



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL DE UNA INDUSTRIA PETROQUÍMICA DE
ALTAMIRA, TAMPS. MEDIANTE CULTIVOS DE MICROALGAS**

Tesis que para obtener el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS
ENERGÍA Y MEDIO AMBIENTE

Presenta:

Marisol Martínez Hernández

Director:

Dra. Mónica Cristina Rodríguez Palacio

Sinodales:

Dra. Patricia Castilla Hernández
Dr Alejandro Federico Alva Martínez
Dr Emilio Arenas Guerrero

Ciudad de México 13 de marzo de 2020

Agradecimientos...

A mi familia, por el apoyo incondicional, por la ayuda práctica, sus oraciones y su amor, por su confianza y por sus palabras reconfortantes en todo tiempo. Dedico este trabajo a mis papas, no pude haber tenido mayor bendición que tenerlos!!!

A mis compañeros del laboratorio de Ficología de la UAM-I, , Yasel, Jesy, Bety, Janeet, Nely, Briss, Lauris y a todos los que se unieron en el camino

A los profesores, Cruz Lozano y Sergio Álvarez, por su apoyo durante mi estancia y a mis profesores del PEMA

A mis sinodales Dra Patricia Castilla Hernández, Dr Alejandro Federico Alva Martínez y al Dr Emilio Arenas Guerrero por su valiosa colaboración en la revisión de este trabajo.

A mis hermanos en Cristo de INEX-COMPA (UAM-I), de Vida Nueva en Copilco , Gente con Propósito y a la PIB Tampico ,por darme ese acompañamiento espiritual y sobre todo por sostenerme en oración y permitirme servir juntos a Dios en toda oportunidad.

A la profesora Mónica Cristina Rodríguez Palacio, quien da sin medida no solo sus conocimientos, sino su ayuda y apoyo, con el único fin de hacernos crecer como profesionistas y trascender como personas (aunque esto último, ella no se da cuenta que lo hace) y a Linda Jaanette Galeana Hurtado, por todo el apoyo incondicional, una amalgama perfecta para que ese gran equipo sea tan exitoso como lo es, a ambas mi mas profundo agradecimiento.

A mi Dios, por permitirme ver la maravilla de su creación a nivel microscópico, las microalgas tienen una belleza única y considero que al igual que las flores, son una obra de arte cuya belleza comunica la esencia de su autor.

“Señor, digno eres de recibir la gloria, la honra y el poder; porque tu creaste todas las cosas, y por tu voluntad existen y fueron creadas”
Apocalipsis 4:11

ÍNDICE GENERAL

Contenido	PAG.
1 INTRODUCCIÓN	6
1.1 Problemática mundial del agua, abastecimiento y reúso.....	6
1.2 Modelos normativos internacionales en materia de aguas residuales industriales.....	7
1.3 Marco normativo Nacional vigente.....	10
1.4 Escenario Nacional en materia de aguas residuales.....	12
1.5 Tratamientos fisicoquímicos para aguas residuales industriales.....	14
1.6 Tratamiento biológico de aguas residuales mediante lodos activados.....	14
1.7 Biorremediación de aguas residuales.....	15
2 ANTECEDENTES	16
3 JUSTIFICACIÓN	23
4 OBJETIVO GENERAL	24
4.1 Objetivos particulares.....	24
5 HIPOTESIS	24
6 METODOLOGIA	25
6.1 Escalamiento de cepas.....	26
6.2 Análisis de nutrientes.....	27
6.3 Inmovilización de los cultivos.....	27
6.4 Curvas de crecimiento.....	28
6.5 Montaje en fotobiorreactores.....	29
6.6 Cosecha de biomasa algal.....	30
6.7 Análisis de la biomasa algal.....	30
6.8 Consideraciones en la obtención de la muestra de agua residual industrial.....	31
6.9 Análisis estadístico de los resultados.....	31
7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
7.1 Resultados de la primera etapa. (Selección de especie).....	32
7.2 Fase dos: Experimento en fotobiorreactor 4L	36
7.2.1 Tasas de crecimiento.....	36
7.2.2 Remoción de Amonio.....	38
7.2.3 Remoción de fosfatos.....	41

7.2.4	Remoción de DQO.....	44
7.2.5	Efecto en la disminución de color.....	46
7.3	Análisis de la biomasa algal	48
8.	CONCLUSIONES	57
	GLOSARIO	
	BIBLIOGRAFIA	

RESUMEN

El trabajar con agua residual industrial como medio de cultivo para microalgas, reedita el costo-efectividad, debido a la tecnología simple que envuelve, un tratamiento de biorremediación, y el aprovechamiento de la biomasa en procesos acoplados a producción de biocombustibles. En este trabajo se estudiaron dos especies de microalgas, *Chlorella* sp. y *Lagerheimia* sp., ambas fueron aisladas de la zona industrial de Altamira, Tampaulipas y se evaluó su capacidad para biorremediación de aguas residuales industriales, la cual fue colectada de una industria petroquímica dedicada a la producción de colorantes azoicos y estireno. En una primera etapa del experimento se determinaron las concentraciones iniciales y finales de amonio, nitritos, fosfato y DQO, cultivando las especies en concentraciones del agua residual de 50 y 30%. La especie que logró mejores resultados fue *Lagerheimia* sp. en la concentración del 50% de agua residual. Por lo que se seleccionó para montar experimentos a escala fotobiorreactor de 4L a esa concentración; en dos estados, como cultivo libre e inmovilizado en perlas de alginato de calcio; se utilizó como medio control medio F/2. Los experimentos se montaron por triplicado y los fotobiorreactores se mantuvieron con aireación continua, con una irradiación de $167 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura: $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ y fotoperiodo: 12:12 h, L:O. Se volvieron a monitorear los mismos parámetros amonio, fosfatos, DQO y conteo celular, tomando para esto muestras de los sistemas cada tercer día. *Lagerheimia* sp. removi6 valores en el 6rden de 92 a 95% de amonio, 53 a 53.4% de fosfatos y un 67.6% de DQO, sin diferencias estadísticas significativas entre el estado libre e inmovilizado. Los análisis de la biomasa algal en estado libre present6 concentraciones altas de lípidos: 31.1%, siendo 53.16% ácidos grasos saturados- monoinsaturados y un 39.4% de ácidos grasos poliinsaturados por lo que puede ser utilizada para la producción de biodiesel. Este trabajo es el primer reporte del uso de la microalga *Lagerheimia* sp., para biorremediación de aguas residuales industriales y producción de lípidos. El uso de especies nativas aisladas del efluente a estudiar nos garantiza mayor adaptación al sistema y nos brinda mejores resultados en la investigación.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 PROBLEMÁTICA MUNDIAL DEL AGUA, ABASTECIMIENTO Y REÚSO

El agua dulce es un recurso esencial para la vida, cuya distribución a nivel mundial es heterogénea, esto conlleva a que se esté convirtiendo, en muchas regiones del mundo, en un factor limitante para la salud humana, la producción de alimentos, el desarrollo industrial y el mantenimiento de los ecosistemas naturales y su biodiversidad e incluso para la estabilidad social y política. El impacto en su limitación como recurso, es un tema abordado por organizaciones internacionales como La Organización de las Naciones Unidas (ONU), La Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), el Banco Mundial, la Asociación mundial para el agua entre muchas otras, quienes figuran como actores principales en la gestión e impulso de programas para el buen aprovechamiento de este vital recurso en diversos países, aunado a lo provechoso que resultan los tratados generados en foros internacionales para el diseño o mejora de políticas públicas en los países miembros, para el aprovechamiento y cuidado del agua.

Es así como el programa mundial de la ONU, en la nueva agenda de desarrollo post-2015 bajo el precepto “Asegurando agua sostenible para todos” incluye la problemática mundial del agua, y dentro de los objetivos más importantes destaca, el promover el bienestar humano, la prosperidad económica y la preservación del capital ambiental, haciendo énfasis en la importancia sobre la protección de los recursos hídricos de la sobreexplotación y la contaminación, y a la vez satisfacer las necesidades de agua potable, de saneamiento, energía, agricultura y otros (ONU, 2015).

Dentro de los objetivos propuestos en el mencionado programa mundial, se considera como prioridad, la reducción de las aguas residuales sin tratar, la contaminación por nutrientes y aumentar la reutilización de aguas residuales para ser incluidos en los programas y/o políticas ambientales de los países miembros.

El último punto, el reutilizar las aguas residuales es algo que se hace hoy día en el campo ante la extensión de la urbanización y la escasez del suministro de agua, lo cual ha motivado a los agricultores urbanos y periurbanos a utilizar aguas residuales sin tratamiento para el riego, esto significa una amenaza potencial para la salud tanto de los consumidores como de los usuarios del riego. Por tanto, se deben poner en práctica medidas de saneamiento adecuadas como son: limitar la utilización de los efluentes industriales para el riego; evitar la contaminación de los cultivos con productos químicos o agentes patógenos; reducir y eliminar el empleo de plaguicidas y gestionar el agua y los cultivos a fin de evitar la propagación de enfermedades transmitidas por vectores (ONUAA, 2009).

1.2 MODELOS NORMATIVOS INTERNACIONALES EN MATERIA DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES

Más del 80% de las aguas residuales generadas en los países en desarrollo se descargan sin tratamiento a cuerpos de agua superficiales. A nivel mundial, dos millones de toneladas de aguas residuales, desechos industriales y agrícolas se vierten afectando aproximadamente 245 000 km² de los ecosistemas marinos, con repercusiones en la pesca, la cadena alimentaria y medios de vida (PNUMA y ONU-Hábitat, 2010).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), al 2015 el 39% de la población mundial utilizaban un servicio de saneamiento gestionado de forma segura, mientras el 27% utilizaba instalaciones privadas de saneamiento conectadas al alcantarillado, desde el cual se trataban las aguas residuales. El 88% de las enfermedades diarreicas son producto de un abastecimiento de agua insalubre y de un saneamiento e higiene deficiente, esto en países en desarrollo (OMS, 2017)

La mayoría de los modelos normativos a nivel mundial, integran bajo el mismo esquema de límites máximos permisibles para contaminantes las descargas de aguas residuales, sin hacer una distinción en el caso de las descargas de aguas de origen industrial. Sin embargo, algunos países ya han comenzado a integrar marcos normativos específicos para este tipo de efluentes (ANIQ, 2014) a continuación se citan algunos ejemplos:

Argentina

Mediante el Decreto 674/89 (reemplaza al Decreto 2125/78), establece el Principio Contaminador-Pagador que refiere al pago de cuota de resarcimiento por parte de aquellos agentes, que vierten efluentes industriales a las aguas colindantes al sitio industrial (BORA, 1973)

Costa Rica

En materia de legislación ambiental, cuenta con el Reglamento del Canon Ambiental por vertidos decreto No. 34431(DOLG, 2008), el cual contempla el uso de recursos hídricos para verter sustancias contaminantes. Así mismo el Decreto No. 33903 establece los criterios y la metodología para la evaluación de la calidad de los cuerpos de agua superficiales, así como en sí mismo éste decreto es una herramienta para clasificación y para establecer los diferentes usos que se le pueda dar a este recurso (DOLG,2007).

Nicaragua

Su legislación contempla una clasificación de 31 giros industriales y les da parámetros específicos de calidad del agua, además de puntualizar la eficiencia esperada para cada tipo de tratamiento específico, considerando los siguientes parámetros indicadores, Demanda Bioquímica de oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Sólidos suspendidos, Coliformes, Fósforo y Nitrógeno (DON, 2007).

Panamá

Maneja 127 giros de la Clasificación Industrial Internacional Uniforme, CIIU. Parámetros contaminantes significativos en cada tipo de industria, los cuales requieren una caracterización para determinar el promedio diario y mensual. Todo establecimiento emisor que descargue sus efluentes líquidos directamente a cuerpos de aguas superficiales y subterráneas, deberá entregar a la Autoridad Nacional del Ambiente, un reporte trimestral con los análisis realizados. Además, una vez obtenida la caracterización, deben presentar un Programa de Adecuación y Manejo Ambiental (PAMA) que incluya medidas para el control de la calidad de sus descargas.

Panamá cuenta con las siguientes herramientas jurídicas en materia de agua servidas o residuales (Gob. de Panamá, 2000):

1. Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 24-99
2. Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 35-2000
3. Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 39-2000

Los cuales, en su conjunto, establecen los tratamientos requeridos para las aguas residuales, límites máximos permisibles de contaminantes, así como los lineamientos para su disposición final en los diferentes cuerpos de agua.

Comunidad Europea

A través de la Directiva 91/271/CEE-artículo 13: los Estados miembros velarán porque a partir del 31/XII/2000 las aguas residuales industriales biodegradables procedentes de instalaciones que procedan de los sectores industriales: Industrialización de la leche; Productos elaborados del sector hortofructícola; elaboración y embotellado de bebidas sin alcohol, industrialización de la patata, industria cárnica, industria cervecera, producción de alcohol y bebidas alcohólicas, fabricación de piensos a partir de productos vegetales, fabricación de gelatina y de cola a partir de cueros, pieles y huesos; almacenes de malta, industrialización del pescado y que no penetren en las instalaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas antes de ser vertidas en las aguas receptoras, se sometan antes del vertido a las condiciones establecidas en la normativa(CCE¹,1991).

¹ Consejo de las Comunidades Europeas.

Por su parte, organizaciones internacionales como el Banco Mundial (BM, 2010) establecen límites permisibles, para contaminantes como la DBO₅ y DQO.

La Tabla 1 y 2 contienen algunos límites máximos permisibles de los diferentes parámetros de calidad el agua residual industrial, citados por organismos internacionales.

Tabla 1. Límites establecidos por el manual del Banco Mundial para abatimiento y prevención de la contaminación en cuerpos de agua.

Giro Industrial	DBO ₅ (mg/L)	DQO (mg/L)	Giro Industrial	DBO ₅ (mg/L)	DQO (mg/L)
Metalurgia y minería	N.I	150	Cervecería	50	250
Carbón	30	150	Lácteos	50	250
Colorantes	30	150	Electrónica	50	N.I
Proceso de frutas y vegetales	N.I	250	Vidrio	N.I	250
Fierro y acero	50	N.I	Procesos de alimentos	50	250
Petróleo y gas	50	150	Pesticidas Formulación	N.I	150
Petroquímica	30	150	Pesticidas manufactura	30	150
Refinería	30	150	Farmacéutica manufactura	30	150
Imprenta	30	150	Azúcar manufactura	50	250
Curtiduría y tenería	50	250	Textil	50	250
Proceso de aceite vegetal	50	250	Preservación de madera	N.I	150

Fuente: Banco mundial (2010).Lineamientos de control ambiental de desechos industriales.Informe 24643.Recuperado de <http://documentos.bancomundial.org/curated/es/813211468331794803/Environmental-guidelines>
N.I : No indicado

Tabla 2. Parámetros de calidad del agua residual industrial considerados en la normativa internacional.

PARÁMETRO	UNIDADES	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES	
		Intervalo más alto	Intervalo más bajo
		De acuerdo a las latitudes de cada país.	De acuerdo a las latitudes de cada país.
pH	UpH	6-10	5
Color	U. Pt-Co	1500	50
Grasas y aceites	mg/L	1500	10
Sólidos totales	mg/L	1500	N.I
Sólidos suspendidos	mg/L	3500	40-60
Sólidos sedimentables	ml/L	1-2	0-1
Sólidos disueltos	mg/L	1500	N.I
DBO ₅	mg/L	300	25
DQO	mg/L	1000	125
Hierro	mg/L	10	N.I
Manganeso	mg/L	2	0.3
Mercurio	mg/L	0.1	0.0008
Molibdeno	mg/L	2.5	1
Níquel	mg/L	6	0.2
Plata	mg/L	5	0.1
Plomo	mg/L	4	0.2-0.4
Selenio	mg/L	5	0.01
Cadmio	mg/L	1	0.01
Boro	mg/L	5	0.75
Arsénico	mg/L	5	0.06
Bario	mg/L	5	N.I
Cromo total	mg/L	3.70	0.5-1.0
Cromo VI	mg/L	0.5	0.1
Cobre	mg/L	6	0.5
Nitrógeno Total	mg/L	1400	15-25
Ortofosfatos	mg/L	4	N.I
Fósforo total	mg/L	700	10
Cianuros	mg/L	5	0.2
Comp. Fenólicos	mg/L	100	N.I

Fuente: ANIQ -Asociación Nacional de la Industria Química- (2014). Boletines. Calidad del Agua Residual Tratada. Recuperado de :www.aniq.org.mx/boletines/2014/assets/img/2014/abril/.../20140326_aniq.pdf

1.3 MARCO NORMATIVO NACIONAL VIGENTE.

En el país, aproximadamente un 80% del abastecimiento de agua potable proviene de acuíferos subterráneos y a partir del diagnóstico en 218 cuencas del país, la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) definió y jerarquizó acciones necesarias para restaurar y mejorar la calidad del agua de los ríos, acuíferos y cuerpos de agua (CONAGUA, 2014).

De acuerdo a las Estadísticas del agua en México (CONAGUA, 2014), la sobreexplotación del agua subterránea en México, es un problema que ha adquirido cada vez mayor relevancia a lo largo de los últimos 20 años, principalmente en las zonas áridas y semiáridas, lo que ha ocasionado que la extracción del agua se efectúe con bombeos a profundidades incosteables, especialmente para la agricultura. La utilización de agua residual tratada en actividades o procesos industriales que no requieran forzosamente de agua potable se presenta como una buena alternativa.

En materia de aguas residuales se destacan por el alcance de su aplicación las siguientes normas oficiales mexicanas.

La NOM-003-SEMARNAT-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público, misma que promueve la sustitución de agua potable por agua residual tratada, para diferentes usos como son: recreativo, riego de áreas verdes, riego agrícola y de servicios, algunos ejemplos de reúso para las aguas residuales tratadas son los siguientes: Llenado de lagos recreativos y canales, riego de campos de golf, cementerios, jardines de autopistas, camellones en avenidas, lavado de automóviles sistemas de protección contra incendio, enfriamiento industrial y limpieza y recarga de acuíferos.

Las aguas residuales ya tratadas, normalmente son vertidas en diferentes cuerpos receptores; de acuerdo a la Ley Federal de Aguas Nacionales en su artículo 3, se considera como cuerpos receptores, las corrientes, depósitos naturales de agua, presas, cauces, zonas marinas o bienes nacionales donde se descargan aguas residuales, así como los terrenos en donde se infiltran o inyectan dichas aguas cuando puedan contaminar el suelo o los acuíferos (DOF,1992).

La NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, no solo contiene el marco regulatorio para las descargas de aguas residuales industriales, también a las aguas residuales como aquellas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos y en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas. En cuanto al perfil de contaminantes que incluye para su regulación, la norma describe los siguientes:

Contaminantes básicos: compuestos que se presentan en las descargas de aguas residuales y que pueden ser removidos o estabilizados mediante tratamientos convencionales e incluye los siguientes: grasas y aceites, materia flotante, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales, demanda bioquímica de oxígeno, nitrógeno total, fósforo total, temperatura y pH (DOF, 1997).

Contaminantes patógenos y parasitarios: Incluye los coliformes fecales y los huevos de helminto, por su impacto a la salud humana.

Metales pesados y cianuros: Se consideran, arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, zinc y cianuros, por su elevada toxicidad.

Esta norma, es la herramienta de mayor relevancia en cuanto a la disposición de aguas residuales en México, su aplicación es de observancia obligatoria para los agentes generadores de descargas.

1.4 ESCENARIO NACIONAL EN MATERIA DE AGUAS RESIDUALES.

En México, el gobierno federal en las últimas tres administraciones, han planteado metas en materia de tratamiento de aguas residuales (Programa Nacional Hídrico 2007-2012), siendo así que en la actual administración se espera la cobertura de un 69.4% en el tratamiento de aguas residuales, lo que implica un reto en materia de infraestructura hidráulica y en el diseño de sistemas de tratamiento capaces de cubrir la demanda de servicio (Tabla 3) (De la Peña *et al.*, 2013) (SEMARNAT, 2008).

Tabla 3. Descarga de aguas municipales y no municipales. 2017

Centros urbanos (descargas municipales)		
VOLUMEN		
Aguas residuales municipales	7.22	Miles de hm ³ /año (228.9 m ³ /s)
Se recolectan en alcantarillado	6.69	Miles de hm ³ /año (212.2 m ³ /s)
Se tratan	3.90	Miles de hm ³ /año (123.6 m ³ /s)
CARGA CONTAMINANTE		
Se regeneran	1.95	Millones de toneladas de DBO ₅ al año
Se recolectan en alcantarillado	1.81	Millones de toneladas de DBO ₅ al año
Se remueven en los sistemas de tratamiento	0.84	Millones de toneladas de DBO ₅ al año
Usos no municipales, incluyendo la industria		
VOLUMEN		
Aguas residuales no municipales	6.86	Miles de hm ³ /año (217.4 m ³ /s)
Se tratan	2.39	Miles de hm ³ /año (75.9 m ³ /s)
CARGA CONTAMINANTE		
Se generan	10.28	Millones de toneladas de DBO ₅ al año
Se remueven en los sistemas de tratamiento	1.30	Millones de toneladas de DBO ₅ al año

Fuente. Estadísticas del Agua en México (SEMARNAT, 2017).

Referente a las aguas residuales de origen industrial, para el año 2016, la industria trató 75.9 m³/s de aguas residuales industriales en las 3 041 plantas en operación (SEMARNAT, 2017), con un incremento del 5% sobre el caudal tratado en el año anterior (Figura 1 y Tabla 4).

