

“Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos”

## **DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

### **OPCION I.- TESIS**

#### **TRABAJO PROFESIONAL**

**“PRODUCCION DE CHLORELLA SPP. Y SPIRULINA MAXIMA EN EL  
TRATAMIENTO DE RESIDUOS DE LAS INDUSTRIAS: AVICOLA,  
PORCICOLA Y AZUCARERA”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS  
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

**PRESENTA:**

**I.Q. MIRIAM PAULINA CALDERÓN BAUTISTA**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS**

**CODIRECTOR DE TESIS:**

**DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN**

**ORIZABA, VER. MÉXICO**

**OCTUBRE 2017**



"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA: 13/10/2017  
DEPENDENCIA: POSGRADO  
ASUNTO: Autorización de Impresión  
OPCIÓN: I

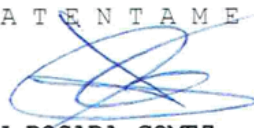
C. MIRIAM PAULINA CALDERON BAUTISTA  
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:  
INGENIERIA QUIMICA

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

"PRODUCCION DE CHLORELLA SPP. Y SPIRULINA MAXIMA EN EL  
TRATAMIENTO DE RESIDUOS DE LAS INDUSTRIAS: AVICOLA, PORCICOLA Y  
AZUCARERA".

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E

  
RUBEN POSADA GOMEZ  
JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO

C.A. TITULACIÓN



SECRETARIA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA  
INSTITUTO  
TECNOLÓGICO  
DE ORIZABA

ggc



"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA : 06/10/2017

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

**C. RUBEN POSADA GOMEZ**  
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO E INVESTIGACION.  
P R E S E N T E

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C. :

**MIRIAM PAULINA CALDERON BAUTISTA**

la cual lleva el título de:

**"PRODUCCION DE CHLORELLA SPP. Y SPIRULINA MAXIMA EN EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS DE LAS INDUSTRIAS: AVICOLA, PORCICOLA Y AZUCARERA".**

Y concluyen que se acepta.

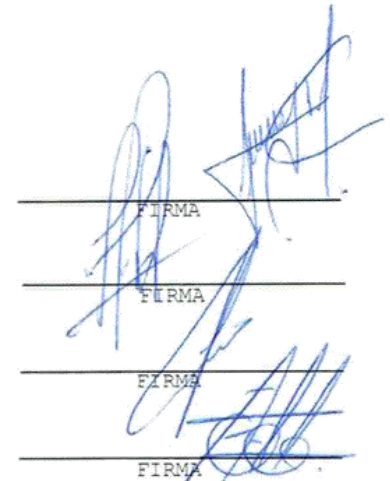
A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : DR. JUAN MANUEL MENDEZ CONTRERAS

SECRETARIO : DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN

VOCAL : M. I. NORMA ALEJANDRA VALLEJO CANTU

VOCAL SUP. : DR. EUSEBIO BOLAÑOS REYNOSO



FIRMA  
FIRMA  
FIRMA  
FIRMA

EGRESADO(A) DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

OPCION: I Tesis



## DEDICATORIAS

A Dios por regalarme la vida, sabiduría y fortaleza para superar las adversidades de la vida.

A mis padres por su amor incondicional, apoyo en cada momento y sobre todo por ser mi inspiración y motivación cada día, ¡los amo demasiado!

A mis hermanos por estar en todo momento y regalarme hermosos recuerdos, gracias por su amor y confianza que me depositan.

A mis amigos (Ingrid, Gaby, Walki, Alejandro de Jesús, Mario) que, aunque estemos a cientos de kilómetros siempre están ahí para darme una palabra de aliento, por su apoyo incondicional y cariño. ¡Los quiero mucho!

A las chicas del laboratorio, en especial a Magui y Glo por las tardes amenas que pase con ustedes. Pero sobre todo por sus consejos, por brindarme su amistad y cariño. Tendrán siempre un espacio en mi corazón. Auh auh!!

A Nuri y Sha, gracias por haber estado siempre a mi lado en esta etapa, por los ánimos, gracias por cada experiencia vivida a su lado, consejos y conocimientos que hicieron de esta experiencia una de las más especiales.

A Oswaldo por su amor, apoyo incondicional, gracias por estar en la buenas y malas, por estar conmigo en la culminación de esta etapa. Sabes que eres especial en mi vida, ¡Te amo mucho!

## RECONOCIMIENTOS

Al **Dr. Juan Manuel Méndez Contreras** por haberme permitido ser parte de su grupo de investigación, por su dirección en la realización del proyecto, su contribución académica, sus consejos, por haber puesto su confianza en mí y por su gran ética y calidad humana.

Al **Dr. Alejandro Alvarado Lassman** por su apoyo como co-asesor de este proyecto, gracias por la disposición y atención prestada comentarios a lo largo de todo el trabajo de investigación.

A la **M. I. Q. Norma Vallejo Cantú** agradezco su disponibilidad, sus observaciones y aportaciones tanto en clase como a largo de este trabajo de investigación.

Al **Dr. Eusebio Bolaños Reynoso** se le agradece por su amable atención, observaciones y aportaciones en la realización de este trabajo de investigación.

A cada uno de los profesores investigadores de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Química por compartir sus conocimientos como profesora y por todas sus valiosas enseñanzas.

**Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca otorgada con número de registro 709818 en el periodo agosto 2015 a julio 2017.

## RESUMEN

**Elaborado por:** I.Q. Miriam Paulina Calderón Bautista

**Dirigido por:** Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

**Co-Asesor:** Dr. Alejandro Alvarado Lassman.

En los últimos años se ha despertado un gran interés por el cultivo de microalgas de forma intensiva, debido a sus propiedades que las hacen susceptibles para diversas aplicaciones: desde la obtención de alimentos para animales por su alto valor alimenticio y en algunas especies pueden producir compuestos de valor comercial, tales como pigmentos y productos farmacéuticos para los seres humanos; otra aplicación se da en la calidad del medio ambiente (depuración de aguas residuales, captura y remediación de contaminantes en el ambiente ejemplo de ello, la mitigación de los niveles de CO<sub>2</sub>), materia prima para la obtención de biocombustibles. Sin embargo esta tecnología se hace costosa debido al mantenimiento que requiere, como lo es el suministro de nutrientes, por lo que en la actualidad las investigaciones centran su atención en el uso de residuos orgánicos, En este sentido, la presente investigación tuvo como finalidad el aprovechamiento de las propiedades de subproductos agroindustriales, con el fin de suministrar los nutrientes que estos residuos contienen en el cultivo poblacional de la especie *Spirulina máxima* y *Chlorella spp.* en fotobioreactores para la obtención de biomasa nutritiva principalmente.

Se realizó la selección y la obtención de la materia prima (residuo porcícola, avícola y melaza); para después caracterizarlo de manera fisicoquímica. Posteriormente a la dilución y filtración, se realizó un pretratamiento alcalino con bicarbonato de sodio que ayudó a elevar el pH del medio además, ayudó al desdoblamiento de enlaces péptidos en el residuo para favorecer el aprovechamiento de nutrientes. Se monitorearon cinéticas de crecimiento durante 21 días, se aplicó agitación por burbujeo de aire y una iluminación en fotoperiodos de 12 h luz-obscuridad, durante este periodo se evaluó pH, conteo celular por cámara de Neubauer, biomasa, DQO<sub>T</sub> y absorbancia.

## ABSTRACT

**Elaborado por:** I.Q. Miriam Paulina Calderón Bautista

**Dirigido por:** Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

**Co-Assessor:** Dr. Alejandro Alvarado Lassman.

In recent years a great interest has been aroused by the cultivation of microalgae in an intensive way, due to its properties that make them susceptible for diverse applications: from the obtaining of animal feed for its high nutritional value and in some species can produce compounds of commercial value, such as pigments and pharmaceuticals for humans; another application is given in the quality of the environment (wastewater treatment, capture and remediation of pollutants in the environment example, mitigation of CO<sub>2</sub> levels), raw material for the production of biofuels. However, this technology is expensive because of the maintenance it requires, such as the supply of nutrients, so research now focuses its attention on the use of organic waste. In this sense, the present research had the purpose of taking advantage of the properties of agroindustrial by-products, in order to supply the nutrients that these residues contain in the population culture of the species *Spirulina maximum* and *Chlorella spp.* in photobioreactors to obtain mainly nutritive biomass.

The selection and obtaining of the raw material (pork, poultry and molasses residue) were carried out; to characterize it in a physicochemical manner. Subsequent to the dilution and filtration, an alkaline pre-treatment with sodium bicarbonate was carried out, which helped to raise the pH of the medium and also helped the unfolding of peptide bonds in the residue to favor the use of nutrients. Growth kinetics were monitored for 21 days, stirring with air bubbling and light-dark 12-h photoperiod illumination were applied during this period were valued: pH, cell count by neubauer chamber, biomass, DQOT and absorbance

# INDICE

INDICE.....	ii
LISTA DE FIGURAS .....	iii
LISTA DE TABLAS .....	v
NOMENCLATURA.....	vi
INTRODUCCIÓN .....	7
CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS .....	9
1.1 Problemática ambiental de los residuos agroindustriales .....	9
1.2 Desechos agroindustriales .....	9
1.2.1 Melaza .....	10
1.2.2 Residuos avícolas.....	11
1.2.3 Residuo porcícola .....	13
1.2.4 Cultivo de microalgas y cianobacterias en el tratamiento de residuos.....	16
1.3 Algas.....	17
1.3.1 Ciclo vital .....	18
1.3.2 Crecimiento.....	19
1.3.3 Clasificación de las algas.....	20
Algas verdes .....	20
Algas rojas .....	20
Algas pardas .....	20
Algas azul- verdosas ó cianobacterias. ....	21
1.3.4 Función fotosintética .....	22
1.3.5 Pigmentos naturales .....	22
Clorofila.....	22
Carotenoides .....	23



1.3.6 Depuración .....	24
1.3.7 Importancia económica de las algas .....	24
1.4 Microalgas .....	25
1.4.1 Usos de las microalgas .....	26
Usos energéticos.....	26
Remediación de contaminantes .....	27
Aplicaciones de elevado valor añadido.....	27
Cosméticos .....	28
1.4.2 Chlorella spp.....	29
1.5 Cianobacterias .....	30
1.5.1 Importancia de las cianobacterias.....	31
1.5.2 Spirulina máxima .....	31
1.6 Medios de cultivo .....	33
1.7 Sistemas y condiciones de cultivo.....	34
1.7.1 Sistemas abiertos (estanques).....	34
1.7.2 Fotobioreactores .....	34
1.7.3 Luz.....	34
1.7.4 Temperatura .....	35
1.7.5 Agitación.....	35
1.7.6 pH.....	35
1.7.7 Macronutrientes, micronutrientes y vitaminas .....	36
1.8 Estudios previos.....	37
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	40
Etapa 2. Acondicionamiento de los residuos.....	40

2.1 Obtención y caracterización de los residuos agroindustriales .....	41
2.1.1 Muestreo de residuos porcícolas .....	41
2.1.2 Muestreo de residuos avícolas .....	42
2.1.3 Muestreo de residuos de caña de azúcar .....	42
2.1.4 Caracterización de residuos.....	42
2.2 Acondicionamiento de los residuos .....	43
2.3 Determinación la dosis recomendada de los residuos orgánicos como fuente de nutrientes a la microalga <i>Chlorella spp</i> y <i>Spirulina máxima</i> .....	45
2.3.1 pH.....	47
2.3.2 Concentración celular .....	47
2.3.3 Tasa de crecimiento celular .....	49
2.3.4. Densidad celular por espectrofotometría.....	49
2.3.5 Biomasa en base seca.....	50
2.3.6 Solidos totales .....	50
2.3.7 Solidos volátiles .....	51
2.3.8 Demanda química de oxígeno .....	51
2.3.9 Clorofila .....	52
2.3.10 Lípidos totales .....	52
2.3.11 Carbohidratos .....	53
2.3.12 Proteínas .....	53
2.4 Comparación de rendimientos de biomasa generada con los de referencia (medio basal bold y utex modificado) .....	54
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	57
Etapa 1. Caracterización de residuos agroindustriales.....	57

Etapa 2. Acondicionamiento de residuos agroindustriales con pre-tratamiento alcalino .....	59
Residuo porcícola .....	59
Residuo avícola .....	59
Melaza .....	60
Etapa 3. Determinación de dosis recomendada de nutrientes .....	61
Lodo porcícola- Chlorella spp .....	61
Lodo porcícola- Spirulina máxima .....	66
Pollinaza- Chlorella spp. ....	69
Pollinaza- Spirulina máxima.....	74
Melaza- Chlorella spp. ....	78
Melaza- Spirulina máxima.....	82
Etapa 4. Comparación de los rendimientos de biomasa generada con los de referencia.....	86
Lodo porcícola .....	87
Pollinaza .....	88
Melaza .....	89
CONCLUSIONES .....	92
RECOMENDACIONES .....	95
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	97

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Ciclo vital de un alga verde unicelular (Tortora <i>et al.</i> , 2007) .....	18
Figura 1.2 Clasificación de los pigmentos naturales (Meléndez-Martínez y col., 2007 citado en Caballero, 2013).....	23
Figura 1.3 <i>Chlorella</i> spp .....	30
Figura 1.4 <i>Spirulina máxima</i> .....	33
Figura 2.1 Metodología .....	40
Figura 2.2 Acondicionamiento de lodo porcícola .....	44
Figura 2.3 Acondicionamiento de residuo avícola .....	44
Figura 2.4 Acondicionamiento de melaza.....	45
Figura 2.5 Esquema de cinéticas para: <i>Chlorella</i> spp. y <i>Spirulina máxima</i> con residuos agroindustrial .....	46
Figura 2.6 Detalle de la rejilla de una cámara de Neubauer (Celeromics, 2013 citado en Gonzalez, 2015).....	48
Figura 3.1 DQO de lodo porcícola- <i>Chlorella</i> spp. ....	61
Figura 3.2 %STV de lodo porcícola- <i>Chlorella</i> spp. ....	62
Figura 3.3 Crecimiento celular de <i>Chlorella</i> spp. - lodo porcícola. ....	62
Figura 3.4 Concentraciones al 0%, 20%, 50% y 80% de lodo porcícola en <i>Chlorella</i> spp.....	63
Figura 3.5 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Chlorella</i> spp.....	63
Figura 3.6 Monitoreo de pH al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Chlorella</i> spp.....	64
Figura 3.7 Biomasa al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Chlorella</i> spp. ....	65
Figura 3.8 Biomasa al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Spirulina máxima</i> . ....	65
Figura 3.9 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Chlorella</i> spp. (degradación de DQO).....	656
Figura 3.10 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Chlorella</i> spp. (crecimiento celular).....	656
Figura 3.11 DQO de lodo porcícola/ <i>Spirulina máxima</i> .....	67
Figura 3.12 %STV de lodo porcícola/ <i>Spirulina máxima</i> .....	67

Figura 3.13 Crecimiento celular de <i>Spirulina máxima</i> - lodo porcícola .....	68
Figura 3.14 Porcentaje de remoción al 20%,50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Spirulina máxima</i> .....	68
Figura 3.15 Monitoreo de pH 20%,50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Spirulina máxima</i> .	69
Figura 3.16 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Spirulina máxima</i> (degradación de DQO) .....	69
Figura 3.17 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ <i>Spirulina máxima</i> (crecimiento celular) .....	6970
Figura 3.18 DQO de pollinaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	70
Figura 3.19 % STV de pollinaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	71
Figura 3.20 Crecimiento celular de <i>Chlorella spp.</i> - Pollinaza.....	71
Figura 3.21 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de pollinaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	72
Figura 3.22 Monitoreo de pH al 20%, 50% y 80% de pollinaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	72
Figura 3.23 Biomasa al 20%, 50% y 80% de pollinaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	73
Figura 3.24 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de pollinaza/ <i>Chlorella spp.</i> (degradación de DQO).....	73
Figura 3.25 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de pollinaza/ <i>Chlorella spp.</i> (crecimiento celular).....	734
Figura 3.26 DQO de pollinaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	74
Figura 3.27 Crecimiento celular de <i>Spirulina máxima</i> - Pollinaza .....	75
Figura 3.28 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de pollinaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	75
Figura 3.29 Monitoreo de pH al 20%, 50% y 80% de pollinaza- <i>Spirulina máxima</i> ....	76
Figura 3.30 Biomasa al 20%, 50% y 80% de pollinaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	76
Figura 3.31 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de pollinaza/ <i>Spirulina máxima</i> . (degradación de DQO).....	767
Figura 3.32 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de pollinaza/ <i>Spirulina máxima</i> . (crecimiento celular).....	767
Figura 3.33 DQO de Melaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	78

Figura 3.34 %STV de Melaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	78
Figura 3.35 Crecimiento celular de <i>Chlorella spp.</i> - Melaza.....	79
Figura 3.36 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de Melaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	79
Figura 3.37 Monitoreo de pH al 20%, 50% y 80% de Melaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	80
Figura 3.38 Biomasa al 20%, 50% y 80% de Melaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	81
Figura 3.39 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de melaza/ <i>Chlorella spp.</i> (degradación de DQO).....	81
Figura 3.40 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de melaza/ <i>Chlorella spp.</i> (crecimiento celular).....	812
Figura 3.41 DQO Melaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	82
Figura 3.42 %STV Melaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	83
Figura 3.43 Crecimiento celular de <i>Spirulina máxima</i> - Melaza.....	83
Figura 3.44 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de Melaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	84
Figura 3.45 Monitoreo de pH al 20%,50% y 80% de Melaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	84
Figura 3.46 Biomasa al 20%,50% y 80% de Melaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	85
Figura 3.47 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de melaza/ <i>Spirulina máxima</i> (degradación de DQO).....	856
Figura 3.48 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de melaza/ <i>Spirulina máxima</i> (crecimiento celular).....	856
Figura 3.49 Bioconversión de Lodo porcícola- <i>Chlorella spp.</i> .....	87
Figura 3.50 Bioconversión de Lodo porcícola- <i>Spirulina máxima</i> . ....	88
Figura 3.51 Bioconversión de Pollinaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	88
Figura 3.52 Bioconversión de Pollinaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	89
Figura 3.53 Bioconversión de Melaza- <i>Chlorella spp.</i> .....	90
Figura 3.54 Bioconversión de Melaza- <i>Spirulina máxima</i> .....	90

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Composición de la melaza de caña de azúcar (Tellez, 2004 citado en Fajardo, 2007).....	11
Tabla 1.2. Aporte de nutrientes de las excretas de aves. ....	12
Tabla 1.3. Composición química y propiedades de lodos residuales primarios, secundarios y digeridos (Cardozo y Ramirez, 2004) .....	14
Tabla 1.4. Estado de la producción de microalgas para “otros usos” en 2010 (Brennan, 2010 citado en Santos <i>et al.</i> , 2014).....	28
Tabla 1.5. Requerimientos principales de cultivos de microalgas y cianobacterias (González, 2015) .....	37
Tabla 2.1. Parámetros de caracterización de los residuos. ....	43
Tabla 2.2. Parámetros evaluados en las cinéticas de crecimiento.....	47
Tabla 2.3. Criterios para reportar sólidos sedimentables.....	55
Tabla 3.1 Caracterización de residuos agroindustriales .....	58
Tabla 3.2. Adición de NaHCO <sub>3</sub> a las cinéticas con lodo porcícola .....	59
Tabla 3.3. Adición de NaHCO <sub>3</sub> a las cinéticas con residuo avícola.....	60
Tabla 3.4. Adición de NaHCO <sub>3</sub> a las cinéticas con melaza .....	60

## NOMENCLATURA

% v/v	Por ciento volumen-volumen
%P/P	Por ciento peso-peso
TG	Triglicéridos
NMP/g ST	Número más probable/gramo de sólido total



## INTRODUCCIÓN

Como resultado de la preocupación de los efectos negativos causados por las actividades humanas al medio ambiente, el uso de biocombustibles ha ido en aumento en muchas regiones del mundo, así como también la mitigación de contaminantes de origen antropogénico.

