

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**CULTIVOS DE MICROALGAS PARA LA BIORREMEDIACIÓN DEL
NEJAYOTE. USO POTENCIAL COMO BIOFERTILIZANTE**

TESIS

Para obtener el título de:

Maestro en Ciencias (Energía y Medio Ambiente)

Presente:

Ortiz Baez Francisco Joel

Director de Tesis:

Dra. Mónica Cristina Rodríguez Palacio



México, Ciudad de México

noviembre de 2025

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme concluir una etapa más en mi formación académica como profesionista.

A la doctora Mónica Cristina Rodríguez Palacio y al laboratorio de Fisiología Aplicada por orientarme, por enseñarme y por brindarme los conocimientos y las herramientas necesarias para la realización de mi proyecto.

A la Universidad Autónoma Metropolitana, por ser siempre mi casa abierta al tiempo y brindarme sus instalaciones, sus herramientas, sus profesores y la pasión por la ciencia y el siempre buscar grandes cambios y mejoramientos para la sociedad.

A mis padres, por siempre motivarme a ser mejor cada día y a educarme con los valores y la responsabilidad necesaria para forjar mi destino como profesionista y como un buen ciudadano.

A mi pareja por impulsarme día a día a no rendirme y a recordarme lo orgulloso que se siente por los logros que consigo día a día.

Al CONAHCYT por la beca de maestría que me proporcionó para llevar a cabo mis estudios.

DEDICATORIA

A mi familia: mis padres, Joel Ortiz Rivera y María de Jesús Baez Barrera, a mi hermana, Verónica, a mis sobrinos, Byron, Didier, Ángel, Victoria, a mi pareja Erik, por ser mi motor principal y mi más grande motivación para ser el profesionalista que hoy soy. Este y todos los logros que lleguen a mi vida son siempre dedicados a cada uno de ustedes.

ÍNDICE

Resumen	7
1. Introducción	8
2. Marco Teórico	10
2.1 El maíz	10
2.2 Agua de nixtamal	12
2.3 Tratamientos de aguas residuales	15
2.3.1 Tratamientos fisicoquímicos	16
2.3.2 Tratamientos térmicos	17
2.3.3 Tratamientos biológicos	17
2.4 Contaminantes presentes en aguas residuales	18
2.4.1 Nitratos y Nitritos.....	18
2.4.2 Fosfatos	19
2.4.3 Sulfatos.....	19
2.5 Las microalgas y la Ficorremediación	20
2.5.1 Estudios previos realizados con microalgas	22
2.5.2 Condiciones de cultivos de microalgas	23
2.5.3 Curva de Crecimiento Microalgal	26
2.6 Técnicas de cosecha de la biomasa algal.....	27
2.6.1 Centrifugación.....	27
2.6.2 Filtración	28
2.6.3 Sedimentación	28
2.6.4 Flotación	28
2.6.5 Electroflotulación.....	28
2.6.6 Floculación.....	29
2.7 Biomasa algal y productos de valor agregado	30
2.8 Cianobacterias y microalgas en la agricultura.....	31
2.9 Características de especies	32
2.9.1 <i>Coelastrella</i> sp.	32
2.9.2 <i>Limnospira máxima</i>	34
3. Justificación.....	35

4. Hipótesis.....	37
5. Objetivos	38
5.1 Objetivo General	38
5.2 Objetivos Particulares	38
6. Metodología.....	39
6.1 Obtención de la muestra de agua de nixtamal	39
6.2 Especies seleccionadas	39
6.3 Primera fase del experimento	39
.....	40
6.3.1 Conteos celulares	40
6.3.2 Segunda fase del experimento	41
.....	42
6.3.3 Cosecha de biomasa algal.....	43
6.4 Determinación de nutrientes	44
6.4.1 Amonio.....	44
6.4.2 Nitritos.....	45
6.4.3 Ortofosfatos	45
6.4 Análisis bromatológicos	46
6.4.1 Carbohidratos	46
6.4.2 Proteínas	47
6.4.3 Lípidos	48
7. Resultados	50
7.1 Primera Fase del Experimento.....	50
7.1.2 Conteos celulares <i>Limnospira máxima</i>	53
7.2 Segunda fase	54
7.2.1 Conteos celulares	56
7.2.2 Registro de pH	57
7.3 Análisis de nutrientes	59
7.3.1 Amonio.....	59
7.3.2 Nitritos.....	63
7.3.3 Ortofosfatos	66
7.4 Análisis bromatológicos	69

7.4.1 Carbohidratos	70
7.4.2 Proteínas	70
7.4.3 Lípidos	71
8. Discusión.....	72
9. Conclusiones.....	77
10. Referencias	78

Resumen

El maíz es el cultivo más representativo en México, debido a su alta demanda de consumo; por lo que su producción involucra aspectos económicos, sociales y culturales. Uno de los principales productos elaborados con maíz es la tortilla, y durante el proceso de elaboración de esta y de otros productos derivados, el maíz pasa por una fase conocida como nixtamalización. Durante este procedimiento el grano de maíz se enjuaga con abundantes cantidades de agua y se produce un agua residual conocida como agua de nejayote, el cual es considerado un alto contaminante debido a valores altos de pH (11-12), de DBO y DQO y elevadas concentraciones de nutrientes. Por lo tanto, es indispensable llevar a cabo un tratamiento de biorremediación, que además de eficiente y viable sea amigable con el medio ambiente. Uno de estos tratamientos implica el uso de microalgas y cianobacterias, el cual es conocido como ficorremediación. Estos microorganismos son unicelulares o con tricomas multicelulares, eucariotas o procariotas y fotosintéticos, altamente eficientes en la fijación del CO₂ y capaces de utilizar la energía solar para producir biomasa. Además, son capaces de remover el Nitrógeno y el Fósforo y la biomasa producida puede ser implementada para la fabricación de diversos bioproductos que van a depender de la especie; algunos de ellos pueden ser biofertilizantes, biocombustibles o incluso ser utilizados en sectores como el farmacéutico, el cosmético y alimentario. Para esta investigación se utilizaron cultivos de dos especies: *Coelastrella* sp. (Clorofita) y *Limnospira máxima* (Cianobacteria), fin de evaluar y comparar el mejor crecimiento entre ambas especies utilizando al nejayote como su medio de cultivo. Y para esto se realizaron diluciones al 100%, 70% y 50% de nejayote y agua estéril y un inóculo de 20 ml de cada cultivo; se realizaron dos conteos celulares a la semana para monitorear el crecimiento. Una vez seleccionada la especie por su mejor crecimiento y adaptación se escaló a biorreactores de 20 litros. Al finalizar los conteos celulares se determinó que la dilución de 50% era la que presentaba mejores resultados y se decidió escalar *Limnospira máxima*. Posteriormente se realizaron los respectivos análisis de consumo de nutrientes, Nitritos, Amonio y Ortofosfatos, logrando porcentajes del 66%, 74% y 38%; respectivamente. De la biomasa algal obtenida se realizaron análisis bromatológicos de carbohidratos, proteínas y lípidos, con porcentajes de 18.72%, 8.17% y 15.14%, de esta manera se confirmó que es viable para ser utilizada como biofertilizante. En conclusión, ambas especies se adaptaron a crecer en este efluente en la dilución de 50% por lo que se puede implementar un círculo benéfico para el medio ambiente; ya que obtenemos un efluente limpio y productos de valor agregado.

1. Introducción

La elaboración de tortillas de maíz es un procedimiento utilizado en muchos países del mundo, como Estados Unidos, Guatemala, El Salvador y México; siendo en este último, base de la alimentación, por lo que el maíz es el cultivo más representativo con alta demanda y utilización, por tanto, su producción involucra aspectos económicos, sociales y culturales (Krause *et al.*, 1992).

Para el año 2023 la cosecha nacional de este grano fue de 27.5 millones de toneladas, según datos de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural actualmente en México, el maíz grano tiene un consumo anual per cápita de 196.4 kg, el cual está destinado para la elaboración principalmente de tortillas (Miramontes-Piña, 2012; Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural, 2023).

En México, para la elaboración de la tortilla, el maíz pasa por un proceso denominado nixtamalización, el cual es un procedimiento que consiste en calentar los granos de maíz con agua e hidróxido de calcio y dejarlo en reposo durante varias horas. Sin embargo, uno de los principales problemas que se genera durante estos procedimientos es la formación de agua residuales denominadas “nejayote” (Vázquez-López, Jiménez-Ocampo & Moreno-Andrade, 2023).

Una vez finalizado este procedimiento se obtienen residuos que contienen pericarpio de maíz, además de diversos nutrientes como arabinoxilanos, almidón, dextrinas, proteínas y iones de calcio. También se han encontrado compuestos fenólicos antioxidantes como los ácidos ferúlico y cumárico. Lo más alarmante de todo es que estos componentes son descargados a los ecosistemas acuáticos y tienen como consecuencias el agotamiento del oxígeno disuelto resultando en un impacto ambiental importante para el medio ambiente (Santiago-Ramos *et al.*, 2018).

Estas representan un importante contaminante para el medio ambiente; ya que alcanzan temperaturas entre 40 a 70 grados centígrados, una alta demanda biológica de oxígeno (2692-7875 mg O₂/L), una alta demanda química de oxígeno (10200-22000 mg O₂/L), e importantes cantidades de nutrientes como el Nitrógeno y el Fósforo. Otra problemática que se genera con las descargas de estas aguas contaminadas es que contienen una gran carga de sólidos y de materia orgánica suspendida y disuelta, lo que propicia la obstrucción de las alcantarillas y el drenaje, así como presentar un alto contenido de sales de calcio y un pH muy básico, es decir arriba de 11, que repercute en el desgaste de las tuberías (Krause *et al.*, 1992; Santiago-Ramos *et al.*, 2018).

Debido a este impacto es importante desarrollar estrategias para lograr el correcto tratamiento de estos efluentes; ya que sus residuos no han seguido los mecanismos de limpieza más apropiados para erradicar el problema. Sobre todo, en tortillerías

locales o pequeñas que realizan este proceso de manera cotidiana y vierten el nejayote en el drenaje sin ningún tratamiento. La limpieza o depuración de aguas residuales es cada vez de mayor importancia debido al aumento de la población y al crecimiento de las industrias en todos los países del mundo, al mismo tiempo las exigencias de las normativas de depuración de aguas residuales son cada vez más rigurosas. Por lo que, es necesario crear nuevas técnicas de depuración que no solo sean más eficientes sino también más sostenibles y limpias. Aunque existen diversas tecnologías que pueden ser aplicadas para el tratado del nejayote, como son los procedimientos físicos, químicos y/o biológicos, pocas veces se ocupan (Jacome *et al.*, 2021).

En el caso de tratamiento biológico, existe una alternativa; la cual es conocida como fitorremediación, que consiste básicamente en lograr la remoción de nutrientes y metales pesados a manera de tratamiento secundario con el uso de microalgas y cianobacterias. Este tipo de tecnología tiene importantes ventajas cómo son el bajo costo de implementación en comparación con métodos convencionales que además requieren una infraestructura de mayor valor, otra gran ventaja y potencial que tienen se debe a sus múltiples aplicaciones que aún se están desarrollando y por lo tanto representan un importante llamativo en la investigación, como en niveles comerciales (Muñoz, 2008; Domínguez-Gómez *et al.*, 2020).

Los microorganismos fotosintéticos representan un importante atractivo para la producción de biomasa susceptible que puede ser convertida en combustibles, como metanol, etanol, biodiésel, además de otros bioproductos de amplia utilización en sectores como el farmacéutico y el cosmético; finalmente también pueden ser utilizados en la producción y fabricación de biofertilizantes. Esta es una tecnología que ha ido pasando desde etapas de experimentación a formar parte de alternativas altamente eficientes y que es necesario seguir implementando para la remediación de los cuerpos acuáticos (Gualán & Medina., 2020; Medina *et al.*, 2012).

2. Marco Teórico

2.1 El maíz

El origen del maíz se dio en la región central de México, esto fue mediante la fusión de plantas que tenían la capacidad de crecer en forma silvestre, cómo fueron el teocintle o el teosinte. Pertenecen a la familia de las Poáceas o Gramíneas y es considerado uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen, además de ser una planta domesticada y considerada altamente productiva que no crece en forma salvaje y por lo tanto es completamente dependiente de los cuidados que el hombre le puede dar (Agencia de servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios, 2018).

Se considera que el maíz fue cultivado hace aproximadamente 10 mil años a.C. y la evidencia más antigua que se tiene es de hace 6250 años, la cual fue encontrada en la cueva de Guila Naquitz, en Oaxaca a unos kilómetros de Mitla. El nombre científico del maíz es *Zea mays*. Para el caso de los nahuas que habitaban en Mesoamérica lo llamaban “Centli” y durante su propagación por el resto del continente americano fue adquiriendo diversos nombres entre los que se encuentran, choclo, jojoto, corn, milho o elote y finalmente con la llegada de los españoles adoptó el nombre de maíz (Golik *et al.*, 2018).

Se cree que en México se encuentra la mayor diversidad de variedades de maíz, cómo son; el blanco, azul, gordo, dulce, chiquito, bofo, vendeño, conejo, dulcillo del noroeste, chapalote y amarillo son algunas de las más de 60 variedades de maíces que forman parte de la alimentación diaria de los habitantes de México (ASCDMA, 2018).

El maíz es uno de los pocos cultivos que pueden sembrarse en una gran variedad de climas, suelos, latitudes y altitudes. Este es un cultivo que tiene usos muy variados ya que puede ser utilizado tanto en el área de alimentos como en el industrial. Es considerado la mayor fuente de almidón en el mundo; ya que este almidón puede ser fermentado en alcohol, como el etanol como combustible (Department of Health and Ageing Office of the Gene Technology Regulator, 2008).

En México este cultivo es parte importante de la dieta de millones de mexicanos, debido a que es un producto que se ha consumido desde tiempos ancestrales y representó un importante factor para el asentamiento y desarrollo de las primeras culturas mesoamericanas; entre los que se incluyen a los aztecas, olmecas, mayas entre otros. Dentro de los cereales, el maíz ocupa el segundo lugar en cuanto a superficie sembrada siendo el trigo el que ocupa el primer lugar; sin embargo, el maíz posee el primer lugar en cuanto a la producción de grano entre todos los cereales cultivados (Paliwal, 2001; Miramontes-Piña, 2012; SADER, 2023).

Anualmente en México se siembran alrededor de 7 millones de hectáreas de maíz, para grano, con una producción promedio que oscila los 22,360 millones de toneladas anuales. En los últimos 30 años se ha podido apreciar un importante incremento en el rendimiento nacional de 1.83 toneladas por hectárea en 1980 a 3.25 toneladas por hectárea en 2022; lo que representa un incremento del 78 al 110%, y dicho logro se ha debido principalmente al incremento en la superficie de siembra en el estado de Sinaloa, a la introducción de materiales con mayor potencial y tecnología y a un manejo más eficiente del cultivo en el territorio mexicano (SAGARPA, 2017; Miramontes-Piña, 2012; SADER 2023). La información correspondiente se muestra en la Tabla 2.

Otros tipos de maíz, como el forrajero verde, aunque representan una menor superficie (596 mil hectáreas), destacan por su elevado rendimiento, alcanzando 28.9 toneladas por hectárea, destinado principalmente a la alimentación animal. En menor proporción se cultivan variedades como el pozolero, el palomero, el maíz de color y el maíz azul, los cuales en conjunto aportan menos del 1 % de la producción nacional (SIACON, 2022).

La composición del grano de maíz duro se encuentra conformado entre 80 y 85% de endospermo, un 10 a 12% de germen (embrión), un 2 a 3% de aleurona (estructura que une al grano con la espiga) y un 5 a 6% de pericarpio (cáscara) a continuación se muestra la composición completa del grano de maíz, la cual se muestra en la Tabla 1 (FAO., 2010 & FAO., 2018).

Tabla 1: Composición del maíz (FAO, 2015)

Componente químico	Endospermo (%)	Germen (%)	Pericarpio (%)	Tota (%)
Proteínas	8.0	18.4	3.7	30.1
Extracto etéreo (grasa cruda)	0.8	33.2	1.0	35
Fibra cruda (Hemicelulosa, Celulosa, Lignina)	2.7	8.8	86.7	98.2
Cenizas	0.3	10.5	0.8	11.6
Almidón	87.6	8.3	7.3	103.2
Azúcar	0.62	10.8	0.34	11.76

Para el año 2023 la cosecha nacional de este grano fue de 27.5 millones de toneladas, según datos de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural actualmente en México el maíz grano tiene un consumo anual per cápita de 196.4 kg, el cual está destinado para la elaboración principalmente de tortillas (Miramontes-Piña, 2012; SADER, 2023).

Tabla 2: Superficie de siembra y producción de diferentes tipos de maíz en México en 2021 (SIACON, 2022)

Tipo de maíz	Superficie Ha	Producción Toneladas	Rendimiento Ton/Ha
Amarillo	514,445	3,147,058	6.11
Blanco	6,579,366	24,235,821	3.69
Pozolero	7,197	25,646	3.56
Palomero	223	596	2.677
Forrajero (verde)	596,563	17,250,123	28.915
De color	32,053	83,072	2.59
Maíz azul	6,560	11,879	1.81
Total	7,742,728	44,193,453	

2.2 Agua de nixtamal

El proceso de nixtamalización es una técnica que fue desarrollada por los antiguos pueblos indígenas de América especialmente los productores de maíz, esta forma tradicional era llevada a cabo mediante la utilización de ceniza que era producto del residuo de la combustión de la madera de la cual se requería ocupar un 20 a 25%. Esta se acondicionó con agua a temperatura de ebullición y se dejaba reposar de 40 a 50 minutos, posteriormente pasaban entre 12 y 14 horas para finalmente realizar el lavado y secado. El residuo de la combustión de la madera contiene óxido de calcio y por lo tanto este proceso de nixtamalización estaba en función de la calidad de madera (Gutiérrez-López *et al.*, 2011 & Guevara-Pérez, 2015).

Actualmente se utiliza para un nivel industrial $(OH)_2Ca$ concentraciones que oscilan entre el 1 y el 4%, estas menores concentraciones ocasionan que el grano no se hidrate lo suficiente y por lo tanto el sabor es deficiente, quedando con propiedades funcionales escasas; en cambio, concentraciones mayores hacen que el grano se torne de color rojo y no logre una suavidad adecuada aún con mayores tiempos de cocimiento (Medina *et al.*, 2009).

El procedimiento actual consiste en: calentar el maíz en agua (entre 125 y 160 L por cada 50 kg de maíz) con cal (0.1-5.0%) esto a una temperatura de 80°C (por un tiempo de 3 horas aproximadamente), posteriormente se reposa el licor resultante durante 12 a 24 horas para continuar al lavado de licor reposado con agua en proporción 1 a 3 (3 L de agua por kg de maíz) y después se deja escurrir el exceso de agua (Medina *et al.*, 2009; Rosentrater, 2006).

El producto que se obtiene se conoce como nixtamal el cual es utilizado para la elaboración de diversos productos de masa o harina cómo pueden ser tortillas, panes, tostadas, entre otros y una vez que termina el proceso de nixtamalización del maíz se obtienen unas aguas residuales qué como ya se mencionó son

conocidas como “Nejayote”. Estas aguas se encuentran compuestas por un 92 a 94% de agua y un 6 a un 8% de residuos de maíz, entre los que destacan partes del pericarpio, endospermo, germen, carotenoides (pigmentos que son los responsables del color amarillento del nejayote) y calcio (Velazco *et al.*, 1997; Argun, 2017). Así mismo, encontramos hemicelulosa, celulosa, almidón, lignina y diversas sales de ácido trans-ferúlico, cumárico, protocatecuico, entre otros (Pedroza *et al.*, 1987 & Guevara-Pérez, 2012). La información correspondiente se muestra en la Tabla 3 y 4.

Este efluente corresponde a un 15% de las descargas sin tratamiento de aguas residuales municipales en México; por lo tanto, representa un importante medio de contaminación para los acuíferos receptores, ya que aunque la Norma Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996 establece los límites máximos permisibles de contaminantes en descargas de agua residuales a los respectivos cuerpos de agua de alcantarillado, urbano o municipal no deben ser vertidos sin un previo tratamiento, estas descargas no están siendo reguladas ni responden a lo establecido en las normas (Ríos-Maravilla, 2020).

*Tabla 3: Composición del nejayote.
(Rosentrater, 2006; Guevara-Pérez, 2012).*

Propiedad	Compuesto	% base seca
Nutricional	Proteína saludable	4.76-4.90
	Grasa	0.74-5.76
	Carbohidratos	71.93-75.41
	Almidón	2.57-32.0
	Polisacáridos no amiláceos	49.8-79.1
	Fibra cruda	19.29-22.77
	Lignina	0.36-0.67
	Extracto libre de nitrógeno	52.45-55.67
	Proteína	0.81-7.42
	Grasa	0.49-5.76
Físicas	Cenizas	1.09-12.66
	Calcio	4.68-13.13
	Densidad	1030.85-1047.32 kg/m ³
	Límite de elasticidad	1440.04-1618.08 N/m ²
	Contenido de humedad	88.15-89.29
	Actividad de agua	0.99-1.00
	pH	11.5-11.6

Tabla 4: Características fisicoquímicas del nejayote

Características	Valores reportados
DQO (mg O ₂ /L)	13,650.0 a 40,058.1
ST (mg/L)	13,310.0
DBOs (mgO ₂ /L)	7,875.0 a 14,218.7
AT (mgCaCO ₃ /L)	3,260.0
Fosforo (mg/L)	27
N-Kjeldah (mg/L)	118

DQO; Demanda Química de Oxígeno, SST; Sólidos Suspendidos Totales, DBO; Demanda Bioquímica de Oxígeno, AT; Alcalinidad Total; b.s., Base Seca. (Canul, 2016).

De acuerdo con el Diario Oficial de la Federación, existe un programa sectorial de medio ambiente y recursos naturales; el cual es de gran importancia, ya que tiene como objetivo principal lograr promover un entorno libre y sano de contaminación tanto de agua, aire y suelo, con la finalidad de contribuir al ejercicio pleno del derecho a un medio ambiente sano para todas y todos (SAGARPA, 2017).

Esto es muy importante, debido a que como sabemos en la actualidad hay un considerable deterioro en la calidad de las aguas superficiales y todo esto es consecuencia de los vertidos de aguas de diferentes fuentes cómo son: residuales domésticas, industriales y agrícolas; y al no tener una correcta regulación nuestros ecosistemas naturales y su biodiversidad siguen siendo afectados día con día.

Los usos que se le han podido otorgar al nejayote van encaminados principalmente a la recuperación de componentes de alto valor agregado, como posible fuente de enriquecimiento para alimentos funcionales e incluso se pueden llevar a cabo mecanismos para utilizarlo como medio de cultivo para crecimiento de bacterias, o algas, estas últimas representan una importante alternativa para la producción de diversos bioproductos (Salmerón *et al.*, 2003; Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

Tabla 5: parámetros contaminantes del nejayote vs sus valores máximos permisibles. Datos tomados de las NOM-001-ECOL-1996, NOM-002-ECOL-1996

Parámetro	Valores máximos por normatividad	Valores en nejayote
pH	5-10	10.5-11.6
Sólidos suspendidos (mg/L)	60	5000-35000
Demanda bioquímica de oxígeno (mgO ₂ /ml)	60	190-7875

2.3 Tratamientos de aguas residuales

Podemos definir a las aguas residuales como resultado de la composición variada proveniente de distintas descargas de usos que pueden ser: públicas, urbanas, domésticas industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, de plantas de tratamiento y de cualquier otro uso en general, así como la mezcla entre ellas (Comisión Nacional del Agua, 2011).

Los componentes de las aguas residuales pueden ser físicos, químicos y biológicos; dentro de los físicos encontramos el color, el olor, los sólidos y la temperatura. Los químicos se clasifican en orgánicos e inorgánicos y los biológicos en donde los más habituales en las aguas residuales son los animales y plantas (Martínez., 1984) & Collazos, 2008).

Las tecnologías de remediación se agrupan en función de sus características de operación o finalidad según los siguientes criterios: objetivos de la remediación, lugar en que se aplica el proceso de remediación y tipo de tratamiento utilizado. De acuerdo con la función de los objetivos se distinguen las técnicas de contención que tienen principalmente la función de aislar el contaminante en el medio, pero sin actuar sobre él, por otra parte, las técnicas en confinamiento actúan mediante la alteración de las condiciones fisicoquímicas del medio y posteriormente reducir la movilidad del contaminante. Finalmente, las técnicas de descontaminación están principalmente enfocadas en la disminución o eliminación de la concentración de contaminantes que se encuentran presentes en el medio (Ogbonna *et al.*, 2000 & Fundación Chile CORFO, 2011).

