecuencia de las actividades propias de sus habitantes, como las labores de limpieza y servicios sanitarios domésticos. Las aguas residuales urbanas presentan una cierta homogeneidad en cuanto a composición y carga contaminante. Sin embargo esa homogeneidad tiene márgenes amplios, ya que las características de cada vertido urbano van a depender del núcleo de población en el que se genere, influyendo parámetros tales como el número de habitantes o la existencia de industrias dentro del núcleo, tipo de industria, entre otros.

b) Las aguas residuales industriales son aquellas vertidas por cualquier actividad o negocio en cuyo proceso de producción, transformación o manipulación se utilice el agua. Son enormemente variables en cuanto a caudal y composición, difiriendo las características de los vertidos, no sólo de una industria a otra, sino también dentro de un mismo tipo de industria.

c) Las aguas residuales agrarias son aquellas que se originan de actividades de agricultura y ganadería.

1.3.3 Nutrientes y otros contaminantes en el agua residual

Los nutrientes son elementos indispensables que pueden ser asimilados y metabolizados para el crecimiento de los organismos vivos y forman parte de la composición química de cualquier agua residual. Carbono (C), nitrógeno (N), oxígeno (O) y fósforo (P) son los principales nutrientes también llamados macronutrientes. Mismos que se encuentra en forma de compuestos. Los compuestos que contiene cadenas de 2 o más átomos de carbono son llamados compuestos orgánicos y constituyen la llamada materia orgánica (MO). No todos los compuestos orgánicos pueden ser llamados nutrientes, puesto que no todos son asimilables por los organismos. Los compuestos que no contienen carbono como los formados por moléculas con nitrógeno y fósforo que son asimilables por los organismos son llamados nutrientes inorgánicos (Madigan *et al*., 2004).

1.3.3.1 Materia orgánica

La materia orgánica está constituida por los residuos orgánicos producidos por los seres humanos y seres vivos en general, incluyendo las heces humanas (100-500g en peso húmedo de heces *per cápita* al día), contribuyendo con 15 a 20 g de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5) por día (Bitton, 2005); otros materiales, como petróleo, gasolina, plásticos, plaguicidas, disolventes, detergentes, que al ser sintéticos son más difícilmente descompuestos por microorganismos aerobios (Echarri, 2007). Debido a la complejidad en la composición de la materia orgánica en aguas residuales, esta sólo puede ser medida indirectamente por los siguientes parámetros: sólidos totales, sólidos suspendidos, sólidos sedimentables, materia flotante, grasas y aceites, demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO) (Atlas y Bartha, 2002). La materia orgánica proveniente de aguas residuales, produce en un cuerpo receptor los siguientes impactos (Tchobanoglous *et al*., 2003; Bitton, 2005):

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

1.3.3.2 Nitrógeno

Su presencia en las aguas residuales es debida a los detergentes y fertilizantes, principalmente. El nitrógeno orgánico también es aportado a las aguas residuales a través de las excretas humanas (Gordon *et al*, 1973). En promedio la concentración de nitrógeno total encontrado en las aguas residuales domésticas es de 35 mg/L (Bitton, 2005). En las aguas residuales domésticas, el nitrógeno es encontrado en forma de nitrógeno orgánico, nitrito, nitrato y amonio. A pH neutro, el 99% del amoniaco (NH_3) se encuentra protonado formando el ion amonio (NH_4^+) (Bitton, 2005). El agua residual puede introducir altas cantidades de amonio y nitratos al ambiente de los cuerpos de agua receptores. Esto puede generar problemas ambientales, los cuales de acuerdo con la EPA (1975) pueden ser:

- Toxicidad en animales acuáticos. El amoniaco es tóxico para los organismos como peces.
- Agotamiento del oxígeno disuelto. El amonio aumenta la demanda de oxígeno del cuerpo de agua receptor.
- Eutrofización de aguas superficiales. La descarga de nitrógeno a los cuerpos de agua receptores puede estimular el crecimiento masivo de algas y plantas por asimilación autotrófica.
- Efecto negativo del amonio sobre la eficiencia de la desinfección por cloración. El cloro se combina con el amonio para formar la sal cloruro de amonio y cloroaminas las cuales reducen el efecto germicida del cloro libre.
- Efecto corrosivo. Las concentraciones mayores a 1 mg/L de amonio tienen un efecto corrosivo en las tuberías de cobre.

1.3.3.3 Fósforo

La mayoría de las aportaciones de fósforo a las aguas residuales provienen de escurrimientos de las tierras agrícolas debido al arrastre de fertilizantes y de los efluentes de agua residual doméstica e industrial principalmente a consecuencia de la presencia de detergentes. Al igual que el carbono y el nitrógeno, el fósforo se puede encontrar en el ambiente de manera orgánica e inorgánica (Gordon *et al*, 1973). Debido a su reactividad, el fósforo no se encuentra libre en la naturaleza, por lo que principalmente se encuentra como fosfato, específicamente como ortofosfato con un porcentaje de hasta el 90% respecto a otras especies (Carpenter *et al*., 1998; Meganck y Faup, 1988). La concentración promedio de fósforo total (orgánico e inorgánico) en agua residual es de 10-20 mg/L, del cual mucho proviene de los detergentes convencionales de uso doméstico (Bitton, 2005).

La eutrofización de los cuerpos de agua receptores es el principal efecto del exceso de fosfato en combinación con exceso de nitrógeno. Este término designa al enriquecimiento de nutrientes en un ecosistema. Para que el proceso de eutrofización se presente, se tienen que dar concentraciones altas de nutrientes, específicamente de N y P (Blackburn, 2004: Khan y Ansari, 2005). La eutrofización produce de manera general un aumento de la biomasa y un empobrecimiento de la diversidad biológica del ecosistema. Como impactos negativos sobre los ecosistemas causados por la eutrofización se pueden enlistar la disminución en la biodiversidad, cambios en la composición y dominancia de especies y efectos tóxicos (Reynolds, 1984).

1.3.3.4 Otros agentes contaminantes del agua

Existen otros componentes que se encuentran de cotidianamente en las aguas residuales pero que, por la naturaleza de las mismas, no pueden ser consideradas como nutrientes sino como agentes contaminantes, dentro de los cuales se pueden mencionar (Gordon *et al.*, 1973; Tchobanoglous *et al*., 2003; Echarri, 2007):

- Microorganismos patógenos. Son los diferentes tipos de bacterias, virus, protozoos y otros organismos que transmiten enfermedades como el cólera, tifus, gastroenteritis diversas, hepatitis, entre otras. Normalmente estos microbios llegan al agua en las heces y otros restos orgánicos que producen las personas infectadas.
- Arenas. Partículas de tamaño apreciable y que en su mayoría son de naturaleza mineral. Las arenas enturbian las masas de agua cuando están en movimiento, o forman depósitos de lodos en condiciones adecuadas para sedimentar.
- Sustancias químicas inorgánicas. En este grupo están incluidos ácidos, sales y metales tóxicos. Si están en cantidades altas pueden causar graves daños a

los seres vivos, disminuir los rendimientos agrícolas y corroer los equipos y tuberías que se usan para trabajar con el agua.

- Sustancias radiactivas. Isótopos radiactivos solubles pueden estar presentes en el agua y mismos que pueden acumularse a lo largo de las cadenas tróficas.
- Contaminación térmica. El agua caliente liberada por centrales de energía o procesos industriales eleva la temperatura de ríos o embalses con lo que disminuye su capacidad para contener oxígeno y afecta a la vida de los organismos nativos.

1.3.4 Tratamiento de aguas residuales

Los métodos de tratamiento de aguas residuales consisten en la combinación de procesos físicos, químicos y biológicos. Dichos procesos se combinan en etapas llamadas operaciones y procesos unitarios para formar una cadena de procesos o tratamientos que abarcan los tratamientos preliminar, primario, primario avanzado, secundario y tratamiento terciario (Tchobanoglous *et al*., 2003). Lo que se busca con el tratamiento de aguas residuales es acelerar los procesos que se generan en la naturaleza para la autodepuración de un volumen de agua con el objetivo de obtener un agua limpia para su disposición final o reutilización (Piedrola, 2000).

Los tratamientos preliminares se realizan como antecedente a los tratamientos primarios para eliminar desechos grandes y voluminosos. Para estos procesos son utilizadas rejillas donde se retiene todo el material grueso, tamices con aberturas menores para remover un porcentaje más alto de sólidos, unidades encargadas de retener arenas, guijarros, tierra y otros elementos vegetales o minerales de las aguas. En la siguiente etapa de tratamiento,

conocida como tratamiento primario se busca remover los materiales que son posibles de sedimentar, usando tratamientos físicos en tanques de sedimentación. En este tipo de tratamiento se pueden retirar de un 60 a un 65% de los sólidos sedimentables y de 30 a 35% de los sólidos suspendidos en las aguas residuales; los tratamientos primarios avanzados buscan el mismo objetivo pero con la adición de compuestos químicos que mejoren el proceso de sedimentación (Tchobanoglous *et al*., 2003). El propósito de los tratamientos secundarios es eliminar desechos y sustancias que no pudieron ser eliminados con la sedimentación y para remover la demanda bioquímica de oxígeno. Puede incluir procesos biológicos y químicos, sin embargo los procesos biológicos tienen una eficiencia mayor a con un costo de proceso menor que los tratamientos químicos (Grady *et al*., 2011). Este proceso acelera la descomposición de los contaminantes orgánicos, transformándolos en especies inocuas como dióxido de carbono y/o nitrógeno gaseoso o son asimilados como crecimiento de biomasa que posteriormente puede ser separada del efluente mediante una operación física. El procedimiento secundario más habitual es el de lodos activados en el que se facilita que microorganismos aerobios o anaerobios digieran la materia orgánica y nutrientes tales como el nitrógeno (N) y fósforo (P) presentes en las aguas residuales presentes (Tchobanoglous *et al*., 2003; Grady *et al*., 2011). Los tratamientos terciarios consisten en procesos físicos para eliminar los sólidos suspendidos producidos durante el tratamiento secundario y químicos con los que se consigue limpiar las aguas de contaminantes residuales concretos como fósforo, nitrógeno, minerales, metales pesados, compuestos orgánicos, etc. En esta unidad de tratamiento también se incluyen los procesos destinados a la desinfección, eliminación de microorganismos tales como bacterias, virus y amebas, entre otros, empleando medios químicos y/o físicos. Es un tipo de tratamiento más caro que los anteriores y se usa en casos más especiales, por ejemplo para purificar desechos de algunas industrias. Algunas veces el tratamiento terciario se emplea para mejorar los efluentes del tratamiento biológico secundario (Tchobanoglous *et al*., 2003).

1.3.5 Procesos biológicos como tratamiento secundario

Los tratamientos secundarios biológicos son considerados como más amigables con el medio ambiente además de ser métodos menos costosos, especialmente si se comparan con los tratamientos químicos. Los tratamientos biológicos utilizan microorganismos para reducir el contenido de materia orgánica y los nutrientes presentes en concentraciones altas en aguas residuales, en particular N total y P total y, en algunos casos, metales tóxicos por lo que el uso de tratamientos químicos se convierte en una opción no viable (Gasperi *et al*., 2008). Los principales procesos biológicos utilizados para el tratamiento de aguas residuales se pueden clasificar en 3 grupos: procesos aerobios, procesos anaerobios y procesos combinados. Que a su vez se dividen en sistemas de cultivo en suspensión, sistemas de cultivo fijo e intermedios (Tchobanoglous *et al*., 2003).

1.3.5.1 Procesos de tratamiento aerobio

Los procesos de tratamiento aerobios de cultivo en suspensión son empleados generalmente para eliminar la materia orgánica de las aguas domésticas residuales. En estos tratamientos los microorganismos encargados de los procesos se mantienen en suspensión con los compuestos disueltos contenidos en las aguas residuales a tratar (Sans, 1999). Uno de los más ampliamente empleados es el sistema de lodos activados. Se trata de un proceso aeróbico en el que partículas gelatinosas de lodo quedan suspendidas en un tanque de aireación en el que reciben oxígeno. Las partículas de lodo activado, llamadas flóculos, están compuestas por millones de bacterias en crecimiento activo. Los flóculos utilizan la materia orgánica y la convierten en productos aeróbicos. La reducción de la DBO_5 fluctúa entre el 60 y el 85 % (Muñoz, 2008). Los flóculos que consisten principalmente de bacterias, también contienen compuestos poliméricos extracelulares que están involucrados con la capacidad de sedimentarlos. Debido a su alta densidad, estos flóculos se eliminan por sedimentación cuando son trasladados de la zona de mezclado y aireación a un clarificador. Una parte de

los lodos se recoge y se lleva a un proceso de digestión anaerobia y una porción se recicla al influente de las aguas residuales para mantener la población óptima de microorganismos (Tchobanoglous *et al*., 2003).

Otra forma de tratamiento biológico es el estanque de estabilización o laguna de oxidación, que requiere una extensión de terreno considerable. Las lagunas de estabilización que funcionan en condiciones mixtas son las más comunes, con una profundidad de 0.6 a 1.5 m y una extensión superior a una hectárea. En la zona del fondo, donde se descomponen los sólidos, las condiciones son anaerobias mientras que la zona próxima a la superficie es aeróbica, permitiendo la oxidación de la materia orgánica disuelta y coloidal. Puede lograrse una reducción de la DBO_5 de un 75 a un 85 % (Muñoz, 2008).

Los procesos en los que se emplean cultivos fijos tienen las mismas características que los procesos de cultivo en suspensión, con la diferencia de que en estos procesos los microorganismos se mantienen fijos en soportes físicos o en lechos formados por materiales inertes permeables (Sans, 1999). Algunos métodos de cultivo fijo son los reactores de discos rotatorios, reactores de película fija y los de filtro por goteo (Tchobanoglous *et al*., 2003).

1.3.5.2 Procesos de tratamiento anaerobio

Los procesos de tratamiento anaerobio son utilizados principalmente para la estabilización de fangos, residuos industriales y residuos orgánicos diluidos. En estos procesos se produce la descomposición de la materia orgánica e inorgánica en ausencia de oxígeno. Los procesos anaerobios se dividen en cultivos en suspensión y cultivos fijos. Los principales procesos de cultivo en suspensión son: digestión anaerobia y procesos anaerobios de contacto (Sans, 1999).

En los procesos de digestión anaerobia, la materia orgánica contenida en los fangos primarios y biológicos se convierte biológicamente, bajo condiciones anaerobias, en metano y dióxido de carbono. El fango tratado no es putrescible y su contenido en organismos patógenos es muy bajo (Muñoz, 2008). Por otra parte los procesos anaerobios de contacto son recomendables en el procesamiento de aguas residuales industriales con alta carga de DBO. En este método el agua residual se mezcla con fango recirculado y se digiere en un reactor anaerobio. Tras la digestión se realiza el mezclado completo del reactor y se separan los fangos en un clarificador o unidad de flotación al vacío. El sobrenadante se vierte como efluente y los fangos sedimentados se recirculan a la entrada del proceso (Sans, 1999).

1.3.6 Normativa Mexicana de descargas de agua residual 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 de agua receptores, a su vez la NOM-002-SEMARNAT-1996, establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de agua residual el sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Su objetivo es el de proteger la calidad del agua, la estabilidad de los sistemas ecológicos a los que son vertidas aguas residuales, así como asegurar la integridad de la infraestructura destinada a la recolección de aguas residuales y posibilitar sus usos posteriores. Estas normas especifican los tipos de cuerpos receptores y fijan los límites máximos permisibles para contaminantes básicos, patógenos y tóxicos en función del tipo de descarga.

Por otra parte la NOM-003-SEMARNAT-1997, establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público, con el objeto de proteger el medio ambiente y la salud de la población. Las normas

mencionadas son de observancia obligatoria para los responsables de la generación de descargas de aguas residuales, su tratamiento, transporte y reuso.

1.3.7 Aplicación de microalgas al tratamiento de aguas residuales

Las microalgas son organismos fotosintéticos que poseen pigmentos que les permiten convertir la energía lumínica del sol en energía química, destinada para su propia subsistencia (Andersen, 2005). Pueden ser organismos procariotas o eucariotas, unicelulares con tamaño promedio entre los 5–50 μm, presentan morfologías variadas, y contienen pigmentos resultando estos responsables de dar colores variados a las microalgas como son la clorofila-*a* y la clorofila-*b* (color verdoso en algas verdes presente también en plantas), la clorofila-*c* en algas pardas y diatomeas, la clorofila-*d* presente en algas rojas y algunos tipos de carotenoides (Barsanti y Gualtieri, 2006; Ruiz-Martínez, 2011).