Recientemente, las algas se han convertido en fuente viable de producción de biocombustibles ya que presentan diversas características atractivas como: a) la producción de hasta 60% de su biomasa en forma de aceite o de hidratos de carbono, de la cual se pueden obtener biocombustibles entre otros productos industrialmente importantes y b) crecen 20-30 veces más rápido que los cultivos de alimentos y por su diversidad y cualidades las hacen susceptibles a ser utilizadas en la alimentación, agricultura, cosméticos y medicina, etc. caracterizándose por su capacidad de adaptación a casi todos los ambientes y sobre todo requieren CO<sub>2</sub> para crecer, lo que implica que se pueden utilizar para biofijación y la biorremediación del ambiente (Ullah *et al.*, 2014). Sin embargo, los costos de mantenimiento como lo es el suministro de nutrientes tienden a ser elevados, por lo que en la actualidad se busca sustituir estos medios de cultivo por otros más sustentables y económicamente viables como son los residuos orgánicos debido a que parte de sus constituyentes pueden ser materia prima para generar diversos productos con valor agregado (piensos para animales, biocombustibles, etc.); que si no se les da un tratamiento y disposición adecuada provoca graves daños al medio ambiente.

La presente investigación tiene como objetivo desarrollar una metodología de aprovechamiento de las propiedades de subproductos (desechos) agroindustriales a partir de su caracterización nutritiva, con el fin de suministrar nutrientes en el cultivo poblacional de las especies: *Chlorella spp.* y *Spirulina máxima* en fotobiorreactores para la obtención de biomasa principalmente.

# **CAPÍTULO 1**

## **FUNDAMENTOS TEÓRICOS**

## **CAPITULO 1. FUNDAMENTOS TEORICOS**

### **1.1 Problemática ambiental de los residuos agroindustriales**

El exceso de generación de desechos agroindustriales provoca diversos problemas ambientales como derretimiento de glaciares, aumento en el nivel del mar, aumento de la temperatura. Otro problema importante es la contaminación de ecosistemas (Saval, 2012) debido a que no existe una clara conciencia ambiental para su manejo, además de que falta capacidad tecnológica y recursos económicos para darles una disposición final, así como una legislación específica para regular la gestión de este tipo de residuos, que asegure un buen manejo desde su generación hasta su disposición final. Aún en nuestros días, esta problemática prevalece a nivel mundial, por lo que lleva a los científicos e industrias a investigar el desarrollo de tecnologías para obtener fuentes energéticas renovables y sustentables, así como mitigar los efectos causados por las actividades humanas que causan daño a la atmosfera, desarrollo humano y atendiéndolo de una manera ambientalmente responsable, la disposición final de los residuos que ya no pueden ser reutilizados, tomando como base la legislación vigente, para evitar que se conviertan en contaminantes de suelos y agua subterránea.

### **1.2 Desechos agroindustriales**

Los procesos agroindustriales generan subproductos o residuos y si no son reciclados o procesados apropiadamente, pueden generar diversos problemas ambientales. Sin, embargo estos materiales son fuentes especialmente atractivas por su contenido en compuestos químicos y orgánicos (como azúcares, pigmentos, fibra alimentaria, proteína, polifenoles, lignina, etc.) y pueden ser potencialmente útiles cuando se les transforma mediante tratamientos químicos, microbiológicos o biotecnológicos en productos de elevado valor añadido. La utilización de residuos agrícolas en procesos de remediación de suelos y tratamiento de efluentes ha sido también de gran interés y varios procesos han sido reportados (Huerta *et al.*, 2008). La biotecnología permite la

bio-conversión de residuos agroindustriales en productos de interés comercial mediante procesos de extracción directos o de transformación por vía química o microbiológica (Moldes *et al.*, 2002 citado en Huerta *et al.*, 2008).

En la parte económica, para la producción de productos de mayor valor añadido (enzimas, proteínas, pigmentos, antibióticos, etc.), la utilización de subproductos agroindustriales tiene incidencia en la preservación de la calidad del medio ambiente, al considerar el desarrollo de tecnologías orientadas hacia una transformación sustentable de los recursos naturales. A continuación, se enumeran algunos residuos agroindustriales de interés para el presente proyecto.

### **1.2.1 Melaza**

Se obtiene como subproducto final en la elaboración del azúcar de caña y al igual que la vinaza contiene sacarosa, azúcar invertido, sales y otros compuestos solubles en álcali que normalmente están presentes en el jugo de caña localizado, así como los formados durante el proceso de manufactura del azúcar. La melaza se caracteriza por tener grados Brix ó sólidos disueltos de 68- 75% y un pH de 5.0- 6.1% (Hoing, 1974 citado en Fajardo, 2007).

Este residuo representa una dificultad para los ingenios azucareros ya que su disposición final da origen a problemas de contaminación y salubridad. Es por ello que la industria busca soluciones que apuntan hacia la conversión de sus residuos a subproductos de los cuales se puede obtener un beneficio económico, al tiempo que disminuye los impactos al ambiente. La melaza contiene un perfil de minerales que han sido optimizados por la naturaleza para una absorción superior, en la Tabla 1.1 se muestra su composición.

Este residuo presenta alta viscosidad conforme incrementa la concentración de sólidos por lo que es necesario manejar diferentes concentraciones, por ejemplo: 10 % v/v, 50

% v/v, 100 % v/v (vinaza/agua destilada) para el aprovechamiento de este subproducto orgánico.

Tabla 1.1 Composición de la melaza de caña de azúcar (Tellez, 2004 citado en Fajardo y Sarmiento, 2007)

Componentes	Constituyentes	Contenido (% p/p)
Componentes mayores	Materia seca	78
	Proteínas	3
	Sacarosa	60-63
Componentes mayores	Azúcares reductores	3-5
	Sustancias disueltas (diferentes azúcares)	4-8
	Agua	16
	Grasas	0.40
	Cenizas	9
Contenido de minerales	Calcio	0.74
	Magnesio	0.35
	Fósforo	0.08
	Potasio	3.67
Componentes	Constituyentes	Contenido (ppm)
Contenido de Vitaminas	Ácido Pantoténico	42.90
	Piridoxina	44
	Riboflavina	4.40
	Tiamina	0.88

### 1.2.2 Residuos avícolas

Estos residuos se componen de pollinazas y gallinazas, los cuales contienen las excretas de aves (pollos) de engorda y excretas de las gallinas de postura respectivamente, aunque la gallinaza tiene restricciones mayores que la pollinazas.

Estos residuos son mezclados con el material que se utiliza como cama para las aves, como aserrín o pajas. Su empleo está basado en el alto contenido de proteína, aunque también aporta una cantidad aceptable de energía y minerales como se muestra en la Tabla 1.2, por lo que es un apreciado fertilizante orgánico, relativamente concentrado y de rápida acción. Este abono orgánico se diferencia de todos los demás estiércoles en que su contenido de nutrientes es más alto, pero igual que los demás, su composición es variable dependiendo de su ordenación, almacenamiento y de la cantidad de camas que se emplean (INIFAP, 2012).

Tabla 1.2. Aporte de nutrientes de las excretas de aves.

Nutriente	Pollinaza	Gallinaza
Materia seca (%)	84.7	89.6
Proteína cruda (%)	31.3	28.0
Proteína verdadera (%)	16.7	11.3
Proteína digestible (%)	23.3	14.4
Fibra cruda, (%)	16.8	12.7
Grasa cruda (%)	3.3	2.0
Elementos libres de nitrógeno (%)	29.5	28.7
Cenizas (%)	15.0	28.0
Total de nutrientes digestibles (%)	72.5	52.0
Energía digestible (Kcal/Kg*)	2440	1911
Calcio (%)	2.37	8.8
Fósforo (%)	1.8	2.5
Magnesio (%)	0.44	0.67
Manganeso (mg/Kg)	225	406
Sodio (%)	0.54	0.94
Potasio (%)	1.70	2.33
Cobre (mg/Kg)	98	150
Zinc (mg/Kg)	235	463

\*En ovinos

Las granjas avícolas, con sus grandes naves, generan considerables volúmenes de residuales, que no son tratados eficazmente, a pesar de que pueden ser usados como fuente de componentes químicos en la biosíntesis de las excretas de aves tienen mayor relevancia en la alimentación de animales, y preferentemente en animales de pastoreo (INIFAP, 2012).

El uso de este residuo en dietas integrales, depende de los ingredientes a utilizar; estos residuos generalmente se mezclan con melaza para mejorar su aceptación (diluyen el mal olor y sabor).

Un tratamiento previo a su utilización es la molienda, dilución y el mezclado con el fin de diluir la materia que está en estado semisólido y sólo se trabaja el 30% de la materia seca de la ración, ya que los residuos avícolas contienen nitrógeno no proteico que en cantidades elevadas puede ser tóxico. Las limitaciones que presenta este tipo de residuo se puede solucionar sometiendo a las excretas a tratamiento físico o químicos como el secado, hidrolizado, peletizado y ensilado, entre otros tratamientos (SAGARPA – INIFAP, 2012).

### ***1.2.3 Residuo porcícola***

La crianza de cerdo se da en casi todo el mundo, con la finalidad de obtener alimento cárnico, por sus buenas características nutricionales y por su buen sabor. Crecen y maduran con rapidez, tienen un periodo de gestación corto (114 días), de las madres se obtienen camadas numerosas, son omnívoros y consumen una gran variedad de alimentos convirtiendo los cereales y leguminosas en carne (FAO-FIRA, 2012). De acuerdo al censo agropecuario INEGI 2017, en México se contabilizaron más de 406 083 mil unidades de producción de ganado porcino. De estas unidades de producción porcino un 59.3 % se dedica a la engorda. Un 15.0% produce lechones (cerdos menores a 8 semanas), otro 15.0 % mantiene vientres con ciclo completo y un 10.7 % cuenta con sementales.

Cabe resaltar que los residuos industriales de cerdos contienen una gran cantidad de sustancias: amoníaco, metano, sulfuro de hidrógeno, ácidos grasos volátiles, compuestos orgánicos volátiles, monóxido de carbono, cianuro, metales pesados, esteroides como se muestra en la Tabla 1.3, y de acuerdo a varios investigadores los purines de estos animales se caracterizan por presentar concentraciones elevadas de fósforo, un nutriente esencial como abono, y nitratos; por lo que el aprovechamiento de los lodos residuales se debe a sus características como son el alto contenido en materia orgánica y nutrientes.

Tabla 1.3. Composición química y propiedades de lodos residuales primarios, secundarios y digeridos (Cardozo y Ramirez, 2004)

Parámetros	Lodos primarios	Lodos secundarios (mezcla)	Lodos digeridos
pH	5.5-6.5	6.6-7.5	6.8-7.6
Sólidos de agua (%)	92-96	97.5-98	94-97
Sólidos Suspendidos Volátiles (%)	70-80	80-90	55-65
Grasas (%)	12-14	3-5	4-12
Proteínas (%)	4-14	20-30	10-20
Carbohidratos (%)	8-10	6-8	5-8
Nitrógeno (%)	2-5	1-6	3-7
Fósforo (%)	0.5-1.5	1.5-2.5	0.5-1.5
Bacterias patógenas (NMP/100ml)	10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup>	100-1000	10-100
Metales pesados (Zn,Cu,Pb) (%)	0.2-2	0.2-2	0.2-2

### **Lodos residuales**

Las características físicas de los lodos residuales están determinadas por los sólidos totales (material que permanece en el lodo o biosólidos al ser deshidratados), los sólidos volátiles (materia orgánica que se volatiliza cuando se incineran los lodos) y



los sólidos totales fijos (compuestos inorgánicos y remanentes de compuestos orgánicos). Las concentraciones de los sólidos son expresadas en mg/L o en por ciento (%) de sólidos (NOM-004-SEMARNAT-2002).

Las excretas son utilizadas como abono orgánico y presentan las siguientes cualidades:

- ✓ Mejoran la infiltración de precipitaciones
- ✓ Aumentan capacidad de retención hídrica
- ✓ Incrementan el contenido de materia orgánica
- ✓ Mejoran la estabilidad estructural de agregados
- ✓ Reducen pérdidas por erosión
- ✓ Disminuyen la compactación.
- ✓ Aunque se enfrenta a desafíos como riesgo de transportar bacterias y de salinización de suelos.

En los últimos años la producción porcina se ha visto afectada en los inventarios actuales, sin embargo, la acumulación de excretas producidas ha provocado, un aumento en los niveles de nitrógeno y fósforo que se aportan al suelo, lo que supone un exceso de dichos elementos sobre las necesidades de las plantas. Al mismo tiempo, se tiene un aumento en las emisiones de amoníaco al medio ambiente, y por consiguiente el mal olor que estos emiten. Esto como el resultado del mal manejo o en algunos casos nulo de los residuos generados. Resaltando la importancia de conceptualizar la excreta, que factores afectan la cantidad y calidad de la misma, para de aquí, clasificarla y conocer sus características nutricionales, previendo su impacto negativo al medio ambiente y/o considerar al residuo como una oportunidad, brindando manejo y tratamiento a la misma (INIFAP, 2007).

Este tipo de residuos se debe tratar para facilitar su manejo y evitar posibles problemas, desde aquellos ocasionados por los olores hasta los producidos por la presencia de microorganismos patógenos. La estabilización es definida con procesos físicos, químicos y biológicos a los que se someten los lodos, para acondicionarlos y

contar con su aprovechamiento benéfico o disposición final evitando o reduciendo sus efectos dañinos al medio ambiente (NOM-004-SEMARNAT-2002).

De manera general existen cuatro principios de tratamiento de lodos residuales:

- Reducción biológica de la materia orgánica volátil.
- Oxidación química de la materia orgánica volátil.
- Adición de productos químicos para la separación de los contaminantes.
- Tratamiento térmico.

#### **1.2.4 Cultivo de microalgas y cianobacterias en el tratamiento de residuos**

- **Melaza:** diferentes estudios han podido constatar el gran potencial que poseen las microalgas para remover sustancias nitrogenadas y fosforiladas (Aslan y Kapdan, 2006 citado en Castro y Parra, 2011), caracterizándose por su capacidad de adaptación a casi todos los ambientes, además poseen la habilidad de asimilar nitrógeno inorgánico dentro de su biomasa convirtiéndose en una estrategia para la desintoxicación de cuerpos acuíferos debido a esto las microalgas surgen como una alternativa viable para la valoración de este residuo y económica porque su biomasa producida se le genera un valor agregado (producción de biocombustibles, alimentos, metabolitos de alto valor agregado, etc). Estudios como el de Loera-Quezada y Olgún, 2010 y Castro-Parra, 2011 demuestran que altos contenidos de nitrógeno en el medio de crecimiento favorece en el rendimiento de la biomasa en las microalgas y cianobacterias por lo que su utilización no limita el crecimiento celular.
- **Residuos avícolas:** los desechos animales tienen una larga historia de uso como fuente de fosforo, nitrógeno y carbono para el crecimiento microalgal y la producción de alimento natural (Knud-Hansen, 1998 citado en Loaiza *et al.*, 2007).