Otra manera de clasificar estas tecnologías de remediación (es de acuerdo con el lugar de aplicación, para este caso tenemos tratamientos *in situ* los cuales van a estar presentes cuando los procedimientos de remediación se realizan directamente en el sitio contaminado o bien existen los tratamientos *ex situ*, los cuales van a requerir la extracción del medio contaminado para su tratamiento posterior ya sea en el mismo lugar o en instalaciones externas (Lazcano, 2016).

Finalmente, de acuerdo al tipo de tratamiento que es aplicado por estas tecnologías se clasifican en tratamientos fisicoquímicos (Diagrama 1); os cuales logran la destrucción separación y obtención de contaminantes para posteriormente aprovechar las propiedades físicas y químicas de los contaminantes o del medio,

los tratamientos térmicos los cuales utilizan altas temperaturas para volatilizar, descomponer o fundir los contaminantes y finalmente los tratamientos biológicos que están principalmente enfocados en la degradación, transformación y remoción de contaminantes mediante la actividad metabólica natural de ciertos organismos (Fundación Chile CORFO, 2011; Lazcano, 2016).

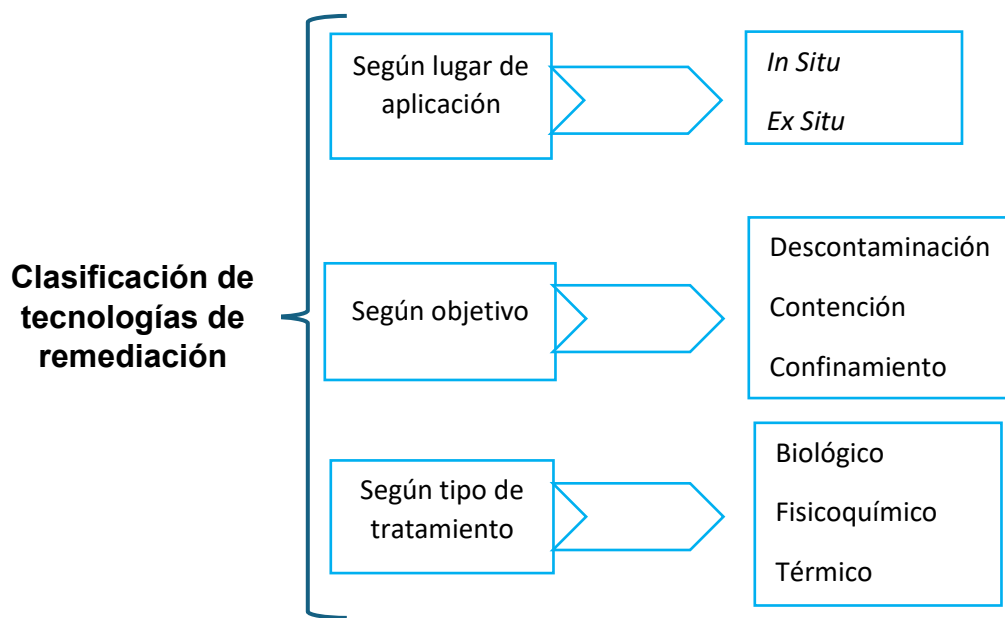


Diagrama 1: Clasificación de tecnologías de remediación (Fuente: propia)

2.3.1 Tratamientos fisicoquímicos

Los tratamientos fisicoquímicos aprovechan las propiedades físicas y químicas de los contaminantes o del medio contaminado para realizar tanto la destrucción, separación o contención de la contaminación. Algunas características de este tipo de tratamientos es la efectividad respecto a sus costos, además de que pueden concluirse en periodos cortos; sin embargo, algunas de las desventajas que presentan son los costos que pueden incrementarse cuando se utilicen técnicas de separación donde los contaminantes requieran algún tratamiento o disposición final. Este tipo de técnicas se realizan *in situ* o *ex situ* (Fundación Chile CORFO, 2011).

2.3.2 Tratamientos térmicos

Los tratamientos térmicos incluyen la destrucción, separación y/o inmovilización de los contaminantes presentes en el medio. Las tecnologías térmicas de separación producen vapores que requieren de tratamiento; las destructivas producen residuos sólidos y en ocasiones residuos líquidos que requieren de tratamiento o disposición final. Estos mecanismos térmicos ofrecen tiempos rápidos de limpieza, pero son generalmente de alto costo debido a los costos propios en demanda de energía y equipos específicos. La mayoría de estos procedimientos se aplican *in situ* y *ex situ* (CORFO, 2011).

2.3.3 Tratamientos biológicos

Los tratamientos biológicos o de biorremediación utilizan organismos vivos (como plantas, hongos, bacterias, algas) para la degradación, transformación o remoción de compuestos orgánicos tóxicos, dependiendo de las actividades catabólicas de los organismos y de su capacidad natural para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (Cornejo, 2017; Izquierdo, 2013).

Las tecnologías de biorremediación emplean organismos propios del sitio contaminado (nativos) o de otros sitios (exógenos), y pueden realizarse *in situ* o *ex situ*, en condiciones aerobias o anaerobias, bajo distintos rangos de temperatura, pH, salinidad y concentración de nutrientes, así como en sistemas abiertos o cerrados, en presencia o ausencia de luz, dependiendo del tipo de contaminante y del organismo utilizado. Estas condiciones características influyen directamente en la eficiencia del proceso y en la adaptabilidad de los microorganismos a los ambientes contaminados. (Ulloa, 2018; Vidali, 2001).

Uno de estos métodos biológicos es el uso de las microalgas, las cuales son microorganismos unicelulares, eucariotas y fotosintéticos, altamente eficientes en la fijación del CO₂ y utilización de la energía solar para producir biomasa. Además, estos organismos son capaces de remover el Nitrógeno y el Fósforo durante su crecimiento. Existen diversos géneros con los que se ha trabajado y se han obtenido resultados alentadores, como es el caso de *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., *Coelastrella* sp., y *Limnospira maxima* (Guzmán-Burneo & González 2016; Garzón *et al.*, 2017; Abdel-Raouf *et al.*, 2012; Contreras-Flores *et al.*, 2003; Romo, 2002; Lomas, 2017).

2.4 Contaminantes presentes en aguas residuales

El agua es un recurso natural que actualmente se encuentra en estado crítico, esta es indispensable para lograr la vida humana y el correcto sostenimiento del medio ambiente; sin embargo, se ha visto afectada como consecuencia del rápido desarrollo humano y económico y del mal uso y la mala regulación que se le ha brindado y que día a día se ve manifestado en diversos cambios que sufre el planeta como el cambio climático (SEMARNAT, 2007).

Durante años toneladas de sustancias biológicamente activas, químicas o sintetizadas para su uso en la agricultura, en la industria y en la medicina, han sido vertidas inconscientemente al medio ambiente sin tener presente la cantidad de problemáticas que se generan al ciclo del agua. Desafortunadamente las medidas legislativas que se han adoptado no han sido suficientes para evitar la contaminación del recurso y esto se ve reflejado en nuestro día a día (Barceló D & López M.J, 2007; NOM-001-ECOL-1996; NOM-002-ECOL-1996; Warwick *et al.*, 2013).

El hombre ha modificado el ciclo del agua al añadir elementos no deseables y tóxicos para bienes comunes contribuyendo a la contaminación justo en el momento de insertar estas sustancias nocivas que alteran la calidad del recurso. De acuerdo con el ciclo del agua las principales vías de entrada de contaminantes en el medio ambiente son las aguas residuales, en donde encontramos las urbanas, industriales y las de origen agrícola o ganadero. La coexistencia de una u otra depende en gran medida del tipo de contaminación y del nivel de depuración que experimenten (Salgado-Bernal, *et al.*, 2012; Warwick *et al.*, 2013).

Los efectos que trae la contaminación química del agua son múltiples entre los que encontramos la acción tóxica y cancerígena, reducción de las posibilidades de su uso industrial y agropecuario, limitación del uso del agua con fines recreativos y la incidencia sobre la producción de alimentos (SEMARNAT, 2007).

Los contaminantes que se encuentran presentes en los cuerpos acuáticos son originados de dos maneras principales; origen puntual o bien pueden provenir de áreas más amplias y no confinadas en donde estos contaminantes ingresan a través de un cuerpo receptor, como son los lagos, esteros, ríos, mares, y que contienen, además importantes cantidades de desechos de animales, fertilizantes químicos, insecticidas, pesticidas y fungicidas (Rehman, 2011; Liu, 2023).

2.4.1 Nitratos y Nitritos

Son compuestos solubles que están conformados molecularmente por nitrógeno y oxígeno. En el medio ambiente el nitrito (NO_2^-) generalmente se convierte a nitrato

(NO_3^-) fácilmente, esto quiere decir que el nitrito raramente se encuentra presente en aguas subterráneas; el nitrato es indispensable para lograr el crecimiento de las plantas por tal motivo su uso principal es como fertilizante y puede ser producido en grandes cantidades industrialmente (Fu *et al.*, 2022).

Existen dos tipos de fuentes de contaminación de las aguas por compuestos nitrogenados: la contaminación puntual y la dispersa. La puntual se encuentra asociada a actividades de origen industrial, ganadero o urbano (residuos industriales, aguas residuales urbanas), mientras que la dispersa se refiere a la contaminación ocasionada por la actividad agronómica. La principal vía de acceso del nitrógeno a los cuerpos de agua es a través de las aguas residuales industriales o municipales, principalmente por las descargas de corrales ganaderos residuos animales o bien por las descargas de la emisión de gases de vehículos (Bolaños-Alfaro *et al.*, 2017; Fenech *et al.*, 2012; Aguilar, 2022).

2.4.2 Fosfatos

Los fosfatos (PO_4^-), son compuestos formados a partir del fósforo inorgánico que existe como mineral y contribuye significativamente en el ciclo de este elemento. En el medio ambiente se encuentra en solución como partículas, fragmentos sueltos o como parte de los cuerpos de los organismos acuáticos. El agua de lluvia contiene distintas cantidades de estos compuestos que se filtran de los suelos agrícolas a los cursos de agua próximos (Bolaños-Alfaro *et al.*, 2017).

El fosfato se utiliza como un nutriente para el crecimiento de algas; por lo tanto, significa que, al existir mayor concentración de este nutriente en el agua, estas crecen de manera desmedida y esto afecta la cantidad de oxígeno presente en el agua, lo que conlleva a la formación del proceso de eutrofización (Bolaños-Alfaro *et al.*, 2017; Jucherski *et al.*, 2022; Aguilar, 2022).

2.4.3 Sulfatos

Los sulfatos (SO_4^{2-}), se encuentran muy abundantes en la naturaleza y la presencia que tienen en el agua varían en centenas de miligramos por litro. Se ha reportado que la explotación de pirita en minas ha tenido como resultado el incremento del ion sulfato en agua, debido principalmente a los procesos de oxidación que sufre este mineral durante su extracción en los drenajes (Bolaños-Alfaro *et al.*, 2017; Aguilar, 2022).

Los porcentajes de sulfato en agua de lluvia y agua superficial están directamente proporcionados con las emisiones de dióxido de azufre que son ocasionados por la actividad humana, donde su principal fuente, proveniente de motores se utiliza como combustible diésel. La afectación que tiene en el ser humano radica principalmente con el efecto laxante que se origina al ingerir una alta concentración de sulfato de sodio y sulfato de magnesio. Además en concentraciones altas, los sulfatos favorecen la corrosión de los metales y cambian el sabor del agua lo que también

incrementa las concentraciones de plomo disuelto provenientes de las tuberías de plomo (Hudaib, 2021; Mthembu *et al.*, 2021).

2.5 Las microalgas y la Ficorremediación

Las cianobacterias son los primeros microorganismos fotosintéticos que se conocen y éstas fueron derivadas posiblemente de bacterias sulfurosas. Estas vivían principalmente en los efluentes de los suelos, tanto calientes como ácidos de todo el mundo. Se tienen registros fósiles de organismos similares a las cianobacterias con una antigüedad de aproximadamente tres millones de años. Estos microorganismos fueron responsables del cambio en la composición de la atmósfera primitiva, hace aproximadamente 3500 millones de años. Esto lo lograron gracias a que elevaron el nivel de oxígeno en la atmósfera; lo que ha permitido el desarrollo de la vida tal como la conocemos hoy en día (Medina *et al.*, 2012).

La primera microalga aislada y mantenida en condiciones axénicas fue *Chlorella vulgaris*, en 1890. Aunque no fue sino hasta la década de 1940 cuando se iniciaron los estudios enfocados en la fisiología y bioquímica de estos microorganismos. El alga fue descubierta por el botánico y fitopatólogo holandés Martinus Willem Beijerinck con el estudio de algas verdes y el tamaño de la microalga posee un diámetro de forma circular, que oscila entre 2 y 10 μm (Guiry & Guiry, 2016).

Se tienen registros del uso de microorganismos como alimento para el hombre durante el siglo XVI, esto cuando los pueblos aztecas recolectaban masas de algas, en el lago de Texcoco, donde el uso principal que se le daba era como alimento. En 1977 se estableció una planta comercial de espirulina (*Limnospira maxima*) en Tailandia. Para los años 1980's se reportaron cerca de 46 fábricas a gran escala en Asia; que producían más de 1000 kg de biomasa algal por mes, principalmente de *Chlorella* (Abdulqader *et al.*, 2000; Graham & Wilcox, 2000; Guzmán, 2016).

Los primeros trabajos reportados con microalgas tenían un uso potencial en la producción de alimentos, posteriormente se empezaron a utilizar estos organismos como parte del tratamiento de aguas residuales de origen doméstico, industrial o municipal, pero conservando su propósito original que era la producción alimenticia. Así mismo en los últimos años se ha trabajado con este recurso como productoras primarias de biomasa para la fabricación principalmente de biocombustibles y biofertilizantes (Graham *et al.*, 2000; Muller-Feuga, 2000).

Las microalgas son de vital importancia en procesos de remediación para tratar una amplia gama de desechos tóxicos, ya que logran utilizar los residuos como fuente de nutrición y posteriormente degradar enzimáticamente los contaminantes como el fósforo y el nitrógeno (Tilman *et al.*, 2011; Harun *et al.*, 2010).

La ficorremediación es conocida como el proceso de emplear microalgas para mejorar la calidad del agua, ya que estos microorganismos fijan el dióxido de

carbono mediante la realización de la fotosíntesis y posteriormente eliminar el exceso de nutrientes de manera efectiva y a un mínimo costo. Además, el oxígeno que es producido fotosintéticamente puede llegar a disminuir la demanda biológica de oxígeno en las aguas residuales. Otras características que presentan estos organismos es que convierten contaminantes en compuestos de alto valor agregado al aumentar su biomasa en corto tiempo, algunos de los bioproductos que pueden ser fabricados son el biodiesel o biofertilizantes (Mulumba & Farag, 2012; Domínguez *et al.*, 2020).

Una característica muy particular de las microalgas es el de su pared celular, la cual se encuentra rodeada por iones de carga negativa que se encuentran con los grupos hidroxilos o grupos carboxilos, para de esta manera atraer metales que tengan carga positiva y así unir su pared celular. Esta unión puede darse por diversos procedimientos como son la absorción, la quelación y la bioacumulación; a su vez, la mayoría de las aguas residuales se encuentran cargadas por una gran variedad de nutrientes, como son el nitrógeno, azufre, potasio, fósforo y carbono (Ray *et al.*, 2019).

Las microalgas son de vital importancia en procesos de remediación para tratar una amplia gama de desechos tóxicos, ya que utilizan los residuos como fuente de nutrición y posteriormente degradan enzimáticamente los contaminantes como el fósforo y el nitrógeno (Domínguez *et al.*, 2020; Harun *et al.*, 2010).

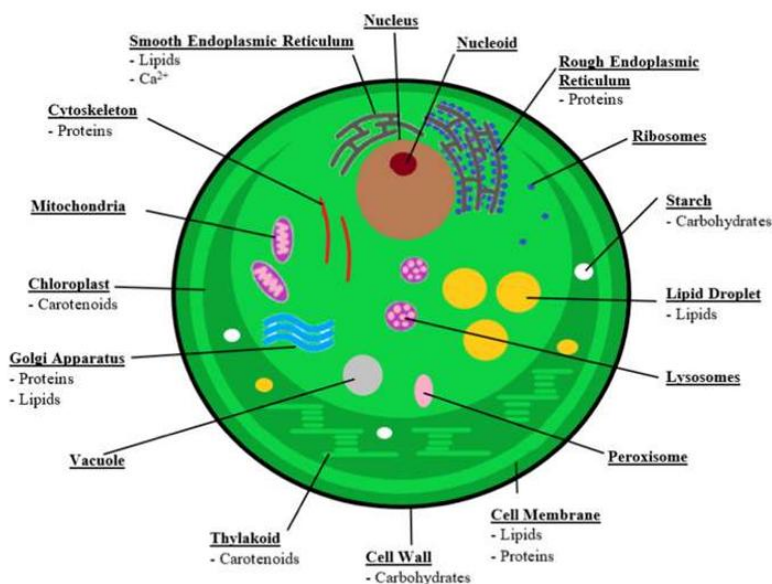


Imagen 1: Estructura de una microalga. Recuperado de "Microalgae as an alternative to oil crops for edible oils and animal feed", por Fawcett *et al.*, (2022).

2.5.1 Estudios previos realizados con microalgas

Debido al potencial de usos y aplicaciones de estos microorganismos, en los últimos años se han realizado estudios especializados sobre su potencial biorremediador y de las aplicaciones de su biomasa. Entre los trabajos destaca el estudio de Soeder en 1980, donde se realizó un tratamiento de desechos líquidos con sistemas de algas y bacterias, destacando el uso de la biomasa producida para alimento de animales.

Oron *et al.*, (1981) estudiaron la dinámica de algas en estanques que eran utilizados para tratar aguas de origen residual. Como parte del procedimiento se tomaron muestras de efluentes de los estanques y posteriormente se identificaron y midieron las especies de algas de forma continua, utilizando métodos convencionales de análisis fitoplanctónicos. Estos métodos incluyeron la preservación de muestras (por ejemplo, con Lugol o formaldehído), concentración/decantación en cámaras de sedimentación y el análisis por microscopía para identificación y recuento. Los autores identificaron dos especies de algas observaron cambios externos que fueron un reflejo de los periodos controlados de carga orgánica y las condiciones bajo las cuales se operó el estanque, como la temperatura del ambiente y la profundidad del estanque.

Saxena *et al.*, en 1983 publicaron un estudio relacionado a cultivos de espirulina en aguas residuales para alimentación avícola, donde utilizaron la especie *Limnospira platensis* (Spirulina) en un sistema de reciclaje integrado. Los autores cultivaron el alga en una unidad de producción piloto al aire libre de diseño autóctono y los métodos de recolección y procesamiento se basaron en la filtración simple y el secado al sol. Como resultado de los extensos experimentos de laboratorio y de campo realizados, los autores lograron cultivos puros de espirulina africana.

Aly *et al.*, (1984) abordaron la microalga *Scenedesmus* en bioensayos de toxicidad donde utilizaron un cultivo continuo con respecto a dos herbicidas y evaluaron el efecto de dosis sobre el crecimiento, absorción y acumulación en el alga. Los resultados indicaron que los patrones de crecimiento exhibidos por *Scenedesmus* reflejaron la capacidad del alga para superar los efectos inhibitorios de los herbicidas.

Kaya *et al.*, (1995) concluyeron que la inmovilización constituye una de las mejores técnicas para separar físicamente las células de microalgas de su medio de cultivo. El estudio fue realizado con el género *Scenedesmus bicellularis* en un tratamiento terciario, y los resultados probaron la capacidad de las microalgas inmovilizadas para eliminar nitrógeno y fósforo de un efluente de aguas municipales.

Ryu *et al.*, (2014), probaron el efecto de la dilución de aguas residuales en el crecimiento de *Chlorella vulgaris* en varios tipos de aguas: residuales filtradas y

esterilizadas, residuales esterilizadas y residuales sin tratar. Los resultados indicaron que el crecimiento fue mayor en las aguas no tratadas, lo que sugiere que ciertos componentes, como las bacterias, promueven el crecimiento de microalgas. Se concluyó además que puede ser factible utilizar la biomasa de *C. vulgaris* cultivada, para biorremediación y producción de biodiesel simultáneamente. Los estudios descritos evidencian la versatilidad de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. A continuación, en la Tabla 6, se presentan otros trabajos que han empleado diferentes especies microalgales para la biorremediación, destacando los resultados obtenidos de remoción.

Tabla 6: Trabajos del uso de microalgas para biorremediación (Fuente propia)

Autor	Microalga	NH ₄ mg/L % de remoción	PO ₄ mg/L % de remoción
Bashan y Bashan (2003)	<i>Chlorella vulgaris</i> co-inmovilizada con <i>A. brasilense</i>	15 (100%)	3.5 (98%)
Vargas et al., (2004)	Cianobacterias Clorofita	11-17 (36.4)	-----
Chacón et al., (2006)	<i>Chlorella</i> sp. <i>Scenedesmus</i> sp.	30.1 (44%)	7.5 (48%)
Shi et al., (2007)	<i>C. vulgaris</i> y <i>S. rubescens</i>	2.5 (94-96%)	3-4(88 y 90%)
Zhang et al., (2008)	<i>Scenedesmus</i> sp.	99%	100%
Hernández-Reyes et al., (2012)	<i>Chlorella vulgaris</i> *	10 (74%) 25(68%)	5 (50%) 10 (76%)
Ruiz et al., (2013)	<i>Tetrademus obliquus</i>	24(92%)	-----
Sale y Matamoros (2016)	<i>Chlorella</i> sp. <i>Nitzschia acicularis</i>	35(90%)	0.8(97)
Muitaba et al., (2017)	<i>C. vulgaris</i> co-inmovilizada con <i>P. pútrida</i>	50(85%)	10(64%)
Rodríguez-Palacio et al., 2022	<i>Coelastrella</i> sp.	-----	73%
Rodríguez-Palacio et al., 2022	<i>Chlorella</i>	75%	80%

2.5.2 Condiciones de cultivos de microalgas

Para que las microalgas tengan un crecimiento adecuado en cultivo es necesario mantener condiciones idóneas de luz, temperatura, dióxido de carbono, nutrientes y pH, para evitar además riesgos de que proliferen otros organismos no deseados como hongos, ciliados, flagelados o bacterias.

2.5.2.1 Luz

Los organismos fotosintéticos transforman la energía lumínica proveniente de la radiación solar en energía química, por lo que la luz es considerada, un factor

limitante cuando se trata de cultivos de microorganismos fotosintéticos. El aporte, distribución y utilización de la luz es primordial para la producción de biomasa microalgal. (Johnson & Schmidt-Dannert, 2008; Cuaresma *et al.*, 2011).

En un cultivo de microalgas la luz promueve la producción de clorofila y otros metabolitos en la fotosíntesis. Estos microorganismos utilizan la luz en el intervalo de longitud de onda que oscila entre 300 y 700 nm, el cual comprende la región del espectro conocida como radiación fotosintéticamente activa de 400 a 700 nm (Johnson y Schmidt-Dannert, 2008). Esto se debe a que si las microalgas son expuestas a niveles estresantes de radiación, sus células sufren daños internos significativos, debido al exceso de energía presente, lo que origina el fenómeno de fotoinhibición donde la velocidad de la fotosíntesis se reduce (Drapcho *et al.*, 2008; Daneshvar *et al.*, 2021).

2.5.2.2 Temperatura

La temperatura es un factor de vital importancia en los cultivos para lograr que la tasa de crecimiento sea elevada, por lo tanto, es necesario controlar constantemente los intervalos de temperatura que deben oscilar entre los 16 y 27°C, dependiendo de la especie de microalga que se estudie (Hernández-Pérez & Labé, 2014).

Es importante señalar que un cultivo que se encuentre por debajo o por encima del intervalo mencionado provocara daños irreversibles en algunas proteínas esenciales para la fotosíntesis y el metabolismo celular. Entre las más afectadas se encuentran la proteína D1 del Fotosistema II, la Rubisco y su activasa, así como diversas enzimas del ciclo de Calvin. Por lo tanto, dependiendo de la especie a cultivar es el intervalo de temperatura el que debe ser utilizado, aunque existen especies que pueden ser más tolerantes a este factor que otras (Hernández-Pérez & Labé, 2014; Contreras-Flores, 2003).