Las microalgas pueden encontrarse en todos los ecosistemas, tanto acuáticos como terrestres, lo que implica una gran variedad de especies que viven en diferentes condiciones ambientales, varían en cuanto a concentración en los medios acuáticos, generalmente de 10^2 – 10^5 Células/mL (Richmond, 2004). Éstas representan una de las formas de vida más antigua que se conoce, son consideradas como ancestros evolutivos de las plantas (Brennan y Owende, 2010). Su gran diversidad metabólica, relacionada directamente con su modo de nutrición, permite que las microalgas sean presentadas como una potencial herramienta biotecnológica en diversas áreas tecnológicas. El modo de nutrición de las microalgas es diverso y complejo por haber combinaciones en diferentes niveles entre los varios modos de nutrición. Con base en los modos de nutrición (o regímenes) de carbono y energía, las algas tienen dos grandes formas de nutrición. Los organismos autótrofos son organismos que obtienen todos los elementos que necesitan para crecer de compuestos inorgánicos y la energía a partir de luz (fotoautótrofa) o la oxidación compuestos inorgánicos o iones

(quimioautótrofa). Los organismos heterótrofos obtienen su alimento y energía de los compuestos orgánicos sintetizados por otros organismos. Existen varios tipos de heterotrofía (Kaplan *et al*., 1986), tales como:

- La quimoheterotrofía (organotrofía): la energía es obtenida por oxidación de compuestos orgánicos que también sirven como fuente de carbono;
- Mixotrofía: la luz es la principal fuente de energía, de manera paralela los compuestos orgánicos y/o el CO_2 son indispensables;
- Fotoheterotrofía: se requiere indispensablemente de la luz para asimilar los compuestos orgánicos.

Los microorganismos fotosintéticos han recibido en los últimos años mayor atención, especialmente en las regiones tropicales y subtropicales, como un biosistema alternativo para el tratamiento de aguas residuales. Tales microorganismos se han utilizado principalmente en procesos de tratamiento secundario o terciario, debido a su habilidad de remover nutrientes inorgánicos como el nitrógeno y el fósforo de las aguas residuales, que son asimilados para su crecimiento (Carlsson *et al*., 2007). El tratamiento de aguas residuales urbanas con tecnologías basadas en microalgas ofrece una alternativa de bajo costo a los procesos de tratamiento convencionales. En este sistema, las microalgas asimilan los nutrientes disueltos en las aguas residuales para su crecimiento, generan oxígeno a través de la fotosíntesis ofreciendo así un ambiente aeróbico de bajo costo y eliminan indirectamente patógenos y virus mediante el aumento del pH (8.5-9), la temperatura y la concentración de oxígeno disuelto durante el metabolismo fotoautotrófico (Ansa *et al*, 2011; Muñoz y Guieysse, 2006). 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 $Ca(PO_4)_2$ como resultado del aumento del pH inducido por la interacción con las microalgas (Hammouda, *et al*., 1994). El tratamiento biológico con microalgas resulta atractivo debido a sus capacidades fotosintéticas y su conversión de los nutrientes asimilados y la energía solar en biomasa (De la Noüe y

Proulx, 1988) mostrándose como una gran ventaja el no generar contaminación adicional por desechos cuando se cosecha la biomasa, permitiendo así un reciclaje eficiente de los nutrientes presentes en aguas residuales (González *et al*., 1997). Además de que a partir de la producción de microalgas se obtiene la materia prima para la producción de biocombustibles que puede ayudar a la mitigación de emisiones de CO_2 (Carlsson *et al*., 2007).

1.3.8 Interacción alga-bacteria

Los procesos de interacción entre algas y bacterias que conviven en un mismo medio son variados y complejos (Santos y Reis, 2014). Las relaciones establecidas entre ellas pueden estar encaminadas a la estimulación o inhibición en el desarrollo de las otras comunidades que se encuentran presentes (Subashchandrabose *et al*., 2011). Sin embargo, existe una relación simbiótica que puede establecerse entre las microalgas y las bacterias, en el que el papel de las primeras no es sólo la asimilación de nutrientes sino también proveer oxígeno a las bacterias presentes en los sistemas de tratamiento, las cuales a su vez, se encargan de la degradación de la materia orgánica en las aguas residuales (Oswald, 1988; Praveen y Loh, 2015; Tricolici *et al.*, 2014; Su *et al*., 2011; Medina y Neis, 2007).

1.3.9 Cultivo de microalgas

El crecimiento de microorganismos es influenciado por factores químicos como la concentración de sustrato, factores físicos como las propiedades dinámicas del sistema, entre otros factores limitantes que pueden afectar las condiciones en las que se lleva a cabo el cultivo. En el cultivo de microalgas se requieren condiciones ambientales específicas,

algunos de los factores más importantes son: la temperatura, intensidad de la luz incidente, las condiciones de mezclado y agitación, la composición de nutrientes en el medio, entre otros. Cada especie y subespecie de microalga presenta sus características propias respecto a condiciones óptimas de crecimiento, así como productividades máximas alcanzadas en diferentes configuraciones de sistema de cultivo. A continuación se presenta un breve resumen de los principales requisitos para el cultivo de microalgas (Lee, 2001; Richmond, 2004; Ruiz-Martínez, 2011).

1.3.9.1 Temperatura

Al igual que con otros microorganismos, las tasas de crecimiento de microalgas generalmente aumentan al incrementar la temperatura hasta que alcanza un óptimo. Una vez que este nivel se alcanza, el crecimiento se frena con el aumento de temperatura. *Chlorella* destaca por ejemplo en este aspecto, ya que puede crecer entre 5 y 42 ºC (Ruiz-Martínez, 2011). Esto es importante cuando se realiza el cultivo al aire libre, donde la capacidad para controlar la temperatura es limitada y con frecuencia dependiente de la temperatura ambiente y la irradiación solar. Las temperaturas de cultivo de microalgas al aire libre pueden sufrir una fluctuación de hasta 20 °C entre el día y la noche (Borowitzka, 2005). Esta fluctuación hace que sea muy difícil mantener de manera eficiente la temperatura de crecimiento óptima. En general, las temperaturas por debajo del rango óptimo no son letales para las microalgas siempre y cuando el agua no alcance su punto de congelación. Sin embargo, las temperaturas por encima del óptimo si pueden ser letales (Weissman y Goebel, 1985).

1.3.9.2 Luz

Los organismos fotosintéticos sólo emplean la fracción del espectro de luz solar que es fotosintéticamente activa, es decir entre 350 y 700 nm. La luz solar o artificial es la fuente principal de energía para las células de microalgas en cultivo fotoautotrófico. La disponibilidad de luz es crítica, a intensidades de luz muy bajas el crecimiento del cultivo también es bajo. La actividad fotosintética de las células aumenta con la intensidad de la luz hasta llegar a un punto de saturación, donde el aumento en la intensidad de la luz ya no aumenta la tasa fotosintética. Intensidades superiores a este punto pueden incluso dañar los complejos receptores de luz en los cloroplastos de las células, disminuyendo la tasa de fotosintética, a este fenómeno se le conoce como fotoinhibición (Lee, 1999).

Otro de los problemas asociados a la luz en cultivos de microalgas es el sombreado producido por altas densidades celulares. Las células más cercanas a la superficie de exposición reciben la mayor parte de la luz disponible, mientras que las células en estratos más profundos tienen menor disponibilidad de luz. Para lograr una distribución uniforme de la luz, parámetros tales como la profundidad del líquido y la agitación, son de suma importancia (Grobbelaar, 1989; Grobbelaar, 1994).

1.3.9.3 Agitación

Como se mencionó anteriormente, el sombreado es un problema común que limita los cultivos con altas densidades celulares. Una homogenización adecuada también permite una mejor absorción de nutrientes, minimiza los gradientes de temperatura, impide la sedimentación de las células, asegura la distribución de los gases y la luz. La agitación

adecuada es capaz de someter a las algas a ciclos rápidos de mezclado pasando de una zona oscura a una zona iluminada (Ruiz-Martínez, 2011).

Bajo las condiciones descritas se entiende que un flujo turbulento es ideal en cultivos de alta densidad. Sin embargo, altos niveles de agitación provocan estrés hidrodinámico derivado de métodos de agitación y la geometría del sistema; la agitación por aireación puede provocar daño celular conocido como *shear damage*, limitando el desarrollo de cultivos de especies particulares con alta sensibilidad a esfuerzos mecánicos. Por lo tanto, en los fotobiorreactores con alta densidad de cultivo se debe maximizar la superficie de exposición a la luz y disponer del mezclado adecuado de acuerdo con el sistema en el que se trabajará y las características de la especie a cultivar (Barbosa *et al*., 2003, Vega-Estrada *et al*., 2005, Sobczuk *et al*., 2006, García *et al*., 2000, García *et al*., 2001).

1.3.9.4 Nutrientes

Las algas requieren diversos nutrientes inorgánicos con el fin de lograr un cultivo sano y con alta productividad de biomasa. Estos nutrientes incluyen macronutrientes, vitaminas y elementos traza (Brzezinski, 1985). Las microalgas pueden emplear como fuente de carbono el CO_2 presente en la atmósfera. En promedio, son capaces de tolerar hasta unas 150,000 ppm de CO_2 en aire. En general, las microalgas pueden tomar nitrógeno del medio en forma de urea, amonio, nitrato, nitrito, nitrógeno gaseoso y óxidos de nitrógeno (NOx) en algunos casos (Xin, 2010).

El nitrógeno en forma de amonio inhibe el crecimiento de las microalgas, ya que es tóxico para los organismos fotosintéticos en general. El amonio desacopla el transporte

electrónico en el fotosistema II. La tolerancia a él depende de la especie en cuestión (Ruiz-Martínez, 2011).

El fósforo es otro de los macronutrientes en el crecimiento de las microalgas. Éste es asimilado en forma de ortofosfatos. Un pH excesivamente alto o bajo, o la ausencia de iones como potasio, sodio o magnesio son algunos de los factores que afectan la absorción de fosfatos por parte de las microalgas. La cantidad necesaria de fósforo es mucho menor que la de nitrógeno para una misma cantidad de biomasa generada. Para la microalga *Chlorella* la relación N:P óptima es de 8:1, según Aslan y Kapdan (2006).

De acuerdo con Lee (2001), Romo (2002) y Fogg y Thake (1987) las fases de crecimiento que se desarrollan en un cultivo de microorganismos y microalgas son:

- Fase de latencia o adaptación: es observada en la fase inicial del cultivo, con frecuencia ocurre con un retardo en el desarrollo de las células, debido al ajuste fisiológico por los cambios en la composición del medio de cultivo, así como a las condiciones de crecimiento, pudiendo registrarse un decremento en el contenido celular.
- Fase de aceleración: llamada también fase de crecimiento acelerado, en la cual las células se han adaptado a su nuevo entorno y comienzan a multiplicarse.
- Fase de crecimiento exponencial: Una vez adaptadas al medio de cultivo las microalgas comienzan a multiplicarse, puesto que la división da lugar a nuevas células que son capaces de dividirse, la biomasa empieza a acumularse a una tasa constante, el crecimiento se hace lineal, el aumento en número de microalgas es exponencial. Conforme el cultivo va creciendo se produce una disminución de nutrientes y el pH del medio tiende a subir hasta 9 ± 0.2.
- Fase estacionaria: en esta fase ya no se observa una división celular neta, es decir que el número de células alcanzado se mantiene constante por cierto

período de tiempo debido al balance entre la natalidad y la mortalidad que presenta el cultivo.

- Fase de muerte: en esta fase la tasa de natalidad disminuye mientras que la tasa de mortalidad aumenta dando como resultado una disminución en el contenido de células vivas en el cultivo.

1.3.9.5 Métodos de Cultivo

Un sistema de cultivo efectivo es aquel que permite la óptima utilización de los sustratos (incluyendo el sustrato energético) a través de una biocatálisis, para generar productos de manera eficiente y económica (Lee, 2001). El objetivo primario en el diseño de un sistema de cultivo biotecnológico es minimizar el costo de producción para generar productos o servicios de alta calidad. Un sistema biotecnológico incluye la síntesis, la bioconversión y la recuperación del producto (Cooney, 1983).

La producción fotoautotrófica es el único método económicamente viable para la producción a gran escala de biomasa de algas (Borowitzka, 1997). En condiciones de crecimiento naturales, las algas absorben la luz solar y asimilan el dióxido de carbono del aire y nutrientes como el nitrógeno y el fósforo que se encuentren disueltos en el hábitat acuático en el que se estén desarrollando (Carlsson *et al*., 2007). Por lo tanto, la producción artificial debe intentar reproducir y mejorar las condiciones de crecimiento óptimas naturales tales como la temperatura, aporte de nutrientes, ciclos de luz/oscuridad, mezcla y homogenización, suministro de CO_2, pH y contaminantes (De la Noüe y Proulx, 1988).

Entre los sistemas tradicionales para cultivar microalgas encontramos el cultivo en estanques al aire libre que es la forma más simple de hacerlo. Se trata básicamente de piscinas expuestas al sol. Al agua de estas piscinas se le suministran nutrientes para que las microalgas puedan reproducirse a un ritmo acelerado. Es el sistema menos eficiente aunque el más económico. Existe la posibilidad de adaptar estructuras que cubran el estanque como es el caso del cultivo en tanques en invernadero, en el cual, los tanques de agua en los que se reproducen las microalgas están protegidos por estructuras como las de los invernaderos. Las ventajas de este sistema son un mejor control de la temperatura y una pérdida muy reducida de agua. Estos factores favorecen una mayor reproducción de las algas y por lo tanto, mayor rendimiento. Existen empresas productoras que optan por este sistema por considerarlo en un buen equilibrio entre la eficiencia de producción y los costos (Barraza *et al*, 2009). Las principales desventajas de los sistemas abiertos son la limitación de la luz incidente aprovechada por el sistema, respecto a la profundidad de la masa de agua, las pérdidas significativas de agua por evaporación, la difusión de CO_2 a la atmósfera y la amenaza de contaminación y polución al medio, así como la entrada de especies perjudiciales al sistema (Park *et al*., 2011).

Además del empleo de los sistemas abiertos, las microalgas también pueden ser cultivadas en fotobiorreactores cerrados que son contenedores y/o conductos transparentes aislados del exterior en los que se desarrollan las microalgas. Estas estructuras se colocan al exterior para captar mayor cantidad de radiación solar. Abarca a los sistemas tubulares, los de placas planas y columnas de burbujeo como las configuraciones más importantes. Al igual que los estanques, los fotobiorreactores pueden ir situados también dentro de invernaderos (Barraza *et al*, 2009; Richmond, 1990; Borowitzka, 1996; Grima *et al*., 1999). Estos se caracterizan por tener una mejor penetración de la luz, característica que hace posible mantener un nivel alto de productividad de biomasa con menos tiempo de retención hidráulica (TRH) que en los estanques abiertos, evitar la contaminación del medio proporcionando un control más estricto de las condiciones físico-químicas y permiten llevar a cabo monocultivos por tiempos prolongados (Borowitzka, 1998). Sin embargo, los fotobiorreactores cerrados son más sofisticados en cuanto a su construcción, funcionamiento

y mantenimientos que los estanques, y se utilizan sobre todo para la producción comercial de microalgas y no tanto para el tratamiento de aguas residuales (Barraza *et al*, 2009).

Los fotobiorreactores tubulares, son tubos de acrílico o cristal en el que se hace circular el medio de cultivo en conjunto con las algas. Pueden estar dispuestos en forma horizontal, vertical o de serpentín. Los fotobioreactores de placa son construidos con paneles de materiales transparentes, siendo estructuras aplanadas y huecas a través de las que se hace fluir el medio de cultivo y las microalgas. En las columnas con burbujeo se genera circulación del medio con las algas en una columna vertical a través del flujo de gases. Permiten alcanzar una alta eficiencia fotosintética gracias a que poseen una gran superficie de exposición a radiación luminosa (Ugwu *et al*. 2008). Existen equipos diseñados específicamente para la producción de algunos metabolitos secundarios, como la acumulación de lípidos, en los que el régimen de cultivo se logra suministrando al medio una fuente de carbono asimilable, así como para la producción de gases como el hidrógeno, en los que el cultivo se lleva a cabo en condiciones de oscuridad (sin crecimiento fotosintético), anaerobiosis y limitando la disponibilidad de azufre en el medio de cultivo (Barraza *et al*, 2009).