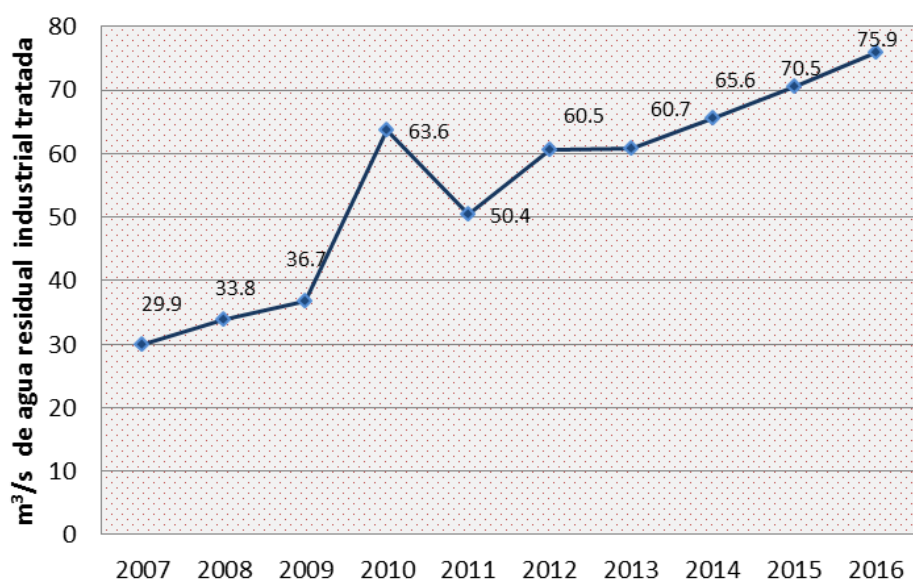


Figura 1 Caudal de aguas industriales tratadas.

Fuente: Estadísticas del Agua en México (SEMARNAT, 2017).

Tabla 4. Tipos de tratamiento de aguas industriales. 2016.

Tipo de tratamiento	Propósito	Número de plantas	Gasto de operación (m ³ /s)	Porcentaje (%)
Primario	Ajustar el pH y remover materiales Orgánicos y/o inorgánicos en suspensión con tamaño igual o mayor a 0.1 mm	947	25.84	34.0
Secundario	Remover materiales orgánicos coloidales y disueltos.	1 847	46.20	61
Terciario	Remover materiales disueltos que incluyen gases, sustancias orgánicas naturales y sintéticas, iones, bacterias y virus.	102	1.55	2
No especificado		145	2.31	3
TOTAL		3 041	75.9	100

Fuente: Estadísticas del Agua en México (SEMARNAT, 2017).

1.5 TRATAMIENTOS FISICOQUÍMICOS PARA AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES.

A diferencia de las aguas residuales domésticas, los efluentes industriales contienen con frecuencia sustancias que no se eliminan por un tratamiento convencional, bien por estar en concentraciones elevadas, o bien por su naturaleza química. Muchos de los compuestos orgánicos e inorgánicos que se han identificado en aguas residuales industriales son objeto de regulación especial debido a su toxicidad o a sus efectos biológicos a largo plazo (MADRIMASD, 2006). Sin embargo por su naturaleza también presentan una gran cantidad de contaminantes altamente recalcitrantes, para los que existen los denominados tratamientos avanzados de oxidación, con aplicación en tratamiento de aguas de la industria textil y/o con presencia de detergentes (Duarte *et al.*, 2013; Gil, 2005; Lapertot *et al.*, 2006), en lixiviados provenientes de rellenos sanitarios (Vedrenne *et al.*, 2012) y también en aguas contaminadas con pesticidas y fenoles (Pulgarin, 2015; Papautsakakis *et al.*, 2015).

Dentro del grupo de contaminantes más significativos por su impacto ambiental, se encuentran los colorantes. Muchos estudios se enfocan en removerlos, ya sea por ozonización (Poznyak *et al.*, 2007), radiación UV combinada con procesos de oxidación avanzada (Bokhari *et al.*, 2015), electrocoagulación y oxidación anódica o electro oxidación (Vidal *et al.*, 2016). La fotocatalisis heterogénea en combinación con procesos de oxidación avanzada también han sido probados en la eliminación de materia orgánica y colorantes en efluentes de la industria textil (Lima *et al.*, 2017; Manrique *et al.*, 2017).

Los procesos de filtración con el uso de membranas son considerados como procesos avanzados de depuración de efluentes industriales, y aunque son procesos para mejorar la calidad de éstos, el agua de rechazo que se genera, contiene un alto contenido de sales de metales, las cuales pueden ser aprovechadas mediante procesos electroquímicos (De Florio *et al.*, 2005; Benítez *et al.*, 2009; Escobar *et al.*, 2011).

1.6 TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS RESIDUALES MEDIANTE LODOS ACTIVADOS

Los tratamientos biológicos fueron diseñados para eliminar materia orgánica de las aguas residuales, actualmente se les ha dado otros usos como: la oxidación del nitrógeno amoniacal (nitrificación), la eliminación del nitrógeno de las aguas residuales mediante la conversión de las formas oxidadas en N_2 (desnitrificación) o la eliminación de fósforo (Romero, 1999). En este tipo de tratamientos, los organismos crecen utilizando los contaminantes del agua como fuente de carbono y/o fuente de energía, convirtiéndolos en nuevos microorganismos (biomasa), dióxido de carbono y otros compuestos inocuos. La fuente de carbono y/o energía se denomina comúnmente como sustrato (Ferrer y Seco, 2008).

De manera general el proceso consiste en dirigir el flujo de agua residual hacia un reactor en el que se encuentra un cultivo de microorganismos, constituido principalmente por bacterias en suspensión, las cuales en su conjunto se les conoce como "licor mezclado". Se requieren condiciones aerobias y mantener la materia en suspensión, esto se logra mediante el suministro de aire, que se realiza por medio de sistemas de difusión o de aeración mecánica. Después de un determinado tiempo de retención, el licor mezclado pasa a un tanque de sedimentación secundaria, donde se separa del agua tratada. Esta sale por la parte superior del tanque y los microorganismos y otros productos de la degradación se separan en forma de flóculos (Ramírez *et al.*, 2004).

1.7 BIORREMEDIACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

Por biorremediación se entiende la utilización de organismos vivos, de cualquier reino que son utilizados para mejorar la calidad de un efluente residual. La Fitorremediación es el proceso mediante el cual se utilizan plantas vasculares y la Ficorremediación utiliza las algas para la eliminación de las sustancias contaminantes de las aguas residuales y así mismo del CO₂ de la atmósfera, utilizando la energía luminosa del sol. Como resultado del metabolismo se produce un aumento de la biomasa más o menos pronunciado, dependiendo de la especie utilizada y de las condiciones de luz, temperatura y concentración de nutrientes (Nuñez *et al.*, 2001).

El uso de microalgas para tratamiento de diversos tipos de aguas residuales, ha sido estudiado en los últimos años (Phang *et al.*, 2000; Jiang *et al.*, 2011; Renuka *et al.*, 2015; Powell *et al.*, 2008) y estas son empleadas en numerosas partes del mundo debido a su capacidad de eliminar del agua tanto nitrógeno como fósforo entre otros, demostrándose que en la eliminación de fósforo pueden ser tan eficientes como el tratamiento químico convencional (Hoffman, 1998). Sus principales ventajas son el menor costo, ya que no son necesarios productos químicos, y la recuperación de los nutrientes en forma de biomasa algal que puede ser empleada como biofertilizante (AST, 2013; De Bashan y Bashan, 2004), como biocombustibles (Bhatnagar *et al.*, 2010; McGinn *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011) y otros productos de valor agregado.

La mayoría de las plantas de tratamiento de aguas residuales industriales eliminan materia orgánica soluble, sin embargo, permanecen compuestos como el amonio, nitratos, fosfatos, entre otros. Los procesos de tratamiento primario y secundario se emplean en muchos lugares con el propósito de eliminar partículas de fácil sedimentación (primario), y oxidación de la materia orgánica presente en el agua residual (secundario). El resultado final de cada una de estas etapas de tratamiento es un efluente aparentemente limpio, pero con una alta concentración de nitrógeno y fósforo, lo cual puede causar eutroficación de los cuerpos receptores y otros problemas a largo plazo debido a la presencia compuestos orgánicos de difícil degradación (De la Noüe *et al.*, 1992; Escorihuela *et al.*, 2007).

2. ANTECEDENTES

Los cultivos de microalgas son ampliamente usados dentro de los tratamientos para biorremediación de efluentes, ya que estos microorganismos ofrecen algunas ventajas en cuanto a la asimilación de fósforo, nitrógeno y en algunos casos metales pesados (Pellon *et al.*, 2003; Mahapatra *et al.*, 2013; Mehrabadi *et al.*, 2015). En cuanto a su aplicación directa en los tratamientos de biorremediación, pueden ser en dos formas: cultivo en estado libre, que consiste en inocular biomasa microalgal viva directamente al efluente a tratar en una proporción que favorezca la adaptación y el crecimiento de la microalga y cultivo inmovilizado, que consiste en confinar una conjunto de células, mediante medios naturales o artificiales y limitar así su movimiento a cualquier parte de la fase acuosa del sistema (Tampion y Tampion., 1987).

El uso de cultivos libres de microalgas presenta limitaciones debidas a la presencia de tóxicos en el medio que pueden inhibir el crecimiento, así como a la competencia entre las poblaciones nativas y las exógenas (Fantroussi y Agathos, 2005). En los cultivos celulares inmovilizados, la inmovilización brinda a las células una protección contra el efecto tóxico de las sustancias presentes en el medio y a la depredación por parte de otros microorganismos. Además de que el uso de células inmovilizadas en procesos de remoción de contaminantes logra incrementar la tasa global de biodegradación, debido a las altas densidades celulares que se alcanzan (Mishra *et al.*, 2001).

Actualmente, una gran variedad de procesos industriales biotecnológicos se están llevando a cabo a partir de células inmovilizadas, como en la producción de aminoácidos, ácidos grasos, antibióticos, esteroides y enzimas (Najafpour, 2007; Linhardt *et al.*, 1987). Y la inmovilización también favorece el incremento en la estabilidad y tolerancia de los microorganismos a los compuestos tóxicos, en el caso de encapsulamiento en geles o polímeros ya que estos funcionan como una barrera física (Godjevargova *et al.*, 2003; Hanaki *et al.*, 1994).

Actualmente se han definido seis tipos de inmovilización: de enlaces covalentes, afinidad de inmovilización, adsorción, confinamiento en emulsiones líquido-líquido, captura detrás de membranas semipermeables y atrapamiento en polímeros (Mallick, 2002). Estos tipos de inmovilización pueden ser agrupados en pasivos; que son aquellos donde se utilizan propiedades de algunos microorganismos para adherirse a superficies y crecer sobre ellas; y activos donde se utilizan agentes floculantes, adhesión química y atrapamiento en gel (Moreno, 2008).

La inmovilización en una matriz porosa, es uno de los procesos más utilizados, puede darse en polímeros sintéticos (resinas, acrilamidas, poliuretanos), proteínas (gelatina, colágeno, albúmina de huevo), o polisacáridos naturales (agares, carragenanos o alginatos) (Moreno, 2008). Esta consiste en la inmovilización de células dentro de una matriz, la cual impide la difusión de las células en el medio, pero permite el paso de metabolitos y nutrientes (Kourkoutas *et al.*, 2004).

En cuanto a la inmovilización de microalgas, Grizeau y Navarro (1986), estudiaron la inmovilización en alginato en medio hipersalino de la especie *Dunaliella tertiolecta* y reportaron una producción significativa de glicerol. Labeau *et al.* (2000), mediante el cultivo inmovilizado de la diatomea *Haslea ostrearia* reportaron el incremento en la producción de Marenina, un pigmento azul requerido para el cultivo comercial de ostras.

La inmovilización puede incluir más de una especie, tal es el caso de la inmovilización de dos especies *Rhodobactor sphaeroides* (bacteria) y *Chorella sorokiniana* (microalga) en un mismo cultivo, las que removieron acetato, propionato, amonio, nitrato y fosfato en aguas residuales sintéticas, sin embargo, por separado, el rendimiento en la remoción de contaminantes bajó considerablemente (Ogbonna *et al.*, 2000).

De la Noüe y Proulx (1988) en su estudio registraron el uso de quitosán, como soporte para inmovilizar un cultivo de *Phormidium* sp., posteriormente utilizaron estos cultivos inmovilizados como material biológico para el tratamiento de un efluente de agua residual urbana, reportando la remoción del 95% del nitrógeno orgánico después de 6 horas y los niveles de fosfatos fueron reducidos en un 87% después de 24 horas. Como matriz de soporte el quitosán ofrece mejores rendimientos en remoción de aniones como nitratos, nitritos y fosfatos, mientras que los agares y alginatos resultan más eficientes en la remoción de cationes (Mallick y Rai., 1994).

La inmovilización de microalgas también tiene importantes aplicaciones en la depuración de aguas contaminadas con metales pesados. Aunque la biomasa muerta puede absorber metales pesados, lo hace en menor proporción que la biomasa viva (Moreno-Garrido *et al.*, 2002), en este sentido, la inmovilización de microalgas para este fin ofrece una mayor ventaja.

En cuanto a la remoción de nutrientes, como fosfato y amonio; especies del género *Chlorella* son de las más utilizadas para estos procesos (Ver Tabla 5), y se han probado de bajas concentraciones hasta muy altas, por ejemplo para amonio 2.5 a 50 mg/L.

Tabla 5. Trabajos del uso de microalgas inmovilizadas en alginato para Biorremediación.

Autor	Microalga	NH ₄	PO ₄
		mg/L (%Remoción)	mg/L (%Remoción)
Bashan y Bashan (2003)	<i>Chlorella vulgaris</i> co-inmovilizada con	15 (100)	3.5 (98)
	<i>Azospirillum brasilense</i>		
Chacón et al. (2006)	<i>Chlorella</i> sp.	30.1 (44)	7.5 (48)
	<i>Scenedesmus</i> sp.		
Mujtaba et al. (2017)	<i>Chlorella vulgaris</i> co-inmovilizada con	50 (85)	10 (64)
	<i>Pseudomon putida</i>		
Hernández-Reyes et al. (2012)	<i>Chlorella vulgaris</i> *	10 (74)	5 (50)
		25 (68)	10 (76)
Ruiz et al. (2013)	<i>Scenedesmus obliquus</i>	24 (92)	---
Sole y Matamoros (2016)	<i>Chlorella</i> sp.	35 (90)	0.8 (97)
	<i>Nitzschia acicularis</i>		
Shi et al. (2007)	<i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Scenedesmus rubescens</i>	2.5 (94-96)	3-4(88 y 90)
Travieso et al. (1999)	<i>Chlorella vulgaris</i> *	---	4.8(22)
Vargas et al., (2004)	Cianofitas Clorofitas	11-17 (36.4)	---
Zhang et al. (2008)	<i>Scenedesmus</i> sp.	99	100

*Microalgas inmovilizadas en luffa o zacate.

MICROALGA *Lagerheimia* sp.

Pertenece a la familia Oocystaceae y a la subfamilia Lagerheimioideae, la característica en la estructura celular de esta familia es la pared celular que presenta una estructura de fibras paralelas de celulosa en capas con orientación perpendicular (Melkonian, 1983; Algaebase, 2017., Ver Fig 2).

Dentro de la subfamilia Lagerheimioideae, se encuentra el género *Lagerheimia*. Este género se caracteriza por crecer en células solitarias, de libre flotación, con formas esféricas, tetraédricas, elipsoidales o subesfericas con polos ampliamente redondeados, con una delicada pared celular distinguiéndose por ser ligeramente gelatinizada; las células presentan espinas en uno o ambos polos, o en la zona ecuatorial, las cerdas presentan una protuberancia distintiva en la base, con un cloroplasto simple parietal y un pirenoide (Algaebase, 2017).

Las células de mayor edad forman autoesporas las cuales pueden tener 2, 4 u 8 cloroplastos de acuerdo con el número de autoesporas que surjan. Su reproducción se da por la formación de autoesporas las cuales son usualmente liberadas inmediatamente o pueden permanecer dentro de la pared celular de la célula madre por un tiempo. Son liberadas por la gelatinización de la pared celular madre, sus espinas comienzan a desarrollarse antes de ser liberadas (Guiry y M. Guiry, 2017).

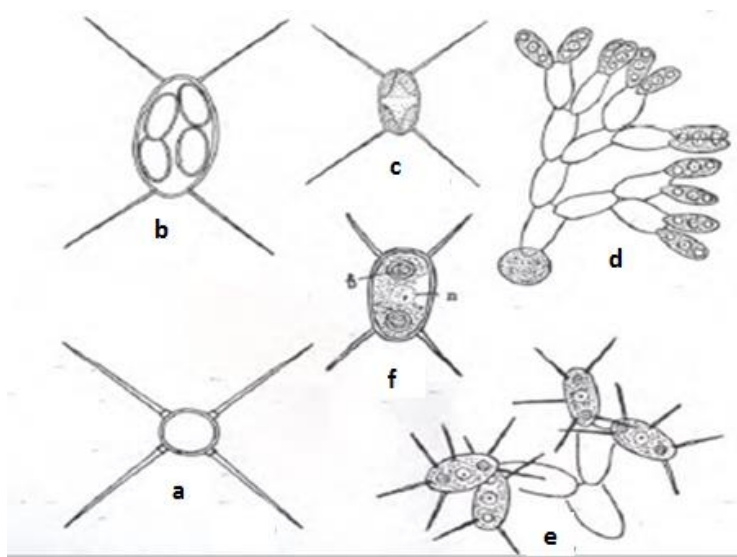


Figura 2. Familia Lagerheimioideae (a) *Lagerheimia chodati* BERNARD; (b) *Chodatella quadriseta* LEMM; (c) *Dendrocystis rooi* YVENGAR; (d) Colonia *Dendrocystis r*; (e) Formación de autoesporas; (f) Autoespora
Imagen modificada de: Guiry y Guiry (2017).

En América Latina se ha reportado la presencia de este género en Argentina, en un estudio de identificación fitoplanctónica del embalse Paso de las Piedras que se encuentra ubicado en el sur de la provincia de Buenos Aires, en tal estudio se reportan las especies, *Lagerheimia longiseta*, *Lagerheimia subsalsa* y *Lagerheimia quadriseta* (Fernandez y Parodi, 2005).

En México, el género ha sido reportado como componente del fitoplancton de lagos de agua dulce. Ortega *et al.* (2015) reportaron como nuevo registro de la ficoflora de Michoacán en lagos de cráter a las especies *Lagerheimia genovens* y *Lagerheimia longiseta*. En aguas salobres, estas mismas especies fueron reportadas por Muciño *et al.* (2014) en un estudio fitoplanctónico de la Laguna de Términos en Tabasco, México.

En el presente trabajo reportamos a *Lagerheimia* sp. como un primer registro en la zona industrial de Altamira, Tampaulipas.

MICROALGA *Chlorella* sp

Chlorella sp., es un alga verde perteneciente a la división Chlorophyta y a la clase de las Chlorophyceae, de forma elipsoidal, la cual crece en forma de células simples. Ha sido cultivada de forma intensiva y a escala industrial, principalmente con fines de alimentación y obtención de metabolitos de interés comercial.

Este género ha sido utilizado en tratamiento biológico de aguas residuales, probando su efectividad en la remoción de nitrógeno, fósforo, demanda química de oxígeno y metales (Garza *et al.*, 2010). Su aplicación en tecnologías de biorremediación ha sido bastante amplio, en forma suspendida o inmovilizada, como cepa pura o en asociación con otros microorganismos no fotosintéticos (Garza *et al.*, 2010).

Otros estudios se han orientado a la determinación de la influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo sobre el peso seco, y su relación con la producción de metabolitos de interés (lípidos y proteínas), obteniendo variaciones mínimas en el peso seco pero bastante significativas en el contenido proteico y lipídico (Mutlu *et al.*, 2011). Las aplicaciones que tienen como objetivo la producción de lípidos, han realizado observaciones sobre cultivos por con limitación del nitrógeno ureico, obteniendo tanto un aumento en el peso seco celular, debido a la acumulación de lípidos, como un aumento de velocidad específica de crecimiento celular hasta un valor límite de concentración de urea (Hsieh y Wu, 2009).

El género también ofrece ventajas de su uso como biosorbente, su abundancia, facilidad de cultivo, presencia de sitios ligantes para iones metálicos y habilidad para crecer tanto autotróficamente como mixotróficamente (Fu-Ying *et al.*, 2005).

ÁREA DE ESTUDIO

El municipio de Altamira se localiza dentro de una de las mayores concentraciones urbanas del noreste del país, la cual integra la zona Conurbada Federal conformada por los municipios de Altamira, Cd Madero y Tampico, del Estado de Tamaulipas y por Pueblo Viejo, Pánuco y Tampico Alto del Estado de Veracruz (Ver Figura 3).



Figura 3. Ubicación geográfica de Altamira, Tamps.

El municipio de Altamira concentra las actividades de transformación, fundamentalmente las dedicadas a la petroquímica. Cuenta con el Puerto Industrial de Altamira (Figura 4), una zona económica de importancia regional, Nacional e internacional desde el cual se exporta la producción, tanto del propio municipio como de la región centro del norte del País (SCT, 2017).



Figura 4. Terminal Marítima. Puerto Industrial Altamira.