2.5.2.3 Dióxido de Carbono

La biomasa que se produce en los cultivos de las microalgas depende de la concentración de dióxido de carbono específica, lo que significa que un aumento de la concentración de CO₂ en algunas especies de microalgas incrementa la cantidad de biomasa cosechada (Singh & Singh, 2014). Por ejemplo, estudios han demostrado que especies como *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus sp.*, *Neochloris oleoabundans* y *Chlamydomonas reinhardtii* presentan un aumento en su tasa de crecimiento y producción de biomasa cuando se cultivan en condiciones con concentraciones elevadas de CO₂, que oscilan entre el 10% y el 20%.

En un cultivo de microalgas mantener cantidades bajas de CO₂ (por debajo de 2-5%) conlleva una producción menor de lípidos debido a que su metabolismo es más

lento de lo normal; pero si las cantidades de CO₂ llegan a ser muy altas (por encima del 15-20%) se presentan daños al crecimiento celular y a la producción de lípidos. Esto se debe a que la mayor parte de las células absorben CO₂ y una vez que logran mayores concentraciones de CO₂ se empieza a realizar la fotosíntesis; el carbono restante que no fue absorbido por las microalgas es convertido en ácido carbónico (H₂CO₃) y se genera así la acidificación del medio, que tiene como resultado la afectación de las vías metabólicas y afecta el crecimiento de las microalgas (Mulgund, 2022).

2.5.2.4 Nutrientes

Otro factor indispensable para los cultivos de microalgas son los nutrientes, ya que son indispensables para que las células de estos organismos lleven a cabo sus actividades fisiológicas. Estos organismos requieren de macronutrientes (nitrógeno, fósforo y azufre) y micronutrientes (potasio, calcio, hierro y magnesio), por lo que si existe ausencia de estos nutrientes se presentan alteraciones en sus procesos metabólicos celulares, lo que genera cambios en sus componentes de biomasa en proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos (Ran *et al.*, 2019; Zeng *et al.*, 2021).

Por otra parte, si existe una deficiencia de nitrógeno esto conllevará a la producción limitada de la biomasa producida por las microalgas y si existe una ausencia de fósforo, esto implica dificultades en el proceso de la fotosíntesis (Zeng *et al.*, 2021).

Tomando en cuenta los requerimientos nutricionales, existen dos tipos de medios de cultivo: los medios químicamente definidos, los cuales son de gran utilidad en los cultivos y en experimentos de fisiología celular; entre las ventajas que presentan, es que se conoce con certeza todos sus componentes, así como la concentración en que están presentes; por otro lado, tenemos los medios enriquecidos como el agua residual y los abonos, entre sus características se encuentra que son muy económicos, pero tienen una gran desventaja; la cual es que no son específicos, ya que pueden originar el desarrollo de diferentes tipos de microalgas en el cultivo y su alto contenido de materia orgánica facilita el desarrollo de diversas poblaciones bacterianas (Ran *et al.*, 2019, Hernández-Pérez *et al.*, 2014).

2.5.2.5 pH

El pH del medio de cultivo debe ser un parámetro específico de cada especie de microalga, ya que representa una característica vital en su metabolismo. Para la mayoría de los casos el valor del pH se presenta por encima de la neutralidad y a estos microorganismos se les conoce como neutrófilos (Filali *et al.*, 2021; Qiu *et al.*, 2017).

El pH también es fundamental para la determinación de solubilidad y disponibilidad del CO₂, y los nutrientes que se encuentran presentes en el cultivo están fuertemente vinculados en sus procesos metabólicos y cada especie presenta rangos óptimos para lograr su producción de biomasa y lípidos (Qiu *et al.*, 2017). Por lo tanto, valores que se encuentren por arriba o por debajo de un pH óptimo puede tener como consecuencia la disminución significativa de la producción de biomasa esperada (Marchello *et al.*, 2015; Park & Lee, 2000).

2.5.3 Curva de Crecimiento Microalgal

Las microalgas presentan un crecimiento rápido cuando se inoculan en un medio de cultivo que no es limitante y logran mantener su desarrollo en condiciones adecuadas (Arredondo-Vega & Voltolina, 2007).

Para monitorear el crecimiento en un cultivo debemos conocer y monitorear las diferentes fases de crecimiento de las microalgas: 1) fase de adaptación, 2) fase de aceleración, 3) fase exponencial, 4) fase de desaceleración, 5) fase estacionaria y 6) fase de muerte; lo cual permitirá describir la manera en la cual cambia su densidad celular o de biomasa y definir el mejor momento para cosechar y/o para resembrar un cultivo (Arredondo-Vega & Voltolina, 2007).

Para ilustrar la dinámica de crecimiento descrita, en la imagen 2, se muestra un ejemplo de la curva de crecimiento de una microalga, en la cual se observa cómo cambia la densidad celular a lo largo del tiempo, destacando las distintas fases de desarrollo del cultivo.

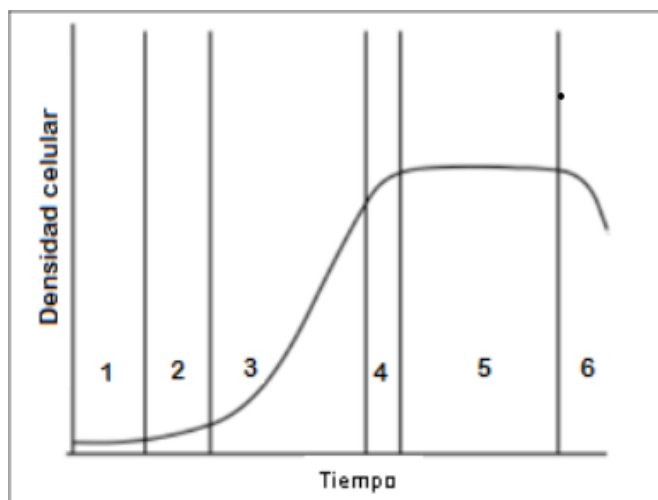


Imagen 2: Curva de crecimiento de una microalga, densidad celular con respecto al tiempo (Arredondo-Vega y Voltolina, 2007)

Fase 1 de adaptación: El comportamiento inicial es muy importante y depende de las condiciones de las células del inóculo, por lo tanto, de ellas dependerá también el éxito del nuevo cultivo. Si no se encuentran en condiciones adecuadas el cultivo no será exitoso.

Fase 2 de aceleración: Varios componentes estructurales se encuentran presentes en esta fase, el RNA, las proteínas y el peso individual, en esta etapa la temperatura es de vital importancia

Fase 3 exponencial: En esta fase la velocidad de crecimiento del número de células alcanza su valor máximo.

Fase 4 de desaceleración: Aquí se nota el efecto de una menor disponibilidad de uno de los factores que regulan el crecimiento, por lo tanto, la tasa de división celular disminuye. Debido al alto número de células, la densidad celular alcanza su máximo valor.

Fase 5 estacionaria: Las condiciones de cultivo son limitantes y la natalidad es igual a la mortalidad. No se registran cambios relevantes y esto puede deberse a los bajos niveles de algún nutriente esencial o a un valor alto de pH. Otro factor que limita el crecimiento es la excreción de productos catabólicos al medio de cultivo.

Fase 6 de muerte: La tasa de mortalidad es superior a la de natalidad, la densidad celular disminuye, baja también la biomasa unitaria y como consecuencia la ausencia de nutrientes ocasiona la muerte celular (Farías, 2011; Steele, 2015).

2.6 Técnicas de cosecha de la biomasa algal

La cosecha de la biomasa algal implica una secuencia de distintos procesos con el fin de eliminar agua contenida en un cultivo de biomasa microalgal, la naturaleza extremadamente diluida de los cultivos y el pequeño tamaño de las células algales son factores que determinan que la cosecha de la biomasa sea intensiva en energía y costos operacionales (Guldhe *et al.*, 2017). Existe una serie de diversos factores que influyen para seleccionar una técnica de recolección, como son el tamaño, la densidad y el valor agregado del producto final (Rawat *et al.*, 2011).

A continuación, se mencionan las técnicas de cosecha más utilizadas para realizar este procedimiento:

2.6.1 Centrifugación

Esta técnica es una de las más rápidas y eficientes ya que se puede operar de manera continua. Se basa en la fuerza centrífuga para separar los sólidos de los líquidos a través de una fuerza rotativa y para llevar a cabo este procedimiento se requiere de una gran cantidad de energía eléctrica y posteriormente se logra la

sedimentación de sólidos, lo cual va a permitir retirar de una manera sencilla la masa sobrenadante obtenida. Esta técnica depende de la especie de microalga que se estudia, según datos obtenidos su eficiencia a escala laboratorio ha presentado porcentajes de recuperación que oscilan entre 80 y 90% en tiempos cortos (Fazal *et al.*, 2018).

2.6.2 Filtración

Esta técnica separa los sólidos en suspensión de un medio líquido con ayuda de un medio poroso tras la aplicación de una caída de presión para su funcionamiento. Una de las características de este procedimiento es la utilización de una membrana que retiene las microalgas cuando es atravesada, a menor tamaño del poro de la membrana mayor será el incremento de energía que se necesita aplicar. Cuando la densidad de la microalga es muy baja (inferior a 10^6 células/mL), se origina una gran resistencia al paso del fluido y provoca que la membrana se obstruya cada vez más, por lo tanto, el proceso será más eficiente cuando la densidad de la microalga es menor (Barros *et al.*, 2015).

2.6.3 Sedimentación

Este método está basado en las fuerzas de gravedad y la tasa de sedimentación la cual está determinada por la ley de stocks quién menciona que la velocidad de sedimentación es directamente proporcional al radio de las células y a la diferencia presente en la densidad entre las microalgas y el medio. Algunas de las ventajas de este procedimiento es que es considerado una técnica de separación eficiente y de un costo accesible además de que puede ser empleado para tratar volúmenes altos de cultivo con incluso bajas cantidades de biomasa. Algunas de sus desventajas es que puede ser lento sobre todo cuando la diferencia del tamaño o la densidad es muy pequeña llegando incluso a ocasionar la descomposición de la biomasa en altas temperaturas (Muñoz & Guieysse., 2006).

2.6.4 Flotación

Este mecanismo ha sido empleado originalmente para la industria minera, sin embargo, ha resultado de gran utilidad en otro tipo de aplicaciones como la cosecha de microalgas. El método consiste en aprovechar la capacidad de adhesión de las células de las algas presentes para unirse a una dispersión de burbujas de aire o gas posteriormente se forman conjuntos de células gas que son transportados hasta la superficie donde están concentrados y pueden ser recolectados. Una condición muy importante para que este método sea factible es que la adherencia entre las células y las burbujas sea mayor que la tendencia a establecer un contacto entre células y medio (Ndikubwimana *et al.*, 2016).

2.6.5 Electroflotulación

Este método requiere de energía eléctrica, es un método muy versátil ya que puede ser utilizado en una amplia variedad de especies de algas además de ser muy

amigable con el medio ambiente. Consiste en el empleo de electrodos y la corriente eléctrica y permite la separación de las microalgas debido a sus diferentes cargas. Las microalgas que están en movimiento están cargadas negativamente hacia el ánodo cargado positivamente. Gracias al movimiento electroforético las células logran ser neutralizadas y se forman flóculos que pueden asentarse en el fondo o flotar en la superficie en función de la densidad (Ndikubwimana *et al.*, 2016).

2.6.6 Floculación

Este método es una alternativa química de bajo consumo energético en donde las células de las microalgas poseen una carga superficial negativa que impide la agregación de las células en suspensión por lo que a través de la adición de determinados reactivos químicos como los floculantes que eliminan o neutralizan las fuerzas de repulsión entre partículas, favorecen la formación de precipitados que sedimentan rápidamente. A continuación, se enlistan las ventajas y desventajas de los diferentes métodos de separación de biomasa (Gerde *et al.*, 2014).

Tabla 7: Ventajas y desventajas de los diferentes métodos de separación de biomasa (Guldhe *et al.*, 2017)

Método se separación	Ventajas	Desventajas
Centrifugación	Método rápido. Altos porcentajes de recuperación. Válido para la mayoría de las especies.	Alto consumo energético. Posibilidad de daño celular. Rentable solo para productos de alto valor agregado.
Filtración	Alta eficiencia de recuperación. Válido para la mayoría de las especies.	Altos costos operativos (obstrucción de la membrana). Mantenimiento de la membrana regular. Costos regulares del remplazo de membrana y bombeo.
Sedimentación	Método simple. Bajo costo.	Posibilidad de descomposición de la biomasa. Baja concentración de microalgas. Altos tiempos de operación.
Flotación	Método de bajo costo. Bajo tiempo de operación. Poco espacio requerido. Posibilidad de realizar a gran escala.	No factible con microalgas marinas. Requiere el uso de floculantes químicos.
Electrofloculación	No requiere floculantes químicos. Sistema compacto. Fácil de automatizar.	Alto consumo energético. Método con poca difusión. Alto costo de equipamiento.
Floculación	Baja aportación de energía. Método simple y rápido.	Floculantes pueden ser tóxicos y costosos. Limitación en la reutilización.

2.7 Biomasa algal y productos de valor agregado

Las microalgas y la cianobacterias pueden acumular metabolitos como los ácidos grasos esenciales y pigmentos, lo que les permite que su biomasa pueda ser utilizada en diferentes campos de la investigación, como por ejemplo en la biotecnología (Pienkos & Darzins, 2009).

El contenido y tipo de los metabolitos depende de la especie, de la etapa de crecimiento del cultivo, de la producción, la productividad y calidad de la biomasa cosechada (Demirbas., 2009; Pulz & Gross, 2004).

Estos organismos representan un gran potencial en la producción de una amplia variedad de productos bioquímicos, que pueden ser utilizados en diversos campos de la investigación: medicina, sector Industrial, comercial y alimentario. Representan una fuente renovable por ser utilizados en la captura de CO₂ atmosférico o los gases que son emitidos por las diferentes actividades humanas y de esta manera lograr la eliminación de los nutrientes de las aguas residuales (Srivastava & Pandey., 2020).

El uso de esta biomasa algal tiene un importante aprovechamiento para la producción de diversos productos farmacéuticos debido a su alto valor nutricional que se puede estimar mediante pruebas de carbohidratos, vitaminas, minerales, lípidos y proteínas, compuestos vitales para los seres humanos y animales (Mata *et al.*, 2010).

Como la biomasa suele contener grandes cantidades de agua es indispensable eliminarla antes de someterla a otros procesos. La elección del método debe ser el más eficiente y adecuado económicamente. Dentro de la gran variedad de bioproductos se destacan los biocombustibles, como el biohidrógeno. Así mismo se puede destinar con fines alimenticios ya sea como biofertilizantes o como alimento para peces, y otros tienen un importante potencial en sectores como el farmacéutico y el cosmético (Mata *et al.*, 2010; Pulz & Gross, 2004).

Además de los productos de valor agregado previamente mencionados, la biomasa algal tiene aplicaciones importantes en distintos ámbitos. El diagrama 2 resume algunas de estas aplicaciones en sectores como el industrial, medioambiental, químico y en la detección de actividad biológica.

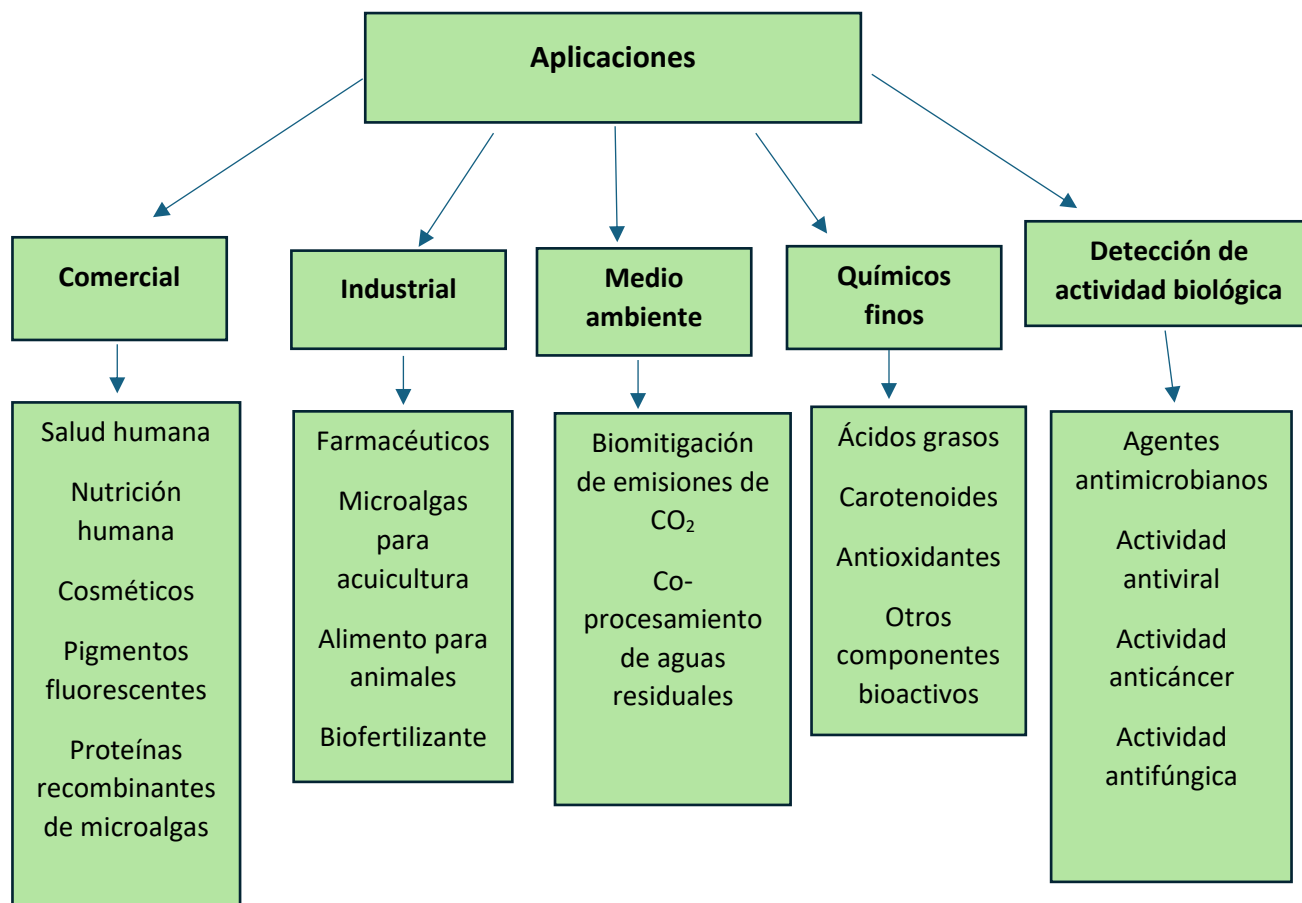


Diagrama 2: Aplicaciones potenciales de las algas. Modificado de Rizwan *et al.*, (2018).

2.8 Cianobacterias y microalgas en la agricultura

Las cianobacterias son una importante fuente para el desarrollo y crecimiento vegetal, además de brindar protección al suelo frente a los patógenos y proporcionar un mejoramiento de la fertilidad del suelo. Esto es posible, debido a la presencia de compuestos biológicamente activos que conocemos como compuestos fenólicos, polisacáridos, hormonas y proteínas. Las microalgas son también reconocidas por su alta capacidad en fertilizar el suelo y estimular el crecimiento de las plantas. El papel de las microalgas en la agricultura se divide en biofertilizantes, bioestimulantes y biopesticidas (Vallejo-Isaza., 2023; Gharagozloo *et al.*, 2014).

Es importante destacar que el uso de los bioestimulantes y biofertilizantes representan alternativas amigables con el medio ambiente y muy rentables, debido a su incidencia en la fertilización, el regulamiento del crecimiento vegetal y su

accionar como un producto fitosanitario frente al uso de otros productos tóxicos, sintéticos y con una notable persistencia (Vallejo-Isaza., 2023; Chiu *et al.*, 2011).

2.9 Características de especies

2.9.1 *Coelastrella* sp.

El género *Coelastrella* es conocido desde hace aproximadamente 100 años y comprende un número relativamente pequeño de especies descritas. Estas microalgas pertenecen a la clase *Chlorophyceae*, son mayoritariamente elípticas y se presentan como unicelulares o incluso pueden llegar a visualizarse agregaciones de pocas células. Son muy peculiares debido a su pared celular esculpida con 16 a 40 costillas meridionales, presentan células uninucleadas además de numerosas vacuolas llamativas y un solo cloroplasto. La pared celular es de doble capa y presenta un componente interior de celulosa y otro en la parte exterior trilaminar donde reside el material resistente a la acetólisis. Su forma celular, la presencia de su cloroplasto y sus estructuras pirenoides son características primordiales para su correcta identificación. A menudo se encuentran en sistemas acuáticos como lagos, estanques y ríos, donde pueden formar colonias o agrupaciones de células. (Luo *et al.*, 2016; Corato *et al.*, 2022). En las Figuras 2 y 3 se observa la morfología típica de *Coelastrella* bajo el microscopio óptico, donde pueden apreciarse las características antes mencionadas.

Al igual que otras microalgas verdes esta especie contiene cloroplastos, además contienen pigmentos verdes como la clorofila la cual les proporciona este color característico y les permite capturar la energía de la luz solar para convertirla en energía química. Un dato importante y relevante es que estas microalgas ayudan a mantener la calidad del agua en sistemas acuáticos al absorber nutrientes en exceso. Esta especie es de interés de investigación científica ya que su estudio brinda información sobre la ecología y la biodiversidad en sistemas acuáticos, además de que son utilizadas para la biología celular y por supuesto para el tratamiento de aguas residuales (Guiry, 2016; Abe *et al.*, 2004).

Se han realizado diversos estudios de *Coelastrella* donde se ha reportado un gran interés biotecnológico por sus altos valores de pigmentos y ácidos grasos, además de tener un gran potencial uso para la biorremediación (Ali *et al.*, 2022; Corato *et al.*, 2022; Maltsev *et al.*, 2021). Es importante considerar que la selección de especies y cepas de algas nativas es necesaria para evaluar el potencial biotecnológico de las microalgas, principalmente en entornos hostiles (Gardner *et al.*, 2011).

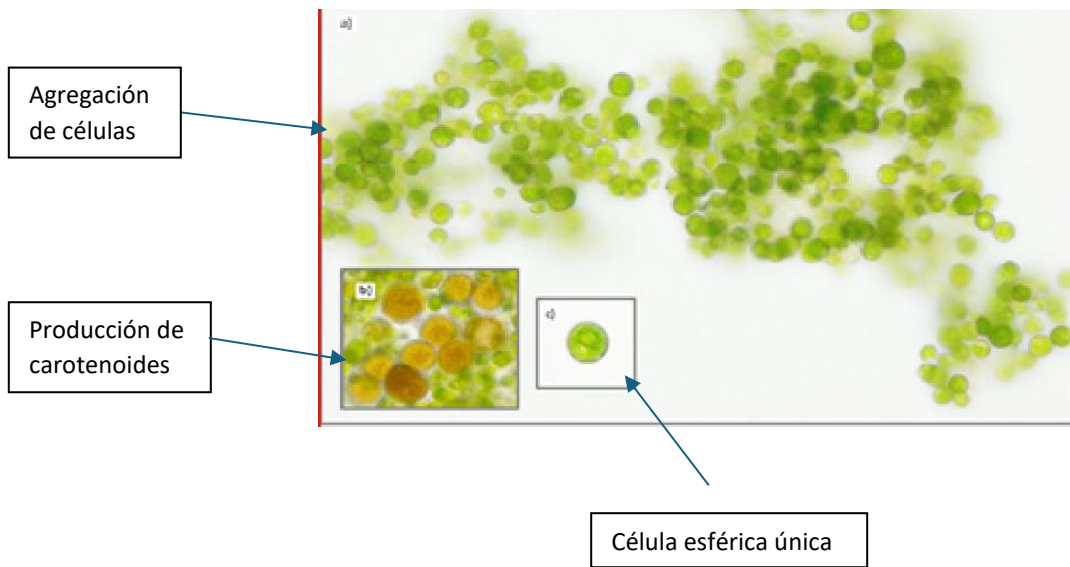


Imagen 3: Fotografía de microscopio de *Coelastrella*

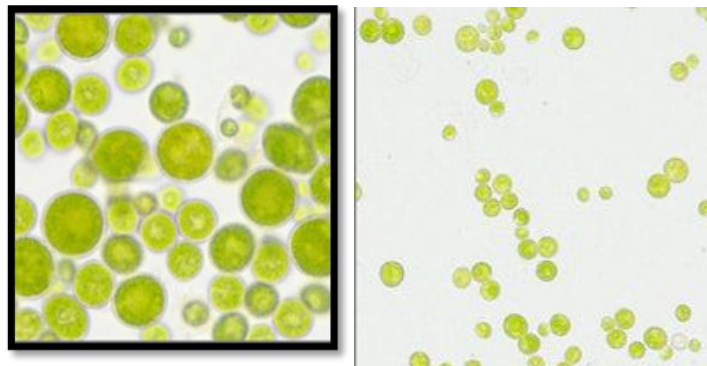


Imagen 4: Imágenes de *Coelastrella* sp.