1.4 Importancia del estudio para la disciplina

Junto al crecimiento poblacional, México es un país en vías de desarrollo en el que la descarga de aguas residuales aumenta día con día. Algunas descargas son realizadas en cuerpos de agua como ríos y lagos, sin embargo el ritmo al que ingresan las cargas de nutrientes como N y P han rebasado la capacidad natural de los sistemas ecológicos para su manejo, lo que nos lleva a la contaminación no sólo de los cuerpos en los que se hizo la descarga, sino también de mantos acuíferos, costas y mares. Las principales actividades económicas dentro del sector primario en el estado de Guanajuato son la agricultura, ganadería, aprovechamiento forestal, pesca y caza, en cuanto al sector secundario, la industria manufacturera se presenta como la principal actividad dentro de ésta división (INEGI, 2010). Algunas de las actividades mencionadas anteriormente son consideradas como las principales causantes de descargas con altos contenidos de nutrientes (Yang *et al*., 2008). Otra fuente importante de descarga de aguas residuales son las provenientes de zonas urbanas; por ejemplo, en la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) Insurgentes del municipio de Cortázar se reciben 605 m^3/día de aguas residuales compuestas principalmente por efluentes domésticos e industriales.

El tratamiento secundario de aguas residuales en fotobiorreactores con microalgas ha mostrado resultados satisfactorios en el tratamiento de aguas residuales (Arriaga *et al*., 2014). De acuerdo a las capacidades metabólicas de microalgas adaptadas a cauces con cargas contaminantes como las del Río Laja, pueden aprovechar la carga de contaminantes como fuente de nutrientes para su crecimiento, al mismo tiempo que puede ayudar a afrontar problemas como la contaminación del agua, el control de las emisiones de CO_2 y otras sustancias tóxicas a la atmósfera, producción de alimentos en suficiencia y calidad, manejo de residuos industriales, así como la atención las demandas de obtención de biocombustibles alternos a los de origen fósil.

La implementación de un sistema de fotobiorreacción que utilice microalgas nativas para el tratamiento de aguas residuales municipales en Cortázar, Gto., puede ser una herramienta biotecnológica para hacer frente a las necesidades de tratamiento de aguas residuales locales.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Validar un prototipo tecnológico a escala semipiloto (50 L) para la remoción de nitrógeno, fósforo y materia orgánica, en aguas residuales urbanas, basado en el empleo de un consorcio nativo de microalgas (*Scenedesmus obliquus*, *S.quadricauda* y *Chlorella vulgaris*).

1.5.2 **Objetivos específicos**

- Determinar los parámetros cinéticos del consorcio en los sistemas de fotobiorreacción propuestos.
- Evaluar la influencia de 3 configuraciones de fotobiorreactor a escala 1 (5 L) sobre la eficiencia en un proceso de tratamiento de aguas residuales municipales.
- Construir y validar el prototipo tecnológico a escala 10 (50L).
- Determinar la factibilidad técnico-económica del uso de coagulantes en el sistema propuesto.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1 Materiales

2.1.1 Material biológico

Para el tratamiento de aguas residuales se utilizó un consorcio de microalgas aislado del cauce del Río Laja, compuesto por células de las cepas *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus quadricauda* y *Chlorella vulgaris*, obtenidos mediante biomagnificación en una columna de burbujeo con Medio Basal Bold (BBM) propuesto por Bold (1949) suplementado cada 48 h con las soluciones stock de sales.

2.1.2 Sistemas de fotobiorreacción a escala 1 (5 L)

Los fotobiorreactores a escala 1 se construyeron empleando láminas de cristal de 3 mm de espesor, tanto las columnas de burbujeo (Figura 1a), como los reactores de placas planas (Figura 1b) y de placas planas con divisiones internas (Figura 1c). El fotobiorreactor helicoidal (Figura 1d) se manufacturó empleando manguera de PVC transparente de 1/2″ de diámetro interno montada en un soporte cilíndrico elaborado a partir de malla criba. Tanto las columnas de burbujeo como los fotobiorreactores fueron construidos para contener un volumen de trabajo de 2.5 L.

Se utilizaron bombas sumergibles para recircular el medio entre las dos unidades del sistema de fotobiorreacción con un gasto de 25 L/h; para la aireación se inyectó 1 VVM de

aire a través de difusores porosos para acuario en el extremo interno de las columnas. En la Figura 1 se muestra el diagrama de construcción para todos los sistemas a escala 1.

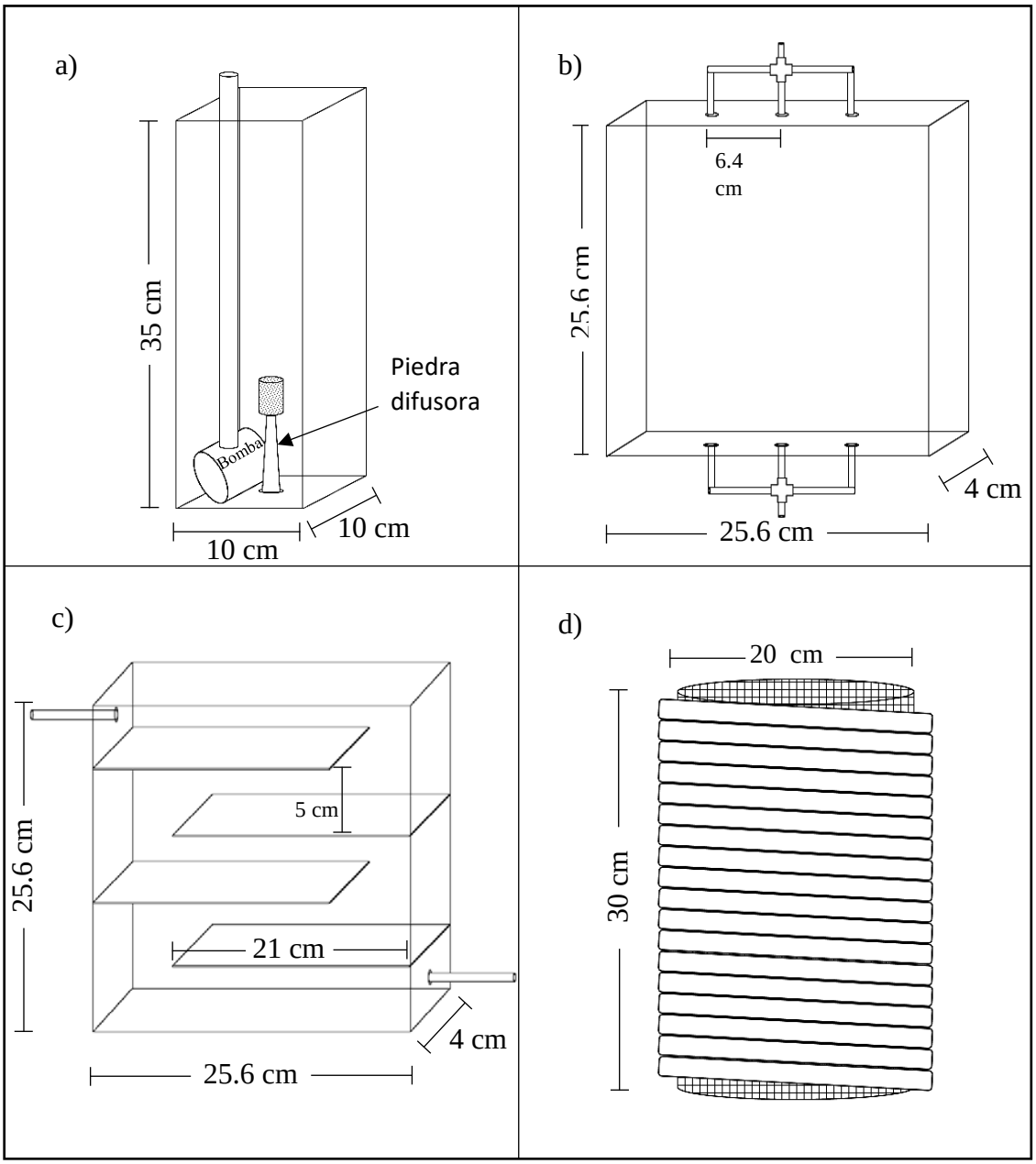

Figura 1. Diagrama de construcción de los sistemas de fotobiorreacción a escala 1. a) Columna de burbujeo, b) Fotobiorreactor de placas planas del sistema A, c) Fotobiorreactor de placas planas con divisiones del sistema B, d) Fotobiorreactor helicoidal del sistema C.

2.1.3 Sistema de fotobiorreacción a escala 10

Para la construcción de la columna de burbujeo, se empleó cristal de 6 mm de grosor; en la Figura 2 se muestra el diagrama de construcción de la unidad conformada por un conjunto de columnas de burbujeo en las que se colocó un difusor de aire conectado a una bomba de aireación para acuarios con flujo de 0.72 VVM, la recirculación entre las dos unidades de fotobiorreacción se realizó con ayuda de una bomba sumergible con un gasto de 50 L/h, el volumen de trabajo fue de 25 L. La unidad se montó en una base de acero.

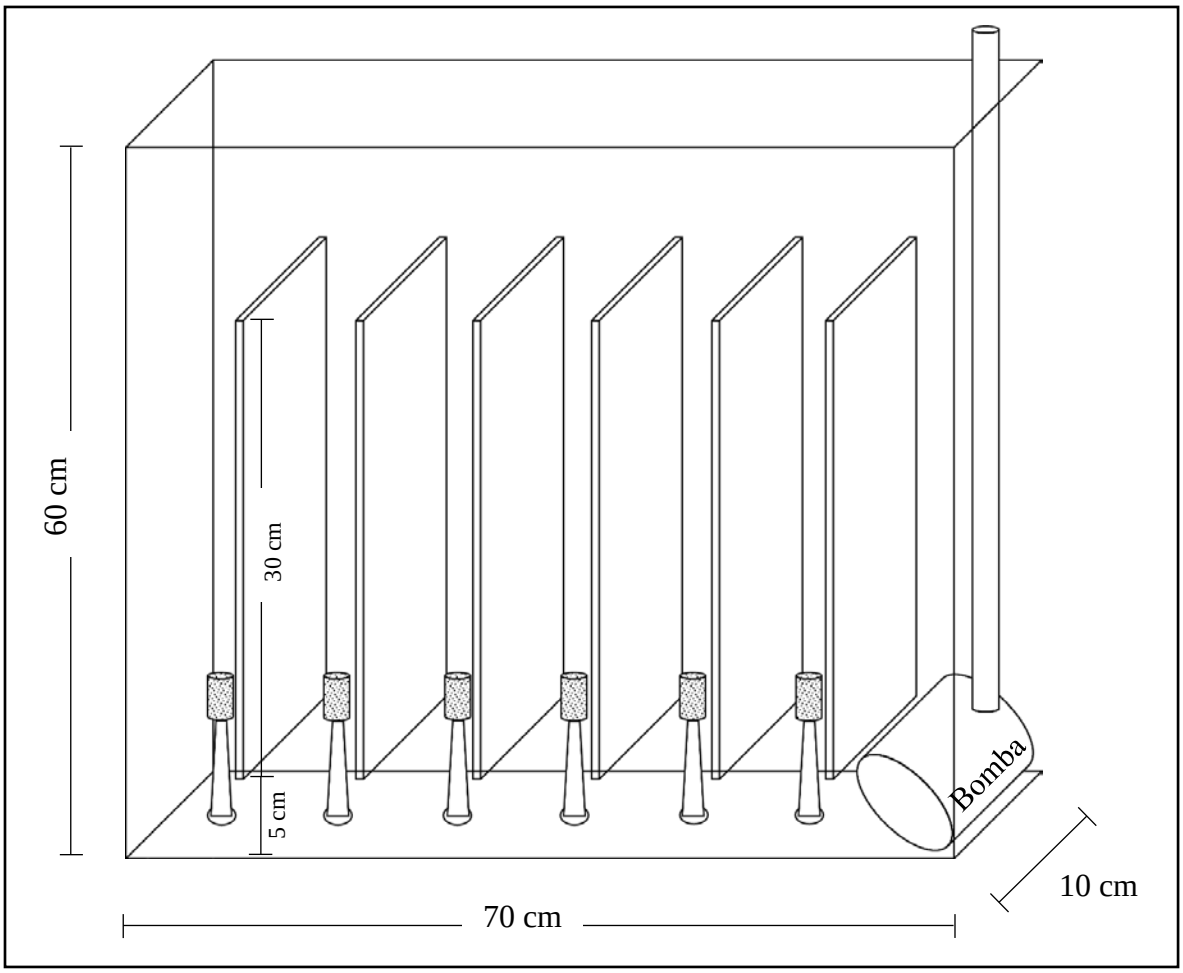

Figura 2. Diagrama de construcción de la columna de burbujeo a escala 10 (25 L de trabajo).

La unidad helicoidal de 25 L se construyó con manguera de PVC transparente grado industrial de 1″ de diámetro interno sujeta a un soporte de acero. La unidad se construyó de acuerdo con el diagrama mostrado en la Figura 3.

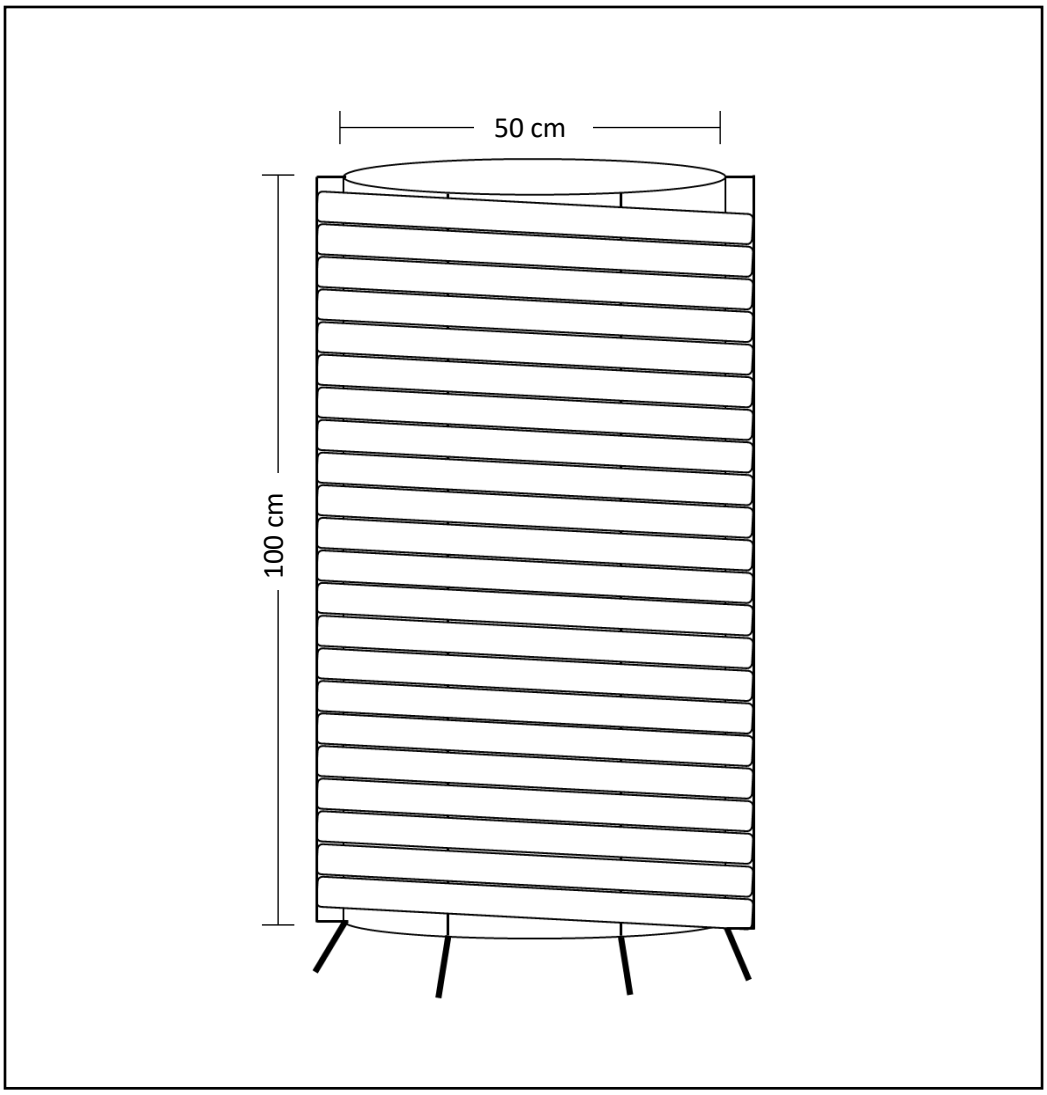

Figura 3. Diagrama de construcción del fotobiorreactor helicoidal escala 10 de 25 L.