El cultivo de algas en desechos animales ricos en nitrógeno y fósforo se presenta como una alternativa al uso de medios de cultivo inorgánicos, los cuales son sumamente costosos, es por ello que es de suma importancia realizar estudios sobre cultivos de microalgas con compuestos orgánicos en condiciones mixotróficas, debido a la estimulación que pueden ejercer sobre el crecimiento y la producción de pigmentos o de otros aspectos de interés, ya que este residuo es un tipo de fertilizante de bajo costo y de fácil adquisición (Loaiza, 2007).

- **Residuos porcícolas:** para la eliminación de los nutrientes de lodos residuales tratados anaeróbicamente se tiene como una solución el cultivo de microalgas, que se estima apropiado debido a la alta concentración de nutrientes y su bajo contenido en materia orgánica. El cultivo de microalgas se plantea por tanto como un tratamiento que complementa al sistema de digestión anaerobia. Esto es así ya que por un lado elimina nitrógeno y fósforo del efluente obtenido tras el tratamiento anaerobio, y por otro lado genera como consecuencia una cantidad significativa de materia orgánica que aumenta la producción de biogás (INIFAP, 2014).

### 1.3 Algas

Las algas son un grupo heterogéneo de organismos eucariotes, fotosintéticos, con amplia variedad de formas, tamaño, estructura celular, metabolismo, composición química, ciclos de vida y hábitats. Presentan cloroplastos con clorofila, donde se capta la energía luminosa como fuente de energía.

El tamaño de las algas varía desde microscópicas unicelulares, hasta agregados pluricelulares de varios metros y presentan morfología muy variada. Se clasifican de acuerdo a la composición química de sus pigmentos, naturaleza de su material de reserva, su tamaño, disposición y morfología de flagelos, composición de sus paredes

celulares, características morfológicas y ciclos vitales (Olivas y Alarcón, 2004 citado en Caballero, 2013).

Se les consideran plantas talófitas, es decir, no poseen raíz, tallo y hojas; no desarrollan embrión, son organismos autótrofos, ya que pueden sintetizar su propio alimento. Las algas además de proveer cerca de la mitad de producción primaria total del mundo, de la cual dependen gran parte de los productores secundarios acuáticos, participan en los diferentes ciclos biogeoquímicos globales, con la producción de oxígeno atmosférico y la regulación del clima (Peña *et al.*, 2012 citado en Caballero, 2013).

### 1.3.1 Ciclo vital

Todas las algas pueden reproducirse de forma asexual. Las algas multicelulares con tallos y formas filamentosas pueden fragmentarse, cada trozo es capaz de formar un tallo ó filamento nuevo. Cuando un alga unicelular se divide su núcleo se divide (mitosis) y los dos núcleos resultantes se dirigen a los extremos opuestos de la célula. Luego la célula se divide en dos células completas (citocinesis) (Caballero,2013).

En las algas se observa reproducción sexual, como se puede observar en la Figura 1.1.

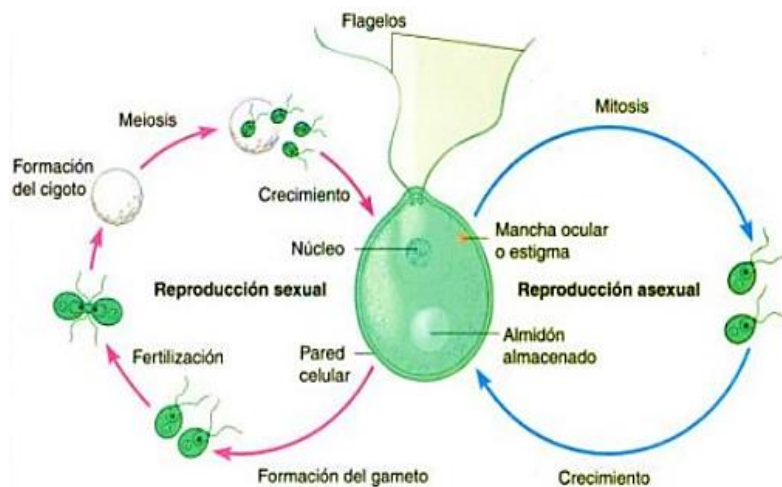


Figura 1.1 Ciclo vital de un alga verde unicelular (Tortora *et al.*, 2007)

Esto sucede cuando durante varias generaciones existe reproducción asexual, y luego en condiciones diferentes la misma especie se reproduce de forma sexual. Otras especies alternan generaciones de forma que la descendencia resultante de la reproducción sexual se reproduce de manera asexual y la siguiente lo hace de modo sexual (Tortora *et al.*, 2007).

### **1.3.2 Crecimiento**

Independientemente de la especie de microalgas ó cianobacterias y el volumen al que es cultivada, teniendo como fases las siguientes:

*Fase de adaptación:* en donde no ocurre incremento en el número de células, pudiendo incluso llegar a disminuir en número con respecto al inóculo inicial.

*Exponencial:* ya una vez adaptadas al medio de cultivo, las microalgas comienzan a multiplicarse; puesto que la división da lugar a nuevas células que son capaces de dividirse, el aumento en número de microalgas se acelera continuamente en forma exponencial.

*De declinación relativa de crecimiento:* en este caso, conforme el cultivo va creciendo se da una disminución de nutrientes, cambios de pH y alteración de otros factores como consecuencia del incremento de la población; de ahí que las microalgas disminuyan su tasa de división celular.

*Estacionaria:* ya no se aprecia una división celular neta, esto es que el número de células alcanzado se mantiene constante por cierto periodo de tiempo debido al balance entre la natalidad y la mortalidad que presenta la población en cultivo.

*De muerte:* las células pueden durar en la fase anterior semanas e incluso meses, aunque lo más normal es que comiencen a morir, es entonces cuando se presenta esta fase (Romo, 2002).

### **1.3.3 Clasificación de las algas**

En la clasificación, se tiene un número de entre cuatro y nueve clasificaciones, según el autor. Esta variación es explicada en parte por la posición asignada a las algas azul-verdosas, consideradas recientemente como un tipo de bacterias por su afinidad y tipo de célula procariótica (un tipo de célula con menor grado evolutivo); adicional a este grupo se reconocen tres grupos de algas eucarióticas (un tipo de célula con mayor grado evolutivo): las algas verdes (*Chlorophyta*), algas rojas (*Rhodophyta*) y las algas pardas (*Phaeophyta*). (Peña *et al.*, 2005 citado en Caballero, 2013).

#### **Algas verdes**

Tienen paredes celulares de celulosa, contienen clorofila a y b y almacenan almidón al igual que las plantas. La mayoría son microscópicas, aunque pueden ser unicelulares o multicelulares (Tortora *et al.*, 2007). Están presentes en todos los ambientes acuáticos como los ríos, lagos y mares.

Dentro de esta división existen dos grupos importantes llamados comúnmente diatomeas y dinoflagelados. Ambos subgrupos se distribuyen ampliamente en aguas saladas y dulces y juegan un papel muy importante como constituyente de la vegetación acuática (Peña *et al.*, 2005 citado en Caballero, 2013).

#### **Algas rojas**

También llamadas florídeas por su almidón de reserva. Su característica principal es que no poseer ningún tipo de flagelo y por la presencia de un pigmento fotosintético característico llamado ficobilina (ficoeritrina y ficocianina) que da el color propio a las algas rojas. Sus células contienen también otros pigmentos como los carotenos y las xantofilas que aparecen también en la zanahoria (Caballero, 2013).

#### **Algas pardas**

Deben su nombre a su coloración predominante: determinada en gran parte por los tipos de pigmentos: clorofila a, c, beta-caroteno, violaxatina y fucoxantina. Constituyen

un grupo importante con alrededor de 1500 especies, no presentan formas unicelulares ni etapas vegetativas (no reproductivas) móviles. La reserva alimenticia principal se conoce como laminarina, un polímero de la glucosa que es el principal azúcar de las plantas. También cuenta como reserva en su pared celular con el ácido algínico que tiene un alto valor comercial y es utilizado como emulsificante y estabilizante en la industria alimenticia y farmacéutica (Peña *et al.*, 2005 citado en Caballero, 2013).

### ***Algas azul- verdosas ó cianobacterias***

Las cianobacterias o cianofíceas son un grupo extenso perteneciente al reino de las eubacterias. Son por tanto procariotas, es decir, no presentan un núcleo diferenciado sino que su material celular se concentra en una región del citoplasma denominada nucleoide. Pertenecen a la división de las cianofitas y son bacterias Gramm negativas. Aunque se asemejan a las algas eucariontes y a menudo ocupan los mismos nichos ambientales se trata de una denominación errónea porque son bacterias, no algas, sin embargo, llevan a cabo la fotosíntesis como producción de oxígeno (oxigénicas) como lo hacen las plantas y las algas eucariontes.

Las cianobacterias son organismos planctónicos sin motilidad propia, con diferencias morfológicas entre sí, y su presencia es común en medios extremos. Se desarrollan tanto en aguas dulces como salobres o salinas, y son capaces de producir grandes florecimientos conocidos como blooms cuando el medio presenta elevadas concentraciones de nutrientes. Estos florecimientos de cianobacterias indican por tanto que el medio está eutrofizado. Presentan variaciones morfológicas en las que figuran formas unicelulares que se dividen por simple fisión binaria, formas coloniales que se dividen por fisión múltiple, y formas filamentosas que se reproducen por fragmentación de los filamentos. Las formas filamentosas suelen mostrar cierta diferenciación de células que a menudo están unidas de una envoltura ó vaina. Las cianobacterias han sido tradicionalmente conocidas como algas verde-azuladas,

debido a que, junto a la clorofila, contienen dos pigmentos accesorios (ficocianina y ficoeritrina) que le confieren su aspecto azul-verdoso (Ruiz, 2011).

#### **1.3.4 Función fotosintética**

La fotosíntesis es un proceso llevado a cabo por organismos fotoautótrofos, que tienen la capacidad de sintetizar materia orgánica partiendo de la energía del sol y la materia inorgánica. La importancia de este proceso no puede ser discutida, ya que la vida en la tierra se mantiene fundamentalmente gracias a la fotosíntesis que realizan las algas en el medio acuático y las plantas en el medio terrestre, ya que éstas introducen los nutrientes minerales en la base de las cadenas tróficas de los ecosistemas, generando materia orgánica que es consumida por organismos superiores (Caballero, 2013).

Las microalgas, como las cianobacterias y al igual también que las plantas verdes, emplean la energía de la luz del sol para generar un oxidante lo suficientemente potente como para extraer del agua oxígeno, protones y electrones. Los electrones extraídos del agua reducen, en la fase luminosa de la fotosíntesis, el NADP<sup>+</sup> a NADPH. Dentro de las células, la fotosíntesis tiene lugar en los cloroplastos, unos orgánulos citoplasmáticos de color verde exclusivos de las células fotosintéticas. En una cámara en su interior se encuentra el estroma, un medio interno donde tienen lugar las reacciones oscuras del ciclo de Calvin. El estroma alberga componentes necesarios para la fotosíntesis, como la principal enzima responsable de la fijación del dióxido de carbono: la RBP-carboxilasa o RuBisCO. Es una proteína formada por 16 polipéptidos que cataliza la transformación del CO<sub>2</sub> a una forma orgánica.

#### **1.3.5 Pigmentos naturales**

##### **Clorofila**

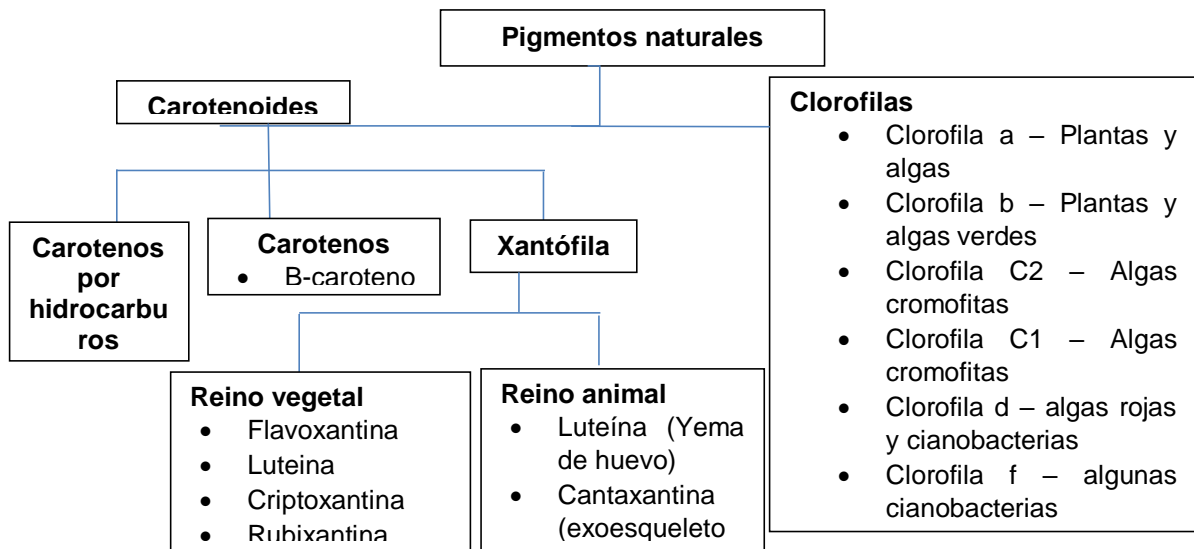
La concentración de pigmentos fotosintéticos varía ampliamente y depende del metabolismo algal y de factores fisicoquímicos como la luz, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes.



Los carotenoides son moléculas con capacidad de absorber energía luminosa en ciertas longitudes de onda, debido a la presencia de múltiples enlaces dobles conjugados. Estos compuestos están constituidos por carbono e hidrógeno y presentan colores en el rango del amarillo al rojo (Cañizares-Villanueva y Perales, 2012). Los carotenoides pueden dividirse en dos grandes grupos: carotenos que son hidrocarburos y xantofilas que contienen átomos de oxígeno (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007 citado en Caballero, 2013).

### **Carotenoides**

Los carotenoides son moléculas con capacidad de absorber energía luminosa en ciertas longitudes de onda, debido a la presencia de múltiples enlaces dobles conjugados.



**Figura 1.2 Clasificación de los pigmentos naturales (Meléndez-Martínez y col., 2007 citado en Caballero, 2013).**

Estos compuestos están constituidos por carbono e hidrógeno y presentan colores en el rango del amarillo al rojo. Los carotenoides pueden dividirse en dos grandes grupos: carotenos que son hidrocarburos y xantofilas que contienen átomos de oxígeno como se muestra en la Figura 1.2 (Meléndez-Martínez y col., 2007 citado en Caballero, 2013).

### **1.3.6 Depuración**

La fitoremediación, en términos generales, es el empleo de plantas para la eliminación o transformación de contaminantes, incluyendo por ejemplo nutrientes presentes en el agua o el CO<sub>2</sub> presente en gases de escape. La fitoremediación lleva asociada una producción de biomasa, ya sea ésta plantas superiores (filtros verdes, etc.), macroalgas o microalgas.

Una de las primeras descripciones del empleo de algas en el tratamiento de aguas residuales se remonta a 1957 y se debe a Oswald, quien describe un sistema de tratamiento mediante lagunaje. Las algas han ido ganando atención desde entonces debido a su potencial de eliminación de nutrientes de aguas residuales urbanas (de-Bashan 2010), industriales y de la agricultura (Olguin 2003 citado en Ruiz, 2011).

Se han probado tanto monocultivos como cultivos de varias especies en aguas residuales artificiales y reales, de modo que investigaciones paralelas han concluido, sobre un extenso número de especies de microalgas, que éstas son aptas para la eliminación de contaminantes en aguas residuales y que la eficacia del proceso es prometedora. Los resultados muestran porcentajes de eliminación que alcanzan el 100 % en algunos casos, aunque obviamente varían en función de las condiciones de operación, especies empleadas, y características del agua residual. Otros estudios han trabajado con aguas de elevada carga orgánica, ya sea de ganadería o agricultura, concluyendo asimismo que la depuración mediante microalgas es posible. Algunas de las especies estudiadas son *Phormidium*, *Botryococcus*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus obliquus*, *Spirulina platensis* y *Chlorella sp.* Estas especies pueden utilizar en su crecimiento diferentes compuestos de nitrógeno tales como amonio, nitrato o urea (Olguín *et al.*, 2003).

### **1.3.7 Importancia económica de las algas.**

Su importancia ecológica radica en que son productoras primarias, así como asistir en el suministro de oxígeno al océano, además, algunas algas tienen la capacidad de

remover metales pesados en el agua como Cu, Zn y Pb y en el aspecto económico, su importancia radica en que pueden ser empleadas tanto en la industria alimentaria o la industria química para la extracción de pigmentos y gomas como alginatos y el agar, los cuales tienen un alto valor comercial. En el área de la farmacológica, se han utilizado varios tipos de algas en la búsqueda de agentes antibacterianos y anticancerígenos. Son muchas las algas que son utilizadas como alimento, en el Oriente es parte de la dieta tradicional y en México son utilizadas desde la época prehispánica. La producción mundial de algas para la alimentación es cada vez mayor, tanto en especies marinas como de agua dulce (Caballero, 2013).