El medio Guillard F/2, es un medio mineral estándar que se utiliza para mantener y propagar microalgas para el mantenimiento de estas o para procesos de biotecnología.

Clasificación taxonómica

Reino: Viridiplantae
 Filo: Chlorophyta
 Clase: Chlorophyceae
 Orden: Sphaeropleales
 Familia: Scenedesmaceae
 Género: *Coelastrella*

Especie: *Coelastrella* sp

2.9.2 *Limnospira* máxima

Limnospira maxima es conocida como espirulina y ha sido utilizada como alimento desde la antigüedad debido a su alto contenido de proteínas, el cual oscila entre el 43 y el 70%. Esta proteína es considerada de alta calidad debido a que pueden hidrolizarse en biopéptidos (Nowicka-Krawczyk *et al.*, 2019 & Yu *et al.*, 2016).

La espirulina ha sido comercializada y consumida por millones de personas en todo el mundo por lo que la Conferencia de las Naciones Unidas sobre la Alimentación la declaró como el mejor alimento del futuro, y la organización mundial de la salud (OMS) la calificó como el producto más viable para la salud humana. La UNESCO por su parte, la calificó como el alimento ideal del futuro y ha sido reconocida por la administración de alimentos y medicamentos como una de las mejores fuentes de proteínas (Jourdan., 2005 & Soni *et al.*, 2017).

La espirulina crece en condiciones alcalinas en cuerpos de agua con alta salinidad, y es cultivada en estanques de cultivo en condiciones controladas para su uso en aplicaciones comerciales. Esta especie tiene un importante reconocimiento en la industria alimentaria en la producción de suplementos dietéticos, productos alimenticios como tabletas, polvos y bebidas, y como un aditivo alimentario. También ha sido utilizada en la acuicultura como alimento para peces y camarones y en la biorremediación para eliminar nutrientes en aguas residuales, principalmente el nitrógeno y el fósforo (Trujillo & Lapo, 2023 & Ramírez-Moreno., 2006).

La mayoría de las especies de los géneros *Arthrospira* y *Limnospira* habitan distintos cuerpos de agua alcalinos donde crecen de forma masiva. Otras especies se han encontrado en cuerpos de agua dulce como ríos, manantiales y estanques (Belay, 2002; Martínez-García, 2022). Según análisis realizados sobre la composición bioquímica, se ha determinado que contiene proteínas, vitaminas, ácidos grasos, minerales, carbohidratos, ácidos nucleicos y pigmentos (Martínez-Ruiz *et al.*, 2022 & Ramírez-Moreno, 2006).

La mayoría de las investigaciones realizadas en laboratorio propone la utilización del medio Zarrouc clásico para el crecimiento y desarrollo del género *Limnospira*. Este medio está constituido principalmente de bicarbonato de sodio, junto con nitrato de sodio, sulfato de potasio, sulfato de magnesio, cloruro de calcio e hidrógeno fosfato dipotásico (Ragaza *et al.*, 2020; Gutiérrez-Barroso *et al.*, 2024).

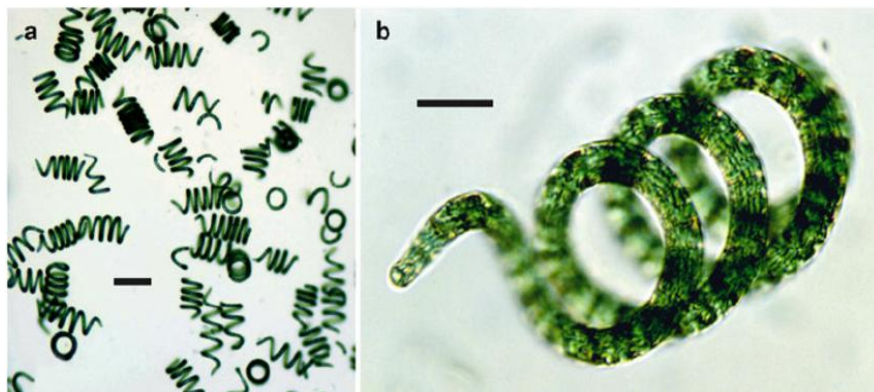


Imagen 5: Imágenes de *Limnospira maxima*

Clasificación taxonómica de *Limnospira maxima* por Guiry y Guiry (2023).

Reino: BACTERIA

Filo: Cyanobacteria

Clase: Cyanophyceae

Orden: Oscillatoriales

Familia: Microcoleaceae

Género: *Limnospira*

Especie: *Limnospira maxima* (Setchell y N.L. Gardner) Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová y Hauer 2019.

Ambas, *Coelastrella* y *Limnospira maxima* han sido utilizadas por diversos autores en procesos de biorremediación de efluentes contaminantes, y por su contenido nutricional tienen alto potencial para ser utilizadas como biofertilizantes (Aviña Padilla et al., 2024; Beaulier et al., 2023).

3. Justificación

Las descargas de aguas residuales de origen doméstico, industrial, agrícola y pecuario sin un tratamiento previo generan graves consecuencias ambientales, entre las que destaca la contaminación de los cuerpos de agua. Estas descargas afectan significativamente la calidad de las aguas superficiales y subterráneas, alterando su equilibrio físico, químico y biológico. De manera aún más preocupante, dicha contaminación representa un riesgo para la salud humana y compromete la integridad de los ecosistemas acuáticos y terrestres asociados.

Los principales contaminantes que se han encontrado es el nitrógeno y el fósforo además de compuestos orgánicos, bacterias, coliformes fecales, materia orgánica, sustancias químicas inorgánicas (metales pesados, sales) y

contaminantes emergentes como fármacos y plásticos. Un ejemplo de estas aguas residuales generadas en altas concentraciones es el agua de nixtamal, proveniente del proceso de nixtamalización para la fabricación de la tortilla. El problema radica en las grandes demandas de maíz que se tienen en el país, ya que este es el cultivo más representativo y su necesidad y utilización ha incrementado con el paso de los años.

En México, mensualmente se producen 1.2 millones de metros cúbicos de nejayote dado el alto consumo de tortilla y otros derivados del maíz. En dicho proceso se utilizan tres litros de agua por cada kilogramo de grano tratado, que son arrojados, en muchas ocasiones sin tratamiento previo, a los sistemas de drenaje e incluso directamente al suelo y mantos acuíferos. Este líquido de cocción, además de ser alcalino, contiene significativas concentraciones de materia orgánica en solución y suspensión, por lo que es altamente contaminante (Dávalos, 2025; Vázquez-López *et al.*, 2023).

El impacto ambiental negativo real se dimensiona si se consideran sus grandes volúmenes y las significativas cantidades que contiene de compuestos orgánicos e inorgánicos solubles e insolubles. Para combatir estas problemáticas generadas al medio ambiente se han desarrollado tratamientos que tienen como fin remover estos contaminantes generados. Algunos de estos tratamientos pueden ser físicos y/o químicos y biológicos (Vázquez-López *et al.*, 2023; Dávalos, 2025).

En este trabajo utilizamos un tratamiento biológico, de fitorremediación con microalgas ya que estas son amigables con el medio ambiente y la biomasa que se obtiene durante estos tratamientos puede ser reutilizada para la formación de nuevos productos; como biofertilizantes, por lo tanto, representa un círculo virtuoso para la sociedad, y es un claro ejemplo de economía circular.

4. Hipótesis

1. Si los cultivos de microalgas se han utilizado de manera eficiente en el tratamiento de aguas residuales, las especies seleccionadas en esta investigación podrán ser eficientes para el tratamiento del nejayote.
2. Debido a que las microalgas y cianobacterias almacenan compuestos de interés durante el proceso de fitorremediación, la biomasa algal cosechada posterior a dicho proceso puede tener un uso potencial en la producción de bioproductos como biofertilizantes.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

Evaluar el tratamiento de biorremediación del nejayote mediante la implementación de cultivos de microalgas del género *Coelastrella sp* y *Limnospira maxima*

5.2 Objetivos Particulares

1. Evaluar cuál de las especies seleccionadas de microalgas: *Coelastrella sp.* o *Limnospira maxima*, es más eficiente en el tratamiento del nejayote.
2. Analizar si la biomasa algal producida durante el proceso de biorremediación puede ser utilizada para la producción de biofertilizantes.

6. Metodología

6.1 Obtención de la muestra de agua de nixtamal

La muestra de nejayote fue proporcionada por una tortillería de la Alcaldía Iztapalapa en el pueblo de Santa Cruz Meyehualco. Posteriormente se trasladó al laboratorio y se filtró para eliminar el exceso de materia orgánica. Finalmente se esterilizó la muestra en la cámara UV durante un lapso de 48 horas.

Se prepararon tres diluciones de 100%, 70% y 50% de esta agua de nixtamal con agua destilada estéril.

6.2 Especies seleccionadas

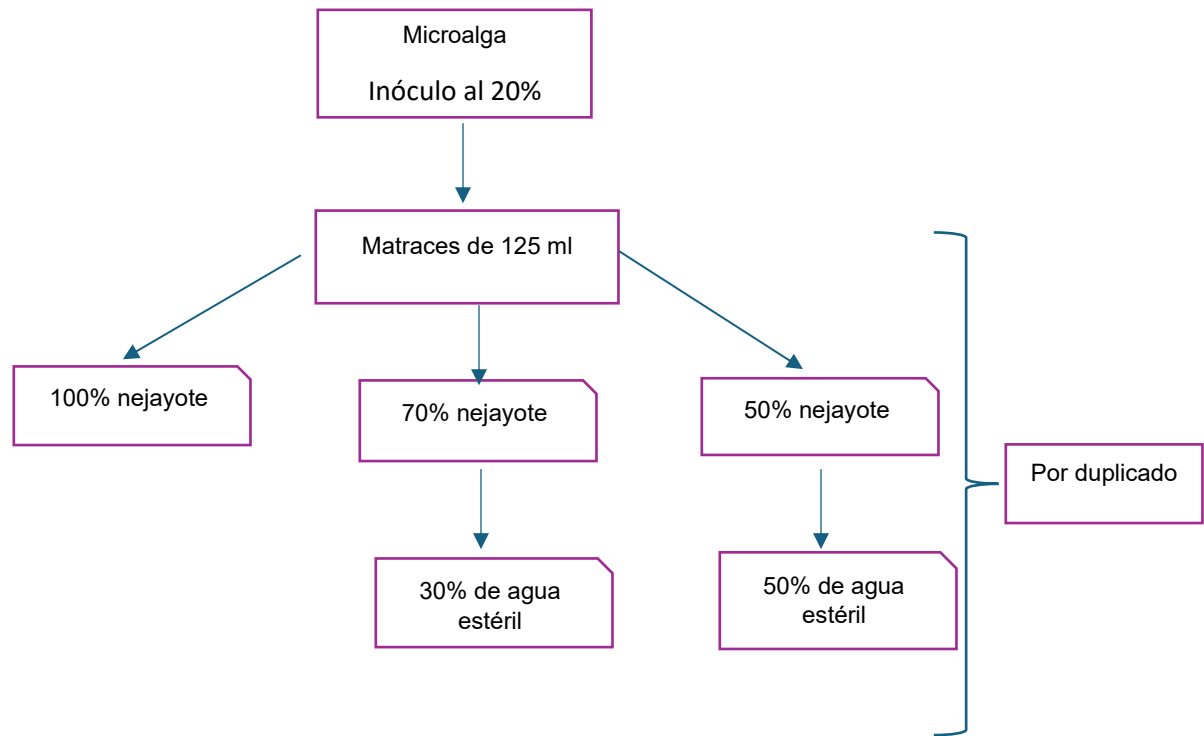
Se utilizaron las cepas de *Coelastrella* sp. y *Limnospira maxima*, ambas pertenecen a la Colección de Cultivos del Laboratorio de Ficología Aplicada de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa las cuales fueron aprovechadas para fines académicos y de investigación en el tratamiento de aguas residuales.

6.3 Primera fase del experimento

Se prepararon tres diluciones por duplicado del agua de nixtamal al 50, 70 y 100 % y agua destilada estéril

Se colocó un control con el medio de cultivo idóneo para cada especie. En el caso de *Coelastrella* se utilizó medio F/2 y para *Limnospira* el medio Jordan modificado.

En cada caso se colocó un inóculo de cultivo de las microalgas al 20% de crecimiento en fase exponencial. En el diagrama 3 se explica a detalle la metodología.



6.3.1 Conteos celulares

Se tomaron muestras dos veces a la semana para monitorear el crecimiento celular. En el caso de *Coelastrella* se realizó el conteo en cámara de Neubauer (imágenes 6 y 7) y en el caso de *Limnospira* en cámara de Sedgewick Rafter (Arredondo-Vega y Voltolina, 2007).



Imagen 6: Cámara de Neubauer o hematocitómetro.

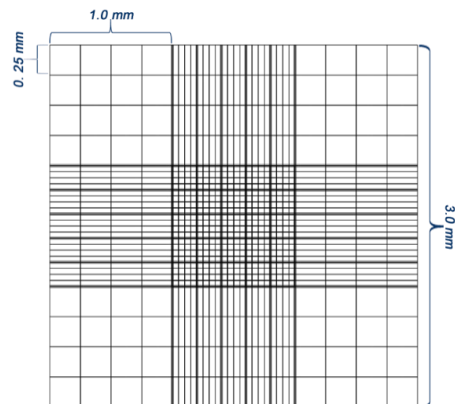


Imagen 7: Dimensiones de la cuadrícula de la cámara de Neubauer

6.3.2 Segunda fase del experimento

Una vez concluidos los conteos celulares, se seleccionó la especie que se adaptó mejor al crecimiento en el nejayote y se procedió a realizar el experimento en escala de fotobiorreactores de 20 litros, con capacidad real de 16 litros.

Se montaron 3 fotobiorreactores en la dilución del 50 %, en la cual se presentó el mayor crecimiento celular.

Se colocó un control con el medio de cultivo idóneo. Y se realizó monitoreo dos veces a la semana tomando 20 mL para análisis de crecimiento celular y de consumo de nutrientes. Las muestras para conteo se fijaron con acetato de Lugol y las muestras de análisis de nutrientes se congelaron para su análisis posterior. Así mismo durante esta fase se consideraron varios aspectos a implementar para tener un cultivo en condiciones óptimas como aireación y al pH ajustado.

Los reactores se mantuvieron a 25 grados centígrados en fotoperíodo de 12:12 L:O, manteniendo una aireación continua mediante burbujeo (0.6vvm), proporcionada a través de bombas de acuario. A continuación, se muestra en el diagrama 4 esta etapa del procedimiento.

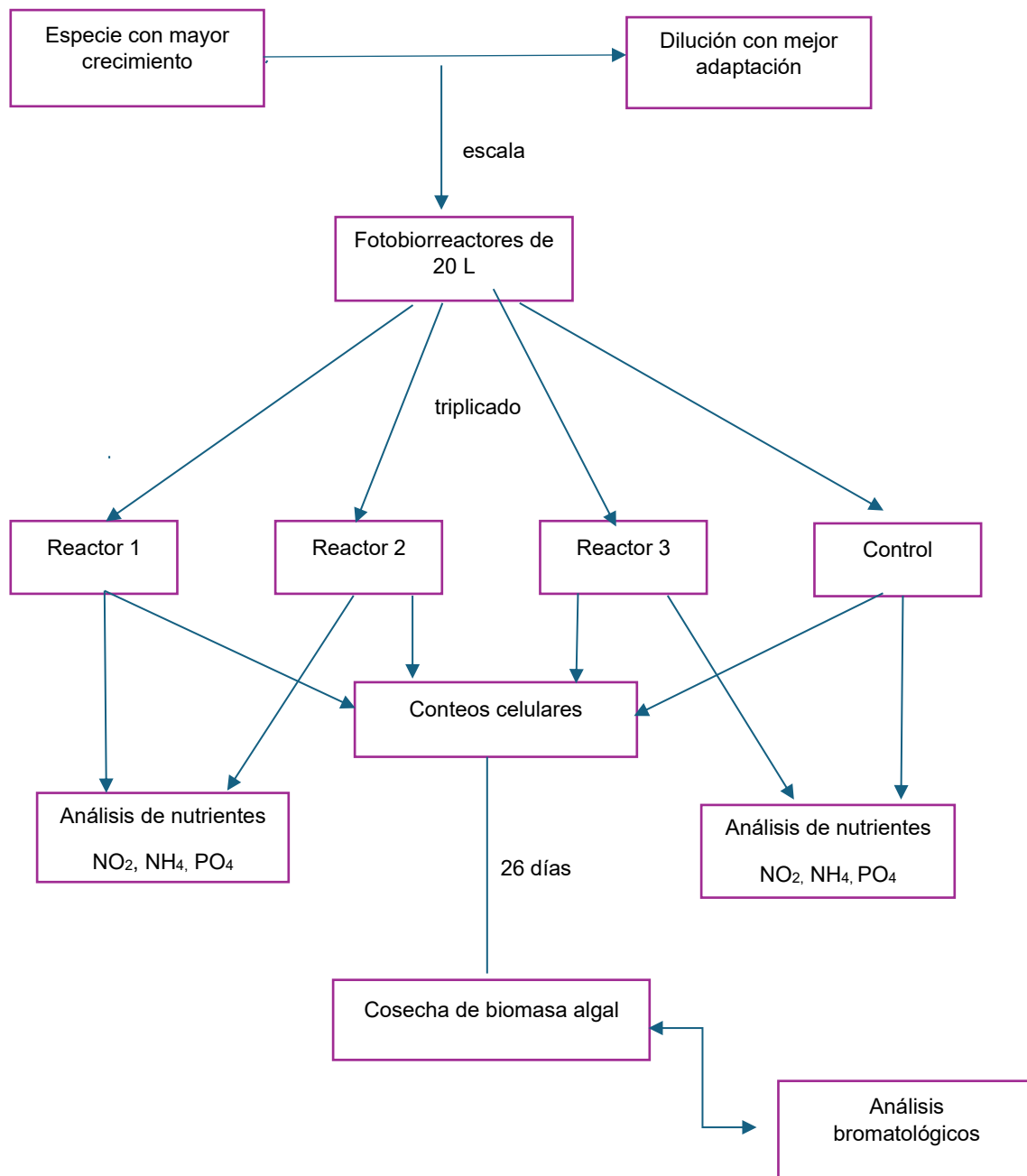


Diagrama 4: Diagrama de fase de escalamiento (Fuente: propia)

6.3.3 Cosecha de biomasa algal

La fase de la cosecha de la biomasa algal se realizó mediante filtración con una malla de serigrafía y se recolectó en cajas de Petri, para cada reactor.

Una vez que se filtró toda el agua y se conservó únicamente la biomasa, fue trasladada a la estufa para mantenerla a 34°C, para que se secase durante 24 horas.

Posteriormente se retiró de la estufa y se recolectó con ayuda de una espátula a tubos de ensayo previamente etiquetados con el nombre de cada reactor. La biomasa se pesó y se resguardó para posteriormente realizar los análisis bromatológicos de proteínas, carbohidratos y lípidos. En las imágenes 8, 9 y 10 se visualiza el proceso de la cosecha de biomasa algal.

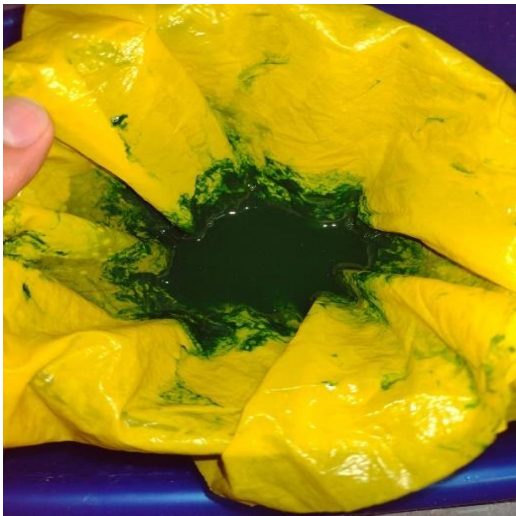


Imagen 8: Cosecha de biomasa algal



Imagen 9: Biomasa algal de *Limnospira maxima*



Imagen 10: Biomasa algal seca

6.4 Determinación de nutrientes

Los nutrientes (amonio, nitrito y fosfatos) se analizaron siguiendo los protocolos marcados en el Standard Methods for the examination of water and waste water (APHA, 1998).

A continuación, se describen los procedimientos de cada uno de los nutrientes.

6.4.1 Amonio

El amonio se analizó por el Método del Fenato, técnica colorimétrica de amonio (azul de indofenol) basada en un compuesto de color azul intenso, indofenol, que es formado por la reacción del amonio con el fenol, favorecido por el ion hipoclorito en condiciones alcalinas y catalizada por el nitroprusiato de sodio el cual favorece la intensidad del color en la reacción (Parmer., 2022).

La absorbancia requerida para leer este procedimiento en el espectrofotómetro es a 640 nm.

❖ Procedimiento

- Se centrifugaron 10 ml de la muestra.
- Se consideró la posible carga de NH_4 para realizar diluciones; 1:10, 1:100.
- Se agregó a cada tubo de ensayo 5 ml de muestra + 0.2 ml de fenol + 0.2 ml de nitroprusiato + 0.5 ml de solución oxidante.
- Se preparó el “blanco” agregando 5 ml de agua destilada + 0.2 ml de fenol + 0.2 ml de nitroprusiato + 0.5 ml de solución oxidante.
- Se agitó e incubó 2 horas en oscuridad.
- Se leyó en espectrofotómetro a una longitud de onda de 640 nm.

El cálculo de la concentración de la muestra se realizó por medio de la ecuación de la recta, obtenida de la curva de calibración.

$$y = mX + b$$

Donde:

Y= absorbancia

X= concentración mg/l de NH_4

M= pendiente

B= ordenada al origen

Factor de dilución = 5/ml de muestra

X= ((y-b) /m) (Factor de dilución)

6.4.2 Nitritos

El principio del método consiste en que los nitritos presentes reaccionan en medio ácido (pH = 1,9 a 2,5), para formar ácido nitroso que reacciona con la sulfanilamida por una reacción de diazoación para formar una sal de diazonio, la cual por copulación con el diclorhidrato de N-(1-Naftil) etilendiamina forma un colorante azóico de color purpura rojizo que se mide espectrofotométricamente a 543 nm.

❖ Procedimiento

- Se tomaron 5 ml de la muestra, y se colocaron en un tubo de ensayo al que se le agregaron 0.1 ml de solución Sulfanilamida, y se esperó 5 minutos.
- Pasados los 5 minutos, se agregaron a cada tubo de ensayo, 0.1 ml de solución NEDA, se agitaron y esperamos 10 minutos.
- La muestra se leyó a una absorbancia de 543 nm.

Para calcular la concentración de la muestra por medio de la ecuación de la recta que se obtiene de las curvas de calibración se empleó la siguiente ecuación:

$$y = mX + b$$

Donde

y= absorbancia de la muestra

m= pendiente

b= ordenada al origen

Se despejó X para que nos dé µg de N-N02. Para calcular la concentración de la muestra se tomaron en cuenta los factores de dilución que se realizaron.

6.4.3 Ortofosfatos

El método consiste en que la materia orgánica de la muestra es destruida por medio de una digestión con persulfato de amonio y ácido sulfúrico, rompiendo las ligaduras orgánicas del fósforo (C-P y/o C-O-P), e hidrolizando las polifosfatos a ortofosfatos.

❖ Procedimiento

- Se filtró un volumen de la muestra para retirar sólidos suspendidos.
- Se consideró la posible carga de PO₄ y se realizaron diluciones 1:20, 1:10, 1:5.

- Se agregó a cada tubo de ensayo 5 ml de muestra + 0.8 ml de la mezcla de reactivos.
- Se preparó el “blanco” con 5 ml de agua destilada + 0.8 ml de la mezcla de reactivos.
- Se agitaron los tubos y dejaron reposar 15 minutos.
- Se leyeron en espectrofotómetro a una longitud de onda de 880 nm.

Para calcular la concentración de la muestra por medio de la ecuación de la recta que se obtuvieron de las curvas de calibración, se emplea la siguiente ecuación:

$$y = mX + b$$

Donde:

m= es la pendiente

b= es la ordenada al origen

y= es la absorbancia

X= es la concentración (mg P/L).