2.2 Métodos

2.2.1 Métodos analíticos

2.2.1.1 Nitrógeno total

Para monitorear los contenidos de nitrógeno en el sistema se aplicó la metodología establecida por la NMX-AA-0026-SCFI-2010 en el apartado de “Sistema micro Kjeldahl para determinación de nitrógeno”.

2.2.1.2 Fósforo total

La determinación de fósforo total se realizó mediante la metodología de análisis colorimétrico descrita por la NMX-AA-029-SCFI-2001 en el apartado “Método del ácido vanadomolibdofosfórico”.

2.2.1.3 Materia orgánica

La materia orgánica se analizó mediante la determinación de DQO por el método a reflujo cerrado descrito en la NMX-AA-030-SCFI-2001.

2.2.1.4 Densidad celular

La densidad celular de los inóculos y tratamientos se determinó mediante la técnica de cuenta total en cámara de Neubauer.

2.3 Metodología experimental

2.3.1 Determinación de los parámetros cinéticos del consorcio en los sistemas

En las pruebas de determinación de los parámetros cinéticos del consorcio microalgal en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1, los experimentos partieron de una densidad celular inicial de $5x10^6$ cel/mL, con iluminación provista por 2 lámparas fluorescentes blancas de 30 W en ciclo de luz/oscuridad (12/12 h), el mezclado se efectuó por medio de aireación en la columna de burbujeo a 1 VVM de aire con concentración atmosférica de CO_2 (≈ 400 mg/L), el volumen de trabajo fue de 5 L, se empleó BBM adicionando cada 48 h las soluciones stock de sales. Se monitoreó el crecimiento del cultivo.

Los parámetros cinéticos fueron determinados en la fase de crecimiento exponencial del cultivo de acuerdo a las ecuaciones presentadas por Lee (2001).

Tasa de crecimiento específico (μ), que corresponde a la velocidad de crecimiento de un cultivo respecto al tamaño de la población.

$$\mu = \frac{d\ lnC_n}{dt}$$

Tiempo de duplicación (tiempo necesario para la duplicación celular)

$$td = \frac{ln2}{\mu}$$

Velocidad de división (número de divisiones por unidad de tiempo).

$$\delta = \frac{\mu}{ln2}$$

Donde C_n es la densidad celular expresada como número de individuos por unidad de volumen.

2.3.2 Determinación del número de Reynolds

El número de Reynolds de cada configuración se calculó empleando los modelos reportados por Geankoplis (1978).

$$N_{Re} = \frac{Dv\rho}{\mu}$$

Donde:

- NRe Numero de Reynolds
- D Diámetro del conducto en m
- *v* Velocidad media en m/s

- ρ Densidad en kg/m^3
- μ Viscosidad en Pa/s

El valor de la viscosidad (0.0014 Pa/S) se tomó como referencia de los datos reportados por García-Cubero (2014).

La densidad se determinó colocando 150 mL del cultivo en una probeta de 250 mL, se introdujo un densímetro y se tomó la lectura. Se realizaron 3 réplicas.

2.3.3 Pruebas de tratamiento de aguas residuales en los prototipos a escala 1 (5 L).

Se utilizaron los 3 sistemas compuestos por una columna de burbujeo de cristal con un volumen de trabajo de 2.5 L, seguida de un fotobiorreactor (A de placas planas, B placas planas con divisiones internas y C tubular helicoidal) con un volumen total de 2.5 L, sumando un volumen total de trabajo de 5 L. La iluminación se proveyó a los organismos fotosintéticos, de una fuente artificial empleando 2 lámparas fluorescentes blancas de 30 watts en ciclo de luz/oscuridad (12 h). Se suministró aireación continua en la columna de burbujeo a 1 VVM proveyendo el CO_2 en la concentración atmosférica (≈ 400 mg/L) y se trabajó a temperatura ambiente no controlada (media de 25 ± 4 ºC), teniendo como densidad celular inicial $6x10^6$ cel/mL del consorcio microalgal nativo. Las pruebas se realizaron en lotes por triplicado. Se monitoreó el contenido de nitrógeno, fósforo y materia orgánica a intervalos de 3 h durante 12 h, así como el crecimiento del cultivo por medio del conteo celular en cámara de Neubauer.

2.3.4 Pruebas del tratamiento de aguas residuales en la configuración con el sistema helicoidal a escala 10 (50 L).

Se probó el funcionamiento del sistema C a escala 10 con un volumen total de 50 L, constituido por las unidades descritas en las Figuras 2 y 3. Las pruebas se llevaron a cabo en las instalaciones de la PTAR Insurgentes en Cortázar, Gto., empleando la iluminación solar, los días en los que se llevaron a cabo los experimentos registraron 10 h 58 min en horas luz. Se suministró aireación continua en la columna de burbujeo a 1 VVM proveyendo el CO_2 en la concentración atmosférica (≈ 400 mg/L) y se trabajó a temperatura ambiente no controlada (media de 19 ± 6 ºC), teniendo como densidad celular inicial $6x10^6$ cel/mL del consorcio microalgal nativo. Las pruebas se realizaron en lotes por triplicado. Se monitoreó el contenido de nitrógeno, fósforo y materia orgánica a intervalos de 4 h durante 12 h, así como el crecimiento del cultivo.

2.3.5 Prueba de uso de coagulantes

Se probaron los coagulantes cloruro férrico ($FeCl_3$ $6H_2O$) J.T. Baker® y sulfato de aluminio (Al_2 $(SO_4)_3$) Alyt®.

Fueron colocadas 3 alícuotas del cultivo microalgal (100 mL) en vasos de precipitados de 250 mL. Se prepararon soluciones stock de 10 g/L de los coagulantes; las concentraciones probadas fueron 0.1, 0.15, y 0.2 g/L. Tras la adición del coagulante, los vasos de precipitados fueron agitados por 10 segundos para asegurar la distribución del mismo y se dejaron asentar por un período de 2 h. Se preparó un grupo de control sin coagulante añadido. Se monitoreo la densidad óptica (DO) tomando una muestra del sobrenadante a 1 cm de profundidad de la superficie del líquido, cada 15 minutos y registrando la lectura de absorbancia a 680 nm en un espectrofotómetro OPTIZEN POP UV/Vis (Lee *et al*., 1998).

2.3.6 Determinación del porcentaje de floculación

La eficiencia de floculación se determinó midiendo la densidad óptica de los cultivos de células antes de la floculación y la densidad óptica final del líquido sobrenadante a los 30 min de asentamiento muestreado a 1 cm de profundidad. Para determinar el porcentaje de floculación de los compuestos ensayados, se utilizó la siguiente fórmula (Ferriols y Aguilar, 2012):

$$Porcentaje\ de\ Floculación = \frac{DO_i - DO_f}{DO_i} \times 100$$

Donde:

- DO_i Densidad óptica inicial
- DO_f Densidad óptica final

2.3.7 Cálculo del costo de tratamiento.

El costo del tratamiento por litro se calculó tomando en cuenta los costos derivados del funcionamiento del sistema a escala 10, los conceptos se tomaron de la lista propuesta por Salas *et al*., (2007) para el funcionamiento, operación y mantenimiento de un planta de tratamiento de aguas residuales. Tomando los precios publicados en las páginas de los proveedores en el caso de ser consumibles (reactivos y coagulantes), el costo de mano de obra se tomó como una jornada laboral de 8 h con el salario mínimo vigente (73.04 Pesos mexicanos). Los costos de energía se obtuvieron sumando el consumo generado por las bombas de aireación y recirculación y multiplicándolo por la tarifa publicada por la CFE en su página de internet como “tarifa 5 para servicios públicos a nivel industrial”. El cociente se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación.

$$\frac{Costo}{L} = \frac{E + O + M}{Vt}$$

Donde:

- E Costo energético en pesos mexicanos
- O Costos de operación y mantenimiento en pesos mexicanos
- M Mano de obra en pesos mexicanos
- Vt Volumen de tratamiento

2.4 Diseño experimental

Se empleó un diseño unifactorial en el que el factor de estudio fue la configuración del fotobiorreactor en la segunda unidad del sistema de fotobiorreacción.

Tabla I. Matriz del diseño experimental

SISTEMA DE FOTOBIORREACCIÓN	PRIMERA UNIDAD DE FOTOBIORREACCIÓN	SEGUNDA UNIDAD DE FOTOBIORREACCIÓN
A	Columna vertical con agitación por burbujeo	De placas planas
B		De placas planas con divisiones internas
C		Tubular helicoidal

Variable de respuesta: Tasas de consumo de nutrientes: nitrógeno (N), fósforo (P) y materia orgánica (MO).

2.4.1 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se efectuaron empleando el software estadístico Minitab® 16 de acuerdo a las características del diseño experimental para cada prueba. Las comparaciones de medias presentadas fueron obtenidas mediante comparaciones de Tukey con un α de 0.05.

Los gráficos mostrados fueron elaborados empleando el paquete de Microsoft Office Excel® 2013.

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Prototipos a escala 1 (5 L)

El producto de la construcción de los prototipos a escala 1 se muestra en la Figura 4.

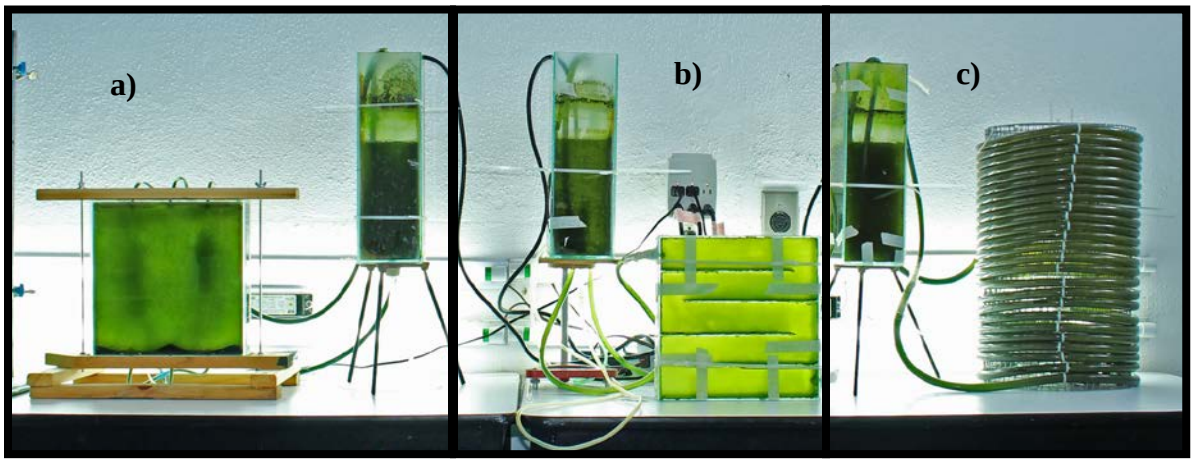

Figura 4. Prototipos a escala 1 compuestos por una columna de burbujeo y un fotobiorreactor cerrado. a) Sistema A, b) sistema B, c) sistema C.

3.1.1 Pruebas de crecimiento celular y parámetros cinéticos del consorcio microalgal en los sistemas a escala 1.

Con base en los resultados obtenidos se realizó un análisis de las cinéticas de crecimiento. La Figura 5 muestra el comportamiento de la población del consorcio microalgal en cada uno de los sistemas de fotobiorreacción durante la fase exponencial del cultivo.

Dentro de los sistemas A y C, el cultivo permanece dentro de la fase exponencial hasta los 22 y 13 d de cultivo respectivamente, mientras que en el sistema B lo hace hasta los 27 d de cultivo.

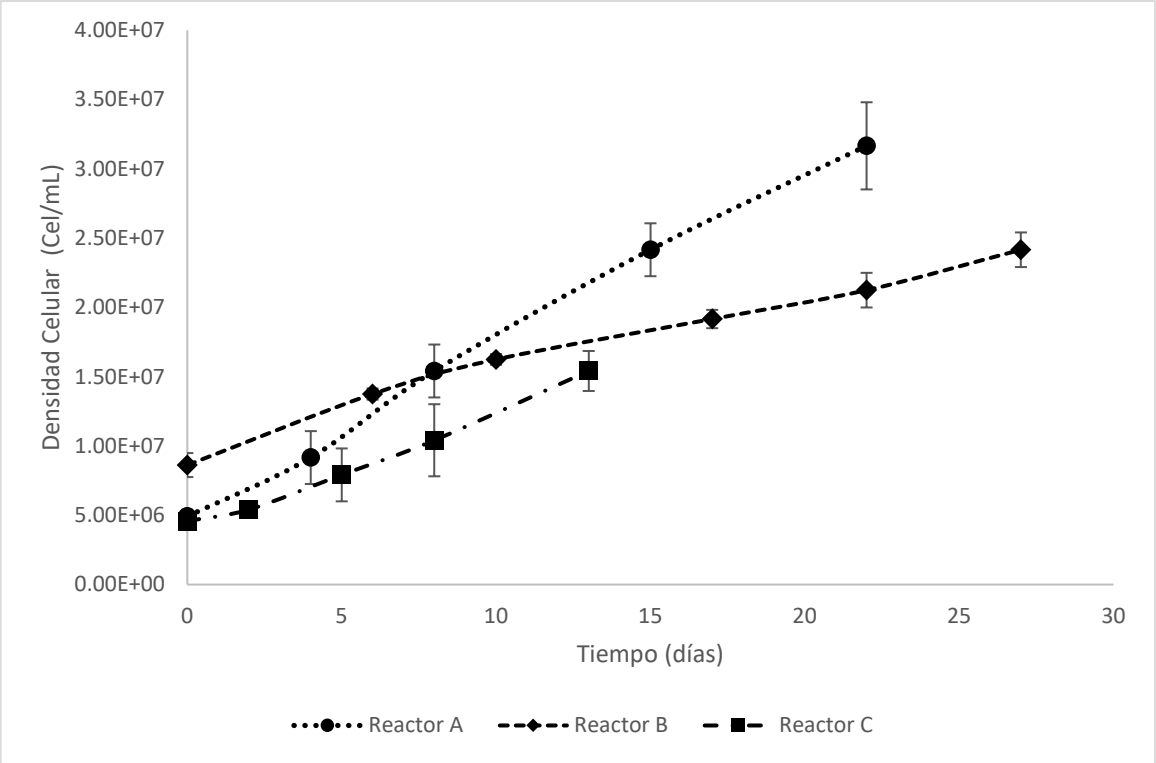

Figura 5. Comportamiento de la densidad celular en el tiempo (fase exponencial).

En la Tabla II se muestra una comparación de medias indicando que las densidades celulares máximas alcanzadas en las tres configuraciones presentaron diferencias significativas entre ellas. El sistema de fotobiorreacción A alcanzó la mayor densidad celular dentro de las configuraciones estudiadas obteniendo un valor de 3.17 $x10^7$ cel/mL, seguido por el sistema B con 2.42 $x10^7$ cel/mL y el sistema C que alcanzó una densidad de 1.54 $x10^7$ cel/mL.

Tabla II. Densidad celular máxima y tiempo hasta finalizar la fase exponencial en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1.