#### **1.4 Microalgas**

Se incluyen aquellos microorganismos unicelulares capaces de llevar a cabo la fotosíntesis. En esta categoría quedan agrupadas las cianobacterias (conocidas tradicionalmente como algas verdeazuladas) junto con algas eucariotas (tradicionalmente algas verdes, rojas y doradas).

Las microalgas poseen la capacidad para mitigar las emisiones de CO<sub>2</sub> y producir lípidos, en algunas especies y al hecho de que la síntesis de estos, especialmente de triglicéridos (TG) no polares (que son el mejor sustrato para la producción de biodiesel), puede ser manipulada por cambios de las condiciones de cultivo, por lo que se consideran con potencial para la obtención de biocombustibles de tercera generación (Arias *et al.*, 2013).

Las microalgas son en general organismos fotoautótrofos, es decir, las microalgas necesitan para transformar la energía solar en energía química: luz, CO<sub>2</sub>, nutrientes y agua (Santos *et al.*, 2014). Sin embargo, algunas especies son capaces de crecer empleando materia orgánica como fuente de energía o de carbono. Según esto, la producción de microalgas se divide en:

- Fotoautótrofa: las algas obtienen la energía del sol y el carbono de compuestos inorgánicos (sales). Son a las que nos referiremos principalmente en este trabajo.
- Fotoheterótrofa: obtienen la energía del sol y emplean compuestos orgánicos como fuente de carbono.
- Mixotrófica: muchas algas son capaces de crecer bajo procesos tanto autótrofos como heterótrofos, de manera que la fuente de energía es tanto la luz como la materia orgánica. El carbono lo obtienen por tanto de compuestos orgánicos y de CO<sub>2</sub>. Algunas de estas algas son la *Spirulina platensis* o la *Chlamydomonas reinhardtii*.
- Heterótrofa: los compuestos orgánicos proporcionan tanto la energía como la fuente de carbono. Es decir, existen en efecto algas que pueden desarrollarse bajo ausencia de luz, como por ejemplo *Chlorella protothecoides*.

La composición de las microalgas (contenido en lípidos, carbohidratos y proteínas) es variable, y puede ser manipulada mediante varios parámetros durante el proceso de su cultivo. Depende obviamente también de la especie considerada. En general, las cianobacterias tienen un contenido de hasta 20 % en lípidos, mientras que el contenido lipídico de las algas procariotas oscila entre un 20 y 50 % en peso seco. La relación C:N para las microalgas varía entre 6 y 9 dependiendo de las especies (Ruiz, 2011). En cuanto al tamaño, las algas eucariotas varían entre 0.5–30 µm, mientras que las cianobacterias pueden llegar a medir hasta 200 µm.

#### **1.4.1 Usos de las microalgas**

##### **Usos energéticos**

Las sociedades se han visto obligadas a buscar nuevas fuentes alternativas de energía debido al elevado precio del petróleo, a factores medioambientales, a la necesidad de independencia energética y por oportunidad de negocio, siendo las microalgas una importante opción; convierten entre el 3 y el 8 % de la energía solar en biomasa y por

lo general bajo condiciones normales de cultivo presentan un contenido de lípidos que varía entre el 20 y el 50 % de su peso seco aunque por bibliografía se sabe que si se someten a estrés aumentan su contenido lipídico (Lardon *et al.*, 2009 citado en Rosales *et al.*, 2007). Fácil cultivo, crecen casi en cualquier lugar y sólo necesitan luz del sol y algunos nutrientes. Pueden cultivarse en zonas áridas y semi-áridas, donde no pueden desarrollarse cultivos agrícolas, pueden utilizar agua no potable y su cultivo no requiere la adición de herbicidas o pesticidas, además son capaces de fijar grandes cantidades de CO<sub>2</sub>, su demanda estequiométrica de CO<sub>2</sub> es de aproximadamente 1.7 Kg de CO<sub>2</sub>/Kg de biomasa seca, lo que permitiría acoplar su producción a una corriente de gases de combustión industrial para disminuir el efecto invernadero y contribuir al restablecimiento del equilibrio térmico del planeta (Lim y Teong, 2010 citado en Arias *et al.*, 2013).

### ***Remediación de contaminantes***

Las microalgas son una interesante opción para mitigar el CO<sub>2</sub>, ya que son los mayores biofijadores de CO<sub>2</sub> del planeta. El CO<sub>2</sub> que necesitan para su crecimiento lo pueden obtener del aire, de carbonatos solubles y de emisiones industriales. Asimismo, tienen aplicación para la depuración de aguas residuales de industrias como la de goma, textiles, mineras, azucarera, entre otras industrias, la capacidad de remover nitrógeno y fósforo de aguas las convierte en una posibilidad real para la eliminación de nutrientes (Santos *et al.*, 2014).

### ***Aplicaciones de elevado valor añadido***

Ya que la biomasa además de contener proteínas, lípidos esenciales, pigmentos (0.1% y 2 % de carotenoides), carbohidratos, minerales y vitaminas, posee excelentes cualidades para la obtención de productos naturales. La mayor parte de esta biomasa se comercializa como alimentos medicinales en forma de tabletas o polvo como aditivos. También se pueden extraer compuestos con valiosas aplicaciones como pigmentos, fertilizantes, antioxidantes y aditivos alimentarios, caso particular el de la India donde se implementan sistemas de salubridad y energía a fin de mejorar la

calidad de vida de los habitantes en cuanto a higiene, salud, nutrición, ecología, ejemplo de ello en el tratamiento de aguas residuales que utiliza los nutrientes del efluente para el cultivo celular, en la Tabla 1.4 se presenta algunas especies con sus respectivas aplicaciones y productos.

Tabla 1.4. Estado de la producción de microalgas para “otros usos” en 2010 (Brennan, 2010 citado en Santos *et al.*, 2014)

Microalga	Producción anual (tn peso seco)	País productor	Aplicación y producto	Precio (€)
<i>Spirulina</i> (Kg <sup>-1</sup> )	3000	China, India, EEUU, Myanmar, Japón	Nutrición humana Nutrición Animal Cosméticos Ficobiliproteínas	36   0.0011
<i>Chlorella</i> (50L <sup>-1</sup> )	2000	Taiwán, Alemania, Japón	Nutrición humana Cosméticos Acuicultura	  50
<i>Dunaliella salina</i> (Kg <sup>-1</sup> )	1200	Australia, Israel, EEUU, Japón	Nutrición humana Cosméticos B-caroteno	  215-2150

Aunque se debe tener en cuenta que el consumo humano de microalgas está restringido a unas pocas especies como la *Chlorella*, *Spirulina* y *Dunaliella*; debido a las estrictas regulaciones de seguridad alimentaria, factores comerciales y demanda del mercado (Ullah *et al.*, 2014).

### **Cosméticos**

Algunas especies de microalgas producen extractos que se utilizan en productos cosméticos (cremas antiarrugas, regeneradoras, protección del sol, etc.) así como antioxidantes, siendo las principales especies *Arthosphira*, *Chlorella* y *Spirulina* (Santos *et al.*, 2014).

Las microalgas han atraído mucha atención debido a su alto valor nutricional, y alto valor químico como pigmentos y vitaminas, alta tasa de crecimiento en comparación con las plantas superiores y la capacidad para utilizar la energía de la luz. Además, las microalgas contienen diversos componentes bioactivos; por ejemplo, la biomasa seca puede ser usada como alimentos de alto valor proteínico para animales como el camarón y peces (Demirbas, 2011).

#### **1.4.2 *Chlorella spp***

El nombre proviene del griego *chloros*: verde, y del subfijo diminutivo latino *ella*: “pequeño”. Son algas verdes simples, de tamaño pequeño, elipsoidales, no presenta movimiento y son unicelulares, su diámetro oscila normalmente entre las 2 y 10  $\mu\text{m}$ .

Contiene clorofila a y b; además crecen en condiciones autotróficas y mixotróficas; se ha cultivado de forma intensiva con fines de alimentación, tratamiento biológico de aguas residuales debido a que puede crecer fácilmente si hay altos niveles de nitratos y fosfatos además si se le suministra luz ya sea artificial o natural (Garza *et al.*, 2010 citado en Infante *et al.*, 2012). Tiene en su composición una alta concentración de clorofila (pigmento predominante que les permite las transformaciones energéticas a través de la fotosíntesis) y es la especie con mayor impacto a nivel industrial debido a que es cultivada y vendida esencialmente como suplemento alimenticio por contener carotenoides, diversas vitaminas como tiamina, riboflamina, cobalamina, biotina, etc. Los cultivos de *chlorella spp* contienen un alto contenido de aceite, aproximadamente el 50 % del peso seco, y un gran número de vitaminas y carotenos lo cual favorece el valor nutricional de su biomasa (Shen-Yi *et al.*, 2011 citado en Infante *et al.*, 2012).

Entre las ventajas de su uso como biosorbente, resaltan su abundancia, facilidad de cultivo, presencia de sitios ligantes para iones metálicos y habilidad para crecer tanto autotróficamente como mixotróficamente (Infante *et al.*, 2012).

La elaboración de biocombustibles a partir de microalgas se ve limitada por el contenido de aceite en estas, y, debido a que *Chlorella* tiene un alto contenido de

aceite, aproximadamente el 50 %, además de una generación de biomasa rápida (Shen-Yi, *et al.*, 2011 citado en Infante *et al.*, 2012) la convierte en un candidato idóneo para la obtención de biocombustibles que al mismo tiempo mitigue el impacto al medio ambiente, la Figura 1.3 se muestra la geometría de esta especie.

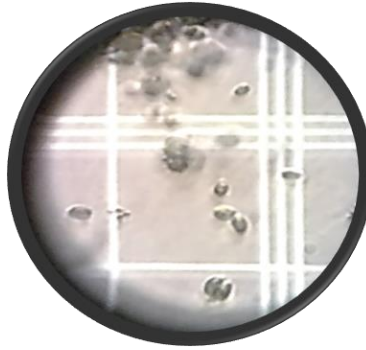


Figura 1.3 Chlorella spp

### 1.5 Cianobacterias

Estas carecen de organelos limitados por una membrana y tienen ribosomas más pequeños (presentan estructura celular procariota), a menudo ocupan los mismos nichos ambientales que las microalgas como son las verdes, se trata de una denominación errónea porque son bacterias, no algas, sin embargo, llevan a cabo la fotosíntesis como producción de oxígeno (oxigénicas) como lo hacen las plantas y las algas eucariontes. Son organismos eficientes en la conversión de energía solar y producen una gran variedad de metabolitos, son usadas como biofertilizantes, control de contaminación ambiental (purificación de aguas residuales ya que remueve los nitratos, fosfatos y otros elementos presentes en gran cantidad) y como fuente de nutrientes en alimentación humana y animal (Ramírez *et al.*, 2013).

Poseen solamente clorofila- $\alpha$ , vinculada al centro activo de los complejos moleculares, llamados fotosistemas, que absorben la luz durante la fotosíntesis, por su parte la ficocianina, el cual le confiere un magnífico color azul, así como una fluorescencia roja excepcional eficiente. Las cianobacterias asimilan el carbono a través del ciclo de



Calvin y almacenan energía y carbono en forma de glucógeno (Rheinheimer, 1987 citado en Caballero, 2013).

### **1.5.1 Importancia de las cianobacterias.**

El aire que se respira contiene cerca del 20% de oxígeno, esto es probable debido a que las cianobacterias oxigénicas desempeñaron una función importante en el desarrollo de la vida en la tierra ya que sólo la atmósfera contenía alrededor del 0.1% de oxígeno libre (Tortora *et al.*, 2007). Su importancia radica precisamente en la gran variedad de macronutrientes y micronutrientes que contiene, las cianobacterias también tienen pigmentos accesorios que reciben el nombre de ficobilinas, como las algas rojas, cuyos cloroplastos probablemente deriven de cianobacterias simbióticas. Muchas cianobacterias pueden fijar el nitrógeno atmosférico en células especializadas llamadas heterocistes. Algunas cianobacterias pueden formar filamentos complejos u otro tipo de colonias. Aunque se han descrito alrededor de 7,500 especies, una estimación más real establece en 200 el número de especies de cianobacterias no simbióticas (Ravert *et al.*, 1992 citado en Caballero, 2013).

### **1.5.2 Spirulina máxima**

Es una cianobacteria filamentosa, autótrofa, también reconocida como alga verde-azul, y que deriva su nombre de naturaleza helicoidal o en espiral de sus filamentos. Su alto contenido nutricional justifica que se analice su producción en cantidades suficientes altas para permitir su comercialización en un ámbito nacional e internacional. Contiene entre 50-70 % de proteína bruta, estas proteínas contienen todos los aminoácidos indispensables que representan el 47 % del peso total de las mismas, así mismo estas han sido utilizadas para purificar aguas residuales ya que remueve los nitratos, fosfatos y otros elementos presentes en gran cantidad. El contenido de lípidos presentes oscila entre el 6 % y 13 % del cual la mitad son ácidos grasos, y contiene entre el 15 % al 25 % de carbohidratos (Caballero, 2013).

Se encuentra en algunos lagos de México y África, donde el pH puede tener valores mayores a 10 unidades; fue usada como alimento tradicional por los aztecas desde

hace más de 1,000 años. Incluso se ha encontrado su presencia en aguas muy mineralizadas e incluso calientes. Estas condiciones excluyen a la mayoría de los seres vivos; el hecho que spirulina se logre desarrollar en estos tipos de medios se debe principalmente a tres fenómenos:

1.- Al consumir los carbonatos y bicarbonatos de su medio, tiende a aumentar todavía más la alcalinidad del líquido, llegando incluso a un pH 11.5. Alrededor del pH 10.5 se inicia la retención en el medio líquido de CO<sub>2</sub>, donde es descompuesto en ácido carbónico, bicarbonatos y finalmente carbonatos, de manera que podrán ser asimilados por la cianobacteria. En general la concentración de este gas es importante, ya que disminuye la alcalinidad y amortigua el pH. Se aconseja que la concentración de CO<sub>2</sub> en los cultivos varíe entre 0.05 % y 5 % (v/v).

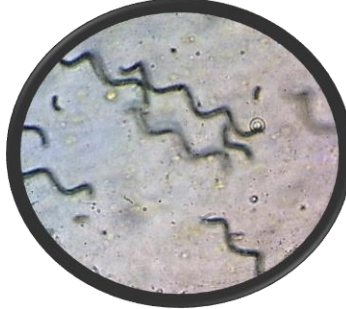
2.- Como son altamente pigmentadas y a menudo flotantes, los filamentos forman una pantalla muy eficaz, que priva de luz solar a las raras algas que podrían acomodarse a su medio de cultivo, como por ejemplo *Chlorella spp*, una microalga comestible que prolifera a veces en los cultivos de *Spirulina spp*. poco concentrados.

3.- Se ha demostrado su capacidad para secretar moléculas protéicas como medio de defensa en su medio natural (Rodríguez y Triana, 2006 citado en Caballero, 2013).

El valor de *Spirulina* posee un tipo de pared celular característica que logra favorecer su digestibilidad, adicionalmente sus constituyentes son perfectamente asimilables sin necesidad de cocción, ni de cualquier otro tipo de tratamiento. De esta manera, incluso los constituyentes más frágiles (vitaminas, ácidos grasos esenciales, etc) están disponibles sin degradación alguna, por lo que uno de los principales usos de esta cianobacteria es como suplemento alimenticio (Caballero, 2013).

Sus células cilíndricas tienen un ancho de 3 µm a 12 µm y a veces llegan a 16 µm y longitudinalmente llegan a medir de 100 µm hasta 500 µm. La inclinación de una vuelta de la hélice generalmente varía de 10 µm a 70 µm y el diámetro de la misma mide de

20 a 100  $\mu\text{m}$ . En la Figura 1.4 se aprecia la forma espiral que caracteriza esta especie. Estas dos últimas características dependen en gran medida de las condiciones ambientales y de crecimiento. (Ramírez y Olvera, 2006 citado en Caballero, 2013).



**Figura 1.4 *Spirulina máxima*.**

*Spirulina platensis* Geitler 1932 y *Spirulina máxima* Geitler 1925, son las que tienen importancia económica, ya que son cultivadas y vendidas para elaborar una gran cantidad de productos a los que se les atribuyen propiedades nutritivas y de prevención de la salud. Sin embargo, desde 1989 se han reconocido que estos dos géneros son distintos y que en realidad estas especies pertenecen al género *Arthrospira* (Ramírez y Olvera, 2006 citado en Caballero, 2013).

## **1.6 Medios de cultivo**

Un cultivo puede ser definido tanto en un ambiente natural como un ambiente artificial en el que las algas crecen. La imposición de un ambiente artificial en una población celular bajo condiciones complejas y fluctuantes, siguiendo un ciclo de vida estacional, causa inevitablemente un período de adaptación fisiológica o de selección, en el que puede no ocurrir o es muy lento (Hernández y Labbé, 2014).

Los principales factores de impacto en el crecimiento incluyen pH, temperatura y la mezcla de cultivos líquidos (Yang *et al*, 2008 citado en Castro y Parra, 2011). El mayor contribuyente en la producción de biomasa es el carbono, seguido por el nitrógeno; el carbono se puede añadir en compuestos orgánicos, tales como peptona, ácido acético

o en compuestos inorgánicos como el dióxido de carbono (Richmond, 2004 citado en Castro y Parra, 2011).