La Zona Conurbana Tampico-Madero-Altamira, se encuentra ubicada en convergencia con amplias zonas de humedales y ecosistema de manglar. En cuanto a sus cauces y sistemas lagunarios, estos son parte de la Región Hidrológica Pánuco (RH-26) y la Región San Fernando-Soto la Marina.

En el corredor industrial Tampico-Altamira se han establecido industrias altamente consumidoras de agua que no son abastecidas por la Comisión Municipal de Agua Potable y Alcantarillado (COMAPA), sino que cuentan con infraestructura de bombeo, directamente en los cuerpos abastecedores. Cabe mencionar que el consumo que realiza PEMEX se realiza directamente de la laguna del Chairiel con más de un metro cúbico por segundo (ILPES, 2016). Y en cuanto a las descargas, en noviembre de 2010, dio inicio la operación de la planta de tratamiento de aguas residuales en la ciudad de Madero Tamaulipas con una capacidad para tratar 1500 litros por segundo, la única a nivel municipal.

Al ser un ecosistema con grandes zonas de humedales y con alta carga de descargas industriales (Figura 5), se requieren tratamientos terciarios que aseguren eficiencia en los procesos para cuidado del medio ambiente.

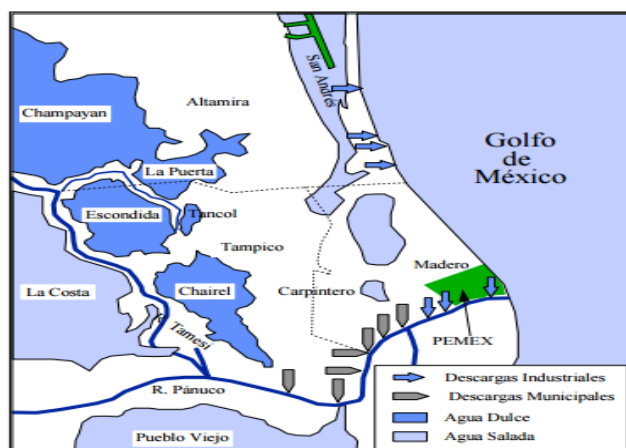


Figura 5. Principales descargas de aguas residuales zona conurbada.

3. JUSTIFICACIÓN

En México existen 2617 plantas de tratamiento para aguas industriales, de las cuales sólo un 2.83% cuentan con tratamiento terciario (CONAGUA, 2014). Lo que representa un área de oportunidad en la investigación e innovación para el mejoramiento de los sistemas secundarios y terciarios ya que ambos involucran el uso de sistemas biológicos.

Tamaulipas cuenta con 99 plantas de tratamiento para aguas industriales, siendo la zona conurbada de Tampico-Madero-Altamira, la zona de mayor actividad industrial del Estado. En el caso particular del municipio de Altamira, es allí donde se encuentra ubicado un importante núcleo industrial del país principalmente del ramo petroquímico. Aunado a esto, su ubicación geográfica pone en riesgo una importante red de ecosistemas interconectados debido al sistema lagunario que rodea el corredor industrial, así como la cercanía a la región de playa perteneciente al litoral del Golfo de México, en donde vierten sus aguas algunas de las industrias que están situadas en el mencionado corredor.

Son pocos los trabajos realizados en el país en materia de ficorremediación de aguas residuales de origen industrial, la naturaleza de la muestra ofrece ventajas operacionales, como el hecho de que su composición se mantiene relativamente constante debido al control de procesos en la industria. Además de que los resultados obtenidos en un estudio de biorremediación de aguas industriales con microalgas pueden extrapolarse y definir el grado de sustentabilidad, debido a que además de depurar el efluente de la carga orgánica y de otros nutrientes como el fósforo y el nitrógeno, es una tecnología que mitiga gases de efecto invernadero al emplearse dióxido de carbono (CO_2).

En el presente trabajo, utilizamos ficorremediación para aguas industriales de la zona industrial de Altamira, Tamaulipas, utilizando cultivos de microalgas que fueron aisladas de la misma zona.

Aunado a esto, se contribuye a la investigación en materia de biotecnología microalgal en el país, con el objetivo de proponer sistemas de tratamiento con tecnología viable que además ofrezca valor agregado en materia de sustentabilidad y optimización energética.

4. OBJETIVO GENERAL

Implementar un sistema de tratamiento de aguas residuales provenientes de una industria petroquímica de Altamira, Tamaulipas mediante cultivo de microalgas.

4.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Caracterizar el agua residual industrial en función de los siguientes parámetros: DQO, fosfatos y amonio.
- Analizar dos cepas de microalgas aisladas de la zona de estudio para ser utilizadas en el proceso de bioremediación.
- Establecer cultivos libres e inmovilizados con una de las cepas y monitorear las tasas de crecimiento y el consumo de nutrientes (amonio, fosfatos y DQO).
- Analizar la biomasa algal cosechada como posible fuente de bioproductos.

5. HIPÓTESIS

Se ha reportado que algunas especies de microalgas son eficientes en los procesos de biorremediación de efluentes tanto industriales como municipales (Chacon *et al.*, 2006; Hernández-Reyes *et al.*, 2012; Shi *et al.*, 2007). Y se conoce, que la inmovilización de las células les brinda mayor protección a estas, al estar sometidas a un medio de cultivo agresivo (De la Noüe y Proulx, 1988; Grizeau y Navarro, 1986; Mujtaba *et al.*, 2017).

Pregunta de investigación:

Por tanto ¿Si trabajamos con cultivos libres e inmovilizados de microalgas, serán los cultivos inmovilizados los más eficientes para consumir nutrientes y disminuir la DQO del efluente industrial?

6. METODOLOGÍA

Primera etapa.

Se utilizaron dos cepas de microalgas *Chlorella* sp. y *Lagerheimia* sp. las cuales fueron aisladas de aguas residuales industriales de la zona de Altamira y pertenecen a la colección de cultivos de microalgas del Laboratorio de Ficología Aplicada UAM-I. Estas cepas se mantienen en una cámara de iluminación Nuair Modelo: Intellius, con una irradiación de $167 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura: $22^\circ\text{C} \pm 1$ y fotoperiodo: 12:12, L:O

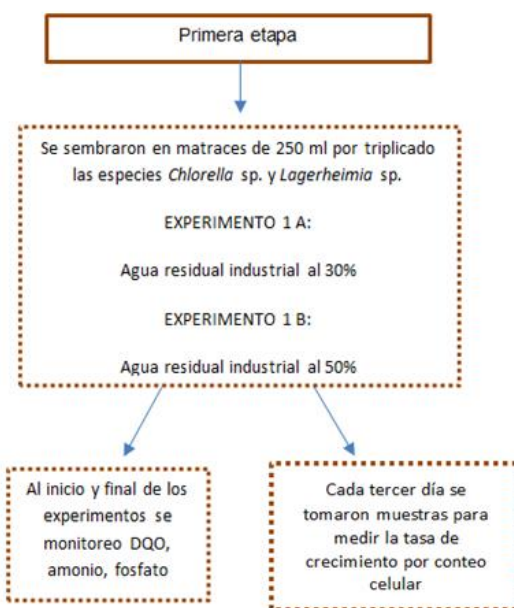


Figura 6. Primera etapa experimental.

Segunda etapa.

Tratamiento de agua residual industrial en fotobiorreactores de 4 L, utilizando la microalga seleccionada en cultivo libre y cultivo inmovilizado en perlas de alginato. (Figura 7).

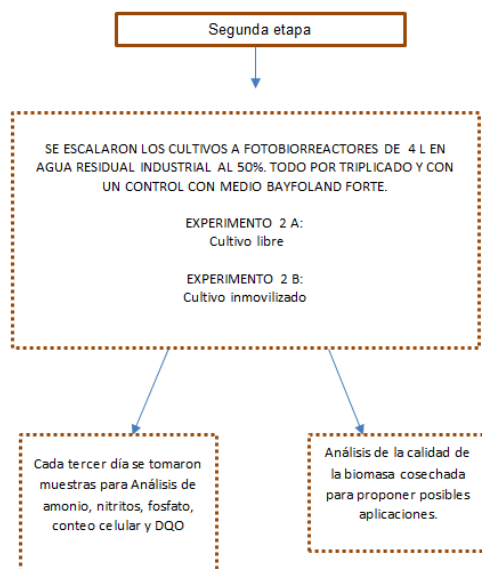


Figura 7. Segunda etapa experimental

6.1 ESCALAMIENTO DE CEPAS.

Para el escalamiento de las cepas, se utilizó como medio de cultivo el fertilizante comercial Bayfoland Forte en proporción de 1 ml/L. A partir de cultivos en tubos de 10 mL se escalaron a matraces de 100 mL y una vez que el cultivo alcanzó la fase exponencial, se escalaron de manera progresiva a volúmenes de 250 mL, 1L, 4 L todo en condiciones asépticas y en campana de flujo laminar (Arredondo-Vega y Voltolina, 2007).

Tabla 6. Condiciones experimentales de la primera etapa

Condiciones de Prueba		
1	Tipo de cultivo	Cultivo Batch
2	Temperatura	22°C +/- 1°C
3	Calidad de luz	Fluorescente/Blanco-Frío
4	Intensidad Luminosa	167 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
5	Fotoperíodo	12:12 L:O
6	Matraces	250 mL
7	Volúmen del cultivo	150 mL
8	Fase del crecimiento	Exponencial
9	Número de réplicas	3
10	Tipo de agitación	Manual
11	Medio de cultivo	Agua residual industrial
12	Dilución	30% y 50%
13	Efecto medido	% remoción de nutrientes y crecimiento celular.
14	Control	Medio de cultivo Bayfoland Forte
15	Tiempo	30 días

6.2 ANÁLISIS DE NUTRIENTES.

En la primera y la segunda etapa de este estudio se realizaron los siguientes análisis químicos, demanda química de oxígeno (DQO), de acuerdo con la metodología de la NMX-AA-030/2-SCFI-2011 (DOF, 2013), determinación de amonio (Solórzano, 1969 y APHA 1995) y de fosfato (Murphy y Riley 1962 y APHA 1995).

6.3 INMOVILIZACIÓN DE LOS CULTIVOS

Para la inmovilización se utilizó el método de microencapsulación con alginato en condiciones de esterilidad, metodología ligeramente modificada de Lukavsky (1986). Para ello se prepararon 400 mL de solución de alginato de sodio al 1.25 %, se ajustó el pH de la solución en un rango de 7.8-8.0, utilizando NaOH o HCl 1 M.

A 10 mL de esta solución, se le agregó un concentrado de microalgas (1 mL de biomasa microalgal concentrada por centrifugación) y se homogenizó. En otro recipiente, se prepararon 200 mL de una solución de cloruro de calcio al 1% en agua destilada estéril.

Con una jeringa, se tomó la solución de alginato con microalgas y se vació por goteo a velocidad constante, en la solución de cloruro de calcio al 1% y se agitó suavemente, pasados 20 minutos se sacaron las perlas de alginato sobre una gasa (Figura 8) y se lavaron para eliminar restos de cloruro de calcio. Todo en condiciones asépticas.



Figura 8. Aspecto del cultivo de *Lagerheimia* sp. inmovilizada en alginato.

6.4 CURVAS DE CRECIMIENTO

En los cultivos libres se tomó la muestra cada tercer día y se fijó con acetato de lugol, el crecimiento celular se determinó mediante conteo con cámara de Neubauer utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Cel/mL} = (\text{No de cel}) (10\ 000) (\text{Factor de dilución})$$

(Arredondo-Vega y Voltolina, 2007).

Para los cultivos inmovilizados se colocaron en un tubo 5 mL de solución de citrato de sodio 0.1 M y se depositó una cantidad de perlas de alginato suficiente para desplazar la solución de citrato de sodio hasta la marca de los 10 mL en el tubo. El tubo se cerró y agitó por inmersión hasta la disolución total de las perlas. Se procedió a leer 10 microlitros de muestra con cámara de Neubauer, aplicando el factor de dilución requerido (Castillo *et al.*, 2004).

Una vez obtenida la lectura promedio de células por mL, se aplicó la siguiente fórmula.

$$C_i = \frac{C_f V_f}{V_i}$$

C_i= Concentración celular en perla de alginato.

V_i= 5 mL (volumen agregado de perlas)

C_f= Concentración celular medida por cámara de Neubauer. cel/ml

V_f = 10 mL (Volumen resultante al disolverse las perlas + 5 mL de citrato de sodio)

6.5 MONTAJE EN FOTOBIOREACTORES (FBR)

Como parte de la segunda etapa del experimento, se colocó el arreglo experimental para el montaje de los FBR de acuerdo con el esquema ejemplo de la Figura 9, con la respectiva dilución y el inóculo correspondiente. En la tabla 7 se describen las condiciones experimentales para el montaje.

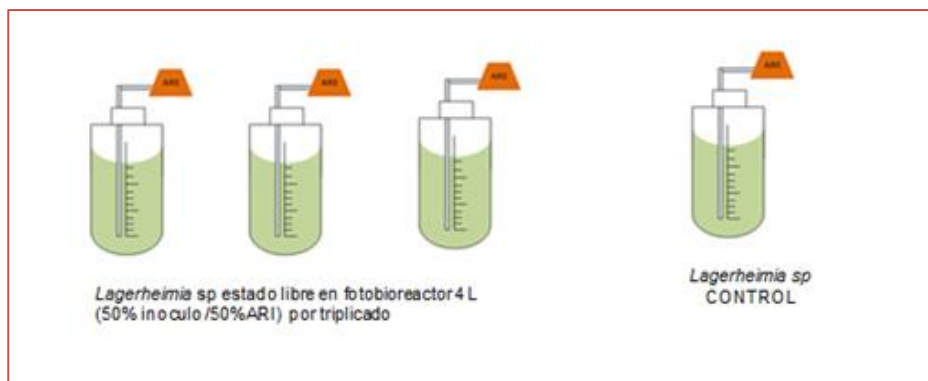


Figura 9. Esquema del montaje de FBR con agua residual industrial (ARI). Cultivo de *Lagerheimia* sp. en estado libre al 50% en ARI.

Tabla 7. Condiciones experimentales de la segunda etapa.

Condiciones de Prueba		
1	Tipo de cultivo	Cultivo Batch
2	Temperatura	22°C +/- 1°C
3	Calidad de luz	Fluorescente/Blanco-Frio
4	Intensidad Luminosa	167 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
5	Fotoperíodo	12:12 L:O
6	Volúmen del FTB	6 L
7	Volumen del cultivo	4 L
8	Fase de crecimiento	Fase exponencial
9	Densidad celular inicial	324000 cel/mL
10	Número de réplicas	3
11	Tipo de agitación	Aireación automática
12	Medio de cultivo	Agua residual industrial
13	Dilución	50%
14	Efecto medido	% Remoción de nutrientes y crecimiento celular
15	Control	Medio Bayfoland Forte
16	Tiempo	30 días

6.6 COSECHA DE BIOMASA ALGAL

Al término del experimento, en los cultivos libres, se retiró todo el sistema de aireación, se sellaron las tapas y se invirtieron los fotobiorreactores para favorecer la cosecha por sedimentación (Figura 10).

En el caso de los fotobiorreactores con cultivos inmovilizados, la cosecha de la biomasa se realizó mediante filtración con gasa (Figura 11).

Toda la biomasa cosechada se congeló y liofilizó para análisis posteriores.

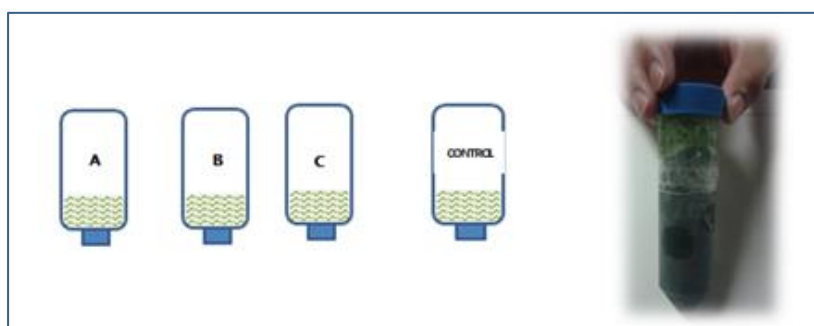


Figura 10. Esquema cosecha de Biomasa. Cultivos libres.

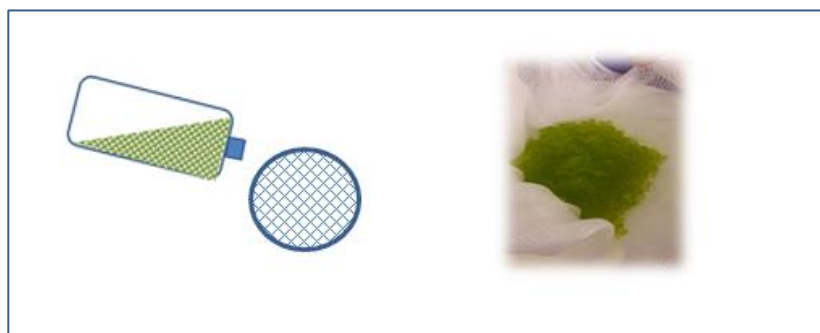


Figura 11. Esquema cosecha de Biomasa. Cultivos inmovilizados

6.7 ANÁLISIS DE LA BIOMASA ALGAL

Al término de los experimentos, se cosechó la biomasa algal y se determinó el porcentaje de carbohidratos por el método colorimétrico del fenol-ácido (Dubois *et al.*, 1956), de lípidos por el método propuesto por Bligh y Dyer (1959) y proteínas por el método de Lowry *et al.* (1951). Por último se realizó un análisis del perfil de ácidos grasos, por cromatografía de gases FAME's (Toledo-Cervantes *et al.*, 2013).

6.8 CONSIDERACIONES EN LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL

La muestra utilizada para realizar los experimentos fue obtenida directamente de una industria petroquímica de Altamira, Tamaulipas dedicada a la obtención de los siguientes productos:

Poliestireno (PS)

Acrilonitrilo butadieno estireno (ABS)

Copolímeros en bloque de estireno-butadieno (SBC)

Otros Copolímeros a base de estireno (SAN, AMSAN, ASA)

Colorantes azoicos para papel

Se colectaron 20 L de muestra de agua residual en un punto de muestreo situado a la entrada del influente al tratamiento secundario.

6.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos se evaluaron estadísticamente mediante prueba de t de Student con el coeficiente $\alpha=0.05$, utilizando el programa Excel versión 2010 de Microsoft office.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 RESULTADOS DE LA PRIMERA ETAPA: SELECCIÓN DE ESPECIES

Los resultados de crecimiento celular, correspondientes a los experimentos 1 “A” el cual consistió en utilizar agua residual al 30% y el 1 “B” con agua residual al 50% se muestran en las figuras 12 y 13.

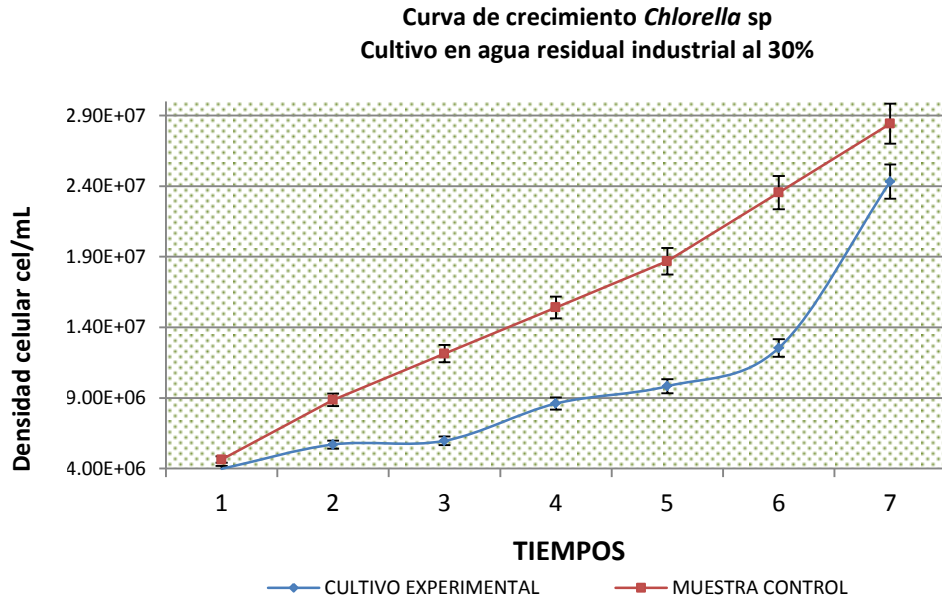


Figura 12. Curva de crecimiento. *Chlorella* sp. Experimento “1 A” con agua residual al 30%.