Reactor	Densidad celular máxima (cel/mL)
A	$3.17 \times 10^{7\ a}$
B	$2.42 \times 10^{7\ b}$
C	$1.54 \times 10^{7\ c}$

Tukey $\alpha<0.05$

Las condiciones en las que se lleva a cabo un cultivo fotoautotrófico en un fotobiorreactor, como son el mezclado, y el espesor del paso de luz de cada sistema derivado de la geometría, son factores importantes que influyen en la conversión máxima de energía de la luz incidente de la biomasa de algas (Hu *et al*., 1998). Dicha producción de biomasa está ligada también a la potencial capacidad del sistema para sostener un cultivo fotoautotrófico que emplee aguas residuales como fuente de nutrientes.

Como se muestra en la Tabla III, la velocidad de división alcanzada en el sistema A (0.062 divisiones/día) resultó ser significativamente igual a la obtenida en el sistema B (0.06 divisiones/día), El sistema C registró la mayor velocidad de división con 0.118 divisiones/día. Para el tiempo de duplicación nuevamente los sistemas A y B presentan igualdad estadística (16.11 y 16.5 días respectivamente) mientras que en el sistema C se obtuvo un tiempo de duplicación significativamente menor con un valor de 8.45 días. Para el parámetro de productividad, los valores obtenidos para los sistemas A y C no presentan diferencia significativa siendo 7.98×10^5 cel/mL*día para el sistema A y 8.33×10^5 cel/mL*día para el sistema C, mientras que para el sistema B fue significativamente menor que en los otros dos sistemas con 5.74×10^5 cel/mL*día. Por lo tanto el reactor que presentó los mejores parámetros en la producción de biomasa fue el sistema C, al superar significativamente a los sistemas A y B en cuanto a la velocidad de crecimiento específico obtenida, siendo de 0.082 $dias^{-1}$ para el sistema C y de 0.043 y 0.042 $dias^{-1}$ para los sistemas A y B respectivamente.

Tabla III. Parámetros cinéticos del consorcio microalgal nativo cultivado en los sistemas de fotobiorreacción.

Reactor	μ (días^{-1})	Velocidad de división celular(divisiones/día)	Tiempo de duplicación (días)	Productividad (cel/mL*día)
A	0.043 ^{b}	0.062 ^{b}	16.11 ^{a}	7.98x10^{5} ^{a}
B	0.042 ^{b}	0.060 ^{b}	16.50 ^{a}	5.74 x10^{5} ^{a}
C	0.082 ^{a}	0.118 ^{a}	8.45 ^{b}	8.33 x10^{5} ^{a}

Tukey α <0.05

Las condiciones de cultivo en las que se llevó a cabo el estudio fueron las mismas para los tres sistemas de fotobiorreacción, por lo que, las diferencias observadas en cuanto a los parámetros cinéticos determinados en los cultivos, se atribuyen a la geometría de los sistemas de fotobiorreacción estudiados, debido a que en el acervo internacional ha sido ampliamente reportado el efecto del estrés hidrodinámico derivado principalmente de los métodos de agitación, el volumen de cultivo, el tipo de aireación y la geometría de los reactores de cultivo, limitando el desarrollo de cultivos (Barbosa *et al*. 2003, Vega-Estrada *et al*. 2005, Sobczuk *et al*. 2006, García *et al*. 2000, García *et al*. 2001).

De acuerdo con Silva *et al*., (1987), los cultivos microalgales son sensibles a incrementos en el Número de Reynolds (N_{Re}) aun dentro de la zona de flujo laminar, encontrando tasas de mortalidad, para el caso específico de en un cultivo de *Dunaliella*, con N_{Re} por arriba de 1,300. Los sistemas A y B presentan mayor estrés hidrodinámico debido a los regímenes de flujo del medio de cultivo derivados de la geometría y las condiciones de construcción de los sistemas, lo que hace que el N_{Re} en los sistemas sea una limitante para el crecimiento del cultivo. En el sistema C la configuración tubular helicoidal del reactor permite mantener una producción celular mayor debido al flujo viscoso que se puede alcanzar dentro del sistema, los resultados para el número Reynolds calculado se encuentran registrados en la Tabla IV. Para el cálculo del número de Reynolds se tomó el diámetro menor de la manguera, para cada

uno de los sistemas (A 0.0015 m, B 0.0015 m, C 0.0127 m). La densidad medida en el cultivo fue de 983.1 kg/m^3.

Tabla IV. Número de Reynolds a la entrada de los sistemas de fotobiorreacción.

	Sistema A	**Sistema B**	**Sistema C**
Número de Reynolds	1,364.3	4,092.9	483.4

Los valores de productividad obtenidos son mayores a los reportados por Silva *et al*., (1987) en ensayos cuyo objetivo fue evaluar el efecto del estrés hidrodinámico sobre el crecimiento de *Dunaliella* inducido por aireación por burbujeo en el medio. Los valores reportados por el grupo de trabajo oscilan en el rango de 8.4 - 16.1 x10^4 cel/mL*día; las condiciones en las que se llevó a cabo su experimento fueron diferentes a las que se emplearon en el presente trabajo, ya que se trabajó con un volumen de cultivo 10 veces menor (0.25 L), se montó un sistema de monocultivo con una especie diferente a las empleadas en el presente trabajo y se burbujearon distintas composiciones de una mezcla de CO_2 y aire humidificado a diferentes flujos, procurando la inducción de estrés hidrodinámico en la mezcla; lo que puede explicar la diferencia entre los resultados que Silva *et al*., (1987) reportan a los mostrados en la Tabla III. White *et al*., (1991) reportaron resultados dentro del rango de 0.017 - 8.7 día $^{-1}$. Los valores para tasa de crecimiento específico obtenidos en el presente trabajo se encuentran dentro del mismo. Su estudio fue realizado con especies de agua dulce, en un fotobiorreactor cerrado, por lotes, con un volumen de 0.5 L, agitación por burbujeo de aire atmosférico en iluminación continua con lámparas fluorescentes y a temperatura ambiente con una media de 27 ˚C. Mientras que valores de 0.0003-30.81 día^{-1} fueron reportados por los mismos autores en especies marinas bajo las mismas condiciones de trabajo. Newell y Fallon (1982) reportaron velocidades de crecimiento específico de 0.095 hasta 0.45 día^{-1}, cuyo valor mínimo se encuentra cerca del valor de 0.082 día^{-1} registrado en el sistema C. El estudio se realizó con especies nativas de la costa de Georgia cultivadas a una temperatura media de 27 ˚C en un fotobiorreactor cilíndrico de 1 L con agitación por paletas y burbujeo, la iluminación se suministró colocando el fotobiorreactor frente a una

lámpara fluorescente, condiciones que son similares a las empleadas en la prueba de crecimiento celular a escala 1.

3.1.2 Pruebas de tratamiento de aguas residuales en las tres configuraciones a escala 1 (5 L)

En la Tabla V se muestran los resultados obtenidos para la caracterización proximal de las muestras de agua residual de entrada obtenidas de la PTAR Insurgentes, los parámetros medidos exceden los límites máximos permisibles (LMP) para contaminantes básicos de efluentes descargados en ríos con fines de uso en riego agrícola o público urbano establecidos en la NOM-001-SEMARNAT-1996.

Tabla V. Caracterización proximal de las aguas residuales urbanas recolectadas de la PTAR Insurgentes.

Contaminante	Concentración	LMP
Fósforo mg/L	18.52 – 46.38	20
Nitrógeno mg/L	75 – 150	40
Materia orgánica (DQO) mg/L	114-300	150

Los valores de fósforo obtenidos para el influente se mantuvieron dentro del rango de los 18.52 y 46.38 mg/L, el contenido de nitrógeno registrado fue entre los 75 y 150 mg/L, la carga de materia orgánica determinada en el muestreo mostró resultados alrededor de los 114 y 300 mg/L. La clasificación propuesta por Mujeriego (1990) sitúa a los valores de fósforo y nitrógeno obtenidos en las aguas residuales estudiadas dentro del rango aguas residuales con altas cargas de los componentes mencionados, mientras que para materia orgánica, los valores caen dentro del rango medio-bajo de concentración.

En la Figura 6 se muestran los resultados para el abatimiento de nitrógeno registrados en los tres sistemas a escala 1 de 5 L. Se observa que hay una disminución de dicho contaminante y el LMP es alcanzado durante las 12 h de monitoreo en los tres sistemas probados, que aparece marcado en la figura como una línea sólida sobre la concentración de 40 mg/L. Los tiempos estimados para alcanzar el LMP de nitrógeno registrados por los tres tratamientos fueron, en orden de menor a mayor, de 8 h para el sistema C, 10 h en el sistema B mientras que para el sistema A fue de 11 h.

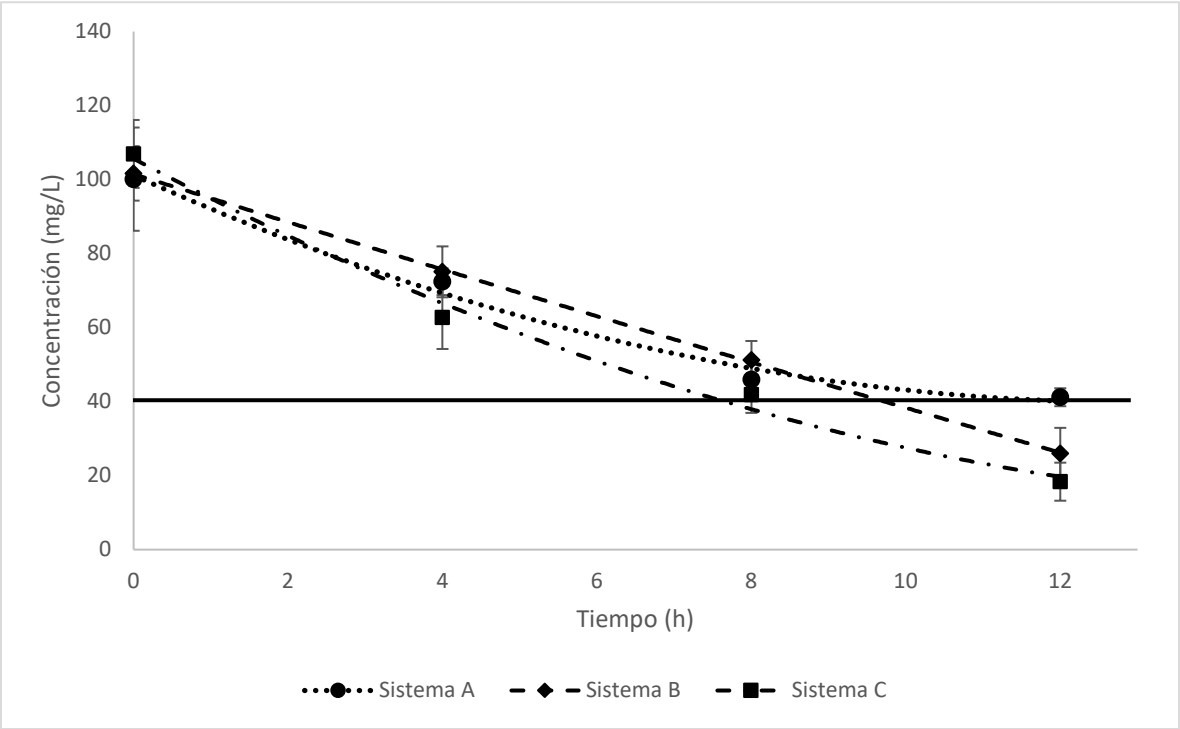

Figura 6. Abatimiento de nitrógeno en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1.

Los resultados para el abatimiento de fósforo en los tres sistemas se muestran en la Figura 7. Se puede observar un abatimiento fósforo en los tres tratamientos estudiados, en los tres sistemas se alcanza el LMP de 20 mg/L marcado con una línea sólida horizontal en el gráfico. El tiempo estimado para alcanzar dicho límite es de 3.6 h de tratamiento, para los tres sistemas de fotobiorreacción.

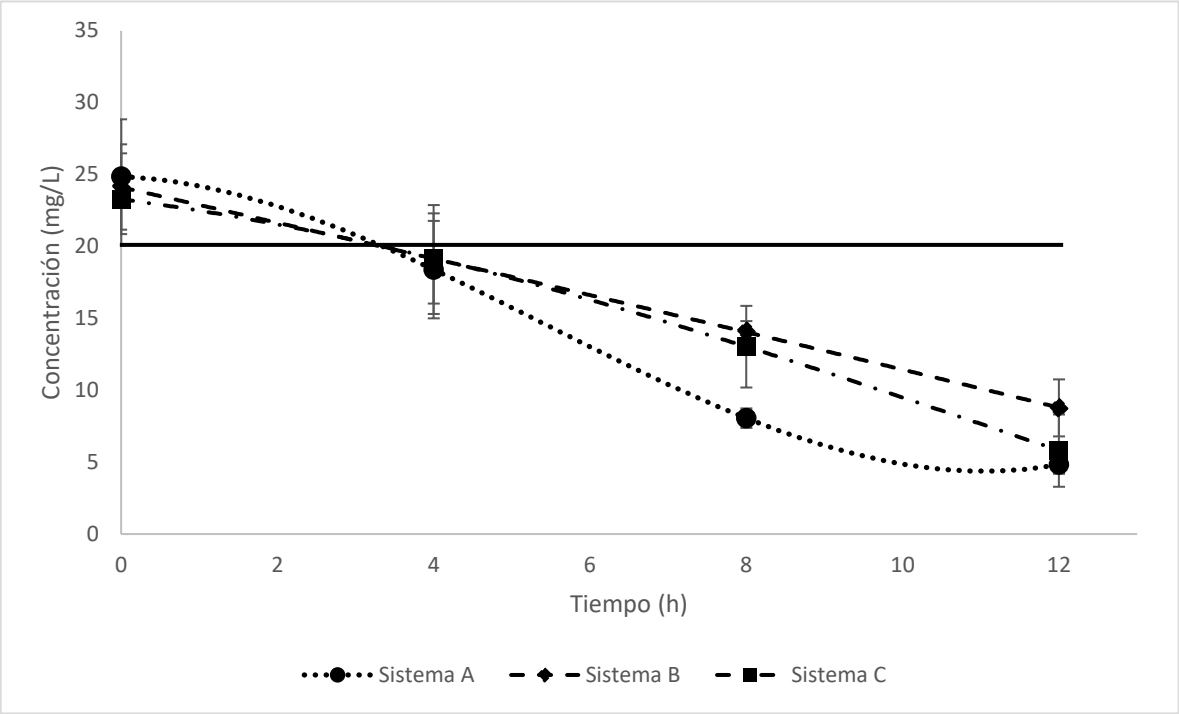

Figura 7. Abatimiento de fósforo en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1.

En la Figura 8 se observan los resultados obtenidos para el abatimiento de materia orgánica en los 3 sistemas de fotobiorreacción, donde la concentración del LMP está marcada con una línea sólida horizontal en la concentración de 150 mg/L. La concentración inicial determinada en los experimentos realizados, se encuentra desde el comienzo del tratamiento por debajo del límite. No obstante se observa una disminución del contenido de materia orgánica en los tres sistemas hasta una concentración de 24 mg/L a las 12 horas de tratamiento en el sistema C.