6.4 Análisis bromatológicos

Con la biomasa algal seca se procedió a realizar los análisis bromatológicos, siguiendo las metodologías establecidas en la literatura (Arredondo-Vega & Voltolina, 2007).

6.4.1 Carbohidratos

Para la determinación de carbohidratos se utilizó el método colorimétrico del fenol-acido. El H_2SO_4 , hidroliza los enlaces glucosídicos y el fenol reacciona con el monosacárido resultante para posteriormente producir un producto coloreado (DuBois *et al.*, 1956).

❖ Procedimiento

- Se pesaron 5 mg de biomasa.
- Se agregó 1 ml de H_2SO_4 1.0M.
- Se sonicó durante 5 min.
- Se agregaron otros 5 ml de H_2SO_4 1.0M.
- Se colocaron los tubos tapados en un termo-baño a 100°C por una hora.
- Después de la hora se sacaron del termo-baño y se dejaron enfriar a temperatura ambiente.
- Se centrifugó a 4000 rpm/10°C por 15 min.

- Se separó el extracto ácido con pipeta Pasteur, sin resuspender la pastilla y se pasó a un tubo limpio.
- Se tomaron 1 ml del extracto ácido y se agregó 1 ml de fenol al 5% y se mezcló. Se dejó reposar 40 min.
- Posteriormente se agregaron lentamente 5 ml de H₂SO₄ concentrado (en campana de extracción). Se dejó enfriar a temperatura ambiente, para finalmente leer a 485 nm.
- El espectrofotómetro se calibró con un blanco que se preparó de la misma manera, sustituyendo el extracto ácido de la muestra con 1 ml de H₂SO₄ 1.M.

La ecuación para determinar el porcentaje de carbohidratos en una muestra de microalga es:

$$\% \text{ Carbohidratos} = [[(m \cdot A_{485\text{nm}}) / V_m] \cdot V_E] / P_s \cdot 100$$

Donde:

m= es la pendiente

A= es la absorbancia (485nm)

V_m = el volumen de muestra (ml)

V_E = Volumen del extracto ácido (ml)

P_s = el peso seco (mg)

6.4.2 Proteínas

Para la cuantificación de las proteínas se utilizó el método de Lowry, el cual está basado en la espectrofotometría de la intensidad de color obtenido con el reactivo de Folin-Ciocalteu (ácido fosfomolibdico-túngstico). Este reactivo oxida los aminoácidos aromáticos como tirosina y triptófano, presentes en la mayoría de las proteínas, siendo reducidos a hetero poli molibdeno azul (Peterson, 1979).

❖ Procedimiento

- Se pesaron 5 mg de biomasa.
- Se agregaron 5 ML de hidróxido de sodio 0.1 n.
- Se centrifugó a 3000 rpm a 15°C por 15 minutos.
- Se recuperó el extracto alcalino y se colocó en otro tubo limpio y etiquetado.
- Se volvió a centrifugar a 3000 rpm por 15 minutos a 10°C, y se volvió a recuperar el extracto.
- Se colocó el extracto alcalino obtenido en la segunda extracción en el mismo tubo donde está el de la primera extracción y todo se mezcló en un vortex.
- Del extracto alcalino total obtenido se tomaron tres volúmenes diferentes: 250 500 y 750 µL y se completaron a 1 mL con NaOH 0.1 n, se agitaron en vortex para homogenizar.

- Se preparó la solución Na_2CO_3 al 2% (p(v), en NaOH 0.1N (solución A).
- Se preparó la mezcla 1:1 de CuSO_4 al 0.5% en tartrato de K al 1% y se agitó (solución B).
- Se agregó a la muestra (extracto alcalino) 5 ML de la mezcla NaCO_3 al 2% en NaOH 0.1N + CuSO_4 al 5% y tartrato de potasio al 1% en una proporción de 50:1 (solución C), se mezcló en vortex y se dejó reposar 15 min.
- Se agregaron 500 μL de la solución 1:1 de Folín: H_2O destilada (solución D), se agitó en vortex y se dejó reposar en la oscuridad 40 minutos.
- Posteriormente se leyó en el espectrofotómetro a 750 nm, calibrando el equipo con un blanco preparado usando el mismo tratamiento que el de las muestras, pero utilizando 1 ml de NaOH 0.1N en lugar de muestra.

La ecuación para determinar el porcentaje de proteínas en una muestra de microalga es:

$$\% \text{ Proteínas} = [[(m \cdot A_{750\text{nm}}) / V_m] \cdot V_E] / P_s \cdot 100$$

Donde:

m= es la pendiente

A= es la absorbancia (750nm)

V_m = el volumen de muestra (ml)

V_E = Volumen del extracto alcalino (ml)

P_s = el peso seco (mg)

6.4.3 Lípidos

Se utilizó el método propuesto por Folch *et al.*, (1956) y mejorado por Bligh y Dyer (1959). Esta técnica está basada en la formación de una mezcla monofásica de cloroformo, metanol y agua, y de esta manera se asegura la extracción de la mayoría de los lípidos incluidos aquellos que se encuentran ligados a otras moléculas. Se agrega agua y cloroformo al extracto resultante y de esta manera se forma una solución bifásica comprendida por metanol y agua en la parte superior y en la parte inferior cloroformo (Bligh & Dyer, 1959).

❖ Procedimiento

- Se pesaron: 0.005g de biomasa (tubo 1) y 0.050g de biomasa (tubo 2).
- Se le agregó 3 ml de Solución A (Mezcla de solventes CHCl_3 (cloroformo): CH_3OH (metanol) 1:2 a cada tubo.
- Se agregó la Solución B (10 ml de solución de BHT + 1 ml de estándar de colesterol. 0.1 ml al tubo 1 y 1.0 ml al tubo 2.
- Se dejó sonicar por 15 min/ 3 ciclos en un baño de agua con hielo.

- Se metieron a incubar los tubos 24h/4°C, protegidos de la luz.
- Se sonicaron otros 15min/ 3 ciclos en baño de agua con hielo.
- Se centrifugaron a 5000 rpm/20min a 5°C.
- Se recuperó el sobrenadante a tubos limpios y etiquetados.
- Se agregó al pellet 1.5ml de Solución A y centrifugar (5000rpm/20min a 5°C) y se recuperó el extracto.
- Se agregó 2ml de H₂O destilada al tubo 2 que contiene el extracto y se agitó en vortex.
- Se eliminó el exceso de agua de la capa superior con pipeta Pasteur y se centrifugó a 5000rpm/10min a 5°C para separar la fase inferior formada de cloroformo y lípidos.
- Se dejó secar por 24horas hasta que se formó una pastilla.

❖ Cuantificación de lípidos por método de calcinación Marsh y Weinstein, 1966

- La pastilla que se formó, se resuspendió con 1ml de CHCl₃ (cloroformo) y se mezcló en vortex.
- Se separaron 100μL en un tubo limpio y se preparó el blanco con 100μL de H₂SO₄.
- Se agregó a todos los tubos 2 ml de H₂SO₄ concentrado, en baño de hielo.
- Se sellaron los tubos con papel aluminio y cerraron con tapa, se puso a calentar a 200°C/15min.
- Se dejó reposar 5min a temperatura ambiente.
- Se colocaron los tubos en agua con hielo, 5min y se les agregó 3ml de H₂O destilada, se taparon y mezclaron hasta homogenizar.
- Se leyeron a 375 nm, calibrando con el blanco de ácido sulfúrico que se trata de igual manera que las muestras.

La ecuación para determinar el porcentaje de proteínas en una muestra de microalga es:

$$\% \text{ Lípidos} = 100 \times [(A/FC) V_e / (P)]$$

Donde:

A= la absorbancia

FC= el factor de corrección o pendiente de la curva de calibración

V_e= Volumen del extracto (ml)

P= el peso de la muestra (mg)

7. Resultados

7.1 Primera Fase del Experimento

Los experimentos de cultivo de *Coelastrella* sp. y *Limnospira maxima* tuvieron una duración de 21 días. Y en las fotografías 11, 12 y 13 se aprecian los cambios de coloración del medio de cultivo, iniciando en un tono amarillo oscuro por el nejayote, pasando a convertirse en un verde claro con el crecimiento de las microalgas.

¿



Imagen 11: Diluciones con nejayote a diferentes concentraciones de la especie *Coelastrella* sp.



Imagen 12: Diluciones de *Limnospira máxima* con nejayote



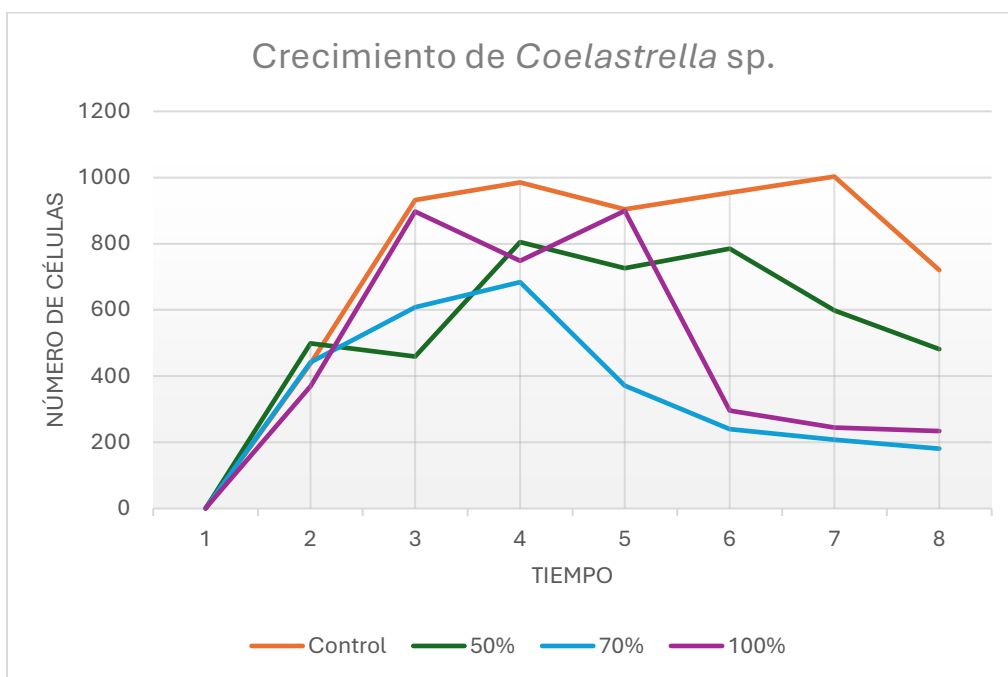
Imagen 13: Diluciones de *Limnospira maxima* después de 10 días

La especie *Coelastrella* sp. creció en las tres diluciones del nejayote, (Tabla 8) sin embargo, en la de 50 % fue donde obtuvo un crecimiento similar al control, con el mayor número de células. A pesar de esto, se presentó de manera constante la contaminación con diatomeas, las cuales con el paso del tiempo no se lograban eliminar del cultivo (imagen 14). Esto redujo la efectividad del crecimiento celular de la *Coelastrella*. El desempeño del crecimiento celular de *Coelastrella* sp con las distintas diluciones sp se visualiza en la gráfica 1

Tabla 8: Crecimiento de *Coelastrella* sp. con 3 distintas diluciones 100%, 70% y 50%

Tiempo	Control cel/mL	50% cel/mL	70% cel/mL	100% cel/mL
1	438	499	442	369.5
2	932.5	459	608	897.5
3	985.5	805	684	748.5
4	904	726	371.5	899.5
5	954	785.5	239.5	295.5
6	1003	599	207.5	244.5
7	720	482	181	234

7.1.1 Conteos celulares de *Coelastrella* sp.



Gráfica 1: Crecimiento de *Coelastrella* sp. en nejayote. Diluciones 100%, 70% y 50%

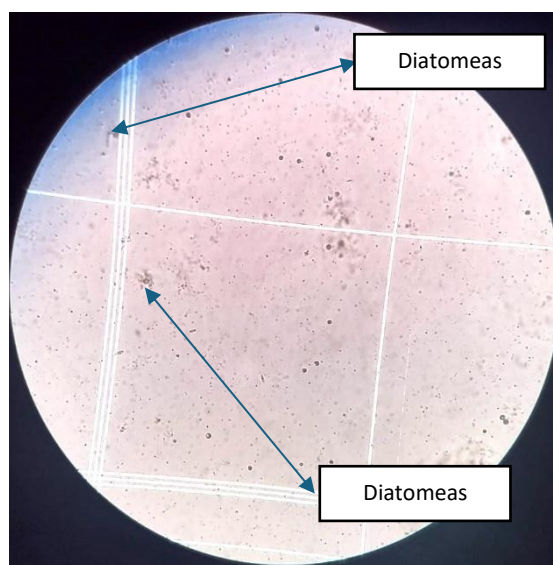
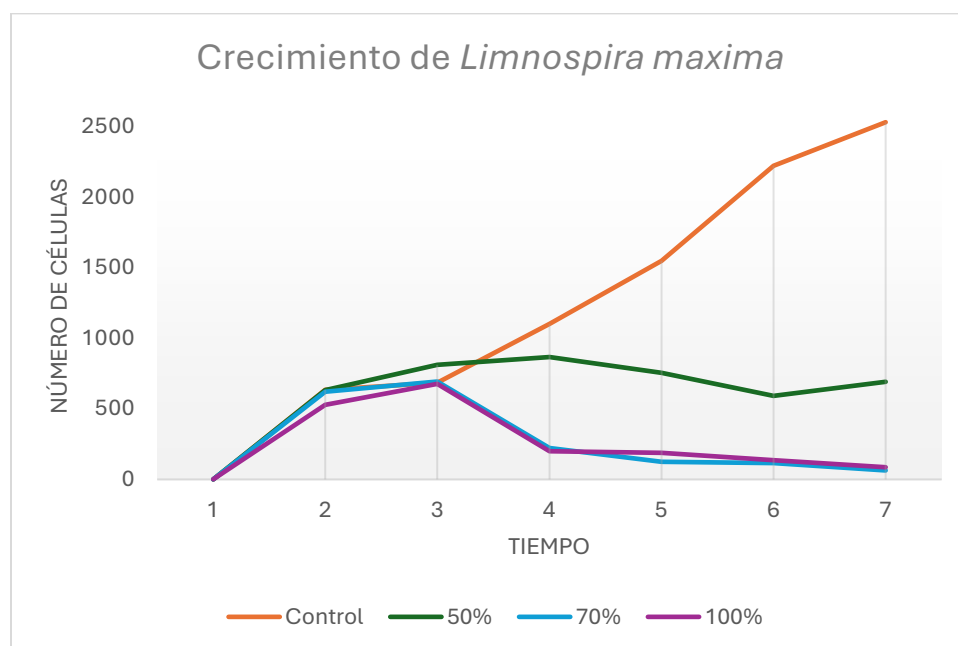


Imagen 14: Presencia de diatomeas en dilución 100%

7.1.2 Conteos celulares *Limnospira máxima*

Tabla 9: Crecimiento de *Limnospira maxima* con 3 distintas diluciones 100%, 70% y 50%

Tiempo	Control cel/mL	50% cel/mL	70% cel/mL	100% cel/mL
1	635	632	622	529
2	685	812.5	693	676.5
3	1101	866.5	221.5	199
4	1549	755	125	188.5
5	2222	590.5	115.5	135
6	2529.5	691.5	62.5	85.5



Gráfica 2: Crecimiento de *Limnospira maxima* en nejayote. Diluciones 100%, 70% y 50%

El crecimiento de *Limnospira* no presentó contaminación con diatomeas. Y aunque el crecimiento tiene diferencias significativas con el control, la dilución donde se observó mayor crecimiento celular fue en la del 50 %. Esto se puede apreciar en la gráfica 2. Por tanto, se decidió continuar con la siguiente fase del experimento utilizando esta cianobacteria. Esto se puede apreciar en la imagen 16 y 18.

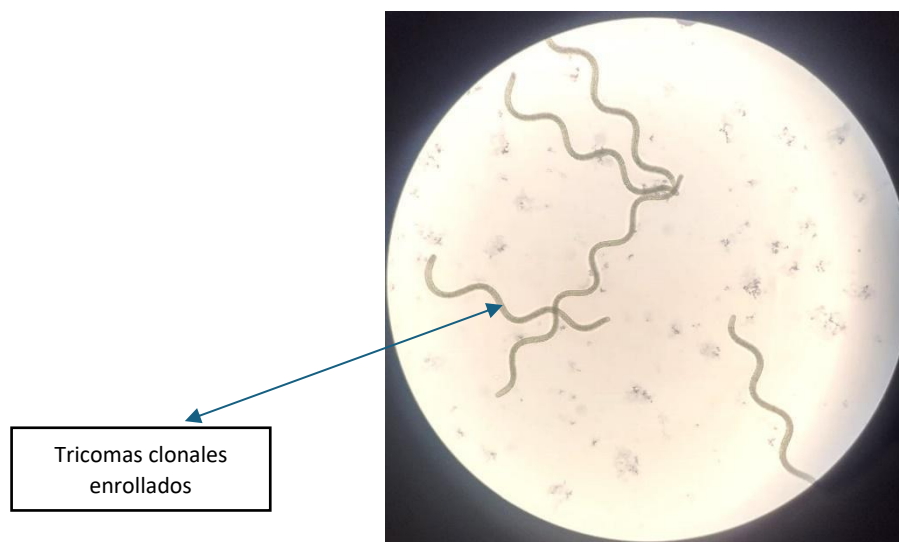


Imagen 15: *Limnospira maxima* en dilución 50%

7.2 Segunda fase

Debido al volumen de cultivo y de la necesidad de aireación constante, se decidió trabajar el cultivo de *Limnospira maxima* con ajustes de pH, ya que es un factor crítico en el cultivo de microalgas principalmente para la estabilidad del medio (imagen 17). Los resultados del monitoreo del pH ajustado se muestran en la tabla 11 y en la gráfica 4.



Imagen 16: Montaje del experimento en campana de flujo laminar



Imagen 17: Monitoreo del pH

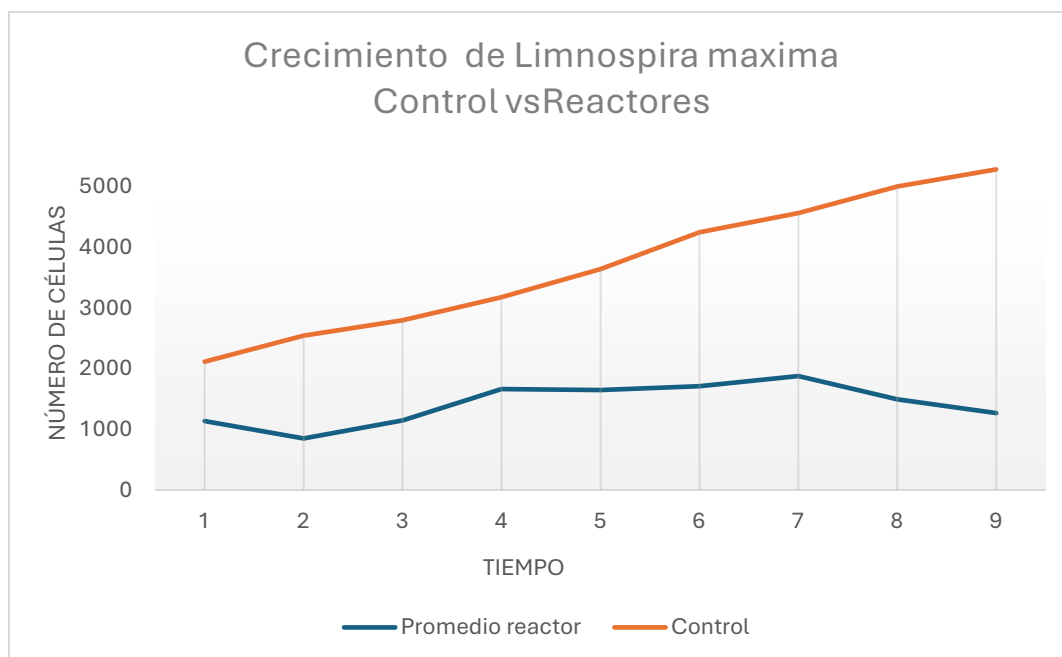


Imagen 18: Escalamiento de experimento en fotobiorreactores de 20 litros

7.2.1 Conteos celulares

Tabla 10: Crecimiento de *Limnospira maxima* dilución 50% en 20 L

Tiempo	Reactor 1 cel/mL	Reactor 2 cel/mL	Reactor 3 cel/mL	Promedio cel/mL	Control cel/mL
1	1230	1098	1080	1136	2116
2	1060	834	656	850	2545
3	1340	1410	692	1147.3	2800
4	1604	1920	1474	1666	3177
5	1126	2211	1612	1649.6	3643
6	850	2553	1732	1711.6	4250
7	695	2816	2124	1878.3	4565
8	571	2316	1601	1496	5003
9	392	2050	1363	1268.3	5286



Gráfica 3: Conteos de *Limnospira máxima* en dilución 50 volumen 20L

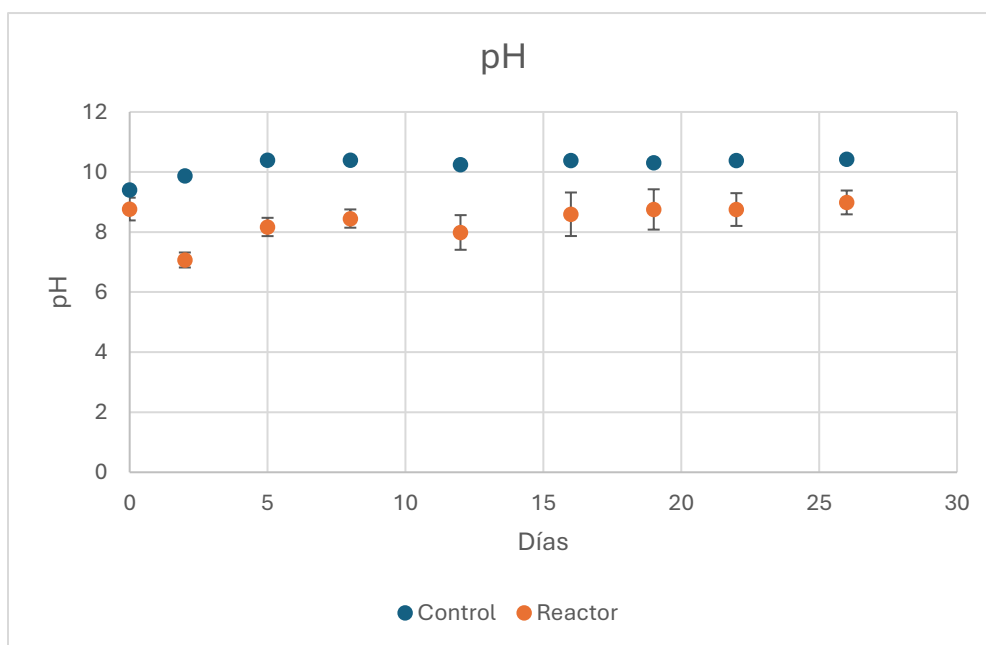
La especie *Limnospira maxima* tuvo un crecimiento similar al de la primera fase del experimento. Este volumen de cultivo no logró superar la producción de biomasa del control, pero se adaptó a las condiciones extremas del medio de cultivo. Los resultados de los conteos se muestran en la tabla 10 y se interpretaron en la grafica 3.

7.2.2 Registro de pH

Tabla 11: Registro de pH en fotobiorreactores durante el tratamiento con *Limnospira maxima*

Tiempo	Reactor 1	Reactor 2	Reactor 3	Promedio reactor	Control
1	9.2	8.6	8.5	8.77	9.4
2	7.07	7.32	6.82	7.07	9.87
3	8.11	8.5	7.9	8.17	10.4
4	8.1	8.6	8.65	8.45	10.4
5	7.32	8.33	8.31	7.99	10.25

6	7.86	9.31	8.61	8.59	10.39
7	8.23	9.51	8.52	8.75	10.31
8	8.22	9.31	8.72	8.75	10.39
9	8.54	9.3	9.12	8.99	10.43



Gráfica 4: Monitoreo del pH durante el cultivo de *Limnospira maxima*

El pH jugó un papel fundamental y crítico para lograr que el cultivo se realizara de la forma adecuada por varias razones, el pH influye en la actividad enzimática que controla muchas reacciones bioquímicas dentro de las células de las microalgas; por lo tanto, un pH incorrecto afecta la actividad enzimática que es necesaria para el correcto crecimiento y reproducción de las microalgas (González-Portela *et al.*, 2024).