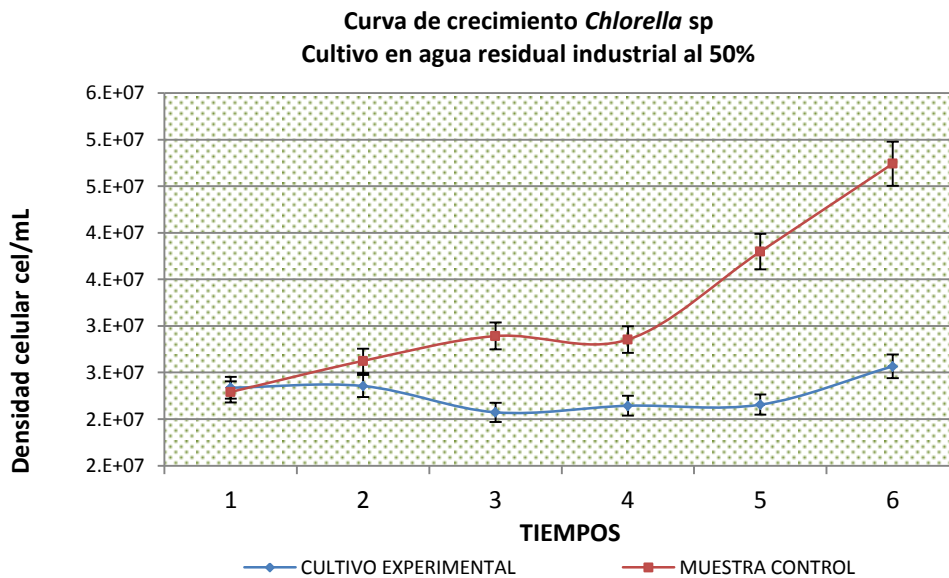


Figura 13. Curva de crecimiento. *Chlorella* sp. Experimento “1 A” con agua residual al 50%.

El género *Chorella* sp. ha sido reportado por diversos autores en su aplicación para biorremediación de diversos tipos de efluentes, particularmente el uso de *Chlorella vulgaris* se ha destacado en trabajos de biorremediación debido principalmente a su rápido crecimiento y fácil adaptación a diferentes medios de cultivo (Brennan y Owende, 2010).

En nuestro estudio la especie no alcanzó la fase estacionaria en el tiempo monitoreado. En la figura 12 correspondiente al experimento donde se utilizó la dilución del 30%, se aprecia que el crecimiento de *Chlorella* sp. mostró una tendencia muy similar al control, mientras que en la figura 13, donde se incrementa la concentración de agua residual al 50%, se observa un crecimiento celular poco significativo y menor que el del control.

En el caso de *Lagerheimia* sp. en las Figuras 14 y 15 se observa como el cultivo alcanzó la fase estacionaria en un menor tiempo, comparado con *Chlorella* sp. así en el experimento donde se utilizó agua residual al 30 % la fase estacionaria se alcanzó en el tiempo 4, mientras que en el experimento con agua residual al 50% se alcanzó en el tiempo 3.

En cuanto al crecimiento celular, en la Figura 14 se aprecia que el crecimiento en la muestra experimental fue mayor con respecto al control, mientras que en el experimento con agua residual al 50%, la densidad celular disminuyó con respecto al control, sin embargo, el cultivo alcanzó la fase estacionaria y se mantuvo así hasta el final del experimento (Figura 15).

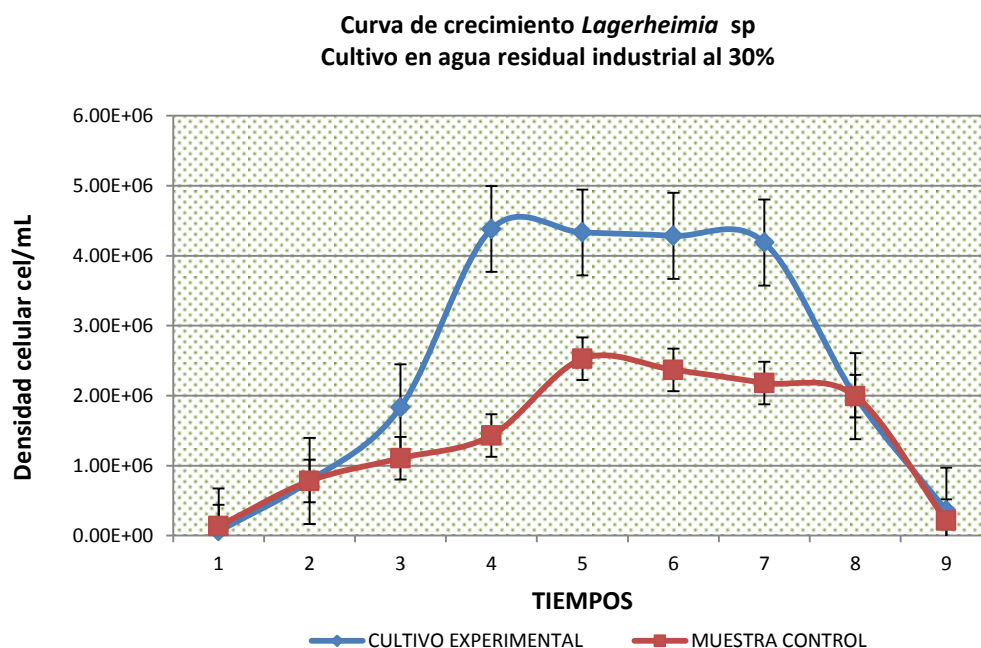
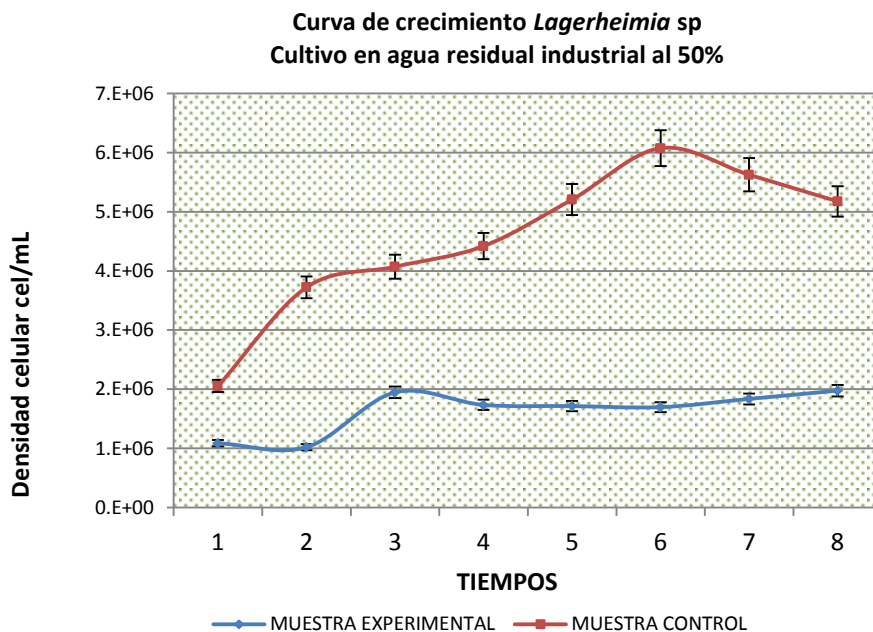


Figura 14. Curva de crecimiento. *Lagerheimia* sp. Experimento "1 A" con agua residual al 30%.



15. Curva de crecimiento. *Lagerheimia* sp. Experimento "1 B" con agua residual al 50%

En lo observado con la especie *Lagerheimia* sp., aunque no hay reportes del uso de ésta para procesos de biorremediación de efluentes, resultó ser eficiente para crecer sobre el efluente residual de la industria petroquímica. La mayoría de los trabajos con este género son de tipo ecológicos, donde la especie se ha reportado dentro de comunidades fitoplanctónicas pertenecientes a embalses y lagunas continentales Muciño *et al.* (2014), Fernández y Parodi. (2005). Este es el primer trabajo donde se utiliza para procesos de biorremediación de aguas residuales industriales.

DETERMINACIÓN DE NUTRIENTES PARA LA SELECCIÓN DE LA ESPECIE

Tabla 8. Porcentajes de remoción en el experimento "1 A" con Agua residual industrial (ARI) al 30%.

Parámetro	Concentración Inicial (mg/L)	<i>Lagerheimia</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.
DQO	772	61.6	56.6
PO ₄	3.3	86.5	84.4
NH ₄	4.5	97.8	97.8

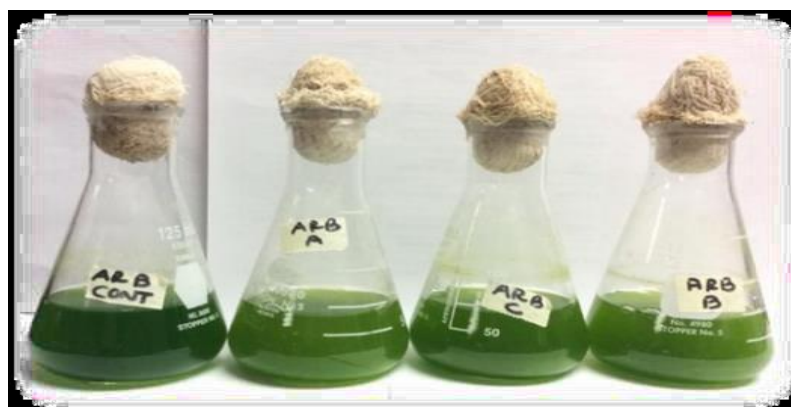
Tabla 9. Porcentajes de remoción en el experimento “1 B” con Agua residual al 50%.

Parámetro	Concentración inicial (mg/l)	<i>Lagerheimia</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.
PO ₄	3.3	58	78
NH ₄	4.5	82	82

En la tabla 8 se observa que la especie *Lagerheimia* sp., en el experimento con agua residual diluida al 30% presentó porcentajes de remoción de DQO mayores a los observados en los cultivos con *Chlorella* sp.

En la concentración del 50% ambas especies removieron un 82%; en el caso del fosfato, la concentración disminuyó hasta un 58% en el experimento *Lagerheimia* sp. y un 78% en el experimento con *Chlorella* sp. (Ver tabla 9).

Finalmente, para la segunda etapa se seleccionó *Lagerheimia* sp. debido a que alcanzó más rápidamente la fase estacionaria y presentó una buena eficiencia en la remoción de nutrientes y DQO en los experimentos (Ver Figura 16).

**Figura 16.** Cultivo de *Lagerheimia* sp. en agua residual industrial al 30%.**Figura 17.** Cultivo de *Chlorella* sp. en agua residual industrial al 30%.

7.2 FASE DOS: EXPERIMENTO EN FBR DE 4 L

7.2.1 TASAS DE CRECIMIENTO

El máximo crecimiento celular se obtuvo al tiempo 9 (Figura 18) a diferencia de los cultivos en matraces a 250 mL donde el máximo fue en el tiempo 3, manteniéndose constante la concentración celular hasta el final del experimento.

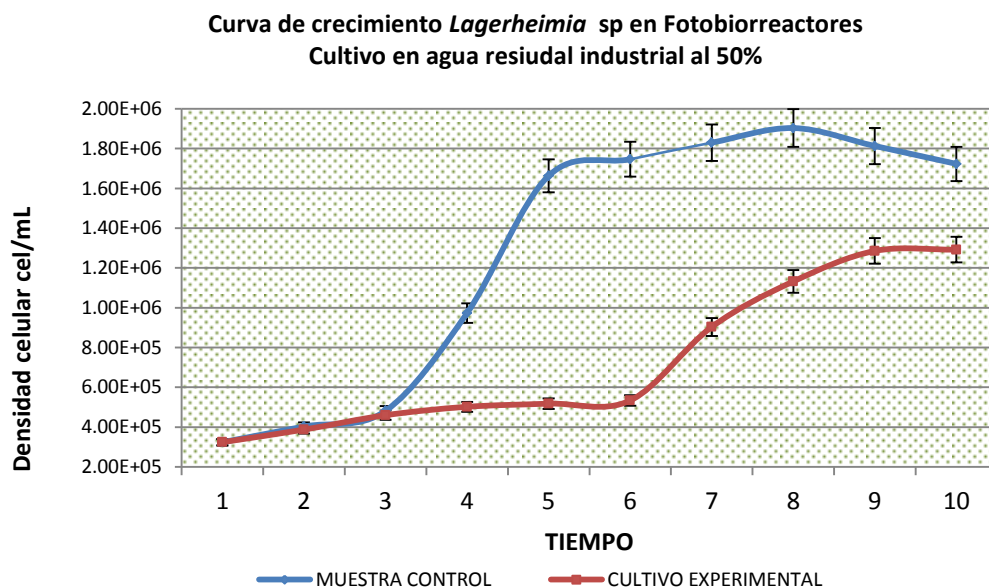


Figura 18. Curva de crecimiento. *Lagerheimia* sp. Fotobiorreactores con cultivo libre

En la figura 18, se observa la curva crecimiento celular de los cultivos de *Lagerheimia* sp. en estado libre, el experimento se inició con una concentración celular de 32.4×10^4 cel/mL y al término se obtuvo una concentración celular de 1.29×10^6 cel/mL también se observó que el cultivo alcanzó la fase estacionaria a partir del tiempo 9.

En el caso de la muestra control, la fase estacionaria inició en el tiempo 5 y al final del experimento se determinó una concentración celular de 1.72×10^6 cel/mL (Figura 18).

Tabla 10. Comparación entre los cultivos inmovilizados vs cultivos libres.

ENSAYO	CONC. INICIAL (cel/mL)	CULTIVO LIBRE CONC. FINAL (cel/mL)	CULTIVO INMOVILIZADO CONC. FINAL (cel/mL)
FOTOBIORREACTORES	32.4×10^4	1.29×10^6	1.21×10^6
CONTROL	32.4×10^4	1.72×10^6	2.21×10^6

La tabla 10 presenta un análisis comparativo de los incrementos en las concentraciones celulares, en el caso de los cultivos libres cultivados en agua residual industrial, se registró un mayor incremento de biomasa en comparación con lo observado en los FBR con cultivos inmovilizados, 1.29×10^6 cel/mL vs 1.21×10^6 cel/mL respectivamente.

En las muestras control, se puede observar que en los cultivos inmovilizados se presentó un mayor incremento de concentración en biomasa celular 2.21×10^6 cel/mL en comparación con el control del cultivo libre 1.72×10^6 cel/mL.

Los experimentos iniciaron con una concentración celular de 32.4×10^4 cel/mL y al final del experimento, se alcanzaron concentraciones celulares de 1.21×10^6 cel/mL en los cultivos inmovilizados y 1.29×10^6 cel/mL en los cultivos en estado libre; lo que representa un incremento en la biomasa de casi cuatro veces más que su concentración inicial (Tabla 10).

Evans *et al.* (2017) en un trabajo similar donde utilizaron *Chlorella vulgaris* en estado libre y agua residual, encontraron que el cultivo se mantuvo constante en su concentración celular 1.5×10^7 cel/mL durante el lapso del experimento, sin presentarse la fase de crecimiento exponencial; sin embargo al adicionar glucosa al medio de cultivo, se incrementó a 4×10^7 cel/mL. En este trabajo, los incrementos en concentración celular a pesar de ser un efluente más complejo fueron mayores a los reportados por dichos autores.

Yassin y Abdelfattah (2014) reportaron un incremento en concentración de biomasa proporcional al obtenido como resultado del presente estudio, en su experimento se utilizó agua residual de una industria textil iniciando con un inóculo de 5×10^4 cel/mL y alcanzando una concentración promedio de 2.3×10^5 cel/mL, equivalente a un incremento en la biomasa de 4.6 veces con respecto a la concentración inicial, estos con la especie *Chlorella vulgaris*.

En lo que respecta a trabajos con microalgas inmovilizadas en alginato de calcio, Hernández (2004) en su experimento trabajó con dos especies de microalgas, *Chlorella vulgaris* y *Chlorella sorokiniana*, como medio de cultivo utilizó agua residual doméstica en un tiempo de exposición de 196 h, reportando un incremento en la concentración celular de 2.4×10^6 cel/mL a 3.4×10^6 cel/mL para la primera especie y para la segunda se registró un incremento de 2.7×10^6 cel/mL a 3.7×10^6 cel/mL, siendo menores a los de nuestro estudio.

En experimentos con microalgas inmovilizadas Mujtaba *et al.*, (2017) emplearon *Chlorella vulgaris* inmovilizada en alginato de calcio, la cual se cultivó utilizando agua residual sintética como medio de cultivo, registrando un incremento de biomasa del 100% al llegar a la fase estacionaria, iniciando el experimento con un inóculo de 5×10^6 cel/mL y alcanzando una concentración máxima en fase estacionaria de 6×10^6 cel/mL.

Forero *et al.* (2015) reportaron los resultados de un estudio sobre la cinética de crecimiento de dos especies de clorofitas, *Scenedesmus ovalternus* y *Chlorella vulgaris* inmovilizadas en alginato de calcio y cultivadas en medio Bold Basal, en el ensayo *Chlorella vulgaris* incrementó de 35×10^3 cel/mL a 300×10^3 cel/mL, lo que representa un crecimiento de biomasa nueve veces más que su concentración inicial lo que atribuyen a la capacidad de reproducción de esta especie ante una elevada cantidad de nutrientes aunado a que los autores utilizaron bajas densidades celulares por esfera, lo que permitió un mejor posicionamiento de las células al interior de las esferas de alginato. En el caso de la especie *Scenedesmus ovalternus* la concentración celular aumentó de 10×10^3 cel/mL hasta 70×10^3 cel/mL en la fase estacionaria, esto representa un aumento aproximado de siete veces con respecto a la concentración inicial, en lo que podría considerarse condiciones ideales de crecimiento para dos de las especies más representativas, en lo que se refiere a la inmovilización de microalgas para tratamiento de aguas residuales.

En el presente trabajo, al final de los experimentos de *Lagerheimia* sp. en estado libre e inmovilizadas en alginato de calcio, se alcanzó un incremento en concentración celular comparable con el 50% del incremento que registraron Mujtaba *et al.* (2017) en su experimento de inmovilización de clorofitas utilizando un medio de cultivo convencional (Bold Basal).

7.2.2 REMOCIÓN DE AMONIO

En lo que respecta a la remoción de amonio en este trabajo, en ambos experimentos con cultivos libres e inmovilizados, al tiempo 3 ya había sido removido arriba del 80% del amonio contenido en el agua residual, registrándose al final del experimento una remoción del 92% en el ensayo con cultivos libres y un 95% en el ensayo con cultivos inmovilizados. Estadísticamente, no se encontró diferencia significativa en los resultados [$t(3)=4.30$; $p=0.64$]. En este trabajo la especie estudiada en ambas condiciones (cultivo libre e inmovilizada) registro valores de remocion de amonio en el mismo rango, que géneros de clorofitas ampliamente utilizadas en experimentos de biorremediación de aguas residuales como lo son *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp, con porcentajes de remoción de amonio por arriba del 80% (Han *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2012; Lynch *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2011; Xin *et al* 2010) .

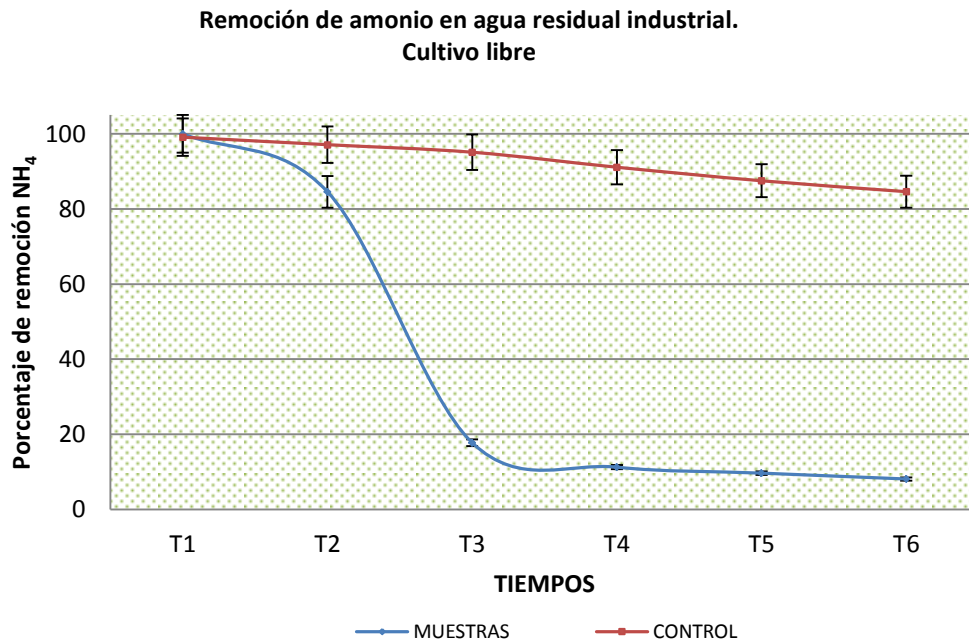


Figura 19. Consumo de amonio en cultivos libres.

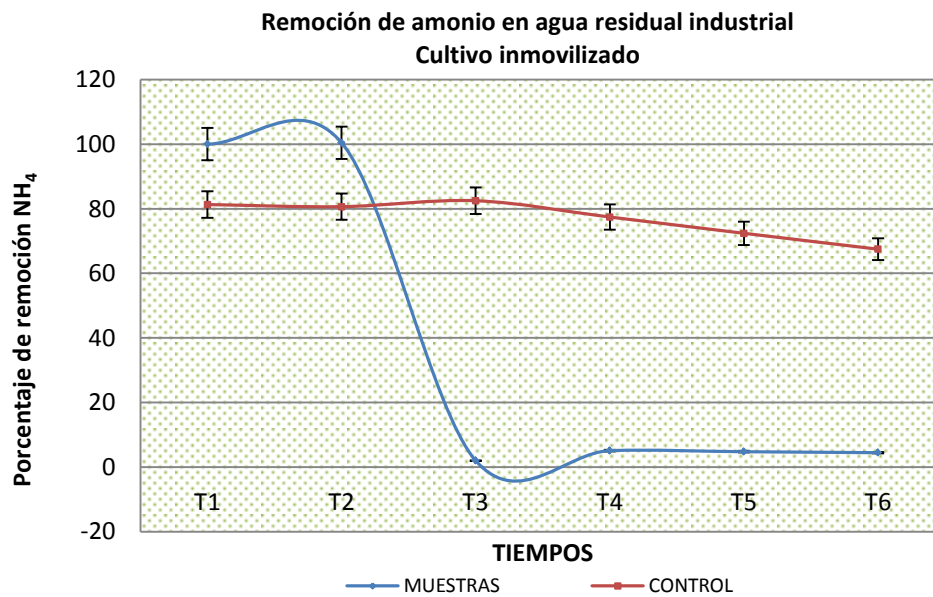


Figura 20. Consumo de amonio en cultivos inmovilizados.