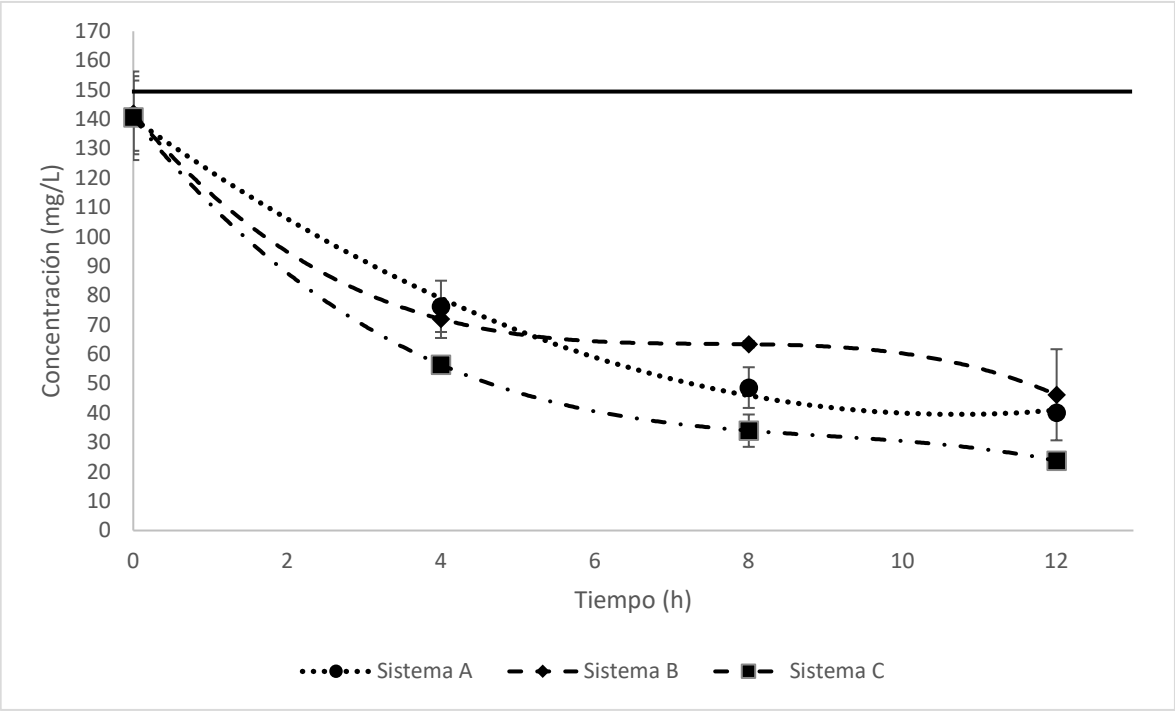

Figura 8. Abatimiento de materia orgánica en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1.

La concentración celular mantuvo un comportamiento constante durante el tiempo de tratamiento en los 3 sistemas. No se observó un aumento significativo en la población en el lapso de monitoreo aun habiendo encontrado diferencias en los parámetros cinéticos entre los sistemas. Sin embargo, el tiempo de observación es corto, por lo que los tiempos de duplicación no se alcanzan y es esperado que la diferencia entre los sistemas sea pequeña y que no se logre observar una diferencia significativa entre tratamientos. Se encontró en promedio una concentración final de $6.5x10^6$ cel/mL, como se muestra en la Figura 9.

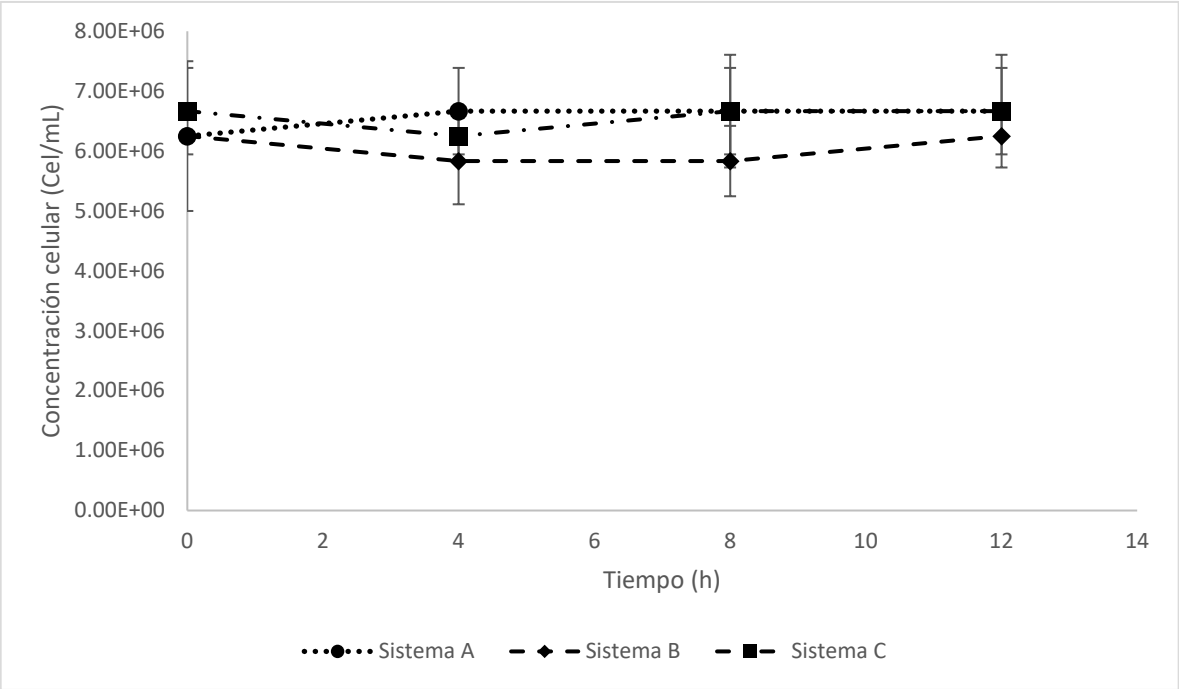

Figura 9. Comportamiento de la concentración celular en los sistemas a escala 1.

Se tomó como referencia el contenido de nitrógeno para determinar el tiempo de residencia del agua en los tratamientos debido a que existe una diferencia mayor entre el contenido de nitrógeno del agua residual inicial con el límite máximo permisible establecido por la normatividad. Los contenidos de materia orgánica y fósforo iniciales son cercanos a los LMP y por lo tanto, para dichos contaminantes los requerimientos de la norma se alcanzan en un menor tiempo.

En los tres tratamientos se obtuvo una disminución de los contaminantes monitoreados, siendo el abatimiento de la materia orgánica la que menos tiempo requirió para alcanzar la concentración mínima soportada por el sistema propuesto en las condiciones experimentales probadas. Esto debido a que las concentraciones iniciales encontradas fueron cercanas o inclusive menores al LMP, seguido por el contenido de fósforo y finalmente el nitrógeno que mostró el mayor tiempo de tratamiento necesario para alcanzar el límite normado.

En la Figura 10 se muestra un gráfico en el que se muestra la comparación de medias (Tukey $\alpha<0.05$) de las tasas de abatimiento para nitrógeno, fósforo y materia orgánica, medidas dentro del periodo estimado de tratamiento para cada sistema de fotobiorreacción. Se encontraron diferencias estadísticas entre las tasas de abatimiento de nitrógeno obtenidas en el sistema C y las obtenidas en los sistemas A y B, siendo mejor la obtenida en el sistema C mientras que las registradas por los sistemas A y B fueron estadísticamente iguales. Es posible explicar los resultados obtenidos con los parámetros cinéticos determinados en los sistemas, en los que el sistema de fotobiorreacción C obtuvo tasas de crecimiento específico (μ) y valores de productividad estadísticamente mayores, por lo tanto, a mayor productividad y tasa de crecimiento es esperado registrar una tasa de consumo mayor en dicho sistema a comparación con los sistemas A y B. Las tasas de abatimiento de fósforo no mostraron una diferencia estadística significativa entre los tres tratamientos. De la misma manera no se encontró diferencia estadística entre las tasas de abatimiento de materia orgánica obtenidas en los tres sistemas.

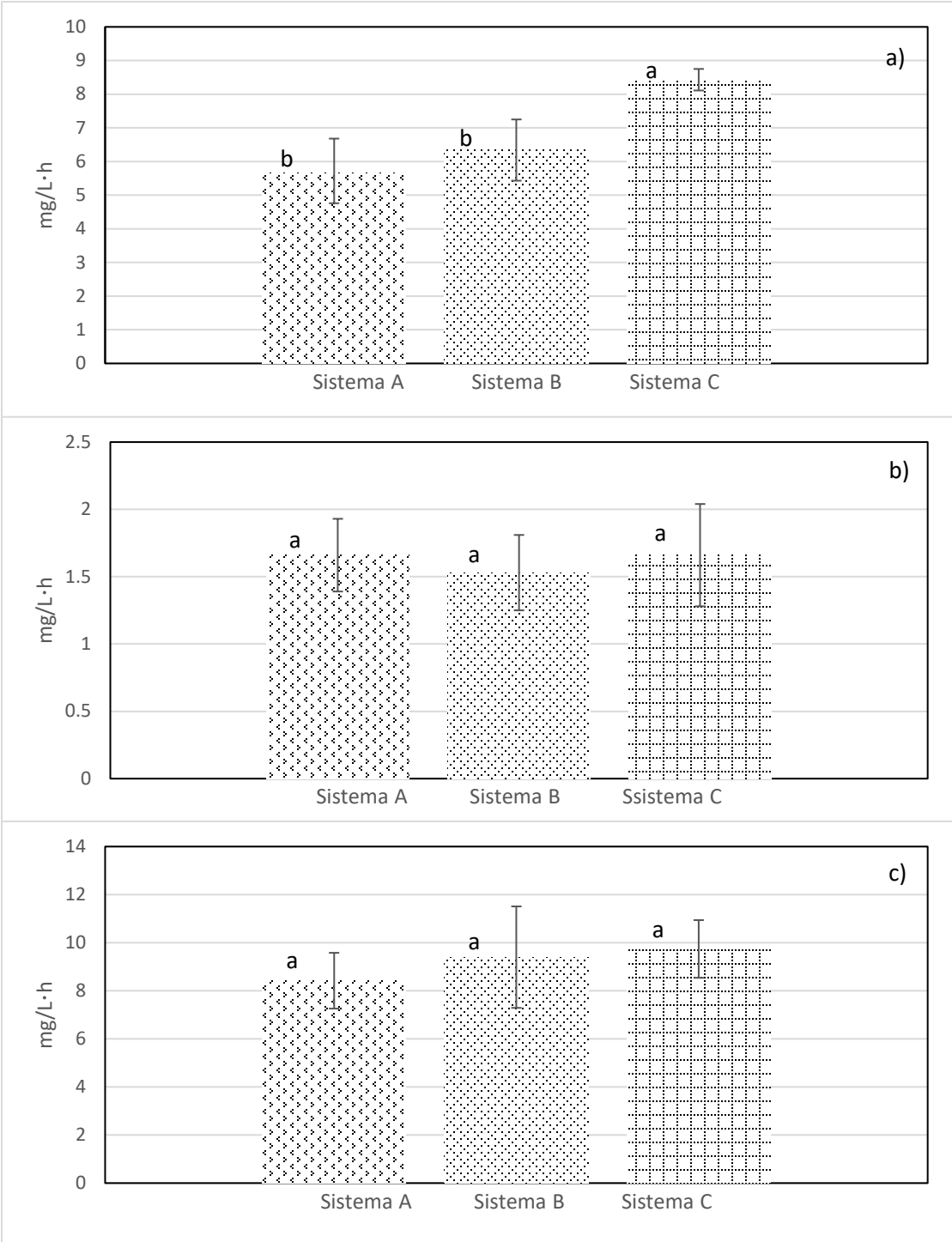

Figura 10. Comparación de las tasas de abatimiento de contaminantes obtenidas en los sistemas de fotobiorreacción a escala 1: a) Tasas de abatimiento de nitrógeno, b) Tasas de abatimiento de fósforo, c) Tasas de abatimiento de materia orgánica. Tukey $\alpha < 0.05$.

En la literatura consultada se encontraron resultados comparables con los obtenidos en el presente trabajo. En un estudio sobre tratamiento de aguas residuales urbanas con el consorcio microalgal formado por *Scenedesmus obliquus*, *S. quadricauda* y *Chlorella vulgaris*, Arriaga *et al*. (2014) reportaron tiempos de tratamiento de 15 h, difiriendo de los tiempos obtenidos en el presente trabajo que fueron de 8, 10 y 11 h respectivamente para los sistemas C, B y A, pudiendo explicarse la diferencia bajo el argumento de que en el trabajo de Arriaga *et al*. (2014), se empleó una configuración de fotobiorreacción, siendo sólo una columna de burbujeo, además de emplear una concentración celular inicial de $1x10^6$ cel/mL, la cual fue 6 veces menor a la concentración utilizada en éste trabajo. En cuanto a las tasas de abatimiento Rasoul-amini *et al*. (2013) reportaron tasas de abatimiento de nitrógeno de 0.38-0.47 mg/L·h siendo menores a las registradas por los tres sistemas probados (5.67 mg/L·h en el sistema A, 6.34 mg/L·h en el sistema B y 8.43 mg/L·h en el sistema C). Los mismos autores reportan tasas de abatimiento de fósforo de 0.04-0.08 mg/L·h inoculando *Chlorela sp.* con una concentración celular no especificada, también siendo éstas menores a las obtenidas en los tres tratamientos realizados (1.66 mg/L·h en el sistema A, 1.53 mg/L·h en el sistema B y 1.66 mg/L·h en el sistema C. Mennaa *et al*. (2015) en un tratamiento de aguas municipales con *Chlorella sorokiniana* como inóculo con una concentración de 0.3 mg/L, reportaron tasas de abatimiento de nitrógeno 1.11 mg/L·h y 0.48 mg/L·h en fósforo. Los ejemplos anteriores muestran tasas de consumo inferiores, sin embargo, las dos fuentes informan que sus estudios se realizaron empleando aguas residuales municipales esterilizadas, lo que elimina por completo la carga de microoganismos nativa formada principalmente por bacterias aerobias que han comprobado mejorar los resultados en cuanto a productividad celular y consumo de nutrientes por parte de las microalgas generando una simbiosis en los cultivos fotoautotróficos, como los realizados en el presente trabajo, en la que las cargas bacterianas consumen parte de los nutrientes presentes en el medio, principalmente la materia orgánica mediante la oxidación liberando CO_2 que puede ser aprovechado por las microalgas como fuente de carbono en la fotosíntesis al mismo tiempo que libera O_2 que se disuelve en el medio y favorece la proliferación bacteriana, formándose así una relación simbiótica entre los dos tipos de microorganismos (Praveen y Loh, 2015; Santos y Reis, 2014; Tricolici *et al.*, 2014; Su *et al*., 2011; Subashchandrabose *et al*., 2011;

Medina y Neis, 2007). Zhang *et al*., (2008) obtuvieron tasas de consumo de nitrógeno de 8.85 mg/L·h, un valor similar al registrado en el sistema C (8.43 mg/L·h) y 6 mg/L·h como tasa de abatimiento de fósforo siendo mayor a las encontrada en el presente trabajo (1.53-1.66 mg/L·h). En su estudio se utilizó como inóculo una preparación de células de *Scenedesmus sp.* inmovilizadas en una matriz de alginato sobre un efluente doméstico secundario sin esterilizar y con una densidad celular de $17.73x10^6$ cel/mL. González *et al*., (2008) empleando como inóculo *Chlorella sorokiniana* a 120 mg/L de biomasa (densidad celular no reportada) y diferentes diluciones de un concentrado de lodos aerobios, reportaron 7.5-13.6 mg/L·h como tasas de abatimiento de nitrógeno, rango dentro del cual podemos encontrar la tasa obtenida en el sistema C (8.43 mg/L·h). También se reportan tasas de consumo de materia orgánica dentro del rango de 5 a 22.7 mg/L·h siendo comparables a las obtenidas en el presente trabajo (8.42-9.74 mg/L·h). Por su parte Gutzeit *et al*. (2005) obtuvieron tasas de consumo de materia orgánica de 14.25 mg/L·h, siendo mayores a las obtenidas en los tres tratamientos probados (8.42-9.74 mg/L·h). Reportan también una tasa de abatimiento de nitrógeno de 2.02 mg/L·h y 0.33 mg/L·h en abatimiento de fósforo, siendo ambos menores a los que se registraron en los sistemas A, B y C. En su estudio emplearon como inóculo *Chlorella vulgaris* del que no se especifica la concentración celular.

Se realizaron corridas testigo para los tres sistemas en los que no se inoculó el consorcio microalgal se monitoreó el contenido de nitrógeno, fósforo y materia orgánica y se compararon las tasas de abatimiento con las obtenidas en los sistemas inoculados. Los resultados para las tasas de abatimiento registradas se muestran en la Tabla VI. En los tratamientos testigo, aunque no se aportó un inóculo microalgal, se registró una densidad celular microalgal de 16,875 Cel/mL como población propia del influente.

Tabla VI. Comparación de medias obtenidas para tasas de consumo de nutrientes entre los tratamientos y corridas testigo.