Cómo podemos apreciar en la gráfica 4 a partir del segundo día hubo una disminución de células y esto se debió a que el pH bajó; por lo tanto, fue indispensable ajustarlo con ayuda de hidróxido de sodio para lograr volver a subir el pH de 7 a 8 que es un pH aceptable y requerido para el cultivo del *Limnospira máxima*. Mientras el pH se mantuvo por encima de 8 el crecimiento celular fue adecuado y las células no llegaron a un punto de estrés que tuviera como consecuencia que se afectara negativamente su crecimiento y productividad.

7.3 Análisis de nutrientes

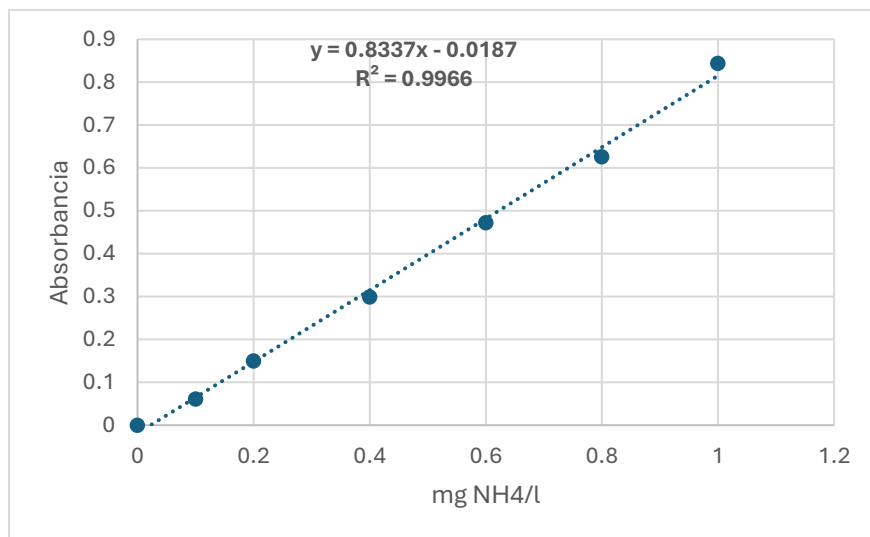
Para evaluar la eficiencia del proceso de biorremediación aplicado al efluente, se realizó un análisis de nutrientes inorgánicos presentes comúnmente en las aguas residuales, específicamente amonio (NH_4^+), nitritos (NO_2^-) y ortofosfatos (PO_4^{3-}). La determinación de estos parámetros resulta fundamental para corroborar la eficacia del tratamiento, verificando que sus concentraciones disminuyan significativamente tras el proceso de biorremediación.

7.3.1 Amonio

Los resultados de la curva de calibración fue de un $R^2 = 0.9966$ (Tabla 12), y la ecuación se observa en la gráfica 5. En la imagen 19 se muestra el procedimiento experimental durante la aplicación la técnica del Fenato en el laboratorio.

Tabla 12: Absorbancias obtenidas de la curva de calibración de amonio

Amonio			
mg/L	Absorbancia	Absorbancia	Promedio
0	0	0	0
0.1	0.054	0.069	0.062
0.2	0.164	0.136	0.15
0.4	0.329	0.269	0.299
0.6	0.513	0.432	0.473
0.8	0.691	0.562	0.627
1.0	0.855	0.833	0.844



Gráfica 5: Curva de calibración de amonio

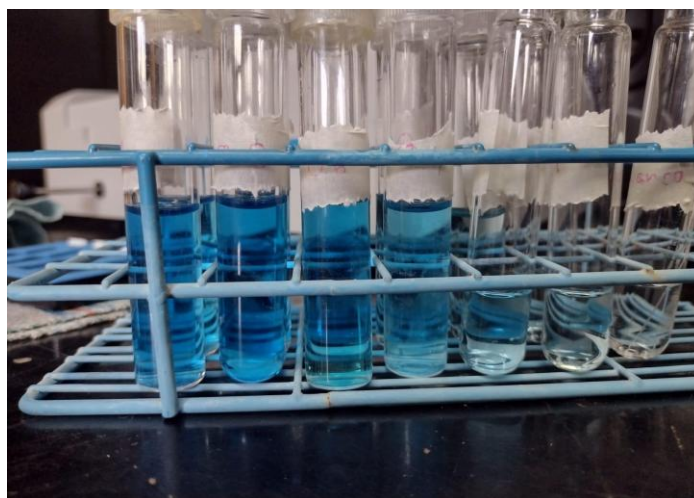


Imagen 19: Análisis de amonio durante la técnica del Fenato

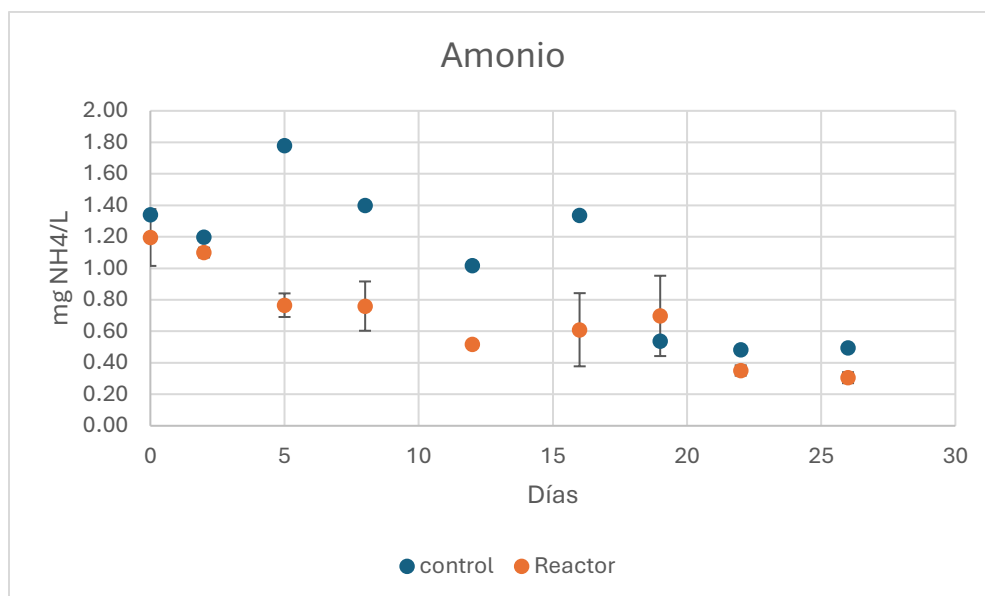
Tabla 13: Absorbancias obtenidas de las muestras durante el análisis de Amonio

	Control	R1	R2	R3
día	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia
0	0.205	0.215	0.159	0.168
2	0.181	0.085	0.078	0.088
5	0.278	0.105	0.099	0.123
8	0.378	0.246	0.216	0.268
12	0.151	0.068	0.069	0.066
16	0.204	0.193	0.266	0.207
19	0.071	0.066	0.146	0.081
22	0.062	0.135	0.112	0.136
26	0.188	0.116	0.092	0.118

Se sustituyeron las absorbancias en la ecuación obtenida de la curva de calibración, para así obtener las concentraciones de amonio en cada muestra. En las tablas 13 y 14 se muestran las absorbancias obtenidas de las muestras durante el análisis de amonio y los cálculos realizados para la obtención de la concentración de mgNH_4/L .

Tabla 14: Cálculos realizados para la obtención de la concentración de mgNH_4/L

Control	R1	R2	R3	Control	R1	R2	R3	Control	R
mgNH_4/L	mgNH_4/L	mgNH_4/L	mgNH_4/L	dil.	dil.	dil.	dil.	mgNH_4/L	mgNH_4/L
0.27	0.28	0.21	0.22	1.34	1.40	1.07	1.12	1.34	1.20
0.24	0.12	0.12	0.13	1.20	0.62	0.58	0.64	1.20	1.10
0.36	0.15	0.14	0.17	1.78	0.74	0.71	0.85	1.78	0.77
0.48	0.32	0.28	0.34	2.38	1.59	1.41	1.72	1.40	0.76
0.20	0.10	0.11	0.10	1.02	0.52	0.53	0.51	1.02	0.52
0.27	0.25	0.34	0.27	1.34	1.27	1.71	1.35	1.34	0.61
0.11	0.10	0.20	0.12	0.54	0.51	0.99	0.60	0.54	0.70
0.10	0.18	0.16	0.19	0.48	0.37	0.31	0.37	0.48	0.35
0.25	0.16	0.13	0.16	0.5	0.32	0.27	0.33	0.50	0.31



Gráfica 6: Concentración de NH₄ respecto a los días

En la gráfica 6 se observa el comportamiento del Amonio respecto a los días que duró el tratamiento. La concentración empieza a descender a partir del día 5, llegando a 0.31 mgNH₄/L hasta el último día del procedimiento. En la tabla 15 se muestran los porcentajes de remoción de amonio obtenidos durante el tratamiento.

Tabla 15: Porcentajes de remoción de Amonio obtenidos en el tratamiento

Amonio	Absorbancia	concentración
inicial	0.537	0.730
final r1	0.166	0.248
final r2	0.092	0.152
final r3	0.118	0.186
final cont	0.488	0.667

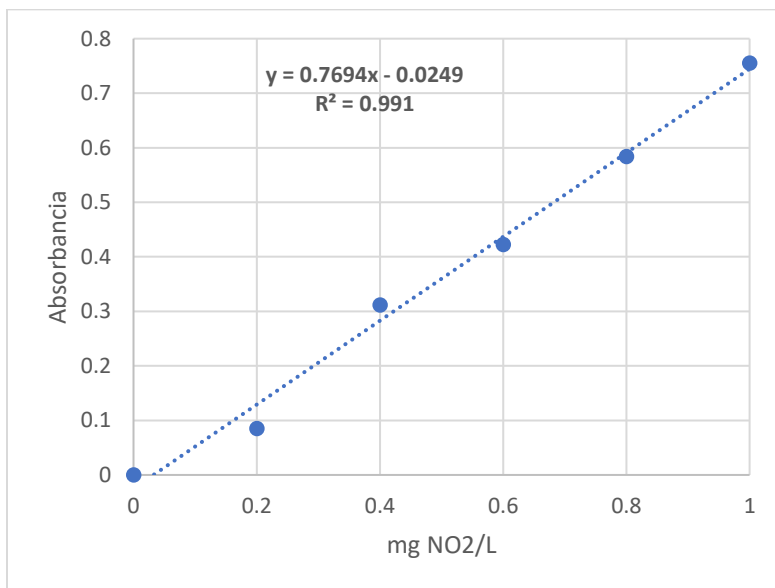
7.3.2 Nitritos

La curva de calibración nos dio una $R^2 = 0.991$

Para la cuantificación de NO_2 se construyó una curva de calibración utilizando soluciones patrón de concentración conocida. En la Tabla 16 se presentan las absorbancias registradas para cada estándar, mientras que en la Gráfica 7 se muestra la curva de calibración obtenida a partir de estos datos.

Tabla 16: Absorbancias obtenidas de la curva de calibración de nitritos

Nitrito				
mg/L	Absorbancia	Absorbancia	Promedio	
0	0	0	0	
0.2	0.081	0.089	0.085	
0.4	0.294	0.329	0.312	
0.6	0.44	0.405	0.423	
0.8	0.539	0.629	0.584	
1	0.724	0.787	0.756	



Gráfica 7: Curva de calibración de nitritos

Los resultados de las absorbancias se observan en la Tabla 17.

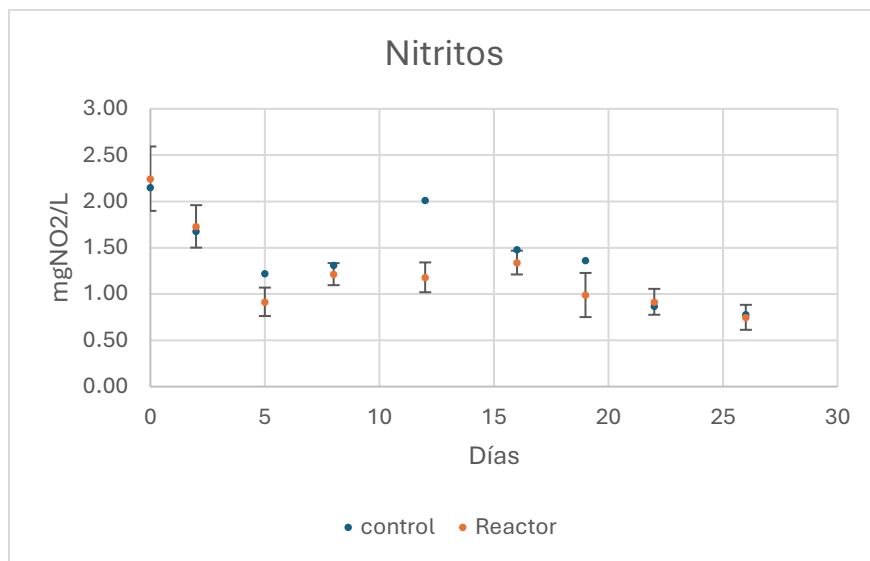
Tabla 17: Absorbancias, análisis de Nitritos

	Control	R1	R2	R3
día	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia
0	0.306	0.378	0.312	0.272
2	0.620	0.556	0.732	0.634
5	0.163	0.094	0.113	0.141
8	0.177	0.183	0.149	0.154
12	0.285	0.185	0.146	0.139
16	0.203	0.183	0.200	0.439
19	0.185	0.169	0.100	0.113
22	0.109	0.137	0.094	0.117
26	0.275	0.214	0.112	0.088

Resultado de las absorbancias en la ecuación obtenida de la curva de calibración. Los cálculos empleados para determinar la concentración de nitritos en las muestras se realizaron a partir de las absorbancias obtenidas y de la ecuación de la curva de calibración. En la Tabla 18 se presenta de manera detallada toda la información correspondiente a estos cálculos.

Tabla 18: Cálculos realizados para la obtención de la concentración de NO₂/L

Control	R1	R2	R3	Control	R1	R2	R3	Control	R
mgNO ₂ /L	mgNO ₂ /L	mgNO ₂ /L	mgNO ₂ /L	dil.	dil.	dil.	dil.	mgNO ₂ /L	mgNO ₂ /L
0.43	0.52	0.44	0.39	2.15	2.62	2.19	1.93	2.15	2.25
0.84	0.76	0.98	0.86	1.68	1.51	1.97	1.71	1.68	1.73
0.24	0.15	0.18	0.22	1.22	0.77	0.90	1.08	1.22	0.92
0.26	0.27	0.23	0.23	1.31	1.35	1.13	1.16	1.31	1.21
0.40	0.27	0.22	0.21	2.01	1.36	1.11	1.07	2.01	1.18
0.30	0.27	0.29	0.60	1.48	1.35	1.46	1.21	1.48	1.34
0.27	0.25	0.16	0.18	1.36	1.26	0.81	0.90	1.36	0.99
0.17	0.21	0.15	0.18	0.87	1.05	0.77	0.92	0.87	0.92
0.39	0.31	0.18	0.15	0.8	0.62	0.89	0.73	0.78	0.75



Gráfica 8: Concentración de NO₂

La concentración de nitritos empieza a descender a partir del día 2, llegando a 0.75 NO₂ mg/L hasta el último día del procedimiento. En la gráfica 8 se aprecian los resultados de concentración de NO₂ respecto a los días. Y en la tabla 19 se muestran los porcentajes de remoción de nitritos obtenidos en el tratamiento.

Tabla 19: Porcentajes de remoción de Nitritos obtenidos en el tratamiento

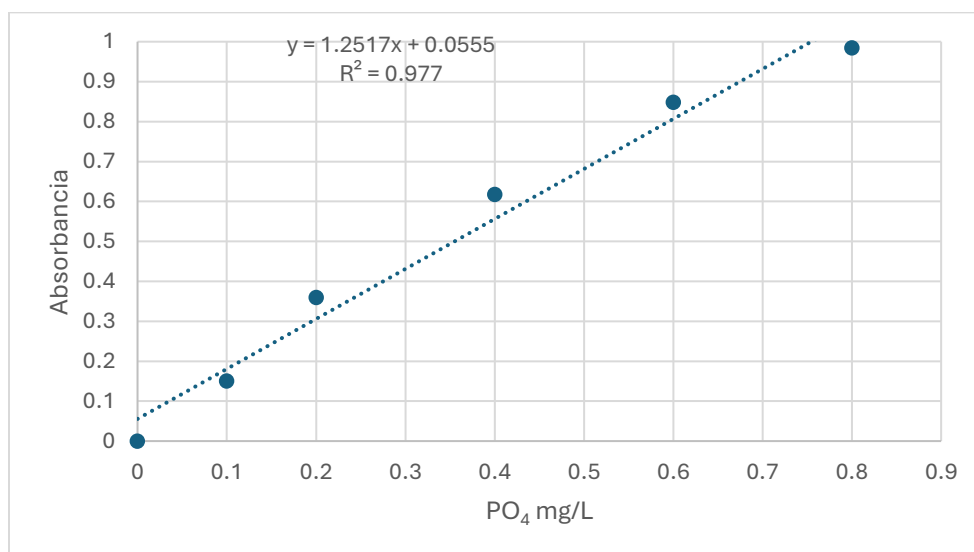
Nitrito	Absorbancia	concentración
inicial	0.964	1.285
final r1	0.214	0.311
final r2	0.112	0.178
final r3	0.118	0.186
final cont	0.775	1.040

7.3.3 Ortofosfatos

La curva de calibración nos dio una $R^2 = 0.977$. Para la cuantificación de PO_4 se construyó una curva de calibración utilizando soluciones patrón de concentración conocida. En la Tabla 20 se presentan las absorbancias registradas para cada estándar, mientras que en la Gráfica 9 se muestra la curva de calibración obtenida a partir de estos datos.

Tabla 20: Absorbancias obtenidas de la curva de calibración de ortofosfatos

Ortofosfatos			
mg/L	Absorbancia	Absorbancia	Promedio
0	0	0	0
0.1	0.185	0.117	0.151
0.2	0.367	0.352	0.3595
0.4	0.647	0.588	0.6175
0.6	0.849	0.848	0.8485
0.8	0.988	0.982	0.985



Gráfica 9: Curva de calibración de ortofosfatos



Imagen 20: Muestras de ortofosfatos durante la técnica del ácido ascórbico

En la imagen 20 se muestra el procedimiento experimental durante la aplicación la técnica del ácido ascórbico. Posteriormente se obtuvieron las absorbancias (tabla 20). Donde se obtuvo lo siguiente:

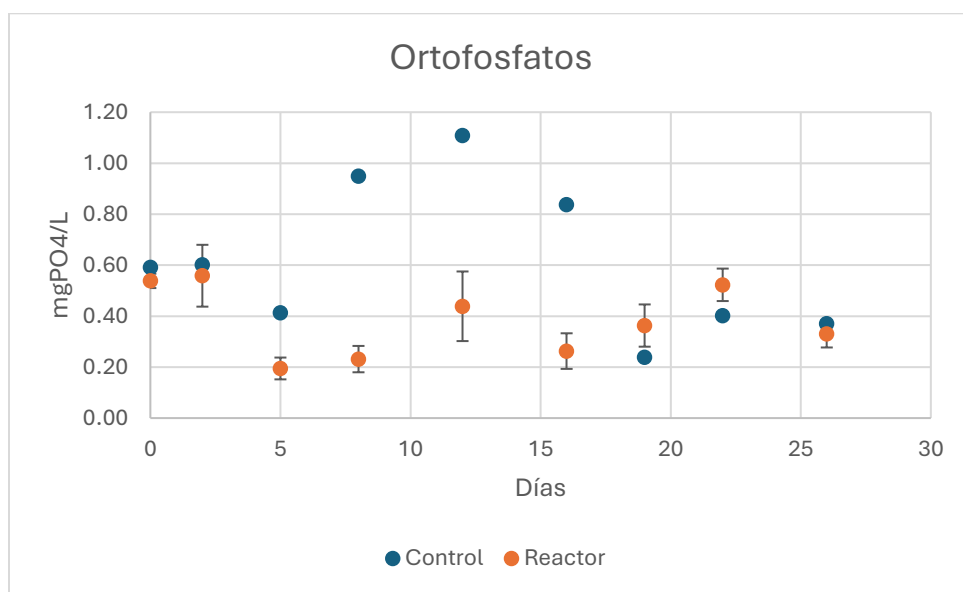
Tabla 20: Absorbancias obtenidas de las muestras durante el análisis de Ortofosfatos

	Control	R1	R2	R3
día	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia
0	0.426	0.411	0.39	0.376
2	0.206	0.49	0.344	0.381
5	0.159	0.173	0.153	0.206
8	0.293	0.226	0.164	0.211
12	0.333	0.32	0.42	0.25
16	0.265	0.201	0.270	0.189
19	0.205	0.223	0.317	0.308
22	0.307	0.392	0.417	0.339
26	0.287	0.289	0.225	0.272

Y se obtuvo las siguientes concentraciones de ortofosfatos en cada muestra. Lo siguiente se muestra en la tabla 21.

Tabla 21: Cálculos realizados para la obtención de la concentración de $\text{PO}_4\text{mg/L}$

Control	R1	R2	R3	Control	R1	R2	R3	Control	R
mg $\text{PO}_4\text{/L}$	mg $\text{PO}_4\text{/L}$	mg $\text{PO}_4\text{/L}$	mg $\text{PO}_4\text{/L}$	dil.	dil.	dil.	dil.	mg $\text{PO}_4\text{/L}$	mg $\text{PO}_4\text{/L}$
0.30	0.28	0.27	0.26	0.59	0.57	0.53	0.51	0.59	0.54
0.12	0.35	0.23	0.26	0.60	0.69	0.46	0.52	0.60	0.56
0.08	0.09	0.08	0.12	0.41	0.19	0.16	0.24	0.41	0.19
0.19	0.14	0.09	0.12	0.95	0.27	0.17	0.25	0.95	0.23
0.22	0.21	0.29	0.16	1.11	0.42	0.58	0.31	1.11	0.44
0.17	0.12	0.17	0.11	0.84	0.23	0.34	0.21	0.84	0.26
0.12	0.13	0.21	0.20	0.24	0.27	0.42	0.40	0.24	0.36
0.20	0.27	0.29	0.23	0.40	0.54	0.58	0.45	0.40	0.52
0.18	0.19	0.14	0.17	0.4	0.37	0.27	0.35	0.37	0.33



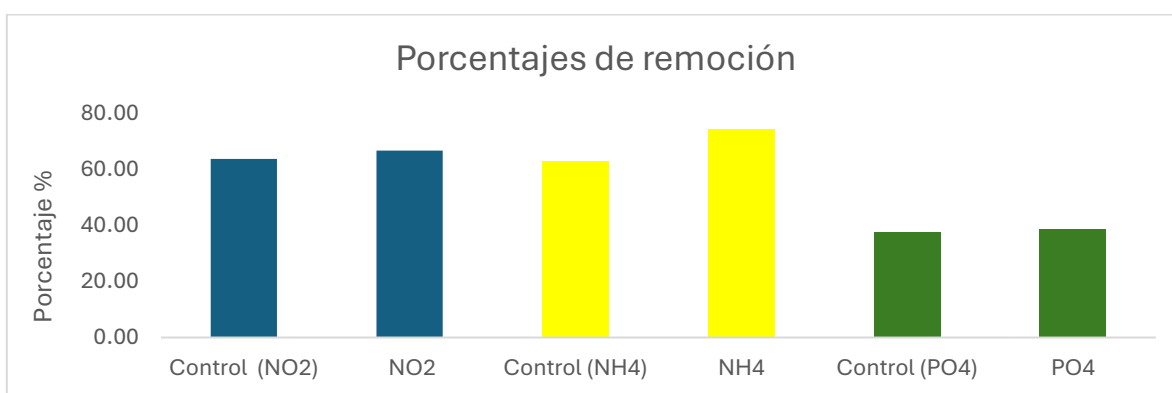
Gráfica 10: Concentración de PO_4 respecto a los días

La concentración de ortofosfatos comienza a descender a partir del día 5. Hubo una disminución moderada de 0.35 $\text{PO}_4\text{ mg/L}$ de los ortofosfatos presentes en el agua de nixtamal, llegando a 0.33 $\text{PO}_4\text{ mg/L}$ hasta el último día del procedimiento. Esto se muestra en la gráfica 10. Y en la tabla 23 se muestran los porcentajes de remoción de ortofosfatos obtenidos en el tratamiento.