Tabla 11. Porcentajes de remoción de Amonio en agua residual industrial en fotobiorreactores.

	Porcentaje de Remoción (%)	Concentración máxima de amonio (mg/L)	Concentración final de amonio (mg/L)
Cultivo libre	92	4.97±0.7	0.40±0.4
Cultivos inmovilizados	95	3.80±0.5	0.2±0.05

Los porcentajes de remoción de amonio de *Largerheimia* sp. obtenidos en este trabajo son comparables a los citados por diversos autores en trabajos similares, Li *et al.* (2011) trabajaron con la especie *Chlorella* sp. en la remoción de nutrientes en muestras de agua residual municipal, en su experimento reportaron una remoción del 93%, iniciando el experimento con una elevada concentración de nitrógeno amoniacal, 80 mg/L y terminando al final del experimento con 5 mg/L.

Xin *et al.* (2010), estudiaron la eficiencia de remoción de la especie *Scenedesmus* sp. modificando las fuentes de nitrógeno, reportando que cuando la principal fuente de nitrógeno proviene de urea y de nitratos, la especie logra crecer hasta alcanzar la fase estacionaria con un 90% de remoción de nitrógeno y con casi el 100% de remoción de fósforos, sin embargo al modificar la fuente de nitrógeno, la densidad celular disminuyó y la remoción de amonio y fósforo fue menor (31 % y 76.4% respectivamente); el autor sugiere que el rendimiento en remoción disminuye por el efecto de inhibición derivado de la disociación del amonio y su efecto en el pH del cultivo.

Resultados importantes respecto al uso de microalgas en la remoción de amonio, para el caso de la especie *Trentepohlia aurea* han sido reportados por Abe *et al.* (2002), quienes reportan niveles de remoción cercanos al 80% en un periodo de exposición de 40 días. En el caso del presente trabajo, en las dos condiciones (cultivo libre e inmovilizado) en un menor tiempo de exposición ya había sido removido el 80% del amonio presente (Ver figura 19 y 20).

En experimentos similares, Sole y Matamoros (2016) reportaron para su trabajo (donde utilizaron *Chlorella* sp. y *Nitzschia* sp. co-inmovilizadas en perlas de alginato) valores de remoción de amonio del 90% en 10 días de exposición, en esta tesis se obtuvo un resultado en remoción de amonio del 95% en experimentos con *Lagerheimia* sp. inmovilizada (Ver figura 20), cabe mencionar que en comparación con los autores citados, este experimento se realizó a una escala mayor, fotobiorreactores de 2.5 L en el estudio de Sole y Matamoros (2016) y 4 L en esta tesis.

Así mismo *Lagerheimia* sp. cuando se trabajó a 250 mL, también registró remociones elevadas de amonio 82% y 97.8% en cultivos con agua residual industrial al 50% y 30% respectivamente.

En lo que respecta a el uso de las clorofitas inmovilizadas para tratamientos de efluentes, las especies más involucradas en este tipo de estudios pertenecen a los géneros *Scenedesmus* y *Chlorella*, por lo que la aportación de este trabajo en cuanto al uso de *Lagerheimia* sp. como material biológico resulta de gran valor, ya que la especie no se encuentra reportada en experimentos de esta índole y para el caso de la remoción de amonio, su eficiencia comparada con otros géneros de clorofitas, resultó en valores muy similares.

7.2.3 REMOCIÓN DE FOSFATOS.

Se determinaron los porcentajes de remoción de fosfatos en los dos sistemas experimentales, sin registrarse diferencia significativa entre ambos [$t(3)=4.30$; $p=0.286$] el caso de los fotobiorreactores con cultivo libre e inmovilizado la máxima remoción obtenida fue del 53%.

En los cultivos en estado libre, se puede observar que la máxima remoción de fosfatos se registro en el tiempo 3(T3) a partir de entonces la concentración de fosfatos se mantuvo en un rango relativamente constante (43 a 53%). Varios autores en estudios similares reportaron una dinámica en la remoción de nutrientes, que coincide también con los resultados del presente trabajo, en donde a partir del tiempo en el cual se consume la mayor parte de amonio, disminuye la asimilación de fosfatos o permanece constante; Sole y Matamoros (2016) en sus experimentos con microalgas en estado libre, similar reportaron una remoción máxima de fosfatos y amonio en el orden del 54% NH_4 /90% PO_4 , Blier *et al.* (1995) en sus estudios con la microalga *Micractinium pusillum* reportaron que partir del tiempo en el cual se consumió la mayor parte de amonio(>80%), disminuyó la asimilación de fosfatos y su concentración permaneció constante oscilando entre los 10 a 11 mg/L por el resto del ensayo hasta que finalmente reportaron 40% de fosfatos removido al final de sus experimentos, estos autores utilizaron agua residual de un tratamiento secundario proveniente de una quesería.

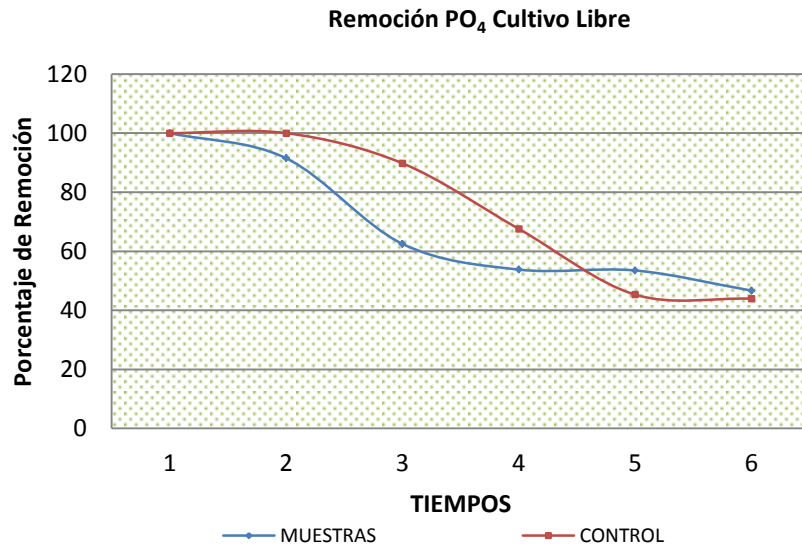


Figura 21. Remoción de fosfatos en cultivos libres.

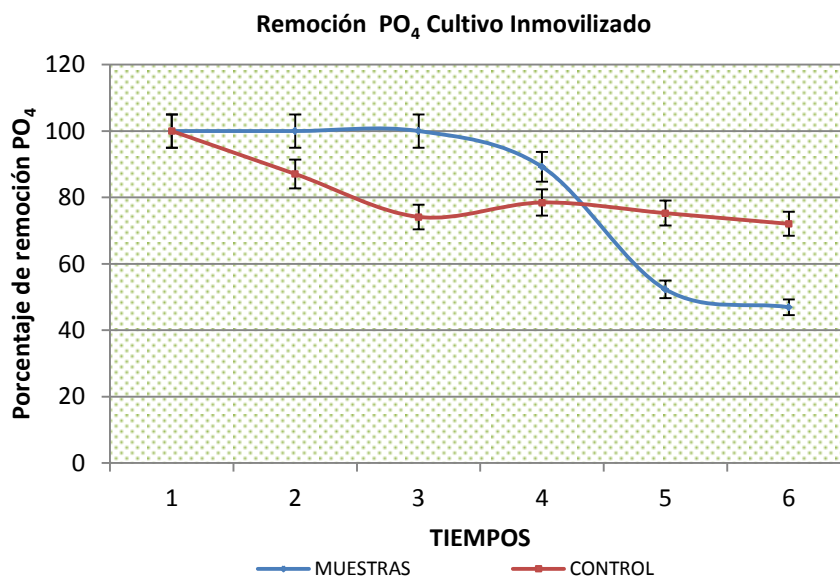


Figura 22. Remoción de fosfatos en cultivos inmovilizados

En las figuras 21 y 22 se observa la disminución de nutrientes conforme avanza el tiempo y crece el cultivo.

Tabla 12. Porcentajes de remoción de fosfatos en agua residual industrial

	Porcentaje de Remoción (%)	Concentración máxima de fosfatos (mg/L)	Concentración final de fosfatos (mg/L)
Cultivo libre	53.4	4.11±0.2	1.92±0.06
Cultivos inmovilizados	53.0	4.11±0.5	1.93±0.13

En este trabajo se observó un mayor porcentaje de remoción de amonio con respecto al fosfato, 92% y 53.4% respectivamente, esta tendencia es citada por diversos autores: Sawayama *et al.* (1992) en sus experimento con *Botryoccus braunii* registraron un porcentaje de remoción 99.9% de NH_4 y 75% de PO_4 . Un patrón similar se observa con *Chlorella vulgaris* en un ensayo llevado a cabo con tres diferentes concentraciones celulares, en donde los porcentajes de remoción (NH_4/PO_4) registrados fueron los siguientes 74.1 /63.8; 97.8/87; 89.7/66.1 (Lau *et al.*, 1995), resaltando que en todos los casos se observó una mayor remoción de amonio con respecto al fosfato.

Una explicación a este comportamiento es que de acuerdo al mecanismo de asimilación de nutrientes, siguiendo la ruta metabólica, al haber disponible una fuente nitrógeno como el amonio, puede llevarse a cabo la síntesis de ADN ribosomal que involucra el proceso de fosforilación que consecuentemente requiere de una demanda de fósforo en forma de ATP, al agotarse la fuente de nitrógeno se interrumpe la síntesis de proteínas por lo que deja de requerirse la demanda de fósforo (Beuckels *et al.*, 2015); esto explica que en algunos experimentos, al llegar al 100% de remoción de amonio y al no haber otra fuente disponible de nitrógeno, se interrumpe la remoción de fosfato. En el caso de *Lagerheimia* sp. en los cultivos en estado libre, se observó esta misma tendencia, en donde a partir de los tiempos en que se agotó el amonio disponible en el agua residual industrial (T3), se detuvo la remoción de fosfato (Ver Figura 19 y 21); en lo que respecta a los cultivos inmovilizados la máxima remoción de fosfatos se obtiene al T5 manteniéndose a partir de allí relativamente constante (Ver figura 20 y 22).

Para el caso de sistemas de tratamiento con microalgas inmovilizadas, Roa y Cañizares (2012) en su estudio reportaron resultados en la remoción de fosfatos y nitratos, 47% y 60% utilizando medio de cultivo Bold Basal y *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado en alginato de calcio como material biológico. Sole y Matamoros (2016), registran elevados porcentajes de remoción de fosfatos y amonio al final de su experimento con microalgas *Chlorella* sp. y *Nitzschia* sp. inmovilizadas en perlas de alginato, observándose valores arriba del 90% en los dos nutrientes al final de los experimentos.

Por su parte, Shi *et al.*, (2007) en sus trabajos con *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus rubescens* también encontraron la máxima remoción de fosfatos y amonio, después de tres días de haber iniciado sus experimentos, mencionando que una vez que se consumió la mayor cantidad de nitrógeno, la concentración de fosfatos se mantuvo casi constante, removiendo del sistema aproximadamente 84% de fosfatos, los autores utilizaron agua residual municipal para sus pruebas, lo más significativo de este trabajo es la rapidez en la asimilación así como la alta eficiencia en remoción de los nutrientes con respecto a los sistemas en donde se utilizan células de microalgas en estado libre.

Otros autores reportan la remoción de nutrientes en *C. vulgaris* inmovilizada en perlas de alginato y carragenina, el crecimiento dentro de perlas de alginato y carragenina fue más lento comparado con el observado en estado libre, sin embargo cerca del 95% de amonio y 99% de fosfatos fueron removidos por el sistema con microalgas inmovilizadas en un lapso de tres días, mientras que el sistema con células suspendidas logró remover solo el 50% de los nutrientes dentro del mismo periodo de tiempo (Lau *et al.*, 1997).

Como resultado de este trabajo, se observó en el experimento con *Lagerheimia* sp. inmovilizada en alginato que el porcentaje de remoción fue menor con respecto al porcentaje de remoción de amonio (92%/53%, $\text{NH}_4^+/\text{PO}_4$), un patrón muy característico en los sistemas de tratamiento con microalgas y que a la luz de la revisión documental, esto se relaciona con el agotamiento de la fuente de nitrógeno disponible.

7.2.4 REMOCIÓN DE DQO

Tabla 13. Porcentajes de remoción de DQO en ARI

Fotobiorreactores	DQO Inicial (mg/L)	DQO Final (mg/L)	%Remoción
Cultivos libres	618	<200 *	67.6
Cultivos inmovilizados	618	<200 *	67.6

*Valor de acuerdo al límite de cuantificación del método, en referencia de la Norma Mexicana NMX-030-2-SCFI-2011

En la tabla 13 se observa la concentración inicial de DQO en la muestra (618 mg/L), dentro de las características organolépticas del agua residual industrial destaca la coloración roja y olor característico a estireno; al final de los experimentos se registro un porcentaje de remoción del 67.6% en ambos experimentos, con una concentración final <200 mg/L de DQO esto en ambos sistemas (libre e inmovilizado), además de una mejoría en las características organolépticas de la muestra, como lo es la disminución notable del color rojo marrón, así como una nula percepción de olor en comparación con las condiciones originales de la muestra.

En lo que respecta al marco normativo nacional, la NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, no incluye límites de concentración regulatorios para la demanda química de oxígeno, existe como tal la propuesta para la modificación de esta norma, la cual ya fue publicada como PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017 (DOF, 2017), que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación., en esta propuesta de norma, ya se contempla límites máximos permisibles en promedio mensual del siguiente orden: 150 mg/L para ríos, arroyos, canales y drenes; 100 mg/L para embalses, lagos y lagunas; 85 mg/L para zonas marinas y estuarios; aunque para efectos regulatorios, la modificación a la NOM-001-SEMARNAT-1996 aún no se encuentra autorizada de manera legal, los límites citados pueden servir como marco de referencia para el presente estudio.

Varios autores han citado la remoción de materia orgánica mediante tratamiento con microalgas, sobre todo de los géneros *S. obliquus*, *Chlorella sorokiniana*, *C. vulgaris*, para esta última los registros de disminución de la DQO superan el 69% en agua residual de la industria textil (Mandal y Mallick, 2011; Lee *et al.*, 1996; Ogbonna *et al.*, 2000; Liang *et al.* 2009; El-Kassas y Mohamed, 2014).

Aunque la remoción de la DQO mediante tratamientos con microalgas ha sido poco estudiada, la presencia de organismos fotosintéticos en el agua residual proporciona oxígeno, con el cual se mejora la oxidación biológica de la materia orgánica presente, si el sistema de tratamiento cuenta con aireación, se favorece aún más el proceso ya que se suma una oxidación química, todos estos factores pueden propiciar la remoción de la DQO (Metcalf y Eddy., 1993). En comparación a estudios similares, Mujtaba *et al.* (2017), registraron la remoción del 64% de carbono orgánico en agua residual artificial tratada con *C. vulgaris*. Wen *et al.* (2017) reportaron la remoción del 58% de carbono orgánico en muestra de agua residual proveniente de una granja de cerdos, utilizando *C. vulgaris*, cabe mencionar que los autores utilizaron una cepa aislada de este efluente. Travieso *et al.* (1996), también registraron remoción de carbono orgánico disuelto, 36 -69% con *C. vulgaris* y 31-56% con *Chlorella kessleri* ambas especies inmovilizadas en alginato de calcio.

En este trabajo se obtuvieron resultados en porcentaje de remoción de la DQO, similares a los reportados en los trabajos revisados, 68% en ambos sistemas.

7.2.5 EFECTO EN LA DISMINUCIÓN DE COLOR

Uno de los hallazgos importantes observados al final de los tratamientos con *Lagerheimia* sp. en ambas condiciones: libre e inmovilizado; es en relación a las propiedades organolépticas, fue la disminución considerable de color observado al final de los experimentos; en la figura 23 se observa el aspecto original del agua residual industrial que dada su naturaleza contenía una elevada presencia de colorantes azoicos, en las figuras 24 y 25 se observa la disminución de la coloración original del agua residual industrial al finalizar los experimentos en los fotobioreactores. Sin ser el color una variable que se haya considerado estudiar en esta tesis, es importante mencionar algunas consideraciones al respecto, sin dejar de mencionar además, que los desechos de colorantes aportan materia orgánica que incrementa la DQO.



Figura 23. Aspecto original de la muestra de agua residual industrial

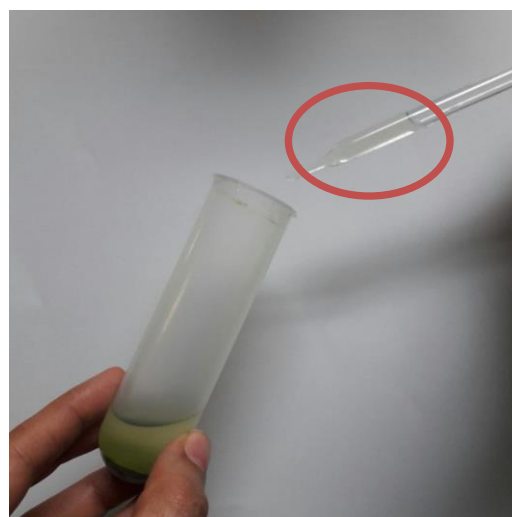


Figura 24. Aspecto de muestra de agua residual posterior al proceso de sedimentación en muestra

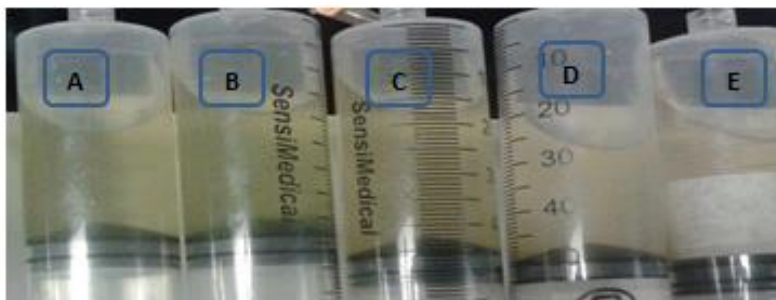


Figura 25. Aspecto de la disminución de color en muestras de agua residual posterior al tratamiento de biorremediación con *Legerheimia* sp. (A) FBR Cultivo Libre a, (B) FBR Cultivo libre b, (C) FBR Cultivo libre c, (D) FBR Cultivo Inmovilizado a, (E) FBR Cultivo Inmovilizado b

La capacidad de las microalgas para degradar colorantes ha sido estudiada por algunos autores, Acuner y Dilek (2004) emplearon varias especies de *Chlorella* que tienen la capacidad de degradar colorantes azoicos hasta sus aminas aromáticas e incluso metabolizar las aminas aromáticas a compuestos orgánicos simples o CO_2 . El-Sheekh *et al.* (2009) estudiaron la especie *C. vulgaris* y la ruta metabólica de la enzima algal colorante-azo-reductasa involucrada en la degradación de colorantes azoicos. Los colorantes pueden ser removidos también mediante mecanismos de adsorción en los cuales estos adquieren cargas que provocan adherencia a los biopolímeros (mucílago) que envuelve la pared celular, y por difusión logran introducirse moléculas de colorantes de la fase líquida hasta la fase sólida de los biopolímeros (Gupta *et al.*, 2006; Ozer *et al.*, 2006).

Daeshvar *et al.* (2007), sugieren que son tres los mecanismos que se llevan a cabo en la remoción de colorantes azoicos por microalgas, vía asimilación directa en donde las microalgas utilizan estas moléculas para la producción de biomasa alga, CO_2 y agua; la segunda es la conversión a moléculas no coloreadas y la tercera es la absorción a través de la biomasa algal.

Los colorantes son sustancias que tienen un gran impacto como contaminantes, en la industria textil uno de los grandes problemas es debido a la eficiencia de fijación de color a las fibras, 60 a 90%, el resto de los colorantes pasa a las descargas de agua residual (Sugiura *et al.*, 1999), generando contaminación estética, incremento en la demanda bioquímica y química de oxígeno, cambios en el pH (Amin *et al.*, 2008). Su tratamiento con agentes químicos, puede generar sustancias más tóxicas (Abadulla *et al.*, 2000; Nerud *et al.*, 2001)

En este trabajo se presenta un comparativo visual (Figuras 24 y 25) de remoción de color y se sugiere que para estudios posteriores con este tipo de muestras, se estudie la remoción de colorantes azoicos, por su significancia en el saneamiento de efluentes y cuerpos de agua.