	Tasa de consumo de N (mg/L·h)	**Tasa de consumo de P (mg/L·h)**	**Tasa de consumo de MO (mg/L·h)**
Sistema A	5.67 ± 1.01 [b]	1.66 ± 1.27 [a]	8.42 ± 1.16 [a]
Testigo A	1.32 ± 0.13 [c]	0.34 ± 0.01 [c]	2.75 ± 0.84 [b]
Sistema B	6.34 ± 0.91 [b]	1.53 ± 0.28 [a]	9.4 ± 2.11 [a]
Testigo B	1.36 ± 0.17 [c]	0.35 ± 0.01 [b]	3.19 ± 0.45 [b]
Sistema C	9.74 ± 1.20 [a]	1.66 ± 0.38 [a]	9.4 ± 2.11 [a]
Testigo C	1.51 ± 0.11 [c]	0.35 ± 0.04 [b]	2.55 ± 0.81 [b]

Tukey $\alpha < 0.05$

Se observa en la Tabla VI que existe una diferencia significativa entre los tratamientos y sus respectivas corridas testigo, siendo mayores las tasas de consumo obtenidas por los tratamientos con el cultivo del consorcio microalgal que las obtenidas en su respectivas corridas testigo., además se observa que las tasas de consumo de nitrógeno y materia orgánica alcanzadas en las corridas testigo son estadísticamente iguales, encontrando diferencia en la tasa de consumo de fósforo en la corrida testigo A, siendo ésta menor a las alcanzadas para las corridas testigo B y C.

3.2 Prototipo de fotobiorreacción a escala 10 (50 L).

La mejor configuración estudiada fue la del sistema C (helicoidal) al superar las tasas de consumo de nitrógeno respecto a los sistemas A y B y haber mostrado el menor tiempo estimado de tratamiento con 8 h frente las 11 y 10 h obtenidas en A y B, respectivamente. Por lo que se decidió construir el prototipo a escala 10 tomando como base la geometría del reactor helicoidal con un factor de escala de 10:1 en cuanto al volumen de trabajo llevándolo a 50 L de volumen de trabajo y conservando el número de Reynolds, los diagramas empleados para la construcción se detallan en las Figuras 2 y 3 en el Capítulo II del presente documento y el prototipo construido se puede apreciar en la Figura 11.

Figura 11. Prototipo de fotobiorreacción a escala 10 (50 L).

3.2.1 Pruebas de tratamiento de aguas residuales en la configuración con el sistema helicoidal a escala 10 (50 L).

Los resultados de las pruebas a escala 10 (50 L) de la configuración helicoidal en el tratamiento de aguas residuales se muestran en una cinética de abatimiento de nutrientes en la Figura 12, en la que se puede observar una diferencia en los valores iniciales de las concentraciones de contaminantes al inicio del proceso (N 154 mg/L, P 43 mg/L y MO 153 mg/L) respecto a las obtenidas en las pruebas a escala piloto (N 140 mg/L, P 25 mg/L y MO 153 mg/L), dicha variación es considerada normal tomando en cuenta que las corridas se llevaron a cabo en espacios temporales distintos.

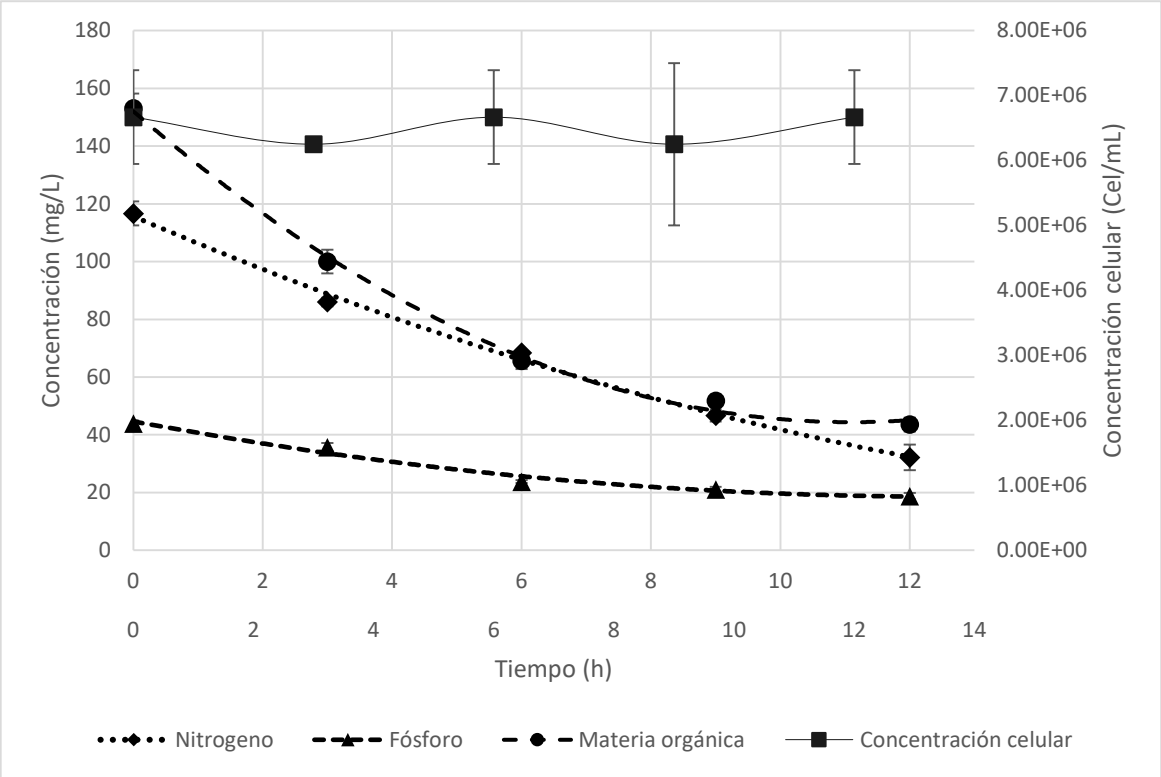

Figura 12. Abatimiento de nutrientes en el sistema de fotobiorreacción a escala 10.

El tiempo de tratamiento estimado de acuerdo al abatimiento de nitrógeno hasta alcanzar el LMP de la NOM-001-SEMARNAT-1996, fue de 10.3 h. Se registró un tiempo estimado de tratamiento mayor al alcanzado en las pruebas a escala 1, sin embargo, dicha diferencia se puede explicar tomando en cuenta que las concentraciones iniciales de trabajo para las corridas a escala 1 fueron menores que las registradas en las pruebas a escala 10. Además, en la Tabla VII se muestran las tasas de consumo de nutrientes en la que se hace una comparación de medias de dichos parámetros encontrando que las tasas de consumo de nitrógeno en las dos escalas probadas fueron estadísticamente iguales, por lo tanto, aunque se encontró un tiempo de tratamiento mayor, la eficiencia en el consumo de nitrógeno en el sistema se mantuvo constante al cambiar la escala de trabajo. En cuanto al consumo de materia orgánica se observa en la misma tabla que las tasas de consumo registradas no mostraron diferencias significativas por lo que la eficiencia en el consumo de materia orgánica también se mantuvo constante. Las tasas de consumo de fósforo sí mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre las dos escalas de trabajo siendo mayor la encontrada a escala 10, éste fenómeno podría deberse al aumento en la concentración de nitrógeno inicial, de acuerdo con lo reportado por Guoan y Jianyi (1997) quienes empleando *Chlorella vulgaris* en un tratamiento biológico para la remediación de aguas residuales encontraron que a mayor concentración de nitrógeno el abatimiento de fósforo también incrementa. Así mismo Robinson *et al.* (1989) reportaron que la concentración inicial de fósforo en un tratamiento de aguas residuales empleando *Chlorella sp* influye en la eficiencia de remoción que tiene el sistema encontrando tasas de remoción mayores al aumentar la concentración inicial del nutriente.

Tabla VII. Comparación de tasas de abatimiento entre los sistemas helicoidales a escala 1 (5 L) y 10 (50 L).

Sistema	Tasa de consumo de N (mg/L·h)	Tasa de consumo de P (mg/L·h)	Tasa de consumo de MO (mg/L·h)
Helicoidal (5 L)	8.43 ± 0.32 [a]	1.66 ± 0.38 [b]	9.74 ± 1.20 [a]
Helicoidal (50 L)	8.28 ± 0.35 [a]	2.46 ± 0.02 [a]	10.74 ± 0.55 [a]
Testigo (5 L)	1.51 ± 0.12 [c]	0.35 ± 0.04 [d]	2.55 ± 0.81 [c]
Testigo (50 L)	2.1 ± 0.11 [b]	0.62 ± 0.04 [c]	4.86 ± 0.17 [b]

Tukey $\alpha < 0.05$

3.3 Factibilidad técnica-económica del uso de coagulantes

Se probaron los coagulantes cloruro férrico y sulfato de aluminio. Se determinó un tiempo de sedimentación de 30 min a partir de la adición de la solución stock del coagulante en cuestión. Los resultados obtenidos para los dos coagulantes empleados se presentan en la Figura 13. Se encontró que existe diferencia significativa entre los dos tipos de coagulantes, resultando como mejor tratamiento el cloruro férrico, además el análisis también indicó que existe diferencia estadística generada por los niveles del factor dosis para el sulfato de aluminio. Mientras que entre las dosis de cloruro férrico probadas no se encontraron diferencias significativas. Por lo tanto, el mejor tratamiento probado es el que emplea como coagulante al cloruro férrico a la dosis mínima probada de 0.1 g/L.

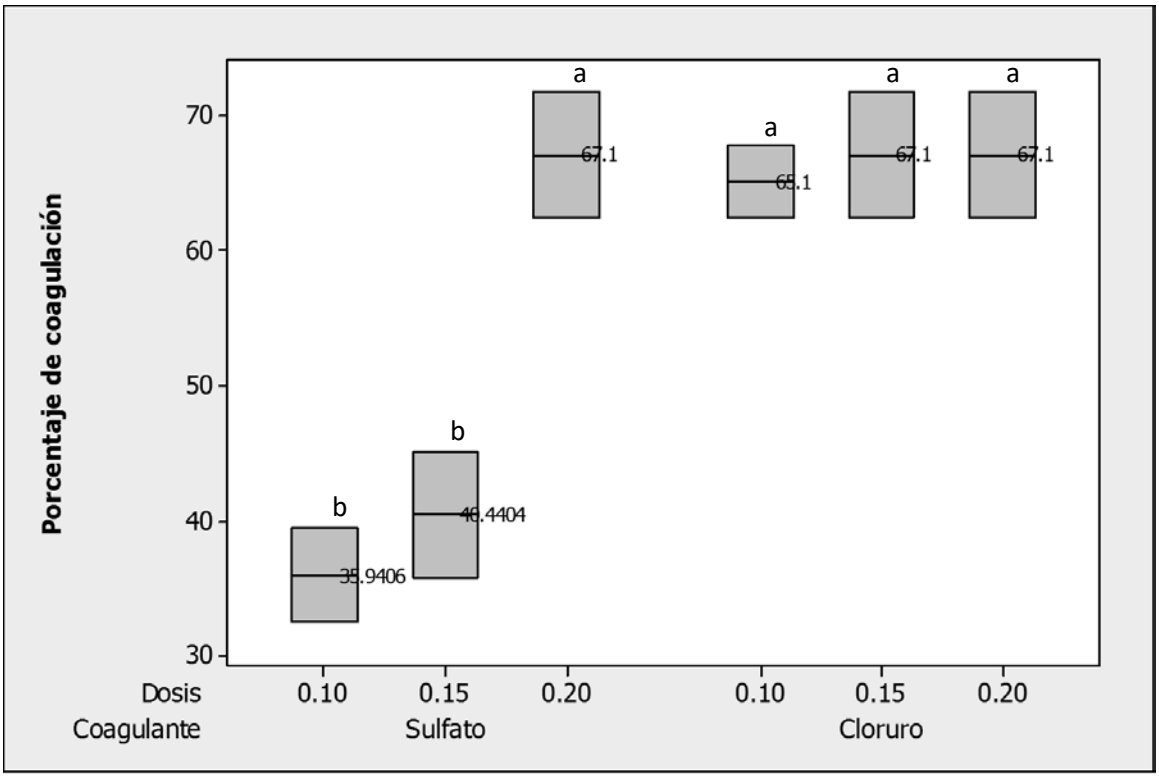

Figura 13. Eficiencia de los coagulantes sulfato de aluminio y cloruro férrico.

Los porcentajes de coagulación pasados 30 min mostrados en la Figura 13, son comparables a los reportados por Ferriols y Aguilar (2012), quienes encontraron como dosis óptima de cloruro férrico 0.1 g/L obteniendo un porcentaje de sedimentación de 90 % en un periodo de asentamiento de 4 h en un cultivo *Tetraselmis tetrahele*. El Diwani *et al.* (2011) encontraron porcentajes de coagulación de 80.16 % por parte del cloruro férrico a una dosis de 0.375 g/L en un tiempo de asentamiento de 30 min.

El costo calculado por L de agua tratada en el prototipo a escala 10 (50 L) fue de 1.49 $/L. El uso de los coagulantes sulfato de aluminio y cloruro férrico genera un costo extra de 0.14 y 0.047 $/L respectivamente. La elevación del costo por litro parece no elevar el costo del proceso de manera significativa a escala de tratamiento de 50 L. Sin embargo, tomando en cuenta la carga volumétrica de la PTAR Insurgentes (605 m^3/día). El costo diario de aplicar los coagulantes al caudal tratado asciende a $84,700.00/día para el coagulante sulfato

de aluminio. Para el cloruro férrico la cifra calculada es de $28,435.00/día. Se estima que la aplicación de coagulantes en el efluente del sistema no es viable económicamente al momento de proyectar los costos derivados del uso de coagulantes al caudal de la PTAR Insurgentes.

CONCLUSIONES

Los sistemas propuestos mostraron la capacidad de sostener el cultivo del consorcio microalgal formado por *Scenedesmus obliquus, S. quadricauda y Chlorella vulgaris*. En cuanto a los parámetros cinéticos alcanzados en los tres sistemas probados, se encontraron diferencias estadísticamente significativas debido a las características geométricas de cada uno y el cambio en el estrés hidrodinámico al que es sometido el cultivo. El fotobiorreactor que presentó los mejores parámetros en la producción de biomasa fue el sistema C (μ = 0.082 días $^{-1}$, 0.118 divisiones/día, tiempo de duplicación de 8.45 días y productividad de 8.33 x10^5 Cel/mL*día).

En las pruebas de tratamiento de aguas residuales a escala 1, en los tres sistemas el consorcio fue capaz de realizar en consumo de nutrientes por lo tanto, el mismo presentó potencial para ser aplicado en el tratamiento de aguas residuales municipales. Se demostró que la geometría del fotobiorreactor tiene efecto en la eficiencia en su aplicación en el tratamiento de aguas residuales municipales a escala 1 coincidiendo en el sistema C (helicoidal) como la mejor configuración al presentar tiempos de retención de 8 h frente a las 10 y 11 h obtenidas en los sistemas B y A respectivamente y haber obtenido una tasa de abatimiento de nitrógeno (8.43 mg/L*h) significativamente mayor a las obtenidas en los sistemas A y B (5.67 y 6.34 mg/L*h).

Comparando las dos escalas probadas, las tasas de consumo de nitrógeno a escala 1 y 10 (8.43 mg/L*h, 8.28 mg/L*h respectivamente) mostraron ser estadísticamente iguales. En cuanto a las tasas de consumo de materia orgánica obtenidas en las escalas 1 y 10 (9.74 mg/L*h, 10.74 mg/L*h respectivamente) también se encontró igualdad estadística. Sin embargo, la tasa de consumo de fósforo mostró ser estadísticamente diferente entre las dos escalas (1.66 frente a 2.46 en la escala 1 y 10 respectivamente), siendo mayor la encontrada en el factor de escala 10. Dicha diferencia se atribuye a un cambio en la composición del agua residual empleada, mismo que no pudo ser controlado debido a la naturaleza fluctuante

de la composición del agua residual municipal. Por lo tanto, se concluye que el sistema de fotobiorreacción a escala 10 (50L) compuesto por una columna de burbujeo y un reactor tubular cerrado en configuración helicoidal combinado con el cultivo del consorcio microalgal (*Scenedesmus obliquus, S. quadricauda y Chlorella vulgaris)* mostró potencial para ser empleado como método de tratamiento secundario biológico en el tratamiento de aguas residuales. Adicionalmente, se recomienda realizar un nuevo estudio a un factor de escala mayor (500 L) con el objetivo de determinar las condiciones de operación adecuadas para que el sistema pueda ser aplicado como método de tratamiento secundario biológico en el tratamiento de aguas residuales urbanas a escala industrial.