## **1.7 Sistemas y condiciones de cultivo**

Los sistemas de cultivo de microalgas pueden clasificarse, según su configuración y tipo de funcionamiento (Ho, 2011 citado por Hernández y Labbé, 2014), en:

### **1.7.1 Sistemas abiertos (estanques)**

Los más comunes para la producción comercial de microalgas, los estanques de canales son los más empleados; suelen ser canales de hormigón ovalados donde el cultivo se recircula y mezcla para favorecer la estabilización del crecimiento y productividad de las microalgas, tienen la gran ventaja de ser un método más barato en mantenimiento e inversión comparado con los fotobiorreactores, aunque tiene desventajas como mezclado deficiente, falta potencial de CO<sub>2</sub> y limitación de la luz en las capas inferiores (Chisti, 2007).

### **1.7.2 Fotobiorreactores**

Son sistemas cerrados transparentes, de plástico o vidrio, con geometrías de diversos tipos (tubulares, cilíndricas o planas). En estos sistemas se obtiene una mayor productividad, fundamentalmente porque mejora la eficiencia de la fotosíntesis y la capacidad de fijación del CO<sub>2</sub>, requiere de un espacio menor, aunque los costos de operación y mantenimiento son elevados (Santos *et al.*, 2014).

### **1.7.3 Luz**

Se debe evitar la exposición directa a la luz del sol, porque si la intensidad es elevada, la temperatura puede subir hasta detener el crecimiento celular. En ausencia de limitación por nutrientes, la fotosíntesis se incrementa con el aumento de la intensidad lumínica, hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento específica para cada especie en el punto de saturación por luz (Park *et al.* 2011 citado en Plasencia, 2012). La

radiación luminosa es aquella que está comprendida entre 380 y 750 nm. Dentro de esta se engloba la radiación que tiene influencia en la fotosíntesis o Radiación Fotosintéticamente Activa (PAR, del inglés Photosynthetically Active Radiation) (Plasencia, 2012).

#### **1.7.4 Temperatura**

La temperatura óptima del cultivo depende de la microalga y de sus características. Así, la temperatura óptima en condiciones naturales generalmente no coincide con la temperatura óptima en condiciones de cultivo porque los parámetros de cultivo difieren a su vez de los que se dan en su ambiente natural, por lo general toleran temperaturas entre 16 y 27 °C, teniendo como temperatura óptima entre 20 °C y 24 °C (Plasencia, 2012 citado en González, 2015).

Para *Spirulina* su temperatura óptima de crecimiento, se ha llegado a la conclusión que para algunas ésta se sitúa entre 24-28 °C mientras que para otras cepas el rango llega hasta 40-42 °C (Ruiz, 2011). En el caso de la *Chlorella* se puede dividir en tipos de cepas: las de baja temperatura: 25-30 °C y alta temperatura: 35-40 °C (Castro y Parra, 2011).

#### **1.7.5 Agitación**

La agitación asegura la distribución homogénea de las células el acceso a los nutrientes dentro del cultivo y mejora la distribución de la luz a las células, asegurando que permanezcan fotosintéticamente activas. En el caso de cultivos a escala laboratorio, la agitación puede realizarse a través de un compresor de acuario la agitación y/o ser complementada con la adición de CO<sub>2</sub> y así enriquecer el cultivo con más carbono para el metabolismo celular (Pástor y Pozo, 2013 citado en González, 2015).

#### **1.7.6 pH**

Puede convertirse como una evaluación cuantitativa de la cantidad de biomasa en el medio. A mayor biomasa, mayor degradación de bicarbonato y por consiguiente se

eleva la concentración de grupos hidroxilos en el medio, aumentándose así el pH (Rodríguez y Triana, 2006 citado en González, 2015).

En el caso de *Spirulina* se maneja un rango de pH óptimo entre 9 y 10 y admite hasta pH 11,5, pero no se desarrolla a pH 7 (Ruiz, 2011). Mientras que para la especie *Chlorella* a un pH menor de 4, la microalga no es capaz de crecer, en cambio, en un pH cercano o igual a 6, el crecimiento es más rápido que un pH de 8, además a pH 10 y 12 el crecimiento se reduce en comparación con un pH de 8, por lo que se recomienda trabajar en un pH de aproximadamente 6 (Castro y Parra, 2011).

### **1.7.7 Macronutrientes, micronutrientes y vitaminas**

Las microalgas, y cianobacterias requieren para su crecimiento macronutrientes (fuentes de nitratos y fosfatos) y micronutrientes, que fungen como catalizadores de reacciones enzimáticas y procesos fisiológicos para sintetizar compuestos. El desbalance entre la proporción suministrada de éstos nutrientes, se manifiesta como un descenso en el crecimiento o la detención del mismo. Las vitaminas como la tiamina (B1), Cianocobalamina (B12), y Biotina (B6) son consideradas esenciales para la mayoría de las microalgas (Romo, 2001 citado en González, 2015).

Los tres nutrientes más importantes para el cultivo de microalgas y cianobacterias en condiciones autótrofas son el *carbono*, *el nitrógeno* y *el fósforo*. Una relación óptima de carbono ( $\text{CO}_2$  y el  $\text{NaHCO}_3$ ), nitrógeno (nitrato, amonio y urea) y fósforo es crucial para la obtención de una alta productividad de lípidos (Gracida-Álvarez *et al.*, 2013 citado en González, 2015).

A continuación, se presentan los requerimientos necesarios para el cultivo de microalgas y cianobacterias (Tabla 1.5)

Tabla 1.5. Requerimientos principales de cultivos de microalgas y cianobacterias (González, 2015)

Requerimientos	Compuestos químicos	Valores
<b>C</b>	CO <sub>2</sub> , CO <sub>3</sub>	g/100 ml
<b>O,H</b>	O <sub>2</sub> ,H <sub>2</sub> O	g/100 ml
<b>N</b>	N <sub>2</sub> , NH <sub>4</sub> ,NO <sub>3</sub>	g/100 ml
<b>P</b>	PO <sub>4</sub>	g/100 ml
<b>S</b>	SO <sub>4</sub>	g/100 ml
<b>Na,K,Ca,Mg</b>	Sales	g/100 ml
<b>Fe,Zn,Mn,B,Br, Si</b>	Sales	mg/100 ml
<b>Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al, et</b>	Sales	µg/100 ml
<b>Vitaminas</b>	B <sub>12</sub> , Tiamina y Biotina	µg/100 ml

## 1.8 Estudios previos

Los investigadores se han dedicado a la evolución de técnicas para mejorar la eficiencia energética o la utilización de la energía sostenible para reducir el consumo de combustibles fósiles convencionales, como el carbón y petróleo, con el fin de reducir las emisiones de CO<sub>2</sub> a la atmósfera (Fang-Fang, 2011 citado en Infante, 2012).

Mediante el uso de las algas es posible el tratamiento de las aguas negras para obtener aguas limpias y con un bajo contenido de sales minerales antes de descargarlas en ríos o lagos (Caballero, 2013).

De acuerdo a Garza *et al.* (2010) citado en Gonzalez 2015, el género de la *Chlorella* ha sido aplicada al tratamiento biológico de aguas residuales, probando su efectividad en la remoción de nitrógeno, fósforo, demanda química de oxígeno y metales.

Chisti (2008) citado en Santos *et al.* (2014) indica que para producir un Kg de biomasa seca se necesitan como mínimo 1.88 Kg. CO<sub>2</sub>, aunque la cantidad realmente necesaria de CO<sub>2</sub> puede llegar a ser varias veces esa cantidad, dependiendo del sistema de cultivo y de las condiciones operativas. En la práctica, la eficiencia de fijación de CO<sub>2</sub>

en los estanques puede ser inferior al 10% y en los de poca profundidad, puede ser de un 35%.

Un proceso ideal debería permitir alta productividad de lípidos con una alta productividad de biomasa y con el mayor contenido posible de lípidos en las células. Desafortunadamente esta situación es muy difícil de obtener, dado que las células con alto contenido de lípidos se obtienen bajo condiciones de estrés fisiológico, el cual está asociado a condiciones limitantes de nutrientes y, por ello, se obtiene una baja productividad de biomasa. El contenido total de lípidos en las microalgas se suele encontrar entre el 20% y el 50% del peso seco, dependiendo de la especie y de las condiciones de cultivo (Chisti, 2007).

Acien *et al.*, (1997), citado en Caballero (2013), publicó que diversos estudios han determinado el efecto de las condiciones de cultivo de las microalgas como son: los nutrientes suministrados, concentración de biomasa, control de temperatura y radiación, y de qué manera afectan la productividad y la composición química de la biomasa obtenida, sin embargo, la luz disponible es el factor más importante que afecta el crecimiento celular.

Castro y Parra en el 2011 realizó a diferentes concentraciones de vinazas/agua destilada manteniendo la temperatura y ciclos de luz/oscuridad constantes, obteniendo que las vinazas oscuras sin disolver son favorables como medio de cultivo para *Chlorella vulgaris*, sin embargo para el tratamiento de vinazas, al parecer la microalga no posee la capacidad de eliminar la cantidad de materia orgánica que estas poseen, de ahí el color oscuro característico.

Rosales *et al.* (2007) convirtió en una fuente de nutrientes para la producción de biomasa enriquecida con pigmentos y proteínas la fracción soluble de gallinaza, evaluando el efecto de la fracción soluble de gallinaza sobre el crecimiento, de la microalga *Chroomonas* sp. y de la *Chlorella sorokiniana*, dando como resultado un crecimiento en dichas microalgas.



# **CAPITULO 2**

## **METODOLOGIA**

## CAPITULO 2. MATERIALES Y METODOS

Se describe esquemáticamente la metodología que se empleó para el desarrollo de esta investigación, en la Figura 2.1 se describe las 6 etapas en las que se dividió el trabajo:

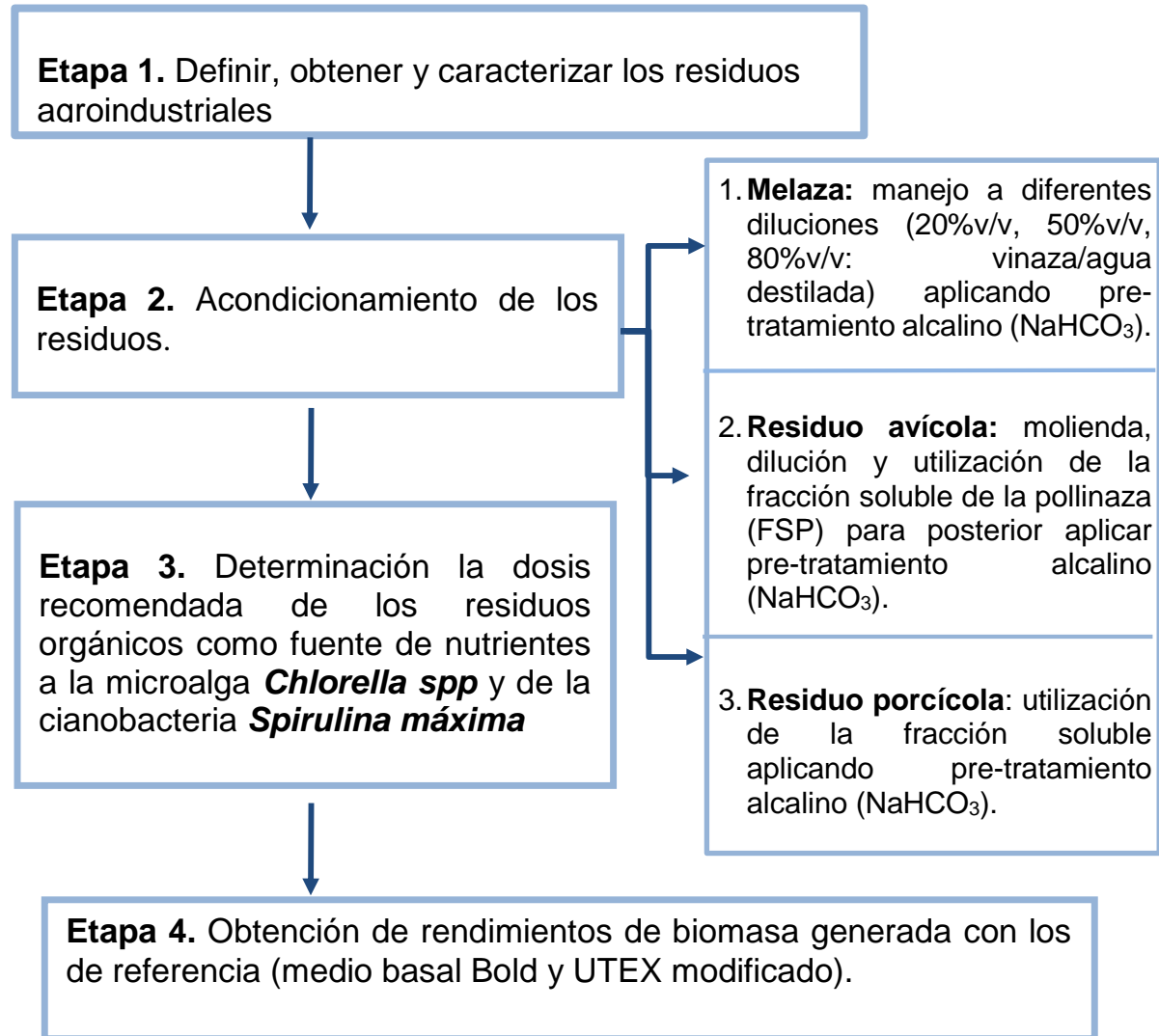


Figura 2.1 Metodología

En el presente capítulo se describen de forma detallada los materiales y métodos utilizados para la elaboración del presente proyecto. En la primera etapa del proyecto se realizó la selección y la obtención de la materia prima que en este caso son tres residuos: residuo porcícola, residuo avícola y residuo de la caña de azúcar; para después caracterizarlo de manera fisicoquímica, dicha caracterización es de vital importancia ya que permite conocer las condiciones iniciales del residuo y de igual manera para poder manipularlos. Posteriormente, se realizó un pretratamiento alcalino a los residuos para aumentar el pH, así como disminuir su carga orgánica. Terminado lo anterior, se procedió al montaje de cinéticas de crecimiento con el propósito de conocer la dosis recomendada de los residuos como fuente de nutrientes en el cultivo de microalgas y cianobacterias, al término de lo anterior se eligió la mejor dosis para realizar el grado de conversión del residuo a biomasa y por último se procedió a comparar los resultados obtenidos con los resultados de referencia; importante mencionar que cada una de las técnicas realizadas está regida bajo el respaldo de normas oficiales y métodos estándar.

## **2.1 Obtención y caracterización de los residuos agroindustriales**

### **2.1.1 Muestreo de residuos porcícolas**

La selección y obtención de los residuos porcícolas se realizó en una granja porcina tecnificada, localizada en el municipio de Mariano Escobedo, Veracruz, México. Dicha granja actualmente se dedica a la crianza de más de 50 ejemplares de distintas especies.

Las muestras obtenidas las cuales estuvieron conformadas exclusivamente de excretas de cerdos, fueron depositadas en galones de 5 litros para su fácil manejo y posterior a su recolección se procedió a realizarse un análisis cognitivo, que permita identificar y posteriormente remover todo tipo de residuo ajeno a las excretas, ejemplo

de ello palos, plásticos u otros materiales que puedan tener un efecto negativo en la caracterización fisicoquímica.

### **2.1.2 Muestreo de residuos avícolas**

La selección y obtención de los residuos avícolas se realizó en una granja avícola, localizada en el municipio de Mariano Escobedo, Veracruz, México. Dicha granja se dedica a la crianza de aves de engorda, así como de crianza.

Las muestras obtenidas al que igual que el residuo anterior, estuvieron conformadas exclusivamente de excretas de aves de engorda, las cuales fueron depositadas en envases de 5 L para su fácil manejo y posterior a su recolección se procedió a realizarse un análisis cognitivo, que permita identificar y posteriormente remover por medio de tamizado todo tipo de residuo ajeno a las excretas, que puedan tener un efecto negativo en la caracterización.

### **2.1.3 Muestreo de residuos de caña de azúcar**

La selección y obtención de los residuos cañeros en específico la melaza se realizó en un ingenio, localizado en el municipio de Cuautlapan, Veracruz, México. El residuo utilizado de esta industria fue la melaza la cual fue depositada en envase de 2 L para su fácil manejo y posterior a su recolección se procedió a almacenarla para evitar su descomposición.

### **2.1.4 Caracterización de residuos**

Una vez que la muestra fue recolectada y trasladada al laboratorio se llevó a cabo una caracterización fisicoquímica del residuo con la finalidad de conocer su composición, propiedades y los niveles de contaminantes del mismo. Estas muestras se analizaron por duplicado, para tener un punto de comparación y poder verificar los resultados.

En la Tabla 2.1 se muestran los parámetros cuantificados, junto con las unidades en las que fueron reportados, así como el método bajo el cual se realizó cada análisis.

Tabla 2.1. Parámetros de caracterización de los residuos.