7.3 ANÁLISIS DE LA BIOMASA ALGAL

Los tratamientos con microalgas además de eliminar nutrientes como nitrógeno y fósforo, que en altas concentraciones pueden producir eutrofización, ofrecen una segunda aplicación muy interesante desde el punto de vista económico y energético, y es el aprovechamiento de la biomasa producida.

Los carbohidratos en las microalgas provienen del almidón contenido en los plásmidos así como de la celulosa y otros polisacáridos de la pared celular. En lo que respecta a los carbohidratos, los resultados de esta tesis muestran una producción de 12.02% y 5.89% de carbohidratos en cultivo libre e inmovilizado respectivamente, observándose diferencia significativa en los tratamientos [$t(3)=4.30$ $p=0.03$], siendo mayor la producción de carbohidratos en los cultivos libres (Figura 27 y 28).

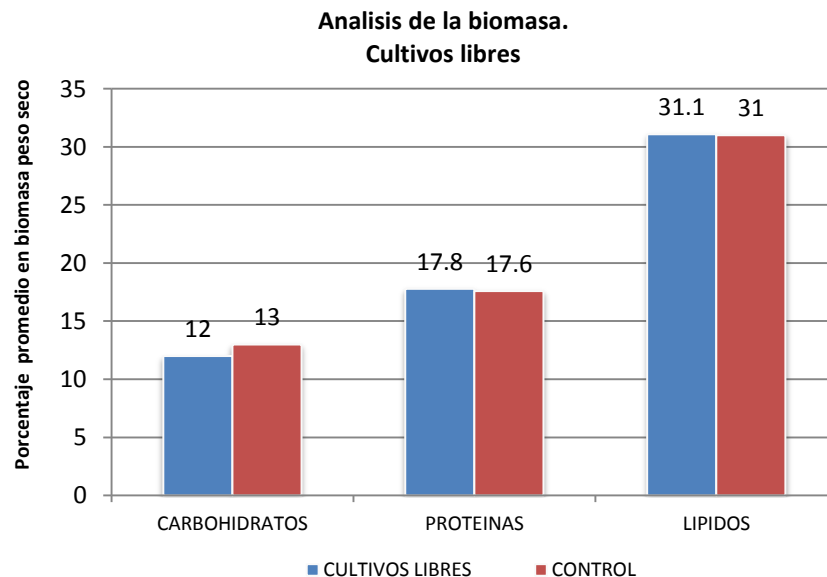


Figura 28. Porcentaje de metabolitos en biomasa de *Lagerheimia* sp. cosechada, proveniente de los fotobiorreactores con cultivos libres.

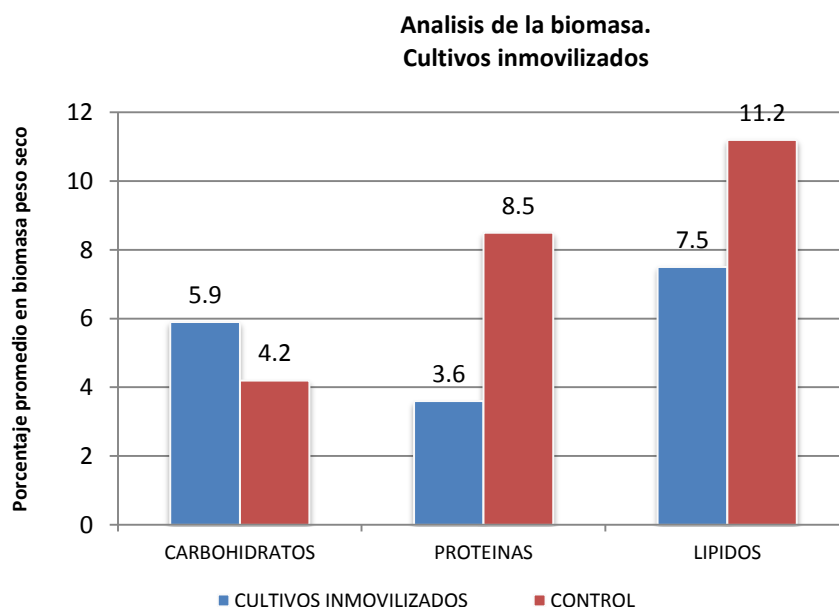


Figura 29. Porcentaje de metabolitos en biomasa de *Lagerheimia* sp. cosechada, proveniente de los fotobiorreactores con cultivos inmovilizados.

Tabla 14. Porcentaje de los metabolitos de interés para el aprovechamiento de la biomasa.

Metabolitos de interés	Cultivos libres (% en biomasa seca)	Cultivos inmovilizados (% en biomasa seca)
CARBOHIDRATOS	12.02	5.89
PROTEÍNAS	17.78	3.63
LÍPIDOS TOTALES	31.1	7.55

Una de las aplicaciones que se puede dar a la biomasa para el aprovechamiento de la producción de carbohidratos, es para la obtención de biocombustibles como el etanol, Ho *et al.* (2013) estudiaron la producción de carbohidratos en *C. vulgaris*, logrando hasta un 51% y aplicando un tratamiento de hidrólisis enzimática y un proceso acoplado de sacarificación-fermentación, obtuvieron una concentración de 11.7 g/L de etanol con un rendimiento en el proceso de su obtención del 87.6%.

Bchir *et al.* (2016) describieron las siguientes especies como de elevada producción de carbohidratos, *Porphyridium cruentum* (40–57%), *Chlorococum humicola* (32, 52%) *Spirogyra sp.* (33–64 %) y *Scenedesmus dimorphus* (21–52 %), en función de estos rangos se considera que *Lagerheimia sp.* entra dentro de las clasificaciones de especies con baja productividad. Posiblemente se podría incrementar la producción de carbohidratos utilizando estrategias de cultivo basadas en la intensidad de luz, disminución de la fuente de nitrógeno, variación en la temperatura, pH y adición de CO₂, dentro de estos la limitación de nitrógeno ayudaría no sólo a la producción de carbohidratos sino, también de lípidos (Chen *et al.*, 2013).

El aprovechamiento de la biomasa microalgal con una elevada concentración de carbohidratos, representa una fuente potencial para la producción de bioetanol ya que a diferencia de los cultivos como la caña de azúcar y otras semillas; esta tecnología no compromete tierra cultivable y agua, además de que los nutrientes son aportados directamente del agua residual. En el aspecto técnico la ausencia de lignina favorece considerablemente el proceso de sacarificación (Sun y Cheng, 2002) que es uno de los pasos para la obtención del bioetanol.

En cuanto a las proteínas en los cultivos en estado libre, se obtuvo una 17.78%, y en los cultivos inmovilizados 3.63%, con diferencia significativas en los tratamientos [$t(3)=4.30$ $p=0.05$],. En algunos trabajos con clorofitas, se han reportado elevadas producciones de proteínas en biomasa. Singh *et al.* (2011) reportaron un 39% en experimentos con *Scenedesmus bijuga* cultivada en efluentes de digestatos anaeróbicos de desechos avícolas; Tan *et al.* (2015) registraron un 60.7% de proteína en cultivos de *Chlorella pyrenoidosa* en medio de cultivo preparado a partir de digestatos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales, Tao *et al.*, (2017) reportan productividades de 30.3% y 41.8% de proteínas en biomasa utilizando cultivos de *C. vulgaris* en líquidos de digestatos de pulpa de papel y aguas residuales municipales.

Varios autores coinciden en que la máxima producción de proteína se puede alcanzar antes de que se agote la fuente de nitrógeno, ya que una vez agotado este elemento, las proteínas y péptidos acumulados dentro del material celular son convertidos a lípidos o carbohidratos (Ho *et al.*, 2012; Rismani-Yazdi *et al.*, 2011).

En lo que respecta *Lagerheimia* sp. en este trabajo se observó una menor producción de proteínas 3.63% en los cultivos inmovilizados que con cultivos libres en donde la producción fue de 17.78%, cabe mencionar que la determinación de proteínas se realizó hasta finalizar el tiempo de exposición de los experimentos, por consiguiente esta baja productividad se puede asociar al estrés metabólico antes mencionado, que repercute en la baja de producción proteica y que es debido al agotamiento de la fuente de nitrógeno (Ilman *et al.*, 2000).

La biomasa algal obtenida en tratamientos de agua residual industrial con una elevada producción de proteínas, puede ser utilizada como biofertilizante, ya que el nitrógeno orgánico contenido en el material celular, puede ser transformado por la microbiota del suelo a formas asimilables de nitrógeno para las plantas superiores siempre y cuando no existan otros contaminantes absorbidos en la biomasa algal que puedan ser perjudiciales al medio ambiente, como compuestos xenobioticos o metales pesados (Hernández *et al* 2012).

En contenido de lípidos totales en este trabajo, se registró en un 7.54% en el experimento con cultivos inmovilizados y 31.1% en cultivos libres (Figuras 28 y 29); los resultados estadísticamente muestran diferencias significativas entre ambos tratamientos, [$t(3)=4.30$ $p=0.01$], la determinación de lípidos permite conocer el potencial que tienen las microalgas como materia prima para la obtención de biodiesel. Chisti (2007) menciona que después del 12% de lípidos totales y si su perfil presenta triacilglicéridos, estas especies se pueden considerar para el proceso de producción de biocombustibles. Para la especie utilizada en esta tesis (*Lagerheimia* sp.), no se contaba con registro de su producción ni perfil lipídico y en condiciones de cultivo libre el contenido de lípidos la perfila para este uso.

El uso de agua residual como fuente de nutrientes para la producción de microalgas con potencial energético, es descrito por diversos autores, Jian *et al.* (2011) estudiaron la producción de lípidos mediante cultivo de *Nannochloropsis* sp. en agua residual municipal a partir limitaciones de nitrógeno y en condiciones de alta luminosidad. A-Shanab *et al.*, 2013, reportan un 33% en producción de lípidos en *Chlorella mexicana* la cuál fue cultivada en agua residual de granjas porcícolas; Arora *et al.* (2016) estudiaron la producción de lípidos en *Chlamydomonas debaryana* utilizando aguas residuales de diferentes fuentes (doméstica, municipal, de la industria papelera y lecherías), reportando una producción lipídica en el rango de 40 a 45% en biomasa seca.

Xin *et al.* (2010), reportan contenido de lípidos de 31 a 33% en biomasa seca de *Scenedesmus* sp. cultivada en un efluente de tratamiento secundario de agua residual, las siguientes especies también fueron utilizadas para estudiar el rendimiento en contenido de lípidos utilizando aguas residuales como medio de cultivo: *Scenedesmus quadricauda* (27.36%), *Chlorella ellipsoidea* (43%), *Chlorella* sp. (20-43%) (Han *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2011; Cheirsilp *et al.*, 2016).

En el presente trabajo, en los cultivos libres, se llegó al 92% de remoción al finalizar el experimento, lo que permitió la acumulación de lípidos en el tiempo restante del , este aspecto es importante de mencionar debido a la influencia que tiene la disminución de la fuente de nitrógeno con el incremento en el porcentaje de lípidos (Figura19). Sin embargo, se requieren más estudios al respecto para evaluar las condiciones ideales en las que se puede estimular una mayor producción de lípidos en microalgas inmovilizadas en alginato.

ANALISIS DE LIPIDOS TRANS- ESTERIFICABLES (FAME'S)

La composición porcentual de los diferentes lípidos, los cuales resultan de importancia para evaluar su aprovechamiento como fuente de biocombustibles (biodiesel) u otros usos, se puede observar en la figura 30.

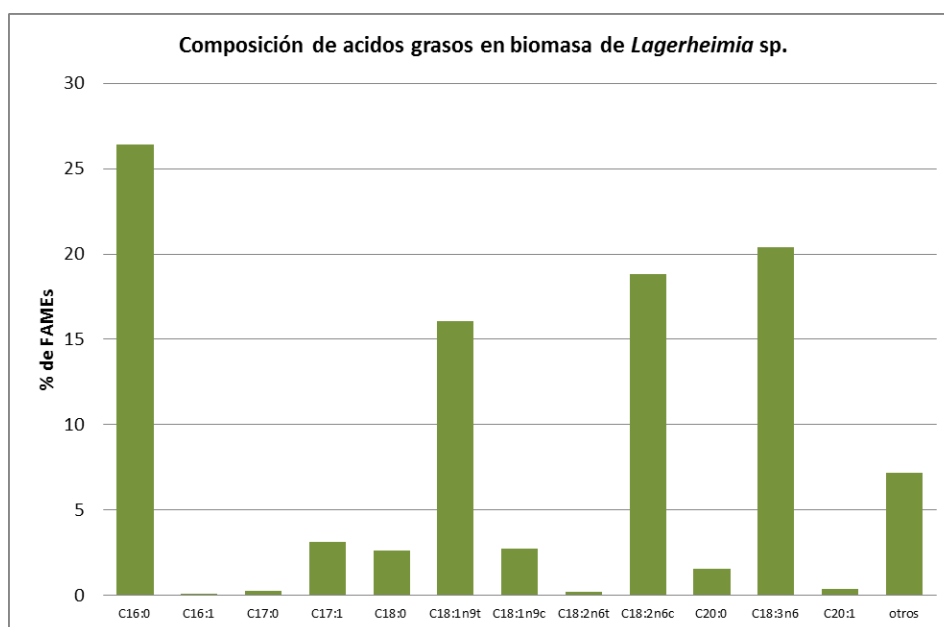


Figura 30. Perfil de ácidos de *Lagerheimia* sp.

Tabla 15. Perfil de ácidos grasos en biomasa seca de *Lagerheimia* sp.

ÁCIDO GRASO	PORCENTAJE EN BIOMASA SECA
C16:0	26.4±0.91
C16:1	0.07±0.002
C17:0	0.23±0.004
C17:1	3.12±0.01
C18:0	2.62±0.13
C18:1n9t	16.07±0.81
C18:1n9c	2.72±0.09
C18:2n6t	0.20±0.002
C18:2n6c	18.80±71
C20:0	1.55±0.003
C18:3n6	20.40±1.64
C20:1	0.38±0.005
otros	7.1787

Tabla 16. Composición porcentual de ácidos grasos saturados, mono-insaturados y poliinsaturados en la especie *Lagerheimia* sp. y vegetales empleados como materias primas para biodiesel.

Aceites vegetales	% FAS-MUFA'S	%PUFA'S	REFERENCIA
Soya	38.4	61	Rashid <i>et al.</i> (2008)
Maiz	41.6	58.4	Bi <i>et al.</i> (2010)
Colza	66.01	33.61	Rashid y Anuar (2008)
Palma	88.9	10.3	Satyanarayana y Muraleedharan, (2011)
Jatrofa	56.09	43.34	Okullo <i>et al.</i> (2012)
<i>Lagerheimia</i> sp	53.16	39.4	Este trabajo

% FAS : Ácidos grasos saturados, % MUFA'S : Ac. grasos monoinsaturados; % PUFA'S : Ac. grasos poliinsaturados.

En la tabla 15 se puede observar el ácido palmítico (C16:0), ácido elaidico (C18:1n9t), ácido linoleico (C18:2n6c), ácido γ -linoleico (C18:3n6), los ácidos grasos de mayor abundancia en la biomasa de esta especie.

Los lípidos de microalgas que pueden utilizarse para la síntesis de biodiesel son principalmente triglicéridos. La determinación del contenido de ácidos grasos, es de suma importancia especialmente porque propiedades químicas como la longitud de la cadena y el grado de insaturación en el éster metílico, tienen efectos en las propiedades físicas del biodiesel como la viscosidad cinemática, la gravedad específica, el número cetano y el valor más alto de calentamiento (Hoeckman *et al.*, 2012; Tan y Lin., 2011).

En cuanto a su acumulación dentro de la biomasa algal en cultivos, cuando estos entran a la fase exponencial hay un aumento en el metabolismo para la producción de lípidos de membrana, mientras que entrando a un periodo de estrés en la fase estacionaria, el metabolismo se enfoca a la biosíntesis de ácidos grasos dentro del citosol (Hu, 2004), no obstante las condiciones de estrés dificultan la división celular, debido a que la mayor parte de la energía se ocupa para la transformación de lípidos y carbohidratos en el interior de la célula (Solovchenko, 2012), disminuyendo así la división celular y en consecuencia el incremento de la biomasa.

En un primer acercamiento para comparar la calidad de lípidos producidos por *Lagerheimia* sp. en esta tesis, se pueden citar como referencia los principales ácidos grasos presentes en vegetales utilizados para la producción de biodiesel, en este estudio el porcentaje de ácido palmítico registrado fue de 26%, un valor que supera los niveles normalmente presentes de este ácido graso en semillas de girasol, soja y aceite de oliva (Padley *et al.*, 1986; Gunstone y Harwood, 2007). Otro de los ácidos grasos con una concentración elevada fue el ácido γ -linolénico (C18:3), el cual se obtuvo en un porcentaje del 20.41%, este lípido es muy raro de encontrar en semillas oleaginosas, en el caso de los ácidos oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) se observaron porcentajes de 16% y 18.80% respectivamente, estos porcentajes se encuentra dentro del rango que cultivos como girasol, soja, palma aportan (Padley *et al.*, 1986; Gunstone y Harwood, 2007).

En la tabla 16, se observa un comparativo entre el porcentaje de ácidos grasos saturados monoinsaturados, respecto a los ácidos grasos poliinsaturados y vemos que se presentan en una menor cantidad los ácidos grasos poli-insaturados (PUFA'S), esta característica en la composición de lípidos resulta favorable para su uso como fuente de biodiesel, debido a que los ácidos grasos poliinsaturados, afectan de manera negativa la estabilidad oxidativa del biodiesel lo cual repercute en los costos por los aditivos que se deben de agregar para atenuar este efecto. Así mismo, vemos que los aceites de soja y maíz presentan un mayor porcentaje de PUFA'S, mientras que en el caso del aceite de jatropa, presenta ácidos grasos saturados y poliinsaturados similares a lo encontrado en nuestra especie *Lagerheimia* sp.

Uno de los factores que puede acelerar la acumulación de lípidos en la biomasa algal, es la intensidad de la luz, bajas intensidades se asocian con la producción de lípidos polares y lípidos poliinsaturados mientras que las altas intensidades, se relacionan con la disminución de lípidos polares y aumenta la proporción de lípidos neutros, principalmente saturados y monoinsaturados (Solovchenko 2012; Mandotra *et al.*, 2016).

Para el caso de este trabajo, el cultivo de *Lagerheimia* sp. se mantuvo bajo condiciones de fotoperiodo 12:12 h L:O, con una intensidad lumínica de $167 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en lo que respecta a los resultados, se puede observar un menor porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados (39.4%) con respecto a los ácidos grasos saturados y mono-insaturados (53.16%), lo cual pudiera dar indicio a que la intensidad lumínica pudo ser un factor de estrés que favoreció el incremento de ácidos grasos saturados. Los resultados en cuanto a la composición del perfil de ácidos grasos resultaron favorables en cuanto a la proporción de PUFA'S/MUFA'S, una característica que es deseable si la biomasa se requiere para la obtención de biodiesel.

Tabla 17. Resumen de resultados del experimento con *Lagerheimia* sp. como tratamiento de biorremediación de agua residual industrial. Eficiencia en remoción de nutrientes y aprovechamiento de biomasa.

EXPERIMENTO	Nutrientes y Materia orgánica inicial [mg/L]	REMOCIÓN [%]	LÍPIDOS [%]	PROTEÍNAS [%]	CARBOHIDRATOS [%]
<i>Lagerheimia</i> sp. en cultivo libre	DQO: 618 NH ₄ :4.97 PO ₄ :4.11	67.6 92 53.4	31.1	17.78	12.02
<i>Lagerheimia</i> sp. en cultivo inmovilizado	DQO: 618 NH ₄ :3.80 PO ₄ :4.11	67.6 95 53	7.55	3.63	5.89

Tabla 18. Comparación de cultivos de microalgas en agua residual para la producción de biodiesel.