Respecto al uso de coagulantes para realizar la cosecha de la biomasa producida, se encontraron resultados satisfactorios de sedimentación por parte del cloruro férrico a una dosis de 0.1 g/L. Sin embargo, se concluyó que los costos derivados del uso de dichas sustancias encarece el sistema de tratamiento por lo que el uso de coagulantes no es económicamente viable

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andersen, R. (2005). Algal culturing techniques. Burlington, MA: Elsevier Academic Press.
2. Ansa, E. D. O., Lubberding, H. J., Ampofo J. A. & Gijzen, H. J. (2011). The role of algae in the removal of *Escherichia coli* in a tropical eutrophic lake. Ecological Engineering, 37, 317-324.
3. Arriaga, J. T., Vera, V. L., Medina, R. G., Portilla, R. O. M., Arzate, M. G., Salinas, M. A. & Reynoso, C. L. (2014). Tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales a escala laboratorio, con un cultivo mixto de microalgas compuesto por *Scenedesmus spp*. y *Chlorococcum spp*. Revista Latinoamericana de Multiciencias, 1, 50-59.
4. Aslan, S. & Kapdan, I. K. (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. Ecological Engineering, 28, 64–70.
5. Atlas, R. M. & Bartha, R. (2002). Ecología microbiana y microbiología ambiental. Madrid. Pearson education.
6. Barbosa, M.J, Albrecht, M. & Wijffels, R.H. (2003). Hydrodynamic stress and lethal events in sparged microalgae cultures. Biotechnol Bioeng, 83, 112–120.
7. Barraza, C., Collao, V., Espinoza, C., Moya, F., Thun, G. & Torres M. (2009). Producción de biodiesel a partir de microalgas. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
8. Barsanti, L. & Gualtieri, P. (2006). Algae, Anatomy, biochemistry & Biotechnology. Boca Raton, FL: CRC Press.
9. Bitton, G. 2005. Wastewater microbiology. New Jersey: Wiley and Sons Publications.
10. Blackburn, S. (2004). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell publishing.
11. Bold, H.C. (1949). “The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama*”, Bulletin of the Torrey Botanical Club, 72(2), 101-108.
12. Borowitzka, M.A., (1997). Microalgae for aquaculture: Opportunities and constraints. Journal of Applied Phycology, 9, 393–401.

13. Borowitzka, M.A. (1996). Closed algal photobioreactors: Design considerations for large-scale systems. Journal of Marine Biotechnology, 4, 185-191.
14. Borowitzka, M.A. (1998). Limits to growth. En: Wong, Y. S. & Tam, N. F. Y. (Ed.), Wastewater treatment with algae. Springer.
15. Borowitzka, M. A. (2005). Culturing microalgae in outdoor ponds. En Andersen, R. A. (Ed.), Algal Culturing Techniques. Burlington, MA: Elsevier Academic Press.
16. Brennan, L. & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae. A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 14(2), 557-577.
17. Brzezinski, M. A. (1985). The Si:C:N ratio of marine diatoms: Interspecific variability and the effect of some environmental variables. Journal of Phycology, 21(3), 347–357.
18. Carlsson, A. S., Clayton, D., Moeller, R. & Van-Beilen, J.B. (2007). Micro and macroalgae: Utility for industrial applications. Newbury, UK: CPL Press.
19. Carpenter, S. R., Caraco, N. F. & Smith, V. H. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. Ecological Applications, 8, 559-568.
20. Cooney, C. L. (1983). Bioreactors: Design and Operation. Science, 219, 728-733.
21. De la Noüe, J. & Proulx, D. (1988). Tertiary treatment of urban wastewater by chitosan-immobilized *Phormidium sp*. Algal Biotechnology, 29, 292-297.
22. Durán, P. O. (2012). Producción de biomasa algal en un fotobioreactor para la depuración de aguas residuales. Universidad Politécnica de Catalunya.
23. Echarri, L. (2007). Población, ecología y ambiente. Universidad de Navarra.
24. El Diwani, G. I., El Rafei, S. A., Hawash, S. I. & El Enin, S. A. (2011). Optimized flocculation of microalgae for fuel oil and antioxidant production. Der Chemica Sinica, 2(4), 12-25.
25. Environmental Protection Agency (EPA). (1975). Process design. Manual for nitrogen control. Washington DC: Office of technology transfer.
26. Ferriols, V. M. E. N. & Aguilar, R. O. (2012). Efficiency of various flocculants in harvesting the green microalgae *Tetraselmis tetrahele* (*Chlorodendrophyceae: Chlorodendraceae*). AACL Bioflux, 5(4), 265-273.

27. Fogg, G. E. & Thake, B. (1987). Algal cultures and phytoplankton ecology. Univ of Wisconsin Press.
28. García, C.F, Contreras, G.A, Sobczuk, T.M. & Molina, G.E. (2000). Effects of mechanical and hydrodynamic stress in agitated, sparged cultures of *Porphyridium cruentum*. Process Biochemistry, 35, 1045–1050.
29. García, C.F, Molina, G.E, Mirón, A.S, Pascual, V.G. & Chisti, Y. (2001). Carboxymethyl cellulose protects algal cells against hydrodynamic stress. Enzyme Microb Technol, 29, 602–610.
30. García-Cubero, R. (2014). Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos acoplada a la eliminación fotosintética de CO_2. Universidad de Sevilla.
31. Gasperi, J., Garnaud, S., Rocher, V. & Moilleron R. (2008). Priority pollutants in wastewater and combined sewer overflow. Science of the total environment, 407, 263–272.
32. Geankoplis, C. J. (1978). Procesos de transporte y operaciones unitarias. Boston, Massachusetts: Allyn and Bacon, Inc.
33. González, C., Marciniak, J., Villaverde, S., García-Encina, P. A. & Muñoz R. (2008). Microalgae-based processes for the biodegradation of pretreated piggery wastewaters. Appl Microbiol Biotechnol, 80, 891–898.
34. González, L. E., Cañizares, R. O. & Baena, S. (1997). Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. Bioresource Technology, 60, 259-262.
35. Gordon, M. F., John, C. G. & Daniel, A. O. (1973). Purificación de aguas y tratamientos y remoción de aguas residuales. México, D.F.: Editorial Limusa.
36. Grady, C. P. L., Daigger, G. T., Love, N. G. & Filipe, C. D. M. (2011). Biological Wastewater Treatment. Boca Raton, FL: CRC Press.
37. Grima, E. M., Fernández, C. F. G. & Chisti Y. (1999). Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. J. Biotechnol, 70(1), 231-247.
38. Grobbelaar, J. U. (1989). Do light/dark cycles of medium frequency enhance phytoplankton productivity. Journal of Applied Phycology, 1(4), 333-340.

39. Grobbelaar, J. U. (1994). Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations. Journal of Applied Phycology, 6(3), 331-335.
40. Guoan, A. Y. & Jianyi, Y. Y. (1997). Comparison of the effects of nitrogen concentration on nutrient removal, growth and physiological characteristics of immobilized and free *Chlorella Vulgaris*: I. growth and nutrient removal. Toxicological & Environmental Chemistry, 58(1), 63-74.
41. Gutzeit, G., Lorch D., Weber, A., Engels, M. & Neis, U. (2005). Bioflocculent algal-bacterial biomass improves low-cost wastewater treatment. Water Science & Technology, 52(12), 9-18.
42. Hammouda, O., Gaber, A. & Abdel-Raouf, N. (1994). Microalgae and wastewater treatment. Ecotoxicology and Environmental Safety, 31, 205–210.
43. Hernández, A. (2000). Manual de depuración uralita. España: Thompson Learning.
44. Hu, Q., Kurano, N., Kawachi, M., Iwasaki, I. & Miyachi S. (1998). Ultrahigh-cell-density culture of a marine green alga *Chlorococcum littorale* in a flat-plate photobioreactor. Appl Microbiol Biotechnol, 49, 655-662.
45. INEGI. (2010). Actividades económicas. Documento en línea consultado el 09/12/15. Recuperado de: http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/gto/economia/default.aspx?tema=me&e=11
46. Kaplan, D., Richmond, A., Dubinsky, Z. & Aaranson S. (1986). Handbook of Microalgal Masss Culture. Boca Raton, FL: CRC Press.
47. Khan, F.A. & Ansari, A.A., (2005). Eutrophication: An ecological vision. The Botanical Review, 71(4), 449-482.
48. Lee, C. G. (1999). Calculation of light penetration depth in photobioreactors. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 4, 78-81.
49. Lee, J. M. (2001). Biochemical Engineering. Pullman, WA: Washington State University.
50. Lee, S. J., Kim, S. B., 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.

51. Lee, Y. K. (2001). Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. Journal of Applied Phycology, 13, 307-315.
52. Madigan, M. T., Martinko, J. M. & Parcker J. (2004). Brock, Biología de los organismos. Madrid: Pearson Education.
53. Medina, M. & Neis, U. (2007). Symbiotic algal bacterial wastewater treatment: effect of food to microorganism ratio and hydraulic retention time on the process performance. Water Science & Technology, 55(1), 165–171.
54. Meganck, M. T. J. & Faup, G. M. (1988). Enhanced biological phosphorus removal from waste waters. Biotreatment Systems, 3. 111-204.
55. Mennaa, FZ., Arbib, Z. & Perales, JA. (2015). Urban wastewater treatment by seven species of microalgae and an algal bloom: Biomass production, N and P removal kinetics and harvestability. Water Research. In press. Doi: 10.1016/j.watres.2015.06.007
56. Mujeriego, R. (1990). Manual práctico de riego con agua residual municipal regenerada. Barcelona: Ediciones de la Universitat Politécnica de Catalunya.
57. Muñoz, C. M. (2008). Caracterización y tratamiento de aguas residuales. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
58. Munoz, R. & Guieysse, B. (2006). Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. Water Research, 40, 2799-2815.
59. Newell, S.Y. & Fallon, R.D. (1982) Bacterial productivity in the water column and sediments of the Georgia (USA) coastal zone: Estimates via direct counting and parallel measurement of thymidine incorporation. Microb Ecol, 8, 33-46.
60. 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.
61. NMX-AA-034-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba.
62. NMX-AA-026-SCFI-2010. Análisis de agua - Medición de nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba.
63. NMX-AA-029-SCFI-2010. Análisis de aguas - Determinación de fósforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba.

64. NMX-AA-004-SCFI-2013. Análisis de agua – Medición de sólidos sedimentables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba.
65. NOM-001-SEMARNAT-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
66. NOM-002-SEMARNAT-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.
67. NOM-003-SEMARNAT-1997. Límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público.
68. Oswald, W.J., (1988). Micro-algae and waste-water treatment. En: Borowitzka, M. A. Micro-algal biotechnology. Cambridge: Cambridge University Press.
69. Park, J. B. K., Craggs, R. J. & Shilton A. N., (2011). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. Bioresource Technology, 102, 35–42.
70. Praveen, P. & Kai-Chee, L. (2015). Photosynthetic aeration in biological wastewater treatment using immobilized microalgae-bacteria simbiosis. Environmental Biotechnology. In press. Doi: 10.1007/s00253-015-6896-3
71. Piedrola, G. (2000). Medicina Preventiva y Salud Pública. Barcelona: Masson.
72. Rasoul-Amini, S., Montazeri-Najafabady, N., Shaker, S., Safari A., Kazemi, A., Mousavi, P., Mobasher, MA. & Ghasemi, Y. (2013). Removal of Nitrogen and Phosphorus from wastewater using microalgae free cells in batch culture system. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. In press. Doi: 10.1016/j.bcab.2013.09.003
73. Regodón, J. A. (2007). Contaminación del agua: concepto, contaminantes y efectos. Documento en línea consultado 02/07/14. Recuperado de: http://almez.pntic.mec.es/jrem0000/dpbg/2bch-ctma/tema6/contam-agua.htm
74. Reynolds, C. S. 1984. Ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge: Cambridge University Press.
75. Richmond, A. (2004). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Ames, Iowa: Blackwell Science.
76. Richmond, A. (1990). Large scale microalgal culture and applications. Progress in Phycological Research 7. Bristol: Biopress Ltd.

77. Robinson, P. K., Reev, J. O. & Goulding, K. H. (1989). Phosphorus uptake kinetics of immobilized *Chlorella* in batch and continuous-flow culture. Enzyme Microbiol Technol, 11, 590-596.
78. Romo, P. A. K. (2002). Manual para el cultivo de microalgas, Universidad Autónoma de Baja California Sur.
79. Ruiz-Martínez, A. (2011). Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
80. Salas, Q. D., Zapata, M. A. & Guerrero, J. (2007). Modelo de costos para el tratamiento de las aguas residuales en la región. Scientia et Technica Año XIII, 37, 591-596.
81. Sans, R. (1999). Tratamiento de aguas residuales por lagunas de estabilización. México, D.F.: Alfaomega.
82. Santos, C.A. & Reis, A. (2014). Microalgal symbiosis in biotechnology. Appl Microbiol Biotechnol. Publicado en línea. Doi: DOI 10.1007/s00253-014-5764-x
83. SEMARNAT. (2008). Agua. Documento publicado en línea. Recuperado de: http://www.semarnat.gob.mx/archivosanteriores/informacionambiental/Documents/05_serie/yelmedioambiente/4_agua_v08.pdf
84. Silva, H.J, Cortiñas, T. & Ertola, R.J. (1987). Effect of hydrodynamic stress on *Dunaliella* growth. Chem. Tech. Biotechnol, 40, 41-49.
85. Sobczuk, T.M., García, C.F, Molina, G.E. & Chisti, Y. (2006). Effects of agitation on the microalgae *Phaeodactylum triconutum* and *Porphyridium cruentum*. Bioprocess Biosyst Eng, 28, 243–250.
86. Su, Y., Mennerich, A. & Urban B. (2011) Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settleable algal-bacterial culture. Water Research, 45, 3351-3358.
87. Subashchandrabose, S.R., Ramakrishnan, B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K. & Naidu, R. (2011). Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: Biotechnological potential. Biotechnology Advances, 29, 896-907.
88. Tchobanoglous, G., Burton, F. L. & Stensel, H. D. (2003). Wastewater engineering: Treatment and reuse. Boston. McGraw-Hill.

89. Tricolici, O., Bumbac, C. & Postolache, C. (2014). Microalgae–Bacteria System for Biological Wastewater Treatment. Journal of Environmental Protection and Ecology, 15, 268–276.
90. Ugwu, C. U., Aoyagi, H. & Uchiyama, H. (2008). Photobioreactors for mass cultivation of algae. Bioresource Technology, 99, 4021-4028.
91. Vega-Estrada, J., Montes-Horcasitas, M.C., Domínguez-Bocanegra, A.R. & Cañizares-Villanueva, R.O. (2005). *Haematococcus pluvialis* cultivation in split-cylinder internal-loop airlift photobioreactor under aeration conditions avoiding cell damage. Appl Microbiol Biotechnol, 68, 31–35.
92. Weissman, J. C. & Goebel, R. P. (1985). Production of liquid fuels and chemicals by microalgae: A final subcontract report. Golden, Colorado: Solar Energy Research Institute.
93. White, P.A., Kalff, J., Rasmussen, J.B. & Gasol, J.M. (1991). The effect of temperature and algal biomass on bacterial production and specific growth rate in freshwater and marine habitats. Microbial Ecology, 21, 99-118.
94. Xin, L. (2010). Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus sp*. Bioresource Technology, 101, 5494-5500.
95. Yang, X., Wu, X., Hao, H. & He, Z. (2008). Mechanisms and assessment of water eutrophication. Journal of Zhejiang University Science ABC, 9, 197-209.
96. Zhang, E., Wang, B., Wang, Q., Zhang, S. & Zhao, B. (2008). Ammonia–nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Scenedesmus sp*. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment. Bioresource Technology, 99, 3787–3793.