Tabla 23: Porcentajes de remoción de Ortofosfatos obtenidos en el tratamiento

Ortofosfatos	Absorbancia	concentración
inicial	0.737	0.990
final r1	0.289	0.408
final r2	0.125	0.195
final r3	0.272	0.386
final cont	0.687	0.925

Se logró obtener porcentajes de remoción promedio de Nitritos, Amonio y Ortofosfatos del 66%, 74% y 38% respectivamente. A continuación, se presentan graficados los porcentajes de remoción en el proceso de biorremediación (gráfica 11).

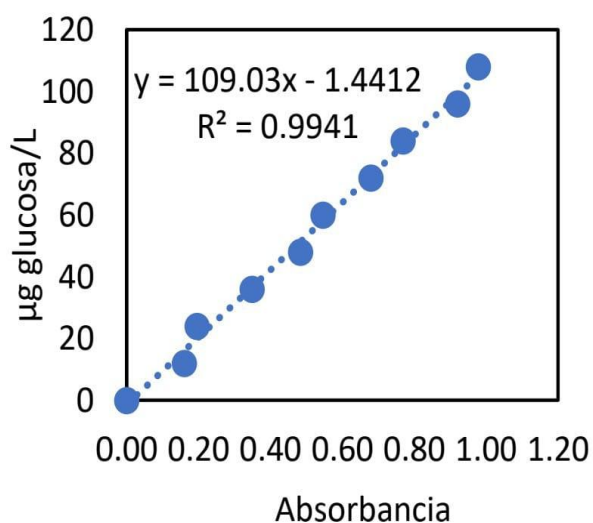


7.4 Análisis bromatológicos

Para la caracterización bromatológica de la biomasa, se realizaron análisis cuantitativos de carbohidratos, proteínas y lípidos, incluyendo la determinación específica de fosfolípidos, colesterol y triglicéridos. Para cada componente se construyó una curva de calibración utilizando soluciones estándar de concentración conocida. En las gráficas 12 a 16 se presentan las curvas de calibración correspondientes, donde se puede observar la relación lineal entre la absorbancia y la concentración de cada nutriente o compuesto lipídico, lo que permite determinar con precisión su contenido en las muestras analizadas. Los resultados de carbohidratos, proteínas y lípidos se desglosan a continuación.

7.4.1 Carbohidratos

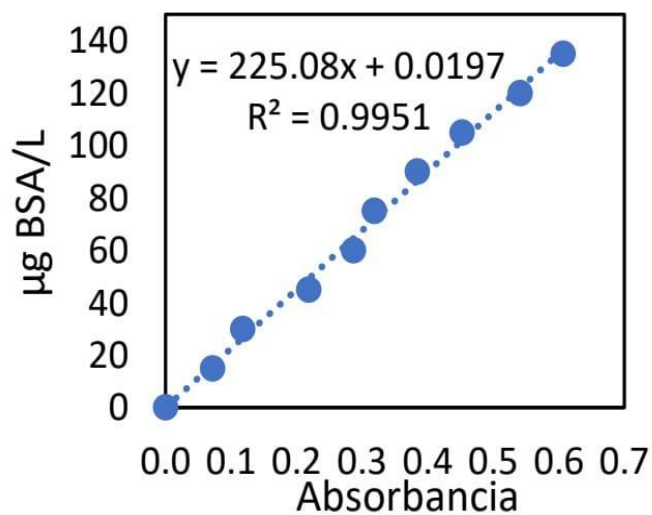
Se realizó la curva de calibración con una R^2 : 0.99



Gráfica 12: Curva de calibración de carbohidratos

7.4.2 Proteínas

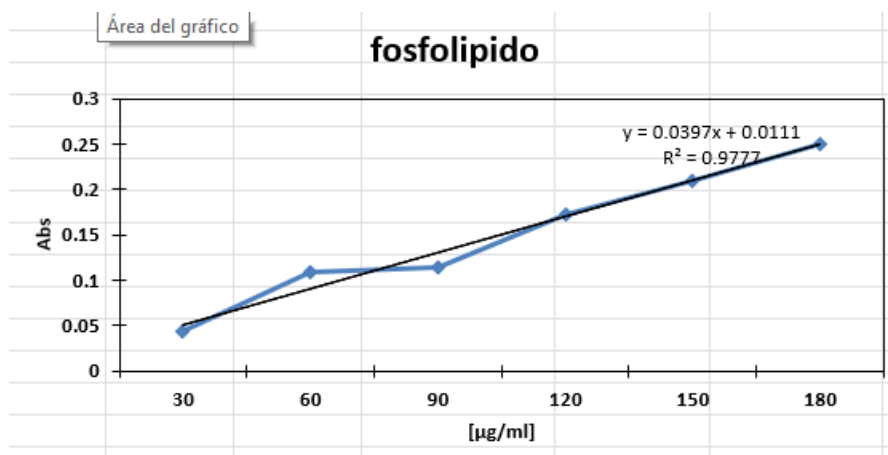
Se realizó la curva de calibración con una R^2 : 0.995



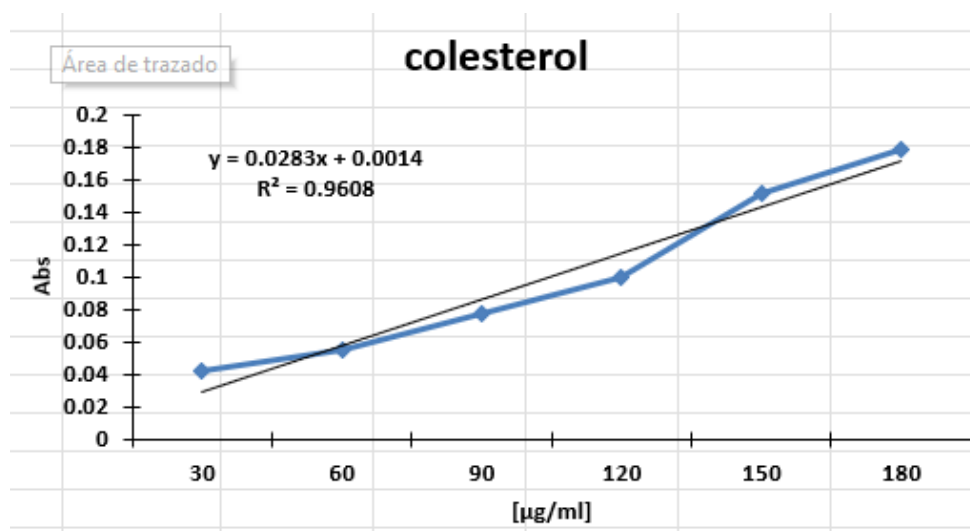
Gráfica 13: Curva de calibración de proteínas

7.4.3 Lípidos

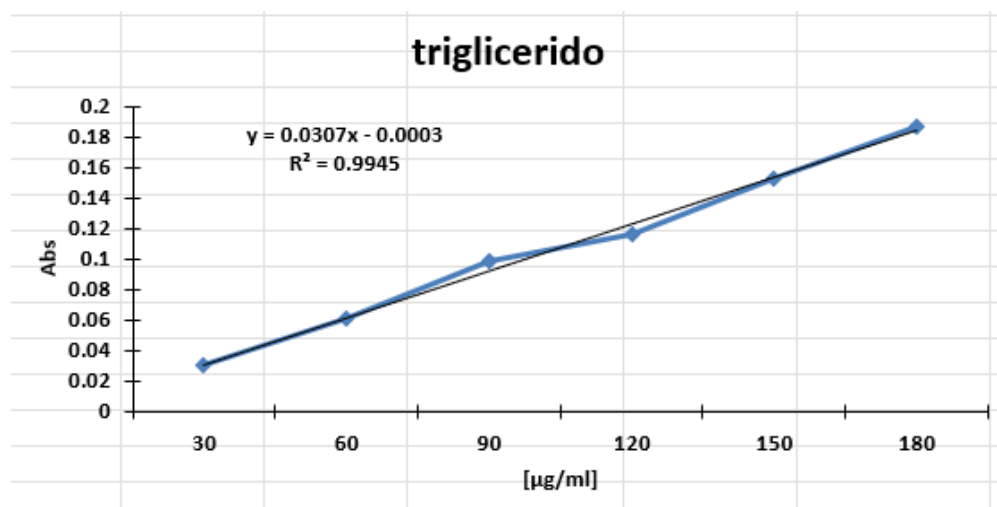
Se realizó la curva de calibración con tres diferentes tipos de lípidos, para fosfolípido obtuvimos una R^2 : 0.977; para el colesterol una R^2 : 0.9608 y para triglicérido R^2 : 0.99.



Gráfica 14: Curva de calibración de fosfolípidos



Gráfica 15: Curva de calibración de colesterol



Gráfica 16: Curva de calibración de triglicéridos

Los resultados de los análisis bromatológicos de proteínas, carbohidratos y lípidos se agrupan en la tabla 24.

Tabla 24: Porcentajes de carbohidratos, proteínas y lípidos

	Carbohidratos (%)	Proteína (%)	Lípidos (%)
Control	21%	59%	13.17%
Reactores	18.75%	34%	10.89%

8. Discusión

En el presente estudio se llevó a cabo el cultivo con la microalga *Coelastrella sp* y la cianobacteria *Limnospira maxima* para el tratamiento del agua residual del nejayote. Siendo esta última la que se seleccionó para lograr un escalamiento a reactores de 20 litros.

En el caso de *Coelastrella sp*. Gardner *et al.*, (2011) y Azcatl-Delgadillo *et al.*, (2022), evaluaron el efecto del pH en esta especie y obtuvieron que los valores óptimos para su crecimiento deben encontrarse en un rango entre 7.4 y 10. En este estudio

se registraron valores de pH entre 6 y 7, estos resultados fueron inferiores a los adecuados y esto pudo influir en el crecimiento óptimo del cultivo.

El medio de cultivo utilizado además del pH bajo, tiene alta carga orgánica y coloración que dificulta la penetración de la luz para la fotosíntesis. El pH óptimo para la mayoría de las especies del género *Limnospira* se encuentran en el rango de 9.5 a 11, en este trabajo se lograron mantener durante el tiempo del cultivo valores de 9 y 11.

Limnospira maxima corresponde al grupo de la cianobacterias con potencial en la mejora de la calidad del agua, la eliminación de diversos nutrientes y la remoción de metales pesados (Srivastava & Pandey 2022). Otro factor importante es su capacidad para crecer en sitios contaminados y lograr mejorar la calidad del agua en esos hábitats; además tienen un alto requerimiento de nitrógeno y fósforo y por lo tanto las aguas residuales ricas en estos nutrientes pueden servir como medio de cultivo reduciendo indirectamente la carga de nutrientes (Pandey *et al.*, 2015).

Actualmente no existen trabajos reportados en la literatura en donde se haya trabajado *Limnospira maxima* para el tratamiento del agua del nixtamal; sin embargo, esta especie si ha sido empleada para tratar diferentes tipos de aguas residuales. Meza-Rojas & Castañeda (2018) evaluaron el crecimiento de *Limnospira maxima* en efluentes de acuicultura en donde se pudo observar una reducción significativa en las concentraciones de diferentes nutrientes como fueron amonio, nitrito y fosfatos, aquí se reportaron porcentajes de remoción del 94.8%, 90% y 92% para cada nutriente. Estos resultados fueron mayores a los reportados en la tesis presente y esto puede tener diferentes variaciones, relacionados con el tipo y la composición del agua residual, en este caso la composición del nejayote varía en concentración de nutrientes, el pH, la turbidez, la presencia de metales pesados y de materia orgánica. Por lo que puede influir tanto en el crecimiento de *Limnospira maxima* como en su capacidad de absorción de nutrientes. Otro factor que puede variar es el tiempo de tratamiento, algunos estudios reportan aumentos significativos en remoción después de los 7 o 10 días y el diseño experimental es también importante; ya que se puede trabajar en biorreactores cerrados como fue el caso de esta tesis o bien en sistemas abiertos como en el trabajo reportado por Meza-Rojas & Castañeda (2018).

Buitrón (2025) realizó un estudio sobre alternativas de tratamiento de aguas de nixtamal proponiendo el uso de microalgas donde reportó que ciertas especies pueden adaptarse al nejayote debido a su alto contenido de nutrientes como nitrógeno y fósforo. Aquí se utilizaron las especies *Chlorella vulgaris* y *Tetradismus obliquus* en donde ambas demostraron buena adaptación al medio y capacidad para remover nutrientes; y entre los resultados obtuvieron porcentajes significativos de remoción de nitrógeno y fósforo (entre 50 y 70%), siendo estos similares a los obtenidos en esta tesis. Sin embargo, el tratamiento realizado con *Limnospira*

maxima presentó porcentajes mayores a los obtenidos en este artículo mencionado, teniendo remoción del 80% aproximadamente para N y P.

Es importante mencionar que los resultados de un tratamiento de aguas residuales van a depender de diversos factores, como pueden ser la luz, el pH, el tipo de microalga utilizada, el medio de cultivo implementado, pero lo relevante de este tipo de estudios es lograr encontrar las especies que presenten resultados más alentadores para posteriormente y dependiendo de lo obtenido se puedan proponer la fabricación de diversos bioproductos.

Ortiz-Villota *et al.*, (2018), trabajaron también con el género *Limnospira maxima* para tratar la eutrofización de la laguna Ubaque en Colombia, donde el objetivo principal era remover nutrientes como nitratos, nitritos y fosfatos del agua de este cuerpo acuático, ocasionado por los vertimientos de agua residuales y proliferación de macrofitas. Logrando resultados muy alentadores en porcentajes de remoción de nitritos de hasta 82% y de fosfatos de hasta 88%, ligeramente más altos a los obtenidos en esta tesis.

Esta especie probada en diferentes efluentes demuestra que puede ser utilizada para la fitorremediación tomando en cuenta factores primordiales como el pH óptimo que debe oscilar entre 8.5 y 10.5.

El crecimiento de microalgas en agua de nixtamal puede verse influido, ya sea de manera positiva o negativa y esto va a depender de las características específicas del agua. Hablando en particular del nejayote, debido a que contiene altos niveles de nitrógeno, fósforo y compuestos orgánicos puede ser utilizado como una fuente de nutrientes para las microalgas lo cual permite que se promueva un crecimiento rápido de algunas especies (Delgadillo-Mirquez, *et al.*, 2016).

La dilución del efluente destinado a los cultivos de microalgas permite equilibrar la concentración de nutrientes esenciales y, al mismo tiempo, disminuir la presencia de compuestos potencialmente tóxicos. Este ajuste favorece un crecimiento celular más saludable y eficiente, asegurando que las microalgas puedan desarrollarse en condiciones óptimas para su proliferación y metabolismo (Crespo *et al.*, 2021; Costa *et al.*, 2010). Y al utilizar estos efluentes como medio de cultivo se optimizan costos, ya que el elegir un medio que balancee costo y eficiencia es crucial y fundamental para la viabilidad económica especialmente en cultivos a gran escala (Gupta & Bux., 2019).

Una vez que las microalgas han completado la remediación del efluente, los análisis de su biomasa son importantes en virtud de que nos permiten evaluar la calidad y el potencial de la biomasa generada además de que nos permiten determinar la composición nutricional y la presencia de compuestos de interés; lo cual es esencial para diversas aplicaciones industriales y ambientales. Y los resultados obtenidos en estos análisis nos permitirán evaluar la realización del bioproducto como

biocombustibles, alimentos para animales, fertilizantes y otros productos de valor agregado (Fonnegra.,2024; González-Portela *et al.*, 2024).

Comparada con otras especies como *Chlorella vulgaris* y *Tetrademus obliquus*, *Limnospira maxima* exhibe una mayor tolerancia a variaciones de pH, salinidad y carga orgánica; las cuales son características típicas de aguas residuales, industriales o agropecuarias. Aunque especies como *Chlorella* pueden alcanzar tasas de crecimiento más rápidas en condiciones controladas. En este caso *Spirulina* ha logrado mantener una alta eficiencia en la remoción de nutrientes como nitrógeno y fósforo, incluso en medios complejos como lixiviados de frutas o agua sulfatadas. Hablando en particular de su biomasa, esta especie mantiene porcentajes competitivos de proteínas entre 45 y 60% lípidos de hasta un 30% y carbohidratos de entre 10-20%; lo cual llega a ser comparables e incluso superior en ciertas especies de microalgas clorofitas (Vonshak., 1997; López-Pacheco *et al.*, 2019)

Limnospira máxima es catalogada como una especie altamente competitiva y multifuncional donde destaca principalmente en entornos residuales donde la resiliencia, la capacidad de biorremediación y la valorización de biomasa son esenciales. Su comparación con otras especies revela que, si bien no es la más veloz en su crecimiento si es una de las más prometedoras en cuanto a versatilidad y aprovechamiento integral (Becker., 2007).

En el presente estudio se obtuvieron valores para carbohidratos de 18.75%, 34% de proteínas y 10.89% de lípidos; los cuales pueden considerarse adecuados para la fabricación de biofertilizante; aunque su idoneidad depende del tipo de aplicación agrícola y del balance nutricional deseado en el producto final. Siendo más específicos, por parte de los carbohidratos, estos aportan carbono orgánico que logra mejorar la estructura del suelo y sirve como fuente de energía para microorganismos beneficiosos. El nivel obtenido en el estudio es aceptable, especialmente si se busca favorecer la actividad microbiana en el suelo, para el caso de los lípidos, contienen ácidos grasos que pueden tener efectos bioestimulantes y además de actuar como precursores en sustancias con actividad hormonal en plantas, también pueden ayudar a la liberación regulada de nutrientes al retardar su mineralización (Rawat *et al.*, 2011).

Finalmente, el porcentaje de proteínas obtenido aunque es un nivel inferior habitual en estudios con *Limnospira maxima* en otro tipo de agua residuales, el porcentaje obtenido se sigue considerando útil debido a que las proteínas aportan nitrógeno orgánico que en el suelo se convierte gradualmente en formas asimilables para las plantas (nitrato o amonio). Este bajo porcentaje obtenido en el estudio puede deberse al tipo de agua residual, que fue el nejayote y a su disponibilidad limitada de nitrógeno. Estos resultados en conjunto indican una biomasa con un perfil equilibrado para fines de biofertilizantes, puesto que se orienta a estimular el

microbiota del suelo, mejorar la materia orgánica y liberar nutrientes gradualmente (Rawat *et al.*, 2011).

Llevar a cabo el desarrollo de biofertilizantes es fundamental hoy en día porque representa una alternativa sostenible, ecológica y económicamente viable frente a los fertilizantes químicos convencionales. Esto debido a que reducen el impacto ambiental, dado que los fertilizantes convencionales contaminan cuerpos de agua por escorrentía, causando fenómenos como la eutrofización. Los biofertilizantes, al estar compuestos por microorganismos beneficiosos o biomasa orgánica (como microalgas), no generan residuos tóxicos ni alteran negativamente los ecosistemas (Adesemoye *et al.*, 2009). Los biofertilizantes revitalizan los suelos al mejorar la actividad microbiana, aumentar la materia orgánica y facilitar la disponibilidad de nutrientes (Vessey., 2003)

También los biofertilizantes pueden producirse localmente a partir de residuos orgánicos (como aguas residuales), reduciendo costos y promoviendo la economía circular y además, representan una seguridad alimentaria y en la salud, esto porque el uso excesivo de químicos en la agricultura puede dejar residuos en los alimentos, afectando la salud humana y los biofertilizantes son seguros, no tóxicos y permiten una producción más limpia, alineada con los principios de la agricultura orgánica (Vessey., 2003).

Día a día el problema de la contaminación del agua ha escalado a problemáticas muy severas debido a las diversas fuentes de origen de las aguas residuales, desafortunadamente y pese a que existen normas oficiales que regulan los porcentajes permisibles en efluentes, y a las plantas de tratamiento los esfuerzos no han sido suficientes para combatir esta problemática que día a día se sigue incrementando. Por lo que, se recomienda que, estos trabajos de biorremediación constituyen una alternativa para solucionar estos problemas, generando además del beneficio ambiental, una biomasa rica en nutrientes que puede apoyar a la seguridad alimentaria al ser utilizada como biofertilizante.

El uso de las microalgas para la biorremediación es sin duda alguna un tipo de tratamiento que debe seguir siendo estudiado e implementado no solo en un sector de investigación, sino también implementado a gran escala puesto que las ventajas que presenta como eficiencia, bajo costo y ser amigable con el medio ambiente son relevantes a comparación de lo que pueden ofrecernos técnicas convencionales entre las cuales el costo es muy alto y se pueden realizar técnicas químicas que puedan afectar a los cuerpos de agua.

9. Conclusiones

- La fitorremediación es una opción eficiente y amigable con el medio ambiente para tratar aguas residuales y en este trabajo se logró una remoción de nutrientes significativa de aproximadamente 60% en el efluente tratado.
- Las especies *Coelastrella* sp, y *Limnospira maxima*, se adaptaron al agua de nejayote a diferentes diluciones para la biorremediación de este efluente.
- La especie *Coelastrella* sp. se debe seguir investigando para procesos de biorremediación; ya que produce compuestos de alto valor agregado como betacarotenos y lípidos que pueden ser utilizados como fuente de biocombustibles.
- El nejayote es uno de los principales efluentes contaminantes en México por lo que su tratamiento requiere investigación, ya que al haberse demostrado su efecto negativo producto de los análisis realizados por elevados niveles de nutrientes permite llevar a cabo alternativas como la fitorremediación, la cual permitirá con éxito su aplicación beneficiosa.
- Este proyecto se enmarcó en los procesos de economía circular al utilizar un efluente contaminado como medio de cultivo para algas, las cuales demostraron su actividad biodegradadora de limpiar el efluente, y por tal motivo contribuyen a la reducción de contaminantes logrando un agua limpia y una biomasa algal cosechada que tiene alto potencial para ser utilizada como biofertilizante.

10. Referencias

- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A., & Ibraheem, I. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(3), 257–275.
- Abdulqader, G., Barsanti, L., & Tredici, M. R. (2000). Harvest of *Arthrospira platensis* from Lake Kossorom (Chad) and its household usage among the Kanembu. *Journal of Applied Phycology*, 12(6), 493–498.
- Abe, K., Takizawa, H., Kimura, S., & Hirano, M. (2004). Characteristics of chlorophyll formation of the aerial microalga *Coelastrella striolata* var. *multistriata* and its application for environmental biomonitoring. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 98(1), 34–39.
- Acosta-Estrada, B. A., Lazo-Vélez, M. A., Nava-Valdez, Y., Gutiérrez-Uribe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2014). Improvement of dietary fiber, ferulic acid and calcium contents in pan bread enriched with nejayote food additive from maize (*Zea mays*). *Journal of Cereal Science*, 60(1), 264–269.
- Adesemoye, A. O., Torbert, H. A., & Kloepper, J. W. (2009). Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*, 58(4), 921–929.
- Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios. (2018). *¿Conoces el origen del maíz?* Gobierno de México.
- Aguilar Moreno, J. A. (2022). *Tratamiento de aguas residuales con el uso de la microalga Chlorella vulgaris para la remoción de materia orgánica* [Tesis de licenciatura, Universidad Científica del Sur].
- Aly, O. A., Shehata, S. A., & Farag, H. (1984). Uptake and accumulation of selected herbicides by the freshwater alga *Scenedesmus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 13(6), 701–705.
- Ali, H. E. A., El-Sheekh, M. M., Almutairi, M. H., El-Metwally, M. A., & Shafik, H. M. (2022). Formation of lutein, β -carotene and astaxanthin in a *Coelastrella* sp. (Chlorophyceae) strain isolated from Egypt. *Journal of Applied Phycology*, 34(3), 1117–1128.
- Argun, M. Ş. (2017). Treatment and alternative usage possibilities of a special wastewater: Nejayote. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12609.
- Arredondo Vega, B. O., & Voltolina, D. (2007). *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal* (1.^a ed.). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR).

Aviña Padilla, K., Pineda Rodríguez, Y. Y., Herazo Cárdenas, D. S., Vallejo Isaza, A., Pompelli, M. F., Jarma Orozco, A., Jaraba Navas, J. D., Cordero Ocampo, J. D., González Berrio, M., Vegliante Arrieta, D., Pico González, A., Ariza González, A., & Rodríguez Páez, L. A. (2024). Optimal laboratory cultivation conditions of *Limnospira maxima* for large-scale production. *Biology*, 12(12), 1462.

Azcatl Delgadillo, R., Vázquez, M., & Rodríguez Palacio, M. C. (2022). Biorremediación del nejayote utilizando la microalga *Coelastrella* sp. En *Las mujeres en la ciencia*. Universidad Autónoma Metropolitana (UAM).

Barceló, D., & López, M. J. (2007). Contaminación y calidad química del agua: El problema de los contaminantes emergentes. En Panel Científico-Técnico de Seguimiento de la Política de Aguas. *Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC*.