<b>Análisis fisicoquímico.</b>		
Parámetro	Unidad	Método
Sólidos totales (ST)	% m/m	Método : 2540 de la APHA-AWWA-WPFC
Sólidos volátiles (SV)	%m/m	Método : 2540 de la APHA-AWWA-WPFC
Demanda química de oxígeno total (DQO <sub>T</sub> )	mg O <sub>2</sub> /L	Método: Micro-Método (Técnica colorimétrica)
pH		Potenciómetro Conductronic pH120
Nitrógeno Total	g N-NTK /kg ST	Método Kjeldhal
Nitrógeno amoniacal	g N-NH <sub>3</sub> /kg ST	Método: 4500-NH3 ESTÁNDAR METHODS
Carbohidratos	g/L	Método: Antrona-sulfúrico
Lípidos	g/L	Método: Extracción soxhlet
Proteínas	%	Método Kjeldhal

## 2.2 Acondicionamiento de los residuos

Posterior a la dilución y filtración para el caso del lodo porcícola se llevó a cabo la estabilización y acondicionamiento del residuo por medio de un pre-tratamiento alcalino para ayudar a romper los enlaces péptidos y así el cultivo algal pudiera asimilar mejor los nutrientes contenidos en el residuo, así como disminuir la carga orgánica. En la Figura 2.2 se muestra el residuo después de haber hecho diferentes diluciones equidistantes (20 %, 50 %, 80 % lodo/agua), también cabe señalar que para el pre-tratamiento alcalino se utilizó NaHCO<sub>3</sub> ayudando a elevar ligeramente el pH a 7.5 como

se maneja en el medio basal Bold y a 9.5 para medio UTEX modificado, referido en Caballero, 2013 y González, 2015.



**Figura 2.2 Acondicionamiento de lodo porcicola**

En el caso del residuo avícola se aplicó la molienda, dilución y filtración para utilizar la fracción soluble de la pollinaza (FSP) posteriormente se le aplicó un pre-tratamiento alcalino como en el del residuo porcícola para su acondicionamiento, en la Figura 2.3 se presenta dicho acondicionamiento.



**Figura 2.3 Acondicionamiento de residuo avícola**

En el caso de la melaza se aplicó una dilución con agua y se manejó diferentes concentraciones: 20 %v/v, 50 %v/v, 80 %v/v: melaza/agua para el aprovechamiento de este subproducto orgánico, referido en Caballero, 2013 y Olearte, 2016; además la dilución ayuda para su fácil manejo debido a que este residuo presenta viscosidad

considerable, y como en los residuos anteriores se le aplicó el mismo pre-tratamiento alcalino, en la Figura 2.4 se presenta dicho acondicionamiento.

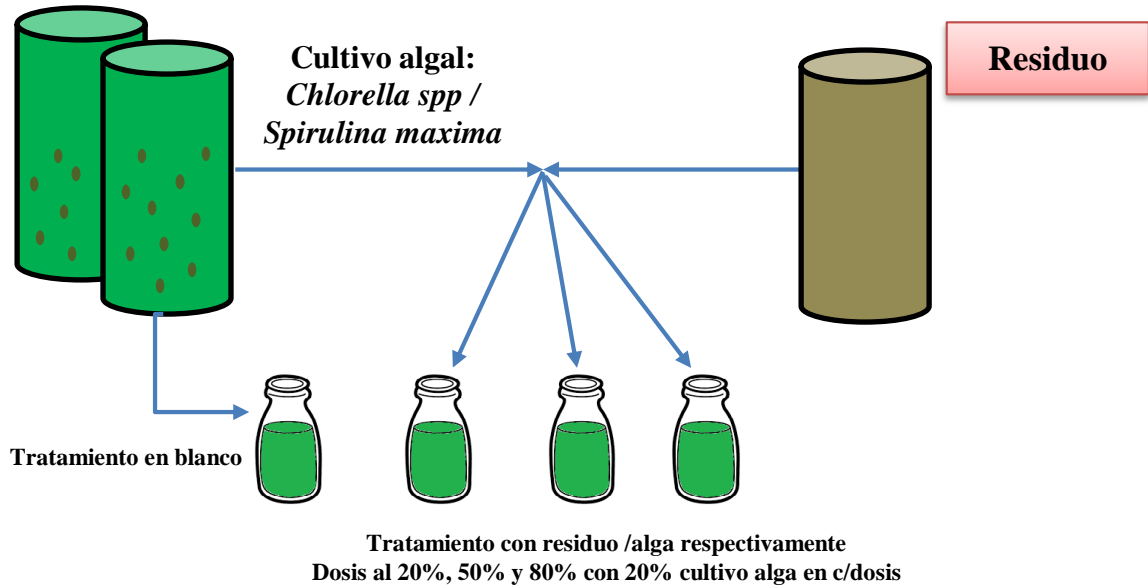


Figura 2.4 Acondicionamiento de melaza

### 2.3 Determinación la dosis recomendada de los residuos orgánicos como fuente de nutrientes a la microalga *Chlorella spp.* y *Spirulina máxima*.

La elección de las dosis suministradas se basó de acuerdo a Caballero (2013); debido a que el crecimiento microalgal se basa en la ley del mínimo, es decir, el crecimiento será limitado por aquella sustancia que se presente en menor cantidad a la mínima requerida. Por otra parte, un exceso en los requerimientos de nutrientes puede llegar a inhibir el óptimo crecimiento microalgal. Es por ello que, se propusieron las siguientes dosis equidistantes: 20%-80%, 50%-50% y 80%-20% v/v de residuo-agua y teniendo como volumen algal del 20% de acuerdo a las especificaciones dadas para el cultivo

estas especies. En la Figura 2.5 se muestra de forma esquematizada las cinéticas con los diferentes porcentajes de dilución:



**Figura 2.5** Esquema de cinéticas para: *Chlorella spp.* y *Spirulina máxima* con residuos agroindustrial

Se realizó un montaje de cinéticas de crecimiento, realizadas en frascos de vidrio de 800 mL, con un volumen útil de 500 mL, los cuales se mantuvieron durante 21 días a temperatura ambiente ya que por bibliografía ambas especies pueden desarrollarse a temperatura ambiente, se aplicó agitación por burbujeo de aire y una iluminación en fotoperiodos de 12 h luz-obscuridad mediante dos lámparas fluorescentes de luz fría de 20 W cada una, con capacidad de iluminación de 4000 Lux para *Chlorella spp* y 3000 Lux para *Spirulina máxima*, para esto se llevó a cabo la lectura con un medidor digital de luminosidad Steren (modelo HER-410).

Durante 25 días se tomaron muestras con replicas para evaluar pH, absorbancia, conteo celular por cámara de Neubauer, biomasa, ST, STV y DQO<sub>T</sub>. En la Tabla 2.2 se muestran los parámetros monitoreados, así como el método utilizado del mismo.



Tabla 2.2. Parámetros evaluados en las cinéticas de crecimiento.

Parámetro	Método
pH	Potenciométrico
Concentración celular	Cámara de Neubauer
Densidad celular	Espectrofotometría UV
Biomasa	Peso seco
Sólidos totales	2540 G de la APHA-AWWA-WPFC
Sólidos volátiles	2540 de la APHA-AWWA-WPFC
Demanda química de oxígeno	Micro-Método (Técnica colorimétrica)

A continuación, se describen las técnicas utilizadas para el monitoreo de las cinéticas en estudio.

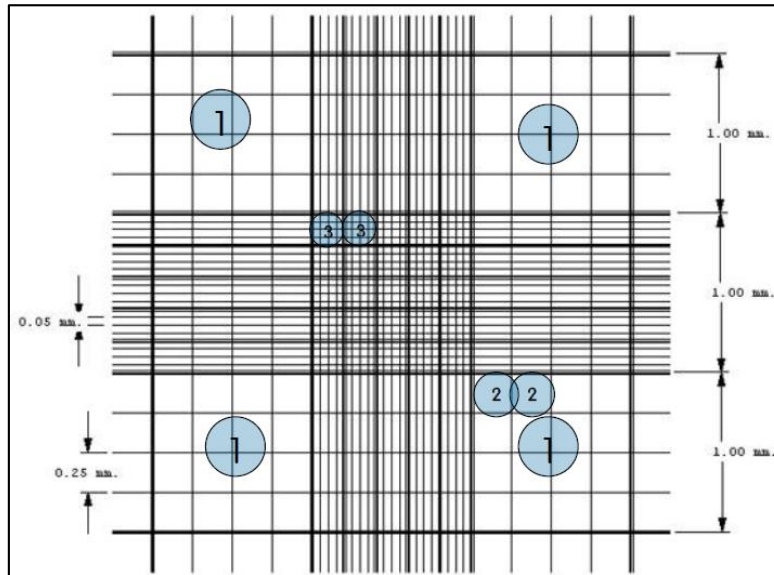
### 2.3.1 pH

Las lecturas del pH se realizarán con un potenciómetro Orion (modelo 250A), con el fin de verificar la neutralidad del medio de cultivo.

### 2.3.2 Concentración celular

El conteo directo de células es importante en los cultivos algales ya que es necesario conocer la concentración celular que estos cultivos tienen. Uno de los métodos utilizados para medir la concentración celular es por medio de la cámara Neubauer, la cual presenta dos cámaras. En la cara superior del portaobjetos, se encuentran cuatro canales longitudinales y un canal transversal central, a cuyos lados superior e inferior existen grabados dos cuadros de 9 mm<sup>2</sup> de superficie, subdivididos a su vez en una cuadrícula más fina. En la Figura 2.6 se muestra el detalle de los cuadros que componen a la cámara de Neubauer; para la presente investigación, el conteo celular para la microalga *Chlorella spp.*, se realizó en los cuadros señalados con el número 3,

y para la cianobacteria *Spirulina máxima* en los cuadros señalados con el número 1 (Celeromics, 2013 citado en Gonzalez, 2015).



**Figura 2.6 Detalle de la rejilla de una cámara de Neubauer (Celeromics, 2013 citado en Gonzalez, 2015)**

El cálculo de la concentración celular está expresado por el número de células por mililitro (Ecuación 2.1).

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células}}{\text{Volumen (en ml)}} \quad (2.1)$$

El recuento de cuadros grandes en cámara de Neubauer esta expresada por la Ecuación 2.2, la cual se aplicó para el cálculo de la densidad celular de *Spirulina máxima*.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} * 10\ 000}{\text{número de cuadros}} \quad (2.2)$$

El recuento para el cuadro central de la cámara de Neubauer se expresa en la Ecuación 2.3, la cual se aplicó para el cálculo de la densidad celular en *Chlorella spp.*

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} * 250\ 000}{\text{numero de cuadros}} \quad (2.3)$$

### 2.3.3 Tasa de crecimiento celular

De acuerdo a Band (1997) y Morris (2004) citado en Caballero (2013), con los valores obtenidos de densidad celular en los cultivos, se determinará la velocidad o tasa de crecimiento celular (ecuación 2.4), tiempo de duplicación (ecuación 2.5) y número de generaciones (ecuación 2.6):

La tasa de crecimiento celular ( $\mu$ )

$$\mu = \frac{\ln X_1 - \ln X_0}{\Delta t} \quad (2.4)$$

Donde:  $\mu$  es la velocidad o tasa de crecimiento, mientras que  $X_1$  representa la densidad celular al tiempo  $t$  y  $X_0$ , la densidad celular al tiempo inicial.

El tiempo de duplicación ( $t_d$ ):

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (2.5)$$

Donde:  $t_d$  representa el tiempo de duplicación y  $\mu$ , la velocidad ó tasa de crecimiento.

El número de generaciones ( $ng$ ):

$$ng = \frac{\log x_1 - \log x_0}{\log 2} \quad (2.6)$$

### 2.3.4. Densidad celular por espectrofotometría

El recuento de microorganismos en cámaras no es un método muy exacto debido a las irregularidades en la distribución de la muestra. Además, pueden confundirse las células con otras formas orgánicas e inorgánicas existentes en el medio y no permite distinguir células vivas de células muertas, es por ello que este tipo de metodología es muy utilizado para la determinación de biomasa de las microalgas y cianobacterias, debido a que presenta la ventaja de poder leer rápidamente. Las lecturas se realizaron

de acuerdo a la mayor absorbancia para cada especie. Se utilizó 750 nm para *Chlorella spp* y 560 para *Spirulina máxima*, (Caballero, 2013).

### 2.3.5 Biomasa en base seca

La cantidad total de biomasa presente en una muestra puede medirse en términos de peso seco por unidad de volumen. El peso seco de la microalga será medido en la fase exponencial de crecimiento, y se seguirá el método propuesto por Band (1999) citado por Caballero (2013). El método consiste en filtrar 25 mL de cultivo a través de una membrana de fibra de vidrio con un diámetro de 45 µm, puesto previamente a peso constante. La muestra se coloca en una estufa a 105°C durante 24 horas y posteriormente se coloca en un desecador por 20 minutos. Por diferencia de pesos se obtiene el peso seco. Para calcular el peso seco de la muestra se aplica la ecuación 2.4:

$$\text{peso seco} \left( \frac{g}{L} \right) = (PFM - PF) * R \quad (2.4)$$

Donde:

PFM= peso seco del filtro más la microalga

PF= peso seco del filtro

R= la razón L/mL filtrados (1000/x mL)

### 2.3.6 Sólidos totales

El residuo producido en la determinación de Sólidos Totales según el método descrito anteriormente, se calcina a 550°C, durante dos horas. El peso perdido en el crisol tras la incineración del residuo seco, representa el contenido en Sólidos Volátiles. De la misma forma que los Sólidos Totales, esta técnica analítica se realizó de acuerdo con el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999), y el porcentaje se calcula utilizando en la ecuación 2.5:

$$\%ST = \frac{P3 - P1}{P2 - P1} * 100 \quad (2.5)$$

Donde:

p1= Peso del crisol a peso constante.

p2=Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra antes de evaporación.

p3=Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco.

### **2.3.7 Sólidos volátiles**

El residuo producido en la determinación de Sólidos Totales según el método descrito anteriormente, se calcina a 550°C, durante dos horas. El peso perdido en el crisol tras la incineración del residuo seco, representa el contenido en Sólidos Volátiles. De la misma forma que los Sólidos Totales, esta técnica analítica se realizó de acuerdo con el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999), y el porcentaje se calcula utilizando la ecuación 2.6:

$$\%SV = \frac{P3 - P4}{P3 - P1} * 100 \quad (2.6)$$

Donde:

p1= Peso del crisol a peso constante.

p3=Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco.

P4=Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada.

### **2.3.8 Demanda química de oxígeno**

La demanda química de oxígeno es empleada como una medida del oxígeno equivalentemente de la materia orgánica contenida en una muestra que es susceptible a oxidación por un oxidante químico fuerte. Para muestras de fuente específica, la DQO puede relacionar empíricamente a la DBO (demanda biológica de oxígeno), carbón orgánico, o materia orgánica, esta prueba es usada para el monitoreo y control después de que la correlación ha sido establecida.

Para calcular la concentración de DQO de las muestras, se ajustó la longitud de onda a 620nm, luego se realizó una curva de calibración con concentraciones de 0 a 1500mg/L.

### 2.3.9 Clorofila

Los pigmentos algales consisten principalmente en clorofilas (a, b y c) y carotenoides (carotenos y xantofilas). La determinación de la concentración de pigmentos fotosintéticos permite estimar la biomasa y la capacidad fotosintética del fitoplacton. La concentración de pigmentos varía ampliamente y depende del metabolismo algal y factores físico-químicos como la luz, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes. Para estimar su concentración el método consiste en extraer los pigmentos mediante un solvente orgánico y leer en un espectrofotómetro la absorción de luz a la longitud de onda específica para cada pigmento (Cañizares-Villanueva *et al.*, 2013), para la especie *Spirulina máxima* la longitud de onda utilizada para la clorofila a es de 665 nm, y para *Chlorella spp* la longitud de onda para la clorofila a es de 663 mientras que para la b es de 645nm.

Para encontrar la concentración de clorofilas expresada en µg/MI de metanol se utilizaron las siguientes formulas:

Para *Chlorella spp*:

$$\text{Clorofila } a = 12.7 * A_{663} - 2.69 * A_{645} \quad (2.7)$$

$$\text{Clorofila } b = 22.9 * A_{645} - 4.68 * A_{663} \quad (2.8)$$

Para *Spirulina máxima*:

$$\text{Clorofila } a = 13.9 * A_{665} \quad (2.9)$$

### 2.3.10 Lípidos totales

Los lípidos son moléculas compuestas principalmente de carbono e hidrógeno, aunque también pueden contener oxígeno, nitrógeno, azufre, etc. Debido a su composición son hidrófobas, por lo que su extracción se lleva a cabo empleando solventes orgánicos como cloroformo, hexano, etc. El método más empleado es el reportado por Bligh y Dyer en 1959 que se realiza empleando cloroformo, metanol y agua. Las

ventajas de esta metodología con su alta eficiencia de extracción (95%) y que en la fracción hidro-alcoholica se eliminan proteínas que podrían causar interferencias (Cañizares-Villanueva *et al.*, 2013). El contenido de lípidos se calculó de la siguiente forma:

$$\frac{\text{Contenido específico}}{\text{glípidos/100gbiomasa}} = \frac{(\text{Peso tubo con lípidos}) - (\text{Peso de tubo sin lípidos})}{\text{biomasa pesada}} * 100 \quad (2.9)$$

### **2.3.11 Carbohidratos**

Esta determinación se realizó por el método de Dubois *et al.*, (1956), se basa en la formación de un compuesto coloreado con máximo de absorbancia a 490 nm, por la reacción de fenol con los glucósidos (azúcares y sus metil derivados, oligosacáridos y polisacáridos solubles), en presencia de ácido sulfúrico concentrado. El color es amarillo-naranja ó rosado y el color es proporcional a la concentración (Cañizares-Villanueva *et al.*, 2013).

### **2.3.12 Proteínas**

Las proteínas son compuestos orgánicos que contienen nitrógeno, son importantes para el mantenimiento del cuerpo animal, crecimiento, desarrollo, producción y reproducción.

La determinación de proteínas se realizó por el método de Lowry *et al.*, (1951) es una técnica que se encuentra dentro de las espectrofotométricas más comunes, en el cual la proteína reacciona con iones cobre en una solución alcalina, provocando la reducción de reactivo de Folin-Ciocalteu (ácido fosfomolibdico y ácido fosfotungsténico) principalmente por residuos de tirosina y triptófano y en menor medida por cistina, cisteína e histidina. Tiene la ventaja de ser extremadamente sensible, capaz de detectar cantidades del orden de 10 microgramos de proteína. La reacción previa de la proteína en medio alcalino con iones  $\text{Cu}^{2+}$ , en presencia de tartrato para evitar la precipitación. Es esencialmente idéntica a la reacción de Biuret,

formándose un complejo de coordinación entre el cobre y el nitrógeno péptidico. La reacción con el reactivo de Folin-Ciocalteu para fenoles, que se reduce por medio de los grupos fenol presentes en la proteína a un complejo de color azul oscuro, que se mide colorimétricamente. El complejo coloreado, presenta dos máximos de absorción a las longitudes de onda de 560 nm y 680 nm. Dado que este método da resultados variables se requiere una curva de calibración que se hace a partir de seroalbúmina bovina.

#### **2.4 Comparación de rendimientos de biomasa generada con los de referencia (medio basal Bold y UTEX modificado)**

Una vez obtenidos los resultados de rendimientos de biomasa de ambas especies se procedió a comparar los rendimientos con los de un medio de referencia (medio basal Bold para *Chlorella spp* y para *Spirulina máxima medio UTEX*) y determinar si influye de manera positiva la adición de residuos o subproductos agroindustriales.

De la mejor dosis se procedió a determinar el grado de bioconversión por medio de sólidos sedimentables y así poder comparar la cantidad producida con lo de referencia. Los sólidos sedimentables nos permiten estimar la cantidad de material que sedimenta de una muestra en un período de tiempo. Pueden ser determinados y expresados en función de un volumen (mL/L) o de una masa (mg/L), mediante volumetría y gravimetría respectivamente (NMX-AA-004-SCFI-2013).

El método consiste en llenar el cono Imhoff, evitando verter la muestra por las paredes del cono, hasta la marca de 1 L. En casos excepcionales donde el volumen de muestra disponible sea menor a 1 litro, como fue en este caso de estudio, se debe verter toda la muestra y anotar el volumen (esto último para realizar los cálculos). Posterior a esto se deja sedimentar por 45 minutos y se remueve suavemente con una varilla agitadora, cualquier residuo que haya quedado adherido en las paredes del cono. Se Dejar



sedimentar 15 minutos más y se anota el volumen de sólidos sedimentables como ml/L, acorde a la Tabla 2.3.

Tabla 2.3. Criterios para reportar sólidos sedimentables

<b>Intervalo de volumen (ml)</b>	<b>División de la escala (ml)</b>	<b>Criterio para reportar resultados</b>
<b>0-2</b>	0.1	0.1
<b>2-6</b>	0.5	0.3*
<b>6-10</b>	0.5	0.5
<b>10-20</b>	1	0.5*
<b>20-40</b>	1	1

\* Siempre que el nivel de sólidos se encuentre más próximo a la distancia media entre dos divisiones de escala, este valor se sumará al correspondiente a la división menor. Si el nivel se halla más próximo a una de las divisiones de escala, se considerará el valor de ésta.

A partir de 40 mL se sigue el criterio previo en función de la división de escala del cono utilizado.

# **CAPITULO 3**

## **RESULTADOS**

## CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se presentan los resultados obtenidos durante las diferentes evaluaciones experimentales planteadas en la metodología de esta investigación.

### **Etapa 1. Caracterización de residuos agroindustriales**

Las características físico-químicas presentes en cada uno de los residuos orgánicos se presentan en la Tabla 3.1. El lodo porcícola se acondicionó previamente para su proceso de estabilización, para obtener una concentración de sólidos totales de 2.5-3.5%, ideales para procesos como es la digestión anaerobia. El lodo porcícola presentó un valor de 76.81 % de sólidos totales volátiles siendo por tanto rico en materia orgánica. Esto se debe principalmente a su origen, de igual manera se alcanzaron valores promedio de DQO de 49.86 g DQO/ L. El pH en el lodo fue de 7.01. Se observó que el lodo es rico en compuestos nitrogenados al obtener un alto contenido de nitrógeno total respecto a lo demás residuos en estudio, alrededor de un 4.7%. Por otro lado, la composición química de la pollinaza es muy variable, y su mayor valor reside como fuente de proteínas y minerales. El tipo de nutrientes varía de acuerdo al tipo de materiales utilizados como cama, grosor piso, comedero utilizado, la temperatura, el número de camadas, la relación volumen de cama y métodos de limpieza, el envejecimiento de la pollinaza, la humedad, etc. (INIFAP, 2012). Se obtuvieron valores de sólidos totales del 49.88 % y 81.42 % de sólidos volátiles. En lo que respecta al pH se observó que fue ligeramente ácido (6.54). Por otra parte, sobresalen valores promedios de 32.09 g DQO<sub>T</sub>/L, indicando una elevada cantidad de carga orgánica contenida en la pollinaza.

En la caracterización química también se cuantificó la presencia de los tres componentes principales de la materia orgánica como es la presencia de carbohidratos con un valor promedio de 3.56 g/ L seguido de las proteínas con un promedio de 25.08% el nitrógeno con un valor de 3.97%, clasificándose como residuo rico en

nitrógeno tal es el caso del residuo porcícola y por último los lípidos con un promedio de 3.10 g/L.

En lo que respecta a la melaza, la mayor composición son los carbohidratos, proteínas y lípidos, 4.55 g/L, 4.93% y 0.97 g/L, respectivamente; los cuales son susceptibles de aprovechamiento ya que la relación entre los compuestos orgánicos de los residuos agroindustriales y su productividad es un factor importante como es el caso en la digestión anaerobia para determinar el rendimiento de biogás o en el caso particular para aprovechar estos compuestos como fuente de nutrientes para el crecimiento poblacional de las especies anteriormente mencionadas. El residuo presenta un pH ligeramente ácido (5.26), el contenido de material orgánico se ve reflejado en el porcentaje de SV (78.72%) además de obtener una de DQO de 53.05 g/L (residuo con mayor carga de materia orgánica).

Tabla 3.1 Caracterización de residuos agroindustriales

<b>Parámetro</b> <b>Residuo</b>	<b>Lodo porcícola</b>	<b>Pollinaza</b>	<b>Melaza</b>
<b>Sólidos volátiles (%)</b>	76.81	81.42	78.72
<b>Sólidos totales (%)</b>	33.88	49.88	30.02
<b>pH</b>	7.01	6.54	5.26
<b>DQO Total (g/L)</b>	48.864	32.09	53.05
<b>Carbohidratos (g/L)</b>	2.57	3.56	4.55
<b>Lípidos (g/L)</b>	1.058	3.10	0.97
<b>Nitrógeno total (%)</b>	4.7	3.97	1.22
<b>Proteínas (%)</b>	26.38	25.08	4.93
<b>Fósforo total (g/L)</b>	0.00715	0.0023	0.00275

En base a los resultados de la caracterización se determinó que el compuesto predominante en estos residuos son las proteínas, por lo que es necesario hacer un pretratamiento para ayudar al desdoblamiento de los enlaces péptidos presentes en el

residuo y pueda haber una mayor asimilación de los nutrientes además es superior a los demás compuestos en aproximadamente un 50%.

## Etapa 2. Acondicionamiento de residuos agroindustriales con pre-tratamiento alcalino:

### **Residuo porcícola**

A continuación, se presentan en la Tabla 3.2, los valores que se adicionaron de  $\text{NaHCO}_3$  como pre-tratamiento al residuo para ambas especies:

Tabla 3.2. Adición de  $\text{NaHCO}_3$  a las cinéticas con lodo porcícola

Pretratamiento alcalino					
Cinética	pH inicial	pH final: <i>Chlorella</i> <i>spp</i>	$\text{NaHCO}_3$ adicionado (g/0.375L)	pH final: <i>Spirulina</i> <i>máxima</i>	$\text{NaHCO}_3$ adicionado (g/0.375L)
20%	7.12	7.5	0.821	9.5	12.321
20% <sub>replica</sub>	7.12	7.77	0.820	9.48	12.320
50%	6.99	7.45	0.949	9.40	12.412
50% <sub>replica</sub>	7.01	7.52	0.918	9.51	12.408
80%	7.01	7.52	0.922	9.55	12.422
80% <sub>replica</sub>	7.01	7.65	0.952	9.47	12.421

El pH inicial se mantuvo dentro de los valores aceptables para ambas especies para su crecimiento recomendado, recordando que el incremento del pH se relaciona con el incremento de la biomasa que se da en la fase exponencial.

### **Residuo avícola**

En la Tabla 3.3, los valores que se adicionaron de  $\text{NaHCO}_3$  como pre-tratamiento del residuo utilizado para ambas especies, se observa que tanto para el lodo porcícola como la pollinaza elevar el pH para utilizar estos residuos como medio para la especie *Chlorella spp.* no se gastó considerable cantidad de reactivo debido a la naturaleza con que cuenta estos residuos: pH's cercanos al del Medio Bold Basal (pH=7.5) en

comparación a las cantidades utilizadas para la especie *Spirulina máxima*: (pH=9.5) referido en Caballero, 2013 y Ramírez, 2013 respectivamente.

Tabla 3.3. Adición de NaHCO<sub>3</sub> a las cinéticas con residuo avícola

Pretratamiento alcalino					
Cinética	pH inicial	pH final: <b><i>Chlorella</i></b> <b><i>spp</i></b>	NaHCO <sub>3</sub> adicionado (g/0.375L)	pH final: <b><i>Spirulina</i></b> <b><i>máxima</i></b>	NaHCO <sub>3</sub> adicionado (g/0.375L)
20%	6.48	7.39	2.670	9.44	16.276
20% replica	6.42	7.34	2.745	9.38	16.125
50%	6.32	7.26	2.688	9.51	16.667
50% replica	6.31	7.30	2.576	9.45	16.445
80%	6.32	7.29	2.776	9.40	16.227
80% replica	6.31	7.30	2.582	9.42	16.441

### Melaza

En la Tabla 3.4, los valores que se adicionaron de NaHCO<sub>3</sub> como pre-tratamiento del residuo:

Tabla 3.4. Adición de NaHCO<sub>3</sub> a las cinéticas con melaza

Pretratamiento alcalino					
cinética	pH inicial	pH final: <b><i>Chlorella</i></b> <b><i>spp</i></b>	NaHCO <sub>3</sub> adicionado (g/0.375L)	pH final: <b><i>Spirulina</i></b> <b><i>máxima</i></b>	NaHCO <sub>3</sub> adicionado (g/0.375L)
20%	5.62	7.5	3.10	9.39	20.893
20% replica	5.61	7.5	3.627	9.38	20.801
50%	5.85	7.48	3.327	9.30	20.499
50% replica	5.85	7.51	3.564	9.41	20.663
80%	5.72	7.49	3.434	9.33	21.700
80% replica	5.78	7.47	3.433	9.45	21.678

Este residuo gastó una considerable cantidad de reactivo debido al pH que presenta este, y por ende fue el que más NaHCO<sub>3</sub> consumió durante la estabilización de pH.

Dorantes (2014), reporta que al haber una adición de  $\text{NaHCO}_3$  favorece a crecimiento celular de especies como *N. oleoabundans* en corrientes de vinazas.

### Etapa 3. Determinación de dosis recomendada de nutrientes

Para determinar la dosis recomendable de nutrientes se operaron cinéticas al 20 %, 50 % y 80 % de residuo con operación batch durante 21 días, los resultados se muestran a continuación separados de acuerdo al residuo.

#### *Lodo porcícola- Chlorella spp.*

En la Figura 3.1 se muestran los resultados promedio obtenidos de la remoción del residuo con la microalga, obteniéndose un promedio de remoción de 67% con una desviación estándar de 8.27, para la cinética al 20% lodo/ 80% agua con tratamiento alcalino, este valor esta entre el rango reportado por Wang y Min (2009) los cuales obtuvieron porcentajes de eliminación de 56% y 100% al estudiar microalgas con cuatro tipos de agua residual, por lo que queda patente la capacidad de las microalgas, mayor que de la biomasa bacteriana y fúngica, de eliminar metales como hierro, aluminio, manganeso, magnesio y zinc de diferentes tipos de agua residual.

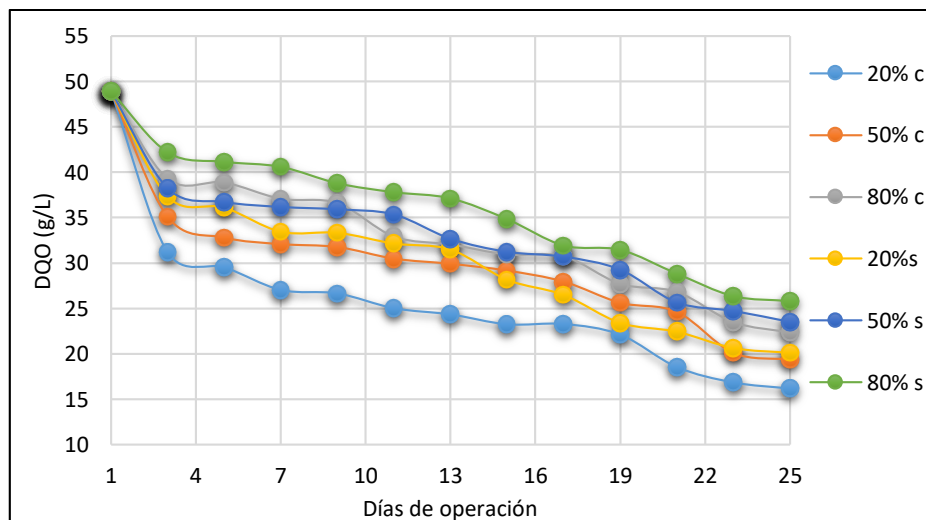


Figura 3.1 DQO de lodo porcícola-*Chlorella spp.*

Lo anterior también se respalda con los datos obtenidos de sólidos volátiles, teniendo aproximadamente una remoción de materia orgánica del 60% de STV (Figura 3.2).

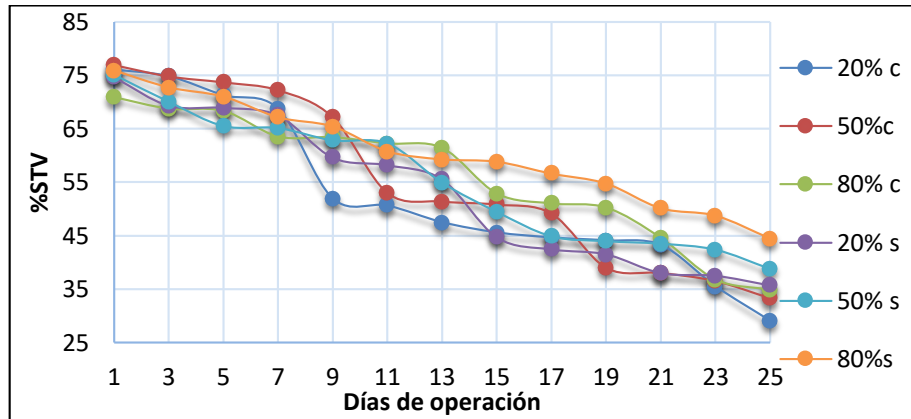


Figura 3.2 %STV de lodo porcícola-*Chlorella spp.*

Como resultado en lo que respecta a la microalga, se obtuvo que conforme se incrementa el tiempo de exposición del tratamiento, la  $DQO_T$  disminuye y por ende aumenta la población algal, teniendo como densidad celular máxima la de la cinética al 20% de lodo con tratamiento con  $1.54 \times 10^7$  Cel/mL en el día 11 (Figura 3.3), valor bajo comparado con González, 2015 el cual obtuvo una densidad celular  $1.54 \times 10^7$  Cel/mL de la especie *Chlorella spp.* al escalar a un fotobioreactor de columna de 3 litros.

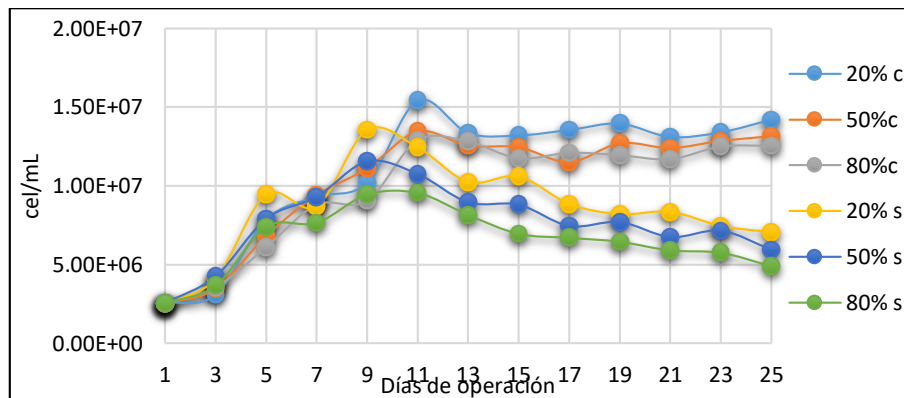
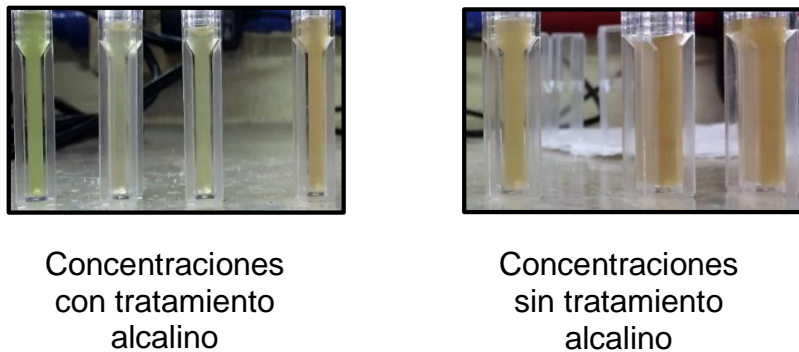


Figura 3.3 Crecimiento celular de *Chlorella spp.* - lodo porcícola.