Microalga	Agua residual/ Conc. Inicial de nutrientes	Porcentajes de remoción	Contenido de lípidos	Referencias
<i>Scenedesmus</i> sp.LX1	Efluente municipal de clarificador secundario. DQO 24mg/L N-NH ₄ 14-16 mg/L P _{Total} 1.2-1.5 mg/L	N.I 87.8 a 90.4% 90-95%	31-33%	Xin <i>et al</i> 2010
<i>Scenedesmus quadricauda</i> SDEC-13	Agua residual sintética. DQO :240.18 mg/L N-NH ₄ :27.19 mg/L P _{Total} :2.4 mg/L	N.I 100% 98%	27.36%	Han <i>et al</i> 2015
<i>Chlorella ellipsoidea</i> YJ1	Efluente municipal de clarificador secundario N _{Total} : 7mg/L P _{Total} :0.46 mg/L	98-99% 92-95%	43%	Yang <i>et al</i> 2011
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Agua residual diluida proveniente de granjas porcícola. DQO Soluble: 750 mg/L N-NH ₄ :38 mg/L P _{Total} : 4 mg/L	42.3% 93.7% 31%	14%	Wang <i>et al</i> 2012
<i>Chlorella</i> sp. C-MR	Efluente de clarificador secundario DQO Soluble: 1267 mg/L N _{Total} : 200mg/L P _{Total} :35 mg/L	58-65% 71-99% 42-64%	20-43%	Cheirsilp <i>et al</i> 2012
<i>Clamydomonas debaryana</i> IITRIND	Efluente de clarificador secundario doméstico e industrial. DQO : 300-1000 mg/mL N _{Total} : 300-1000 mg/mL P _{Total} : 180-350 mg/mL	78.57%% 87.56% 82.17%	27-48%	Arora <i>et al</i> 2016
<i>Chlamydomonas mexicana</i>	Agua residual diluida proveniente de granjas porcícola. C-Inorgánico:336 mg/L N _{Total} : 56mg/L P _{Total} :13.5 mg/L	43% 63% 63%	33%	Abou-Shanab <i>et al</i> 2013
<i>Scenedesmus Obliquus</i>	Agua residual diluida proveniente de granjas porcícola. C-Inorgánico:336 mg/L N _{Total} : 56mg/L P _{Total} :13.5 mg/L	41% 58% 58%	31%	Abou-Shanab <i>et al</i> 2013
<i>Chlorella vulgaris</i>	Agua residual diluida proveniente de granjas porcícola. C-Inorgánico:336 mg/L N _{Total} : 56mg/L P _{Total} :13.5 mg/L	43% 48% 55%	31%	Abou-Shanab <i>et al</i> 2013
<i>Scenedesmus</i> sp.	Agua residual sintética N-NH ₄ :21mg/L P-PO ₄ :4 mg/L	60-100% 60-100%	23.45%	Lynch <i>et al</i> 2015
<i>Chlorella</i> sp.	Agua residual municipal DQO:2,389mg/L N-NH ₄ :85.9mg/L N _{Total} : 132.3mg/L P-PO ₄ :215mg/L	90.8% 93.9% 89.1% 80.9%	11.04%	Li <i>et al</i> 2011
<i>Lagerheimia</i> sp.	Agua residual industrial DQO: 618 mg/L N-NH ₄ :4.97mg/L P-PO ₄ :4.11mg/L	67.6% 92% 53.4%	31.1%	Este trabajo

8. CONCLUSIONES

Se logró estudiar dos especies aisladas de la zona industrial de Altamira Tamaulipas (*Lagerheimia* sp y *Chlorella* sp), observándose que la primera especie se adaptó mejor a las condiciones del agua residual industrial (ARI) en comparación con *Chlorella* sp que representa uno de los géneros más utilizados en experimentos de biorremediación.

La microalga *Lagerheimia* sp logró remover en un menor tiempo nutrientes, comportamiento observado en dos concentraciones de ARI probadas (30 y 50%).

Se determinó que aun con las características propias de un agua residual proveniente de procesos industriales petroquímicos y con una elevada concentración de materia orgánica (618 mg/L DQO) ésta ARI pudo utilizarse en concentraciones al 30% y 50 %, como medio de cultivo para la especie *Lagerheimia* sp. y se sugiere para futuros trabajos, incrementar la concentración de agua residual para evaluar la capacidad máxima de tolerancia de la especie.

En cuanto a la remoción de nutrientes registrada en los experimentos en cultivos libres e inmovilizados estadísticamente, no hubo diferencias estadísticas significativas en los resultados, pudiendo remover en ambas condiciones, valores en el orden de 92 a 95% de amonio, 53 a 53.4% de fosfatos y un 67.6% de DQO.

Se sugiere para futuros estudios en donde se utilicen aguas residuales de este tipo, incluir parámetros como color, ya que se observó físicamente al final de los experimentos, una disminución notoria de este parámetro el cual es de relevancia en materia de calidad del agua.

De acuerdo al análisis de la calidad en la biomasa, los cultivos en estado libre, presentaron un mayor porcentaje en los metabolitos evaluados, (lípidos, proteínas y carbohidratos). Sin embargo, el inmovilizar las microalgas facilita el proceso de cosecha de la misma y hace mas eficientes los sistemas de biorremediación y producción algal, por el ahorro energético.

Finalmente en términos de potencial energético en un proceso de biorremediación, *Lagerheimia* sp, en estado libre registró alta productividad lipídica (31.1%), además de presentar una mayor proporción de porcentaje de FAS-MUFAS (53.16%) con respecto al porcentaje de PUFA'S (39.4%), esto observado a condiciones estándar de laboratorio, sin manipular variables que estimulen la productividad lipídica; por lo cual se puede considerar a la especie como candidata a tratamientos de biorremediación acoplados al aprovechamiento de biomasa para producción de biodiesel.

GLOSARIO

Alginato: Polisacárido aniónico derivado del ácido algínico y obtenido de algunas especies de macroalgas, se utiliza ampliamente como aditivo de alimentos, aprovechando sus propiedades en la formación de geles.

Autoesporas: Cuerpo microscópico unicelular o pluricelular que se forma con fines de dispersión y supervivencia por largo tiempo en condiciones adversas, y que generalmente es una célula haploide.

Autótrofos: Término aplicado a los organismos capaces de fabricar su propio alimento, la fuente de carbono en el caso de las plantas, algas y bacterias fotosintetizadoras es el CO_2 y la fuente de energía en su mayoría es la luz solar, o en algunos casos la energía proviene de la oxidación de determinados compuestos químicos.

Biodiesel: Líquido obtenido a partir de lípidos naturales como aceites vegetales o grasas animales, mediante procesos industriales de esterificación o transesterificación.

Biorremediación: Se denomina así a cualquier proceso que utilice microorganismos, hongos, plantas o las enzimas derivadas de ellos para retornar a un medio ambiente alterado por contaminantes a su condición natural.

Carrageina: Mezcla de varios polisacáridos formados por derivados de la galactosa) es un compuesto químico que se encuentra rellenando los huecos en la estructura de celulosa de las paredes celulares de algunas algas de varias familias de Rhodophyceae (algas rojas).

Cianobacterias: Filo del dominio Bacteria que comprende las bacterias capaces de realizar fotosíntesis oxigénica. Son los únicos procariontes que llevan a cabo ese tipo de fotosíntesis.

Cloroplasto: Organelo presente únicamente en células vegetales, en donde se lleva a cabo la fotosíntesis.

Colorantes azoicos: son compuestos sintéticos que se caracterizan por la presencia de uno o más grupos funcionales azo (R-N=N-R), que consiste en dos átomos de nitrógeno unidos con doble enlace y que, a su vez, están unidos a átomos de carbono. Estos compuestos sintéticos presentan una intensa coloración.

Cultivo inmovilizado: Conjunto de microorganismos que se desarrollan en un soporte, sin que exista la dispersión de las células libres a través del medio de cultivo

Demanda química de oxígeno (DQO): La demanda química de oxígeno (DQO) determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua residual, bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo

Desnitrificación: La desnitrificación es la transformación biológica del nitrato en gas nitrógeno, óxido nítrico y óxido nitroso, éstos son compuestos gaseosos y no son fácilmente accesibles para el crecimiento microbiano; por ello, se liberan normalmente en la atmósfera.

Electrocoagulación: Método para tratamiento de aguas residuales en donde se induce una corriente eléctrica que proporciona la fuerza electromotriz que provoca las reacciones químicas que desestabilicen las formas en las que los contaminantes se encuentran presentes, bien sea suspendidas o emulsificadas. Es así que los contaminantes presentes en el medio acuoso forman agregados, produciendo partículas sólidas que son menos coloidales y menos emulsificadas (o solubles) que en estado de equilibrio.

Eutrofización: Es el enriquecimiento de nutrientes en las aguas que produce un crecimiento excesivo de algas y otras plantas acuáticas, las cuales al morir se depositan en el fondo de los ríos, embalses o lagos, generando residuos orgánicos que, al descomponerse, consumen gran parte del oxígeno disuelto y de esta manera pueden afectar a la vida acuática y producir la muerte por asfixia de la fauna y flora.

Fase estacionaria: durante esta fase las condiciones de cultivo son limitantes y la natalidad es igual a la mortalidad, por lo cual la concentración celular y los componentes de la biomasa permanecen sin cambios relevantes.

Fase lag: conocida también como fase de adaptación en la fase de crecimiento donde el comportamiento inicial dependerá de las condiciones de las células del inóculo, de las cuales depende también el éxito del nuevo cultivo. Cuando las células del inóculo no se encuentran en condiciones metabólicas adecuadas presenta una fase de retardo del crecimiento, por lo cual el cultivo no será exitoso.

Ficorremediación: se denomina así a cualquier proceso que utilice micro o macroalgas para retornar al medio ambiente alterado por contaminantes, su condición natural.

Fotobiorreactor: Dispositivo diseñado con variables específicas como intensidad de, temperatura y aireación, dentro del cual se llevan a cabo interacciones entre células de microalgas y medios de cultivo, con fines experimentales específicos (crecimiento de biomasa, eliminación de nutrientes y/o contaminantes, etc.)

Fotocatálisis heterogénea: Reacción en la cual se involucra una reacción catalítica con la absorción de luz por parte de un catalizador, en el caso de catalizador este se presenta en una fase diferente a la de los reactivos.

Inóculo: Suspensión de microorganismos que se transfieren a un medio de cultivo, en la mayoría de los casos con fines de reproducción o escalamiento de cultivo a volúmenes mayores.

Trans-esterificación: Es el proceso de intercambio del grupo orgánico R de un éster con el grupo orgánico R' de un alcohol. Estas reacciones a menudo se catalizan mediante la adición de un catalizador ácido o básico.

Mucílago: Sustancia viscosa de compuesta de polisacáridos heterogéneos, en las microalgas es utilizada para suspender sustancias insolubles además de dar estabilidad a la estructura celular.

Nitrificación: Etapa del ciclo del nitrógeno que consiste en la oxidación biológica del amonio a nitrito, el cual nuevamente se oxida hasta terminar en nitrato.

Ozonización: Método aplicado en los tratamientos de agua, en donde se utiliza El ozono(forma alotrópica del oxígeno), el cual ha demostrado su eficacia en oxidación de materias orgánicas e inorgánicas (destacando el hierro y manganeso), así como en la eliminación de bacterias, virus y otros microorganismos.

Pirenoide: Masa en su mayor proporción de carácter proteico, incolora que se localiza en el estroma de los plastos de la mayoría de las algas eucariotas.

Xenobioticos: Se denominan así a los compuestos cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos de origen antropogénico.

BIBLIOGRAFIA

ANIQ -Asociación Nacional de la Industria Química- (2014). Boletines. Calidad del Agua Residual Tratada. Recuperado el 16 de Julio de 2017, de:

www.aniq.org.mx/boletines/2014/assets/img/2014/abril/.../20140326_aniq.pdf

Abadulla, E., Tzanov, T., Costa, S., Robra, K. y Cavaco, P. (2000) Decolorization and detoxification of textile dyes with a lacase from *Trametes hirsuta*. *Appl. Environm. Microbiol*: 66, 3357-3362

Abe, K., Imamaki, A. y Hirano, M. (2002) Removal of nitrate, nitrite, ammonium and phosphate ions from water by the aerial microalga *Trentepohlia aurea*. *Journal of Applied Phycology*: 14, 129-134

Abou-Shanab, R., Ji, M., Kim, H., Paeng, K.-J., Jean, B.-H. (2013) Microalgal species growing on piggy wastewater as a valuable candidate for nutrient removal and biodiesel production. *Journal of Env Manag*: 115, 257-264

Acuner, E. y Dilek, F.B. (2004) Treatment of tectilon yellow 2G by *Chlorella vulgaris*. *Proc. Biochem*: 39, 623-631.

Amin, H., Amer, A., El Fecky, A. y Ibrahim, I. (2008). Treatment of textile waste water using H₂O₂/UV system. *Physicochem. Probl. Miner. Process*: 42, 17-28.

APHA-American Public Health Association-(1995). Standard methods: For the examination of water and wastewater. 19th Edition. Ed. American Public Health Association APHA, American Water Works Association AWWA, Water Environment Federation WEF. Washington DC., USA.

Arora, N., Patel, A., Sartaj, K., Pruthi, P. y Pruthi, V. (2016) Bioremediation of domestic and industrial wastewater integrated with enhanced biodiesel production using novel oleaginous microalgae. *Environ Sci Pollut Res*: 23, 20977-21007

Arredondo-Vega B. O., y Voltolina D. (2007) Métodos y herramientas analíticas en la Evaluación de la biomasa microalgal. CIBNOR, S.C. La Paz, Baja California Sur México. (97)pp

AST-Advanced Simulation Technologies-(2013) Aplicaciones de las microalgas: Estado de la técnica. Recuperado de http://proyectomalgas.com/?page_id=71

BM-Banco mundial-(2010). Lineamientos de control ambiental de desechos industriales. Recuperado el 13 de Julio de 2016, de:
<http://documentos.bancomundial.org/curated/es/813211468331794803/Environmental-guidelines>.

Bchir, F., Falleh, A., Ghabbarou, E. y Hamdi, M. (2016) 3rd generation bioethanol production from microalgae isolated from slaughterhouse wastewater. *Waste Bio*: 7, 1041-1046.

Benitez, F.J., Acero L.J., Leal I.A. y Gonzalez M. (2009). The use of ultrafiltration and nanofiltration membranes for the purification of cork processing wastewater. *Filtration and Separation*: 162, 1438-1445.

Beuckels, A., Smolders, E. y Muylaert, K. (2015) Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. *Water Res*: 77, 98-106

Bhatnagar, A., Bhatnagar, M., Chinnasamy, S. y Das, K. (2010) *Chlorella minutissima* —a promising fuel alga for cultivation in municipal wastewaters. *Appl Biochem Biotechnol*: 161, 523–536.

Bi, Y., Ding, D. y Wang, D. (2010) Low-melting-point biodiesel derived from corn oil via urea complexation. *Bioresour Technol*: 101, 1220-1226.

Blier, R., Laliberté, G. y de la Noë, J. (1995) Tertiary treatment of cheese Factory anaerobic effluent with *Phormidium bohneri* and *Microactinium pusillum*. *Bioresource Technology*: 52, 151-155.

Bligh, G. y Dyer, J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*: 37(3), 911-917.

BORA-Boletín oficial de la República Argentina (1973). Ley 20.324.577. Ley orgánica de obras sanitarias de la nación. Buenos Aires, Argentina. Publicado el 18 de Abril de 1973

Bokhari, T., Abbas, W., Munir, M., Zuber, M., Usman, M., Iqbal, M. y Khan, M. (2015) Impact of UV/TiO₂ / H₂O₂ on degradation of disperse red F3BS. *Asian Journal of Chemistry*: 27(1), 282-286

Brennan, L. y Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Rev*: 14(2), 557-577.

Castillo, M., Diaz, B., Pica, G., Ronco, A., Sobrero, C., Bulus, R., Feola, G., Forget, G., Sanchez, B. A. (2004) *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad del agua*, Mexico: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.

CCE -Consejo de las comunidades europeas- (1991). Acuerdo 91/271/CEE. Documento 31991L0271 en lo concerniente a las tratamiento de aguas residuales urbanas. Recuperado el 06 de julio de 2018 de: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=LEGISSUM%3A128008>

Chacón, C., Andrade, C., Cardenas, C., Araujo, I. y Morales, E. (2006). Uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en la remoción de Nitrógeno, Fósforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*: 38(2), 94-108.

Cheirsilp, B., Tippayut, J., Romprom, P. y Prasertsan, P. (2017) Phytoremediation of secondary effluent from palm oil by using oleaginous microalgae for integrated lipid production and pollutant removal. *Waste Biomass Valor*: 8, 2889-2897

Chen, C., Zhao, X., Yen, H., Ho, S., Cheng, C., Lee, D. y Chang, J. (2013) Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. *Biochemical Engineering Journal*: 78, 1-10.

Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25, 294-306.

CONAGUA -Comision Nacional del Agua- (2014). Estadísticas del Agua en México Edición 2014. Recuperado el 10 de Julio de 2016 de:
<http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/EAM2014.pdf>

Daeshvar,N.,Ayazloo,M.,Khataee,A.y Rourtrassan,M.(2007) Biological decolorization of dye solution containing malachite Green by microalgae *Cosmarium* sp. *Bioresorce Technology*: 98,1176.

De Bashan, L.E y Bashan,Y.(2003) Bacterias promotoras de crecimiento de microalgas: una nueva aproximacion en el tratamiento de aguas residuales. *Rev. Colombiana de Biotecnologia*: 5(2),85-90.

De Bashan, L. y Bashan, Y.(2004) Recent advances in removing phosphorus from wastewater and it's future use as fertilizer (1993-2003). *Water Research*: 38, 4222-4246.

De Florio L., Giordano, A. y Mattioli, D. (2005). Nanofiltration of low-contaminated textile rinsing effluents for on-site treatment and reuse. *Desalination*: 181, 283-292.

De la Noüe J, Proulx D. (1988) Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized *Phormidium*. *Appl Microbiol Biotechnol*: 29, 292-297.

De la Noüe,J.,Lalibereté,G. y Proulx D.(1992) Algae and wastewater. *J Appl. Phycol*:4,247-254.

De la Peña, M., Ducci, J.,y Zamora, V.(2013) Tratamiento de Aguas Residuales en México.(Banco Interamericano de Desarrollo Nota Técnica IDB-TN-521).Biblioteca Felipe Herrera, México D.F

DOF- Diario Oficial de la Federación- (1997). NOM-001-SEMARNAT-1996 Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes Nacionales. Mexico DF. Publicada el 06 de enero de 1997

DOF- Diario Oficial de la Federación-(1998) NOM-003-SEMARNAT-1997, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público.Mexico, D.F. Publicada el 21 de septiembre de 1998

DOF-Diario Oficial de la Federación-(2013). NMX-AA-030/2-SCFI-2011 Análisis de agua-determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-método de prueba-parte 2-Determinación del índice de la demanda química de oxígeno-método de tubo sellado a pequeña escala.México, D.F.Publicado el 27 de junio de 2013.

DOF-Diario Oficial de la Federación-(2017). PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017. Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.México, D.F.Publicado el 13 de diciembre de 2017

DOLG-Diario Oficial La Gaceta-(2007) Decreto 33903 Reglamento para la evaluación y clasificación de la calidad de cuerpos de agua superficiales.Gaceta 178. San Jose,Costarica. Publicado el 17 de Septiembre de 2007.

DOLG-Diario Oficial La Gaceta-(2008) Decreto 34431.Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales. Gaceta 74. San Jose, Costa Rica. Publicado el 17 de Abril de 2008.

DON-Diario Oficial de Nicaragua-(2010). Decreto 44-2010. Ley general de aguas Nacionales No 620.Managua, Nicaragua. Publicado el 4 de Agosto de 2010.

DOF- Diario Oficial de la Federación- (1992). Ley de Aguas Nacionales. Mexico DF. Publicada el 1 de diciembre de 1992

Duarte FM, Maldonado-Hódar FJ,y Madeira LM.(2013).Influence of the iron precursor in the preparation of heterogeneous Fe/activated carbon Fenton-like catalysts. *Applied Catalysis A: General* (0) doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.apcata.2013.03.030>

Dubois, M.,Gilles,K.,Hamilton,J.,Rebers,P. y Smith,F.(1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*: 28,350-356

El-Kassas,H y Mohamed,L.(2014) Bioremediation of the textile waste effluent by *Chlorella vulgaris*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*:40,301-308

El-Sheekh,M.,Gharieb,M.y Abau,G.(2009) Biodegradation of dyes by some Green algae and cyanobacteria. *Int Biodeterior*: 63,699-704

Escobar, J., Muro, C.y Castellanos, J.(2011) Optimización del proceso de ultrafiltración de efluentes de una industria de cereales. *Afinidad LXVIII*: 552,117-123.

Escorihuela,A., Nuñez,M. y Rosales,N.(2007) Microalgas presentes en una laguna para pulimento de efluentes de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas.*Revista de la Facultad de Agronomía Fac de Zulia*:24(1),225-230

Evans,L.,Hennige,S.,Willoughby,N.,Adeloye,A.,Skroblin,M y Gutierrez,T.(2017) Effect of organic carbon enrichment on the treatment efficiency of primary settled wastewater by *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*:24, 368-377.

Fantroussi, S. y Agathos, S. (2005). Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? *Current Opinion in Microbiology*:8,268-275.

Fernández, C y Parodi, E. (2005). Chlorococcales nuevas para el embalse Paso de las Piedras (Buenos Aires, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*: 40(3-4), 199-205.

Ferrer, J y Seco, A.(2008) *Tratamientos biológicos de aguas residuales*. Valencia.,España: Alfa Omega

Forero, C.,Montenegro, R.,Pinilla,A. y Melgarejo,M.(2015). Inmovilización de las microalgas *Scenedesmus ovalternus* (Scenedesmaceae) y *Chlorella vulgaris* (Chlorellaceae) en esferas de alginato de calcio. *Acta. Biol. Colombiana*: 21(2),437-442

Fu-Ying, F., Wen Y., Gui-Zhen, J., Yi-Nong, X. & Ting-Yun K. (2005). Enhancement of fatty acid production of *Chorella* sp. (chloropyceae) by addition of glucose and sodium thiosulphate to culture medium. *Process Biochemistry*: 40(3-4), 1315-1318

Garza, M.T., Almaguer, V., Rivera, J. & Loredó, J. (2010). Bioingeniería aplicada a una columna empacada con *Chorella* sp. Inmovilizada para la remoción de metales pesados. *Ciencia UNAL*: 13(2), 174-177

Gil P. E. (2005). Oxidación fotocatalítica de aguas residuales de la industria de lavandería utilizando TiO_2 como catalizador y luz UV. *Ingeniería y Ciencia*: 1(2), 25-40

Gobierno de Panamá (2000). Ministerio de comercio e industrias. Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 24-99. Recuperado el 13 de Julio de 2016, de www.mici.gob.pa/imagenes/pdf/R.T-24.pdf.