Barros, A. I., Gonçalves, A. L., Simões, M., & Pires, J. C. M. (2015). Harvesting techniques applied to microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41, 1489–1500.

Beaulier, C., Dannay, M., Devime, F., Baggio, C., El Sakkout, N., Raillon, C., Courson, O., Bourguignon, J., Alban, C., & Ravanel, S. (2023). Characterization of a uranium-tolerant green microalga of the genus *Coelastrella* with high potential for the remediation of metal-polluted waters. Preprint available at Cold Spring Harbor Laboratory.

Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207–210.

Belay, A. (2002). The potential application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a food supplement and in biotechnology: A review. *Journal of Applied Phycology*, 14(5), 343–349.

Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917.

Bolaños-Alfaro, J., Cordero-Castro, G., & Segura-Araya, G. (2017). Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). *Tecnología en Marcha*, 30(4), 5–27.

Buitrón, G. (2025). *Alternativas de tratamiento de agua nixtamalizada: Una propuesta de uso de microalgas* [Tesis, Universidad de Guanajuato]. Repositorio Institucional UG. <https://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/10266/1/04ALTERNATIVAS%20DE%20TRATAMIENTO%20DE%20AGUA%20NIXTAMALIZADA%20UNA.pdf>

Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Huang, T.-T., Lin, C.-J., Ong, S.-C., Chen, C.-D., Chang, J.-S., & Lin, C.-S. (2011). Microalgal biomass production and on-site bioremediation of

carbon dioxide, nitrogen oxide and sulfur dioxide from flue gas using *Chlorella* sp. cultures. *Bioresource Technology*, 102(19), 9135–9142.

Collazos, C. (2008). *Tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería.

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) & Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2011). *Estadísticas del agua en México* (Edición 2011).

Contreras-Flores, C., Peña-Castro, J., Flores-Cotera, L., & Cañizares-Villanueva, R. (2003). Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, 28(8), 450–456.

Corato, A., Le, T. T., Baurain, D., Jacques, P., Remacle, C., & Franck, F. (2022). A fast-growing oleaginous strain of *Coelastrella* capable of astaxanthin and canthaxanthin accumulation in phototrophy and heterotrophy. *Life*, 12(3), 390.

Cornejo, M. (2017). *La biorremediación como una estrategia para eliminar contaminantes*. FONDECYT. <http://www.cienciactiva.gob.pe/embajadores/la-biorremediacion-como-una-estrategia-para-eliminar-contaminantes>

Corato, A., Le, T. T., Baurain, D., Jacques, P., Remacle, C., & Franck, F. (2022). A fast-growing oleaginous strain of *Coelastrella* capable of astaxanthin and canthaxanthin accumulation in phototrophy and heterotrophy. *Life*, 12(3), 334

Costa, J. A. V., Colla, L. M., Filho, P. F. D., & Bertolin, T. E. (2010). Cultivation of microalgae from biological treatment of swine wastewater. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(1), 173–178.

Crespo, P. S., Peña, C., Álvarez, J., Morales, M., & González, R. (2021). Wastewater from the demineralization of cheese whey for cost-efficient cultivation of *Limnospira maxima*. *Journal of Applied Phycology*, 33(3), 1571–1581.

Cuaresma, M., Janssen, M., Vílchez, C., & Wijffels, R. H. (2011). Horizontal or vertical photobioreactors? How to improve microalgae photosynthetic efficiency. *Bioresource Technology*, 102(8), 5129–5137.

Daneshvar, E., Ok, Y. S., Tavakoli, S., Sarkar, B., Shaheen, S. M., Hong, H., Luo, Y., Rinklebe, J., Song, H., & Bhatnagar, A. (2021). Insights into upstream processing of microalgae: A review. *Bioresource Technology*, 329, 124870.

Dávalos, T. (2025, 14 de julio). Investigador mexicano desarrolla tratamiento biológico para el nejayote, agua residual de la nixtamalización del maíz. SinEmbargo MX. Recuperado de <https://www.sinembargo.mx/3262483/investigador-mexicano-desarrolla-tratamiento-biologico-para-el-nejayote-agua-residual-de-la-nixtamalizacion-del-maiz/>

Delgadillo-Mirquez, L., López, F., Taidi, B., & Pareau, D. (2016). Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(3), 619–628.

Demirbas, A. (2009). Political, economic and environmental impacts of biofuels: A review. *Energy*, 86(Suppl. 1), S108–S117.

Department of Health and Ageing Office of the Gene Technology Regulator (DHAOGTR). (2008). *The biology of Zea mays L. ssp. mays (maize and corn)*. Office of the Gene Technology Regulator, Australian Government.

Domínguez Gómez, M., Garrido Pérez, M. del C., Ruiz González, J., & Perales Vargas Machuca, J. A. (2020). Fitorremediación de aguas residuales urbanas de pequeños municipios con microalgas. *Revista Científica Ecociencia*, 7(3), 1–27. <https://doi.org/10.21855/ecociencia.73.338>

Drapcho, C. M., Nhuan, N. P., & Walker, T. H. (2008). *Biofuels engineering process technology* (Vol. 2). McGraw Hill International.

DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356.

FAO. (2010). *Maize in human nutrition: Types of maize*. Food and Agriculture Organization. Rome, Italy.

FAO. (2018). *Term portal: Agricultura orgánica*. <http://www.fao.org/faoterm>

Farías, A. (2011). *Determinación de parámetros de la microalga Isochrysis aff. galbana: Comparación de un fotobioreactor continuo versus un cultivo batch* [Tesis de licenciatura, Universidad Austral de Chile].

Fazal, T., Mushtaq, A., Rehman, F., Ullah Khan, A., Rashid, N., Farooq, W., Rehman, M. S. U., & Xu, J. (2018). Bioremediation of textile wastewater and successive biodiesel production using microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 82, 3107–3126

Fenech, C., Rock, L., Nolan, K., Tobin, J., & Morrissey, A. (2012). The potential for a suite of isotope and chemical markers to differentiate sources of nitrate contamination: A review. *Water Research*, 46(7), 2023–2041.

Filali, R., Tian, H., Micheils, E., & Taidi, B. (2021). Evaluation of the growth performance of microalgae based on fine pH changes. *Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering*, 8(1), 1–7.

Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1956). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509.

Fonnegra Yépez, D. I. (2024). *Aplicación de microalgas para la depuración de aguas residuales y la generación de energía sostenible* [Tesis de maestría, Tecnológico de Antioquia I.U.].

Fu, X., Hou, R., Yang, P., Qian, S., Feng, Z., Chen, Z., Wang, F., Yuan, R., Chen, H., & Zhou, B. (2022). Application of external carbon source in heterotrophic denitrification of domestic sewage: A review. *Science of the Total Environment*, 817, 153061.

Fundación Chile, CORFO. (2011). *Manual de tecnologías de remediación de sitios contaminados*. https://fch.cl/wp-content/uploads/2019/10/manual-de-tecnologias-de-remediacion-de-sitios-contaminados_baja-1.pdf

Gardner, R., Peters, P., Peyton, B., & Cooksey, K. (2011). Medium pH and nitrate concentration effects on accumulation of triacylglycerol in two members of the *Chlorophyta*. *Journal of Applied Phycology*, 23(6), 1005–1016.

Garzón, J., Rodríguez, J., & Hernández, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(3), 309–318.

Gerde, J. A., Yao, L., Lio, J., Wen, Z., & Wang, T. (2014). Microalgae flocculation: Impact of flocculant type, algae species and cell concentration. *Algal Research*, 3(1), 30–35.

Gharagozloo, P. E., Drewry, J. L., Collins, A. M., Dempster, T. A., Choi, C. Y., James, S. C., Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2014). Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop production. *Agronomy*, 9(4), 122.

González-Portela, R. E., Romero-Villegas, G. I., Kapoore, R. V., Alammari, Z. M., Malibari, R. A., Al Shaikhi, A., Al Hafedh, Y., Aljahdali, A. H., Banjar, R. E., Mhedhbi, E., Filimban, A., Padri, M., & Fuentes-Granewald, C. (2024). Cultivation of *Limnospira maxima* under extreme environmental conditions in Saudi Arabia: Salinity adaptation and scaling-up from laboratory culture to large-scale production. *Bioresource Technology*, 406, 131089.

Graham, L. E., & Wilcox, L. W. (2000). *Introduction to the algae*. Prentice-Hall.

Golik, S. I., Larran, S., Gerard, G. S., & Fleitas, M. C. (2018). Maíz: Importancia, origen, sistemática, morfología y composición química. En *Cereales de verano* (pp. 1–35). Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.

Gualán, J. C., & Medina, A. R. (2020). *Agrobiología: Una visión general y sus aplicaciones*. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/342293464_Agrobiologia_Una_vision_general_y_sus_aplicaciones

Guevara Pérez, A. (2015). *Nixtamalización del maíz*. Centro de Investigación y Capacitación en Tecnología Alimentaria y Agroindustrial – FDA.

Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2016). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway.

Guldhe, A., Kumari, S., Ramanna, L., Ramsundar, P., Singh, P., Rawat, I., & Bux, F. (2017). Prospects, recent advancements and challenges of different wastewater streams for microalgal cultivation. *Journal of Environmental Management*, 203, 299–315.

Gupta, S., & Bux, F. (2019). *Microalgae: Cultivation, applications and challenges*. Academic Press.

Gutiérrez Barroso, Y., González León, D., Safonts Grenier, L., del Valle Martínez, J., & González López, M. (2024). Evaluación de la influencia de diferentes medios de cultivo sobre el crecimiento de *Arthrospira platensis*: e360. *Revista Cubana de Ingeniería*, 14(3). <https://rci.cujae.edu.cu/index.php/rci/article/view/878>

Gutiérrez-López, G. F., Salinas-Ruiz, J., & Rodríguez-García, M. E. (2011). Tratamiento y aprovechamiento de aguas residuales del proceso de nixtamalización. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(4), 305–319.

Guzmán-Burneo, M., & González, R. (2016). *Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador*. Corporación para la Investigación Energética.

Harun, R., Singh, M., Forde, G. M., & Danquah, M. K. (2010). Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(3), 1037–1047.

Hernández-Pérez, A., & Labé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157–173.

Hudaib, B. (2021). Treatment of real industrial wastewater with high sulfate concentrations using modified Jordanian kaolin sorbent: Batch and modelling studies. *Heliyon*, 7(11), e08351.

Izquierdo, A. (2013). *Biodegradación de HAPs durante la biorremediación aeróbica de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo* [Tesis doctoral, Universitat de Barcelona].

Jácome-Pilco, C., Ballesteros, C., Rea, E., Rea Cayambe, L., & Poma-Villafuerte, P. (2021). Microalgas en el tratamiento de aguas residuales generadas en industrias de curtiembres. Universidad Estatal de Bolívar

Johnson, E. T., & Schmidt-Dannert, C. (2008). Light-energy conversion in engineered microorganisms. *Trends in Biotechnology*, 26(12), 682–689.

Jourdan, J.-P. (2005). *Cultivo artesanal de espirulina* (Versión 2005/17p) [Presentación en línea]. TechnAp-Spiruline. <https://es.slideshare.net/slideshow/spiruline-cultivoartesanaldeespirulina-jpjourdanv200517p/35043981>

Jucherski, A., Walczowski, A., Bugajski, P., Józwiakowski, K., Rodziewicz, J., Janczukowicz, W., Wu, S., Kasprzyk, M., Gajewska, M., & Mielcarek, A. (2022). Long-term operating conditions for different sorption materials to capture phosphate from domestic wastewater. *Sustainable Materials and Technologies*, 31, e00385.

Kaya, V. M., de la Noüe, J., & Picard, G. (1995). A comparative study of four systems for tertiary wastewater treatment by *Scenedesmus bicellularis*: New technology for immobilization. *Journal of Applied Phycology*, 7(1), 85–95.

Krause, V. M., Tucker, K. L., Kuhnlein, H. V., López, P. C. Y., Ruz, M., & Solomons, N. W. (1992). Rural-urban variation in limed maize use and tortilla consumption by women in Guatemala. *Ecology of Food and Nutrition*, 28(4), 279–288.

Lazcano, C. (2016). *Biramireotecnología ambiental de aguas y aguas residuales*. ECOE.

Lomas, E. (2017). *El empleo de microalgas en la arquitectura sostenible*. Universidad Politécnica de Madrid.

López-Pacheco, I. Y., Carrillo, D., Salinas, C., Silva, A., Arévalo, A., Barceló, D., Afewerki, S., H., M. N., & Parra, R. (2019). Combination of nejayote and swine wastewater as a medium for *Arthrospira maxima* and *Chlorella vulgaris* production and wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 676, 356–367.

Liu, Y. (2023). Efectos de la contaminación por fuentes puntuales en ríos urbanos. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(15), 45012–45025.

Luo, L., He, H., Yang, C., Wen, S., Zeng, G., Wu, M., Zhou, Z., & Lou, W. (2016). Nutrient removal and lipid production by *Coelastrella* sp. in anaerobically and aerobically treated swine wastewater. *Bioresource Technology*, 216, 135–141.

Maltsev, Y., Maltseva, S., & Kulikovskiy, M. (2021). Lipid accumulation by *Coelastrella multistriata* (Scenedesmaceae, Chlorophyta) under nitrogen starvation. *Scientific Reports*, 11(1), 9234.

Marchello, A. E., Lombardi, A. T., Dellamano-Oliveira, M. J., & Souza, S. D. O. (2015). Microalgae population dynamics in photobioreactors with secondary sewage effluent as culture medium. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(1), 75–84.

Martínez, G. S. (1984). Biological treatability of the wastewaters from the alkaline cooking of maize (Indian corn). *Environmental Technology Letters*, 5(8), 365–372.

Martínez-García, S. (2022). Production of *Arthrospira platensis*: Effects on growth and cultivation conditions. *Journal of Applied Phycology*, 34(2), 123–140.

- Martínez-Ruiz, A., Buitrón, G., & Razo-Flores, E. (2022). Culturing *Arthrospira maxima* in mining wastewater: Pilot-scale study for sulfate removal and sequential recovery of phycocyanin and lipids. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(5), 107401.
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217–232.
- Medina, N., Millán, C., Lizardi, J., Rascon, C., Marquez, E., & López, M. (2009). Maize processing wastewater arabinoxylans: Gelling capability and cross-linking content. *Food Chemistry*, 115(4), 1286–1290.
- Medina, A., Piña, P., Nieves, M., Arzola, J., & Guerrero, M. (2012). La importancia de las microalgas. *Biodiversitas*, 103, 1–5.
- Meza-Rojas, L. D., & Castañeda, M. (2018). La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. *Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación*, 9(1), 163–174.
- Miramontes-Piña, C. U. (2012). *Situación actual y perspectivas del maíz en México 1996–2012*. Servicios de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP).
- Mthembu, M. S., Swalaha, F. M., Basson, A. K., Ndulini, S. F., Mokoena, G. T., & Mthembu, Q. N. (2021). Sulfate removal from industrial wastewater in a hydroponic system planted with *Bidens pilosa* L. *Physics and Chemistry of the Earth*, 124, 103039.
- Mulgund, A. (2022). Increasing lipid accumulation in microalgae through environmental manipulation, metabolic and genetic engineering: A review in the energy NEXUS framework. *Energy Nexus*, 5, 100054.
- Muller-Feuga, A. (2000). The role of microalgae in aquaculture: Situation and trends. *Journal of Applied Phycology*, 12, 527–534. <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1008106304417>
- Mulumba, N., & Farag, I. H. (2012). Tubular photobioreactor for microalgae biodiesel production. *International Journal of Engineering Science and Technology*, 4(2), 703–709.
- Muñoz Cruz, A. (2008). *Caracterización y tratamiento de aguas residuales* (Trabajo de grado, Ingeniero Industrial). Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, México.
- Muñoz, R., & Guieysse, B. (2006). Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research*, 40, 2799–2815.

- Ndikubwimana, T., Chang, J., Xiao, Z., Shao, W., Zeng, X., Ng, I.-S., & Lu, Y. (2016). Flotation: A promising microalgae harvesting and dewatering technology for biofuels production. *Biotechnology Journal*, 11, 315–326.
- Nowicka-Krawczyk, P., Mühlsteinová, R., & Hauer, T. (2019). Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (Cyanobacteria). *Scientific Reports*, 9(1), 1–11.
- Ogbonna, J. C., Yoshizawa, H., & Tanaka, H. (2000). Treatment of high strength organic wastewater by a mixed culture of photosynthetic microorganisms. *Journal of Applied Phycology*, 12, 277–284.
- Oron, G., Shelef, G., & Levi, A. (1981). Algal polymorphism in high rate wastewater treatment ponds. *Hydrobiologia*, 77, 167–175.
- Ortiz-Villota, M. T., Romero-Morales, M. A., & Meza-Rodríguez, L. D. (2018). La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. *Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación*, 9(1), 163–176.
- Paliwal, R. L. (2001). Origen, evolución y difusión del maíz. En R. L. Paliwal, G. Granados, H. R. Lafitte, & A. D. Violic (Eds.), *El maíz en el trópico* (Depósito de documentos de la FAO).
- Pandey, A., Pandey, A., & Shukla, S. P. (2015). Cyanobacteria as potential options for wastewater treatment. En A. Singh, A. Parmar, & R. K. Jain (Eds.), *Cyanobacteria: An economic perspective* (pp. 161–174).
- Park, K. H., & Lee, C. G. (2000). Optimization of algal photobioreactors using flashing lights. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 5, 186–190.
- Parmar, C. (2022). *Approved analysis methods for ammonia*. OMEGA.
- Pedroza, B. R., Durán, B. C., & Rbc. (1987). Characteristics for nejayote aerobic treatment. *Environmental Technology Letters*, 8, 579–588.
- Peterson, G. L. (1979). Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. *Analytical Biochemistry*, 100(2), 201–220.
- Pienkos, P. T., & Darzins, A. (2009). The promise and challenges of microalgal-derived biofuels. *Biofuel, Bioproducts & Biorefining*, 3, 431–440.
- Pulz, O., & Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65, 635–648.
- Qiu, R., Gao, S., Lopez, P. A., & Ogden, K. L. (2017). Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal Research*, 28, 192–199.

- Ragaza, J. A., Hossain, M. S., Meiler, K. A., Velasquez, S. F., & Kumar, V. (2020). A review on *Spirulina*: Alternative media for cultivation and nutritive value as an aquafeed. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2371–2395.
- Ramírez-Moreno, L., & Olvera-Ramírez, R. (2006). Uso tradicional y actual de *Spirulina sp.* (*Arthrospira sp.*). *Interciencia*, 31(9), 657–663.
- Ran, W., Wang, H., Liu, Y., Qi, M., Xiang, Q., Yao, C., Zhang, Y., & Lan, X. (2019). Storage of starch and lipids in microalgae: Biosynthesis and manipulation by nutrients. *Bioresource Technology*, 291, 121894.
- Rawat, I., Kumar, R. R., Mutanda, T., & Bux, F. (2011). Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*, 88(10), 3411–3424.
- Ray, M., Kumar, N., Kumar, V., Negi, S., & Banerjee, C. (2019). Microalgae: A way forward approach towards wastewater treatment and bio-fuel production. In *Applied Microbiology and Bioengineering*.
- Rehman, A. (2011). Heavy metals uptake by *Euglena proxima* isolated from tannery effluents and its potential use in wastewater treatment. *Russian Journal of Ecology*, 42, 44–49.
- Ríos Maravilla, A. A. (2020). *Evaluación del nejayote para la obtención de biohidrógeno por fermentación en fase oscura* (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma Metropolitana, México, Ciudad de México.
- Romo, P. A. K. (2002). *Manual para el cultivo de microalgas*. Universidad Autónoma de Baja California Sur, Departamento de Biología Marina.
- Rosentrater, K. A. (2006). A review of corn masa processing residues: Generation, properties, and potential utilization. *Waste Management*, 26, 284–292.
- Ryu, B. G., Kim, E. J., & Kim, H. S. (2014). Simultaneous treatment of municipal wastewater and biodiesel production by cultivation of *Chlorella vulgaris* with indigenous wastewater bacteria. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 19, 201–210.
- SAGARPA. (2017). Acuerdo por el que se dan a conocer las reglas de operación del Programa de Fomento a la Agricultura. *Diario Oficial de la Federación*, 29 de diciembre de 2017, México.
- Salgado-Bernal, C., Durán Domínguez, M., Cruz Arias, M. E., Carballo Valdés, Y. A., & Martínez Sardiñas, S. (2012). Bacterias rizosféricas con potencialidades fisiológicas para eliminar materia orgánica de aguas residuales. *Contaminación Ambiental*, 28(1), 10.
- Salmerón, A., Rodríguez, M., Pineda, S., Cristiani, U., Juárez, R., Ruiz, O., & Galíndez, M. (2003). Aerobic treatment of maize-processing wastewater (nejayote)

in a single-stream multistage bioreactor. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 2, 401–406.

Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J. D., Mariscal-Moreno, R. M., Escalante-Aburto, A., Ponce-García, N., & Véles-Medina, J. J. (2018). Physical and chemical changes undergone by pericarp and endosperm during corn nixtamalization: A review. *Journal of Cereal Science*, 81, 108–117.

Saxena, P. N., Ahmad, M. R., & Shyam, R. (1983). Cultivation of *Spirulina* in sewage for poultry feed. *Experientia*, 39, 1077–1083.

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023). Maíz, cultivo de México. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-cultivo-de-mexico>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2007). Informe de la situación del medio ambiente en México 2007. Gobierno de México.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (1996). NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores propiedad de la nación. Diario Oficial de la Federación. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4720991&fecha=15/11/1996

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (1996). NOM-002-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a sistemas de alcantarillado. Diario Oficial de la Federación. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4720993&fecha=15/11/1996

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2022). SIACON-NG: Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430>

SIACON. (2022). *Superficie de siembra y producción agrícola nacional por tipo de cultivo*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER).

Singh, S. P., & Singh, P. (2014). Effect of CO₂ concentration on algal growth: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38, 172–179.

Soeder, C. J. (1980). Massive cultivation of microalgae: Results and prospects. *Hydrobiologia*, 72, 197–209.

Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2017). *Spirulina* – From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 69, 157–171.

Srivastava, P., & Pandey, A. (2022). *Photosynthetic microorganisms for wastewater treatment and value-added products*. En V. K. Gupta, A. Pandey, & S. R. Kondo

(Eds.), *Microbes in Resource and Nutrient Recovery via Wastewater Treatment* (pp. 421–440).

Steele, D. J. (2015). *Cellular viability and the occurrence and significance of chlorophyll allomers during phytoplankton turnover* (Tesis). Faculty of Science and Technology.

Tilman, D., Balzer, C., Hill, J., & Befort, B. L. (2011). Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(50), 20260–20264.

Trujillo Granda, S. A., & Lapo Lucio, M. A. (2023). Cultivo de *Spirulina platensis* en tres medios: Zarrouk, Paoletti y Jordan, para su aplicación en una microempresa rural. Universidad Politécnica Salesiana.
<https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/29426>

Ulloa, E. (2018). *Productos y servicios de biorremediación*. Costa Rica: Procomer.

Velazco, M., Angulo, O., Vázquez, C. D. L., Arroyo, L. A., & Monroy, R. J. A. (1997). Effect of dried solids of nejayote on broiler growth. *Poultry Science*, 76, 1531–1534.

Vallejo-Isaza, M. (2023). *Cultivo de cianobacteria*. ResearchGate.
https://www.researchgate.net/publication/375742456_Cultivo_de_cianobacterias

Vázquez-López, M., Jiménez-Ocampo, U. E., & Moreno-Andrade, I. (2023). Tratamiento anaerobio y valorización energética de las aguas residuales del proceso de nixtamalización del maíz: una revisión. *Revista AIDIS de ingeniería y ciencias ambientales: investigación, desarrollo y práctica*, 16(1), 309-325. Universidad Nacional Autónoma de México.

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), 571–586.

Vidali, M. (2001). Bioremediation: An overview. *Pure and Applied Chemistry*, 73(7), 1163-1172.

Vonshak, A. (1997). *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology*. Taylor & Francis.

Warwick, C., Guerreiro, A., & Soares, A. (2013). Sensing and analysis of soluble phosphates in environmental samples: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 41(1), 1–11.

Yu, J., Hu, Y., Xue, M., Dun, Y., Li, S., Peng, N., & Zhao, S. (2016). Purification and identification of antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of *Spirulina platensis*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(7), 1216–1223.

Zeng, J., Wang, Z., & Chen, G. (2021). Biological characteristics of energy conversion in carbon fixation by microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 152, 111701.