En lo que respecta al parámetro de absorbancia, el cual también indica de manera óptica la remoción de materia orgánica presente, se encontró que al evaluar las dosis

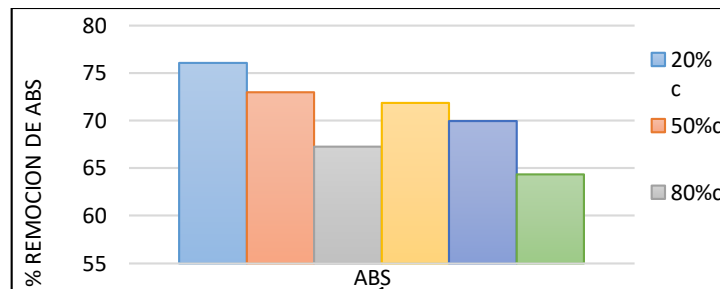


al 20 % de residuo, desarrollo un color verde claro y teniendo en cuenta que la dosis con tratamiento alcalino obtuvo el color cercano al característico de la microalga con medio sintético, mientras que para las dosis al 50 % y 80 % desarrollaron un color café claro, una posible hipótesis es que las microalgas presentes en ese medio estén acumulando otro tipo de pigmentos como son los carotenoides entre otros, lo cual genera ese color café claro (Figura 3.4) como lo reporta Dorantes en el 2014, al haber estudiado la especie *Neochloris oleoabundans* utilizando efluentes anaerobios de vinazas. Sin embargo, al ser un método colorimétrico, puede ser susceptible al error.



**Figura 3.4 Concentraciones al 0%, 20%, 50% y 80% de lodo porcícola en *Chlorella* spp.**

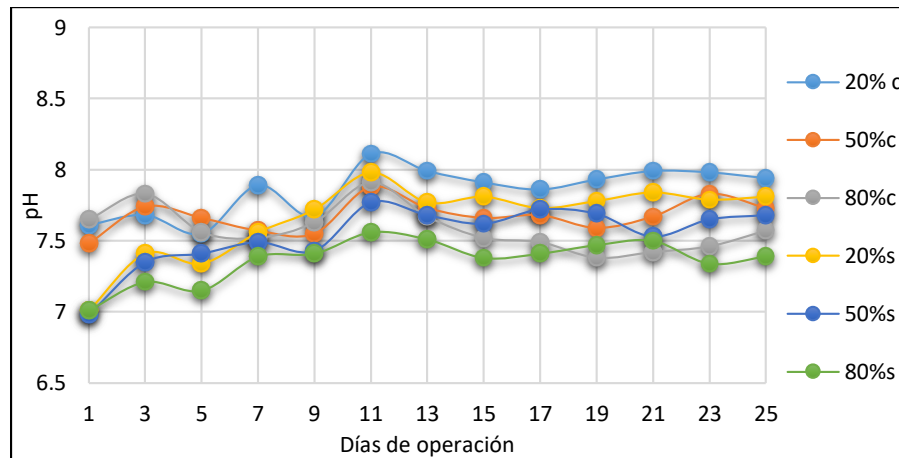
En la Figura 3.5 se presenta los porcentajes de remoción tomando en cuenta la absorbancia, los resultados demuestran que hay una remoción considerable (arriba del 50%), la mejor dosis fue la de 20% de residuo con tratamiento alcalino teniendo una remoción del 76%, también se debe tener en consideración la susceptibilidad de errores en este método.



**Figura 3.5 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ *Chlorella* spp.**

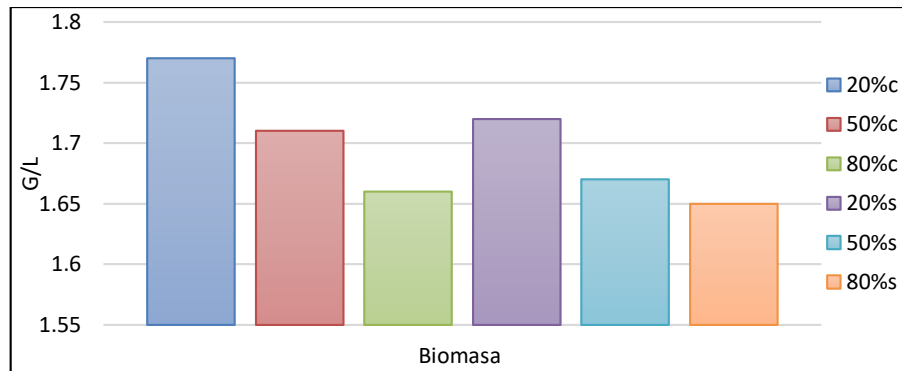
En el monitoreo de pH (Figura 3.6), se observó que el alga se adaptó de manera rápida (séptimo día) esto debido a que el pH que presentó el residuo es cercano al que maneja *Chlorella spp.* de modo que se puede aventurar que parte de esta subida es debida a la desnitrificación por parte de la población bacteriana mientras que parte del aumento podría ser debido a la actividad fotosintética de las microalgas presentes.

El pH final que alcanza el cultivo es mayor al pH inicial anterior a la alimentación, lo que indicaría dicha actividad fotosintética, dicho comportamiento lo reporta Ruiz, 2011 al evaluar un grupo de microalgas en la eliminación de nutrientes de agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente.

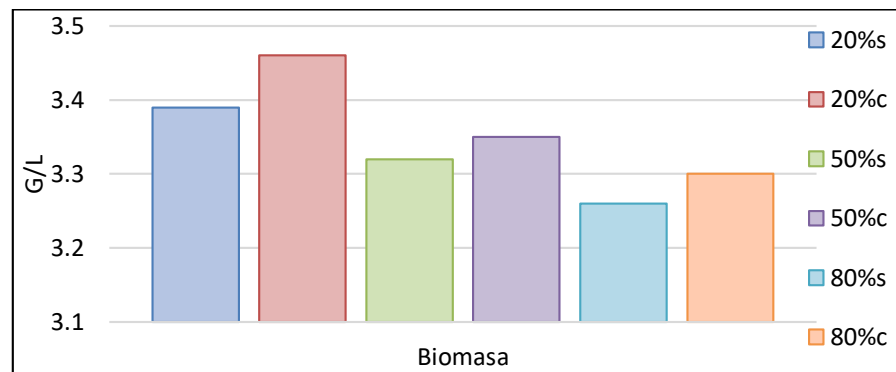


**Figura 3.6 Monitoreo de pH al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ *Chlorella spp.***

Aunque *Chlorella spp.* tuvo los mejores rendimientos de remoción de materia orgánica, los rendimientos de biomasa fueron bajos, como se muestra la Figura 3.7, obteniéndose un 1.76 g/L de biomasa seca, comparados con los de *Spirulina máxima* (Figura 3.8) la cual alcanzó un 3.46 g/L de biomasa seca. Esto se debe a la naturaleza metabólica característica de la microalga por lo que no se considera bajos dichos rendimientos comparados con diversos autores como Ardila- Rodríguez (2011), los cuales obtuvieron 2.9 g/L de biomasa aplicando diferentes concentraciones de ácido acético para estudiar la influencia de la fuente carbono orgánico en el crecimiento celular de *Chlorella vulgaris*.



**Figura 3.7 Biomasa al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ *Chlorella spp.***



**Figura 3.8 Biomasa al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ *Spirulina máxima*.**

Se llevó a cabo un análisis de varianza mediante el software NCSS 2007, para confirmar si la dosis de residuos como fuente de nutrientes influye en el cultivo algal así como en la remoción de materia orgánica; se empleó como variable la remoción de DQO y el crecimiento celular. Al utilizar como variable de respuesta la degradación o remoción de DQO, se tuvo como resultado que la dosis aplicada resulta ser significativa, ( $F_c > F_{tablas}$ :  $3.37 > 2.35$ , el valor de F calculada se muestra en la Figura 3.9) en la degradación de materia orgánica de este residuo; también se comparó por medio del método de Tukey las medias del tratamiento, teniendo como resultado que la dosis al 20 % con tratamiento alcalino fue diferente a las demás dosis y por ende la que mayor remoción de DQO presentó con una media de 25.95738, así que resulta

recomendable operar a esta dosis para tener resultados favorables de remoción de materia orgánica.

<i>Chlorella spp.</i> - Lodo porcícola						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob.	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	885.9009	177.1802	3.37	0.008549*	0.881855
S	72	3780.703	52.50977			
Total (Ajustado)	77	4666.604				
Total	78					
*Termino significativo de alpha =0.05						

**Figura 3.9 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ *Chlorella spp.* (degradación de DQO)**

Al utilizar como variable de respuesta el crecimiento celular, resulta ser significativa (Figura 3.10) la dosis de los residuos en el crecimiento poblacional de dicha especie siendo  $F_C > F_\alpha$  ( $3.84 > 2.35$ ). En lo que respecta a la prueba de significancias entre medias por método de Tukey, con una media de  $1.104615E+07$  la dosis al 20 % con tratamiento alcalino resulta ser diferente con la demás dosis, por lo que es recomendable trabajar a esta dosis para tener crecimiento celular favorable.

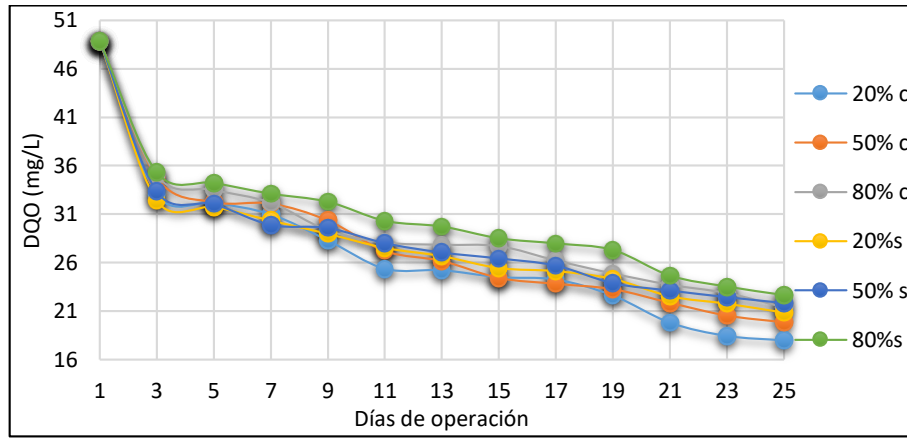
<i>Chlorella spp.</i> - Lodo porcícola						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	1.900911E+14	3.801821E+13	3.84	0.003880*	
S	72	7.134643E+14	9.909226E+12			
Total (Ajustado)	77	9.035553E+14				
Total	78					
* Termino significativo de alpha = 0.05						

**Figura 3.10 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ *Chlorella spp.* (crecimiento celular)**

### ***Lodo porcícola- Spirulina máxima***

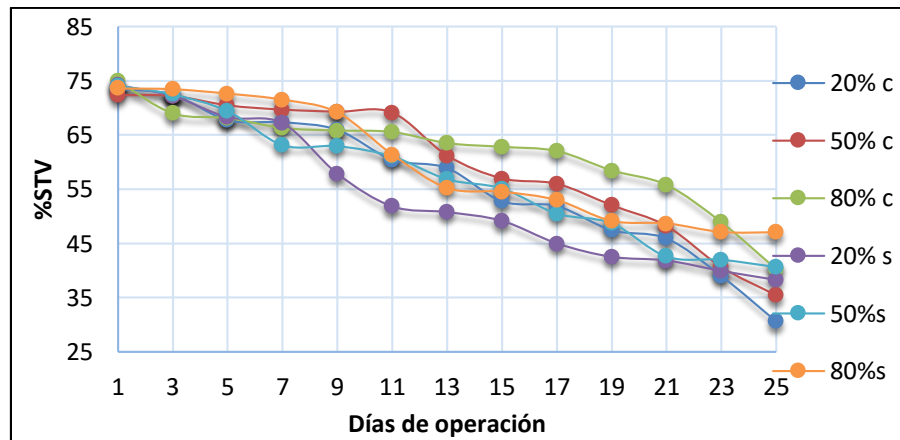
Los resultados obtenidos de la remoción del residuo con el cultivo algal se muestran en la Figura 3.11, teniendo un promedio de remoción del 63 %, para la cinética al 20 % con tratamiento alcalino, teniendo una desviación estándar de 8.20. Los valores de DQO son variables, en estudios sobre utilización de microalgas en aguas residuales urbanas, registraron valores moderados de remoción por ejemplo Wang et al. (2010)

obtuvieron las más bajas con 27,4 a 38,4 % de remoción para aguas residuales desde lodos de digestión anaerobia de estiércol de vacunos.



**Figura 3.11 DQO de lodo porcícola/ Spirulina máxima**

En cuanto a los Sólidos volátiles obtenidos, se obtuvo un porcentaje de remoción de materia orgánica del 58 % de remoción de STV (Figura 3.12), ratificando lo obtenido en los resultados de DQO.



**Figura 3.12 %STV de lodo porcícola/ Spirulina máxima**

La cinética al 20 % de lodo porcícola con tratamiento, fue mejor la dosis que obtuvo resultados favorables en cuanto a remoción de materia orgánica y a su vez en crecimiento celular con  $7.23 \times 10^5$  Cel/mL (Figura 3.13), teniendo un comportamiento ascendente conforme transcurre el tiempo.

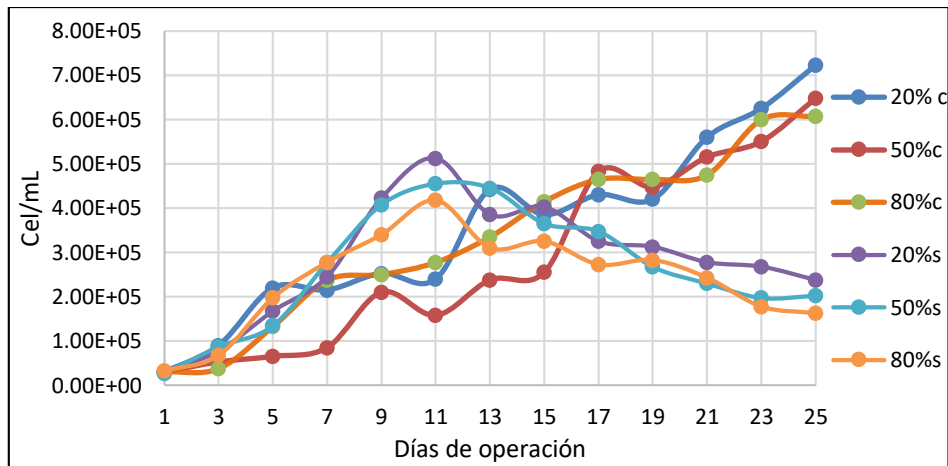


Figura 3.13 Crecimiento celular de *Spirulina máxima*- lodo porcícola

En la Figura 3.14 tomando en cuenta la absorbancia, se presenta los porcentajes de remoción de materia orgánica en el lodo porcícola en *Spirulina máxima*, el porcentaje mayor máximo de remoción fue 72 %, valor menor comparado con el mismo residuo, pero con la especie *Chlorella spp.*

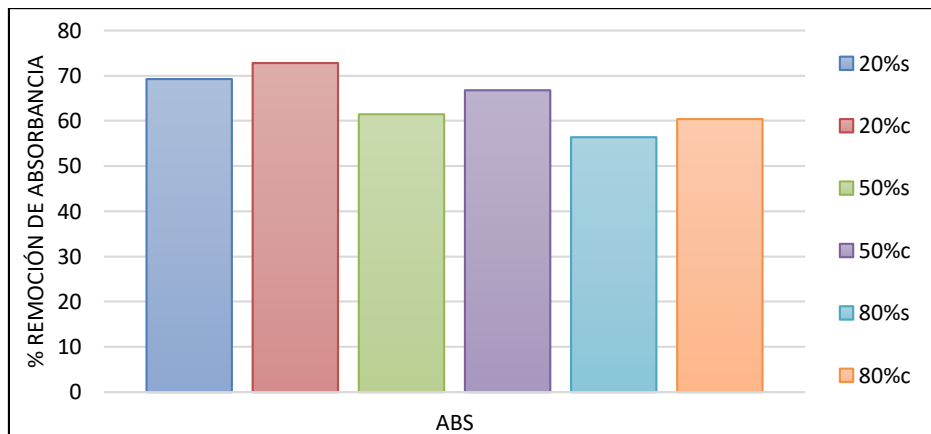