Godjevargova, T., Ivanova, D., Alexieva, Z. y Dimov, N. (2003). Biodegradation of toxic organic components from industrial phenol production waste waters by free and immobilized *Trichosporon cutaneum* R57. *Process Biochemistry*: 38, 915-920.

Grizeau, D y Navarro, J. (1986). Glycerol production by *Dunaliella tertiolecta* immobilized within Calcium alginate beads. *Biotechnol. Lett*: 8, 261-264

Guillard, R y Ryther, J. (1962) Studies of marine planktonic diatoms *Cyclotella nana* and *Detonula confervacea* (clavate) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*: 8, 229-239

Guillard, R.R.L (1975) *Cultures of marine invertebrate animals*. New York, USA: Plenum Press.

Guiry, M.D. Guiry (2017). AlgaBase. World-wide electronic publication National University of Ireland, Galway.. Recuperado el 10 de Julio de 2017, de <http://www.algaebase.org>

Gunstone, F.D. y Harwood, J.L. (2007). *The Lipid Handbook 3rd* (pp. 125-128). Boca Raton: CRC Press.

Gupta, V., Rastogi, A., Saini, V. y Jain, N. (2006) Biosorption of copper(II) from aqueous solutions by *Spirogyra* sp. *J. Colloid Interface Sci*: 296, 59-63

Han, L., Pei, H., Hu, W., Jiang, L., Ma, G., Zhang, S. y Han, F. (2015) Integrated campus sewage treatment and biomass production. *Bioresource Technology*: 175, 262-268.

Hanaki, K., Hirunmasuwana, S., y Matsuo, T. (1994). Protection of methanogenic bacteria from low pH and toxic materials by immobilization using polyvinyl alcohol. *Water Research*: 28, 877-885

Hernández, J.P. (2004) *Evaluación de un sistema de microalgas y bacterias para la eliminación de nutrientes de las aguas residuales domesticas* (Tesis de Maestría). Instituto Politécnico Nacional-Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz B.C.S, México.

Hernandez, R., B., Rodriguez, M., Lozano, C. y Castilla, P. (2012) Remoción de nutrientes por tres cultivos de microalgas libres e inmovilizadas. *Rev Latin Biotech. Amb*: 3(1), 80-94

Ho, S., Chen, C. y Chang, J., (2012). Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresour. Technol*:113, 244–252.

Ho, S., Huang, S., Chen, C., Hasunuma, T., Kondo, A. y Chang, J. (2013) Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock. *Bioresource Technology*:135,191-198

Hoekman, S.K., Broch, A., Robbins, C., Cenicerros, E. y Natarajan, M. (2012). Review of biodiesel composition, properties and specifications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*:16,143-163.

Hoffman J, P. (1998) Wastewater Treatment with suspended and nonsuspended algae. *J. Phycol*: 34, 757-763.

Hsieh, C. & Wu, W. (2009). Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation. *Bioresource Technology*: 100, 3921-3926.

Hu, Q. (2004). Environmental effects on cell composition. En A. Richmond (Ed), *Handbook of microalgal culture* . Oxford, UK: Blackwell Science.

Illman, A.M., Scrag, A. y Shales, S. (2000). Increase in Chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and Micr. Tech*: 27,631-635.

IMTA -Instituto Mexicano de Tecnología del Agua-(2010). Análisis Técnico y Pruebas de Potabilización del agua del acuífero del Valle del Mezquital, en diversos municipios del estado de Hidalgo. CONAGUA.

ILPES-Instituto Latinoamericano y del Caribe de planificación económica y social-(2016) *Evaluación Social de la planta de tratamiento de aguas residuales en la zona conurbada de Tampico, Cd Madero y Altamira Tamaulipas*.

Recuperado de: <https://www.cepal.org/ilpes/noticias/paginas/1/52961/Doc-26.pdf>

Jiang, L., Lou, S., Fan, X., Yang, Z. y Gou, R. (2011) Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂. *Applied Energy*:28(10),3336-3341

Juarez, D., Balart, R., Ferrandiz, S y Garcia, D (2013) Estudio y análisis de los polímeros derivados del estireno-butadieno. *3 Ciencia*: 2,1-17

Kourkoutas, Y., Bekatorou, A., Banat, I., Marchant, R y Koutinas, A. (2004). Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology*: 21, 377-397.

Labeau, T., Gaudin, P., Junter, G.A., Mignot, L. y Robert, J. (2000). Continuous marennnin production by agar-entrapped *Halsea ostrearia* using a tubular photobioreactor with internal illumination. *Appl Microbiol. Biotechnol*: 54, 847-850

Lapertot, M., Pulgarín, C., Fernández, P., Maldonado, M., Leonidas Pérez, L., Oller, I., Gernjak, W. y Malato, S. (2006). Enhancing Biodegradability of Priority Substances (pesticides) by Solar photo-Fenton. *Water research*: 40(5), 1086–94.

Lau, P.S., Tam, N. y Wong, Y. (1995) Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. *Environ Pollut*: 89(1), 59-66.

Lau, P.S., Tam, N. y Wong, Y. (1997). Wastewater nutrients (N and P) removal by carrageenan and alginate immobilized *Chlorella vulgaris*. *Environ Technol*: 18, 945-951.

Lee, Y.K., Ding, C., Hoe, C. y Low, C.S. (1996) Mixotrophic growth of *Chlorella sorokiniana* in outdoor enclosed photobioreactor. *J. Appl. Phycol*: 8, 163-169

Li, Y., Chen, Y., Chen, P., Min, M., Zhou, W., Martinez, B... y Ruan, R. (2011) Characterization of a microalgae *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology*: 102, 5138-5144

Liang, Y. N., Sarkany, N., y Cui, Y. (2009). Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. *Biotechnology Letters*: 31, 1043–1049.

Linhardt, R.J., Amotz, S., Rugh, S., Markussen, E.K., Thomsen, K., Bigwood... y Senter, P. (1987). Patents and literature immobilized biocatalysts. *Applied Biochemistry and Biotechnology*: 14, 121-145.

Lima, L., Pereira, L., Moura, S. y Magalhaes, F. (2017) Degradation of organic contaminants in effluents-synthetic and from the textile industry by Fenton, photocatalysis and H₂O₂ photolysis. *Environmental science and pollution research*: 24(7), 6299-6306.

Lowry, O., Rosenbrough, N., Farr, A. y Randal, R. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry*: 193, 265-272.

Lukavsky, J. (1986). Metabolic activity and cell structure of immobilized algal cells. *Arch. Hydrobiol*: 43, 261-279.

Lynch, F., Santana-Sanchez, A., Jamsa, M., Sivonen, K., Aro, E. y Allahverdiyeva, Y. (2015) Screening native isolates of cyanobacteria and Green alga for integrated waste water treatment, biomass accumulation and neutral lipid production. *Algal research*: 11, 411-420.

MADRIMASD-Madrimasd.Fundacion para el conocimiento-(2006). Informe de vigilancia tecnológica: Tratamientos avanzados de aguas residuales. Recuperado el 18 de septiembre de 2018 de: <https://www.madrimasd.org/uploads/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/>

Mahapatra, D., Chanakya, H., y Ramachandra, T. (2013) Treatment efficacy of algae-based sewage treatment plants, *Springer Science, Environ Monit Assess*: 185(9):7145-7164

Mallick, N. y Rai, L. (1994). Removal of inorganic ions from wastewater by immobilized microalgae. *World J. Microb. Biotechnol*: 10, 439-443.

Mallick., N., (2002).Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N,P and metal removal: a review. *BioMetals*: 15, 377-390.

Mandal,S. y Mallick,N.(2011) Waste utilization and biodiesel production by the Green microalga *Scenedesmus obliquus*. *Appl.Environ.Microbiol*:77(1),374-377.

Mandotra,S.,Kumar,P.,Suseela,M.,Nayaka,S.,Ramteke,P (2016) Evaluation of fatty acid profile and biodiesel properties of microalga *Scenedesmus abundans* under the influence of phosphorus, Ph and light intensities. *Bioresource Technology*: 201,222-229.

Manrique, L., Laguna, C., Osorio, R.,Serna, G.y Torres, P.(2017) Treatment of fye-polluted waters by TiO₂ –photocatalysis using artificial and solar light. *Producción+ Limpia*: 12(2),50-60

Martinez,M.,Sanchez,S.,Jimenez,J.,El-Yousfi,F.yMuñoz,L. (2000) Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresearch Technol*: 73(3),263-272.

McGinn, P.,Dickinson, K.,Bhatti, S., Frigon,J.,Guiot,S.y O’Leary, S.(2011) Integration of microalgae cultivation with industrial waste remediation for biofuel and bioenergy production: opportunities and limitations. *Photosynth Res*: 189, 231-247.

Mehrabadi, A.,Craggs,R. y Farid, M.(2015) Wastewater treatment high rate algal ponds(WWT HRAP) for low-cost biofuel production. *Bioresour Technol*: 184, 202-214.

Melkonian, M.(1983). *Handbook of Protoctista.*, Boston, USA: Jones y Barlett

Metcalf, B. y Eddy, D. (1993). *Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Re-use*. New York, USA: Mc Graw-Hill.

Mishra,S., Jyot, J., Kuhad, R. y Lal, B. (2001).Evaluation of inoculum addition to stimulate it in situ bioremediation of oily-sludge-contaminated soil. *Applied and Environmental Microbiology*: 67, 1675-1681.

Moreno,I.(2008). Microalgae immobilization current techniques and uses. *Biosource Technology*, 99,3949-3964.

Moreno,G.I., Codd, G.A., Gadd, G.M y Lubian, L. (2002). Cu and Zn accumulation by calcium alginate immobilized marine microalgal cells of *Nannochloropsis gaditana* (eustigmatophyceae). *Cienc. Mar*: 28, 107-119.

Muciño,M, R., Figueroa, T. y Aguirre,L. (2014). Composicion fitoplanctónica en los sistemas fluvio lagunares Pom-Atasta y Palizada del Este, adyacente a la Laguna de Términos Campeche, Mexico. *Acta Biológica Colombiana*: 19(1), 63-84.

Mujtaba,G.,Rizwan, M.y Lee, K.(2017) Journal of industrial and engineering chemistry. *Jour Ind Eng Q.* 49,175-151

Murphy, J y Riley, J.(1962) A modified single solution method for the determination of phosphates in natural waters. *Analitica et Chemica Acta*: 27,31-36

Mutlu, Y.B., Isik, O., Uslu, L., Koc, K. & Durmaz, Y. (2011). The effects of nitrogen and phosphorus deficiencies and nitrite addition on the lipid content of *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). *African Journal of Biotechnology*: 10(3), 453-456.

Najafpour Ghasem, D(2007).*Biochemical Engineering and Biotechnology*. Recuperado de <http://www.worldcat.org/title/biochemical-engineering-and-biotechnology/oclc/905867877>

Nerud, F., Baldrian, P., Gabriel, J., Ogbeifun, D.(2001) Decolorization of synthetic dyes by the fenton reagent and Cu/ Pyridine H₂O₂ system. *Chemosphere*: 44,957-961

Núñez, J., Voltonia, D., Nieves, M., Piña, P., Medina, A. y Guerrero, M.(2001) Nitrogen Budget in Scenedesmus cultures with artificial waste. *Bioresources Technology*: 77(2), 161-164

Ogbonna, J.C., Yoshizawa, H. y Tanaka, H. (2000). Treatment of high strength organic wastewater by a mixed culture of photosynthetic microorganisms. *J. Appl. Phycol*: 12, 227-284.

Okullo, A.A., Temu, A.K., Ogwok, P. y Ntalikwa, J.W.(2012) Physico-chemical properties of biodiesel from jatropha and castor oils. *Int J Renew Energy Res*: 2, 47-52

ONUAA-Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2009) Alimento para las ciudades. Recuperado el 13 de Julio de 2016 de: <http://www.fao.org/fcit/environment-health/water-sanitation/es/>

ONU -Organización de las Naciones Unidas. Un objetivo global para el agua post-2015. Recuperado el 13 de Julio de 2016 de: <http://www.un.org/spanish/waterforlifedecade/>

OMS -Organización Mundial de la Salud- (2017) Nota descriptiva sobre el agua. Recuperado el 28 de Septiembre de 2017, de: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/sanitation>

Ortega, M., Hernandez, R., Vazquez, O., Alvarado, V. y Martinez, M. (2015) La ficoflora de un lago monomictico en Michoacán, México. *Cymbella. Soc. Mex. de Ficología*: 1(2), 26 -45.

Ozer, A., Akkaya, G. y Turabik, M.(2006) The removal of acid red 274 from wastewater: combined biosorption and biocoagulation with *Spirogyra rhizopus*. *Dyes pigm*: 71, 83-89.

Padley, F.B., Gunstone, F.D. y Harwood, J.L. (1986). *The Lipid Handbook, 1st ed.* (pp. 55-113). London: Chapman Hall.

Papoutsakis, S., Afshari, Z. Malato, S. y Pulgarin, C.(2015). Elimination of the iodinated contrast agent iohexol in water, wastewater and urine matrices by application of photo-Fenton and ultrasound advanced oxidation processes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*: 3(3), 2002-2009.

Pellon, A., Benitez,F.,Frades,J.,Garcia,L.,Cerpa,A. yAlguacil,F.(2003).Empleo de microalga *Scenedesmus obliquos* en la eliminación de Cromo presente en aguas residuales galvánicas. *Rev de Metalurgia: 39*, 9-16

Phang, S., Miah, M., Yeoh,G. y Hashim, M., (2000) Spirulina cultivation in digested sago starch factory wastewater. *J Appl Phycol: 12*,395–400

Powell,N., Shilton, A.,Pratt, S.y Chisti, Y. (2008) Factors influencing luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds. *Environ Sci Technol: 42*(16), 5958-5962

Poznyak, T.,Colindres, P.y Chairez,I. (2007) Treatment of textile industrial dyes by simple ozonation with wáter recirculation. *Journal of the Mexican Cheminal Society: 51* (2), 81-86

PNUMA -Programa de Naciones Unidas para el medio ambiente- (2010). Agua enferma: El papel central en la gestión de aguas residuales en el desarrollo sostenible. Programa del Medio Ambiente de las Naciones Unidas y Programa de las Naciones Unidas para los Asentamientos Humanos.

Recuperado el 13 de Julio de 2016 de: <https://wedocs.unep.org/handle/20.500.11822/9156>

Pulgarin, C. (2015). Effect of advanced oxidation processes on the micropollutants and the effluent organic matter contained in municipal wastewater previously treated by three different secondary methods.*Water Research:84*, 295-306.

Ramirez,C.,Mijaylova, N y Diaz,T.(2004) Treatment techniques for the recycling of bottle washing water in the soft drinks industry.*Water Science and Technology: 50*(2),107-112

Rashid, U. y Anwar, F.(2008) Production of biodiesel through optimized alkaline-catalyzed transesterification of rapeseed oil. *Fuel: 87*, 265-273.

Rashid, U., Anwar, F., Moser, B.R y Knothe,G.(2008) *Moringa oleifera* oil: a possible source of biodiesel. *Bioresour Technol: 99*,8175-8179

Renuka ,N., Sood, A. y Prasanna, R.(2015) Phycoremediation of wastewaters: a synergistic aproach using microalgae for bioremediation and biomass generation. *Int.J. Environ.Sci.Technol: 12*, 1443-1460

Rismani-Yazdi, H., Haznedaroglu, B.Z., Bibby, K. y Peccia, J.(2011). Transcriptome sequencing and annotation of the microalgae *Dunaliella tertiolecta*: pathway description and gene discovery for production of next-generation biofuels. *BM Genomics: 12*, 148.

Roa, A,L.y Cañizares,R.(2012) Biorremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrasstulus* inmovilizado. *Rev de la Facultad de Ciencias Básicas:10* (1),71-79

Romero Rojas, J. (1999) *Calidad del Agua*. México D. F, México: Alfa Omega

Ruiz,A.,Canedo,Y.,Campos,S.,Sabido,M. y Zavala,J.(2013) Biodegradation of wastewater pollutants by activated sludge coimmobilized with *Scenedesmus obliquus*. *Agrociencia: 47*(5), 429-441

Satyanarayana, M.y Muraleedharan, C.(2011) Comparative studies of biodiesel production from rubber seed oil, coconut oil, and palm oil including thermogravimetric analysis. *Energ Source Part A*. 33, 925-937.

Sawayama, S.,Minowa,T.,Dote,Y.y Yokohama,S.(1992) Growth of the hydrocarbon-rich microalga *Botryococcus braunii* in secundarily treated sewage. *Appl Microbiol Biotechnol*: 38(1),135-138

SCT-Secretaria de Comunicaciones y Transportes .Puerto de Altamira-(2017). API Altamira. Recuperado de <https://www.puertoaltamira.com.mx/esps/0000201/quienes-somos>

SEMARNAT-Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales-(2008). Programa Nacional Hídrico 2007-2012 Recuperado de: <https://agua.org.mx/biblioteca/programa-Nacional-hidrico-2007-2012-2/>

SEMARNAT-Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales-(2017). Estadísticas del Agua en México edición 2017 Comisión Nacional del Agua. Recuperado de: <http://sina.conagua.gob.mx/sina/index.php?publicaciones=1>

Shi, J.,Podola, B. y Melkonian, M.(2007) Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layer, *J.App.Phycol*. DOI: 10.1007/s10811-006-9148-1

Singh,M., Reynolds, DL y Das, K. (2011) Microalgal system for treatment of effluent from poultry litter anaerobic digestion. *Bioresour Technol*: 102,10841–10848

Sole, A.y Matamoros, V.(2016) Removal of endocrine disrupting compounds from wastewater by microalgae co-inmobilized in alginate beads. *Chemosphere*:164,516-523

Solorzano,L.(1969) Determination of ammonia in natural waters by the phenol- hypochlorite metod. *Limnol Ocanogr*: 14, 799-801

Solovchenko, A. E. (2012). Physiological role of neutral lipid accumulation in eukaryotic microalgae under stresses. *Russian Journal of Plant Physiology*: 59 (2), 167-176.

Sugiura, W., Miyashita, T., Yokoyama, T. y Arai, M.(1999). Isolation of azo-dye-degrading microorganisms and their application to white discharge printing of fabric. *J. Biosci. Bioeng*: 88, 577–581.

Sun, Y.y Cheng,J.(2002). Hydrolysis of lignosellulosic materials for etanol production;a review. *Bioresorce Technology*: 83(1),1-11

Tampion, J. y M.D. Tampion.(1987). *Immobilized cells. Principles and Applications*, Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Tan, Y.X. y Lin, J. (2011). Biomass production and fatty acid profile of a *Scenedesmus rubescens*-like microalga. *Bioresource Technology*: 102, 10131–10135.

Tan, X., Yang LB, Zhang YL, Zhao F, Chu H. y Guo J (2015) Chlorella pyrenoidosa cultivation in outdoors using the diluted anaerobically digested activated sludge. *Bioresource Technology*: 198,340–350

Tao, R., Kinnunen, V., Praveenkumar, R., Lakaniemi, A. y Rintala, J. (2017) Comparison of *Scenedesmus accuminatus* and *Chlorella vulgaris* cultivation in liquid digestates from anaerobic digestion of pulp and paper industry and municipal waste water treatment sludge. *J. Appl. Phycol.* DOI:10.1007/s10811-017-1175-6

Toledo, C. A., Morales, M.; Novelo E; Revash, S. (2013). Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technology*: 130, 652-658.

Travieso, L., Cañizares, R.O., Borja, R., Benitez, F., Domínguez, A.R., Dupeyron, R., Valiente, V., (1999). Heavy metal removal by microalgae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*: 62, 144-151

Vargas, L., Cárdenas, F.C.H., Hernández, M., Araujo, I., Yabroudi, S., López, F. (2004). Efecto de las microalgas en la remoción de los compuestos nitrogenados presentes en la laguna facultativa de una planta de tratamiento de aguas residuales. Recuperado de: <http://www.ingenieroambiental.com/?pagina=2314>

Vedrenne, M., Vazquez, M., Prato, G., Frontana, U. y Ibañez, J.C. (2012). Characterization and detoxification of a mature landfill leachate using a combined coagulation-flocculation/photo fenton treatment. *Hazard Mater*, 205, 208-215

Vidal, J., Villegas, L., Peralta, J. y Salazar, R. (2016). Removal of Acid Black 194 dye from water by electrocoagulation with aluminum anode. *Journal of environmental science and health*: 51(4), 289-296.

Wen, Y., He, Y., Ji, X., Li, S., Chen, L., Zhou, Y... y Chen, B. (2017) Isolation of an indigenous *Chlorella vulgaris* from swine wastewater and characterization of its nutrient removal ability in undiluted sewage. *Bioresource Technology*: 243, 247-253

Xin, L., Hong-Ying, H., Ke, G. y Jia, Y. (2010) Growth and nutrient removal properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. LX1 under different kinds of nitrogen sources. *Ecological Engineering*: 36, 379-381

Yang, J., Li, X., Hu, H., Zhang, X., Yu, Y. y Chen, Y., (2011). Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga, *Chlorella ellipsoidea* YJ1, in domestic secondary effluents. *Appl. Energy*: 88 (10), 3295–3299.

Yassin, E. y Abdelfattah, M. (2014) Bioremediation of the textile waste effluent by *Chlorella vulgaris*. *Egyptian Jour Aq. Research*: 40, 301-308

Zhang, E., Wang, B., Wang, Q., Zhang, S y Zhao, B. (2008) Ammonia-nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Scenedesmus* sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment. *Bioresearch Technology*: 99(9) 3787-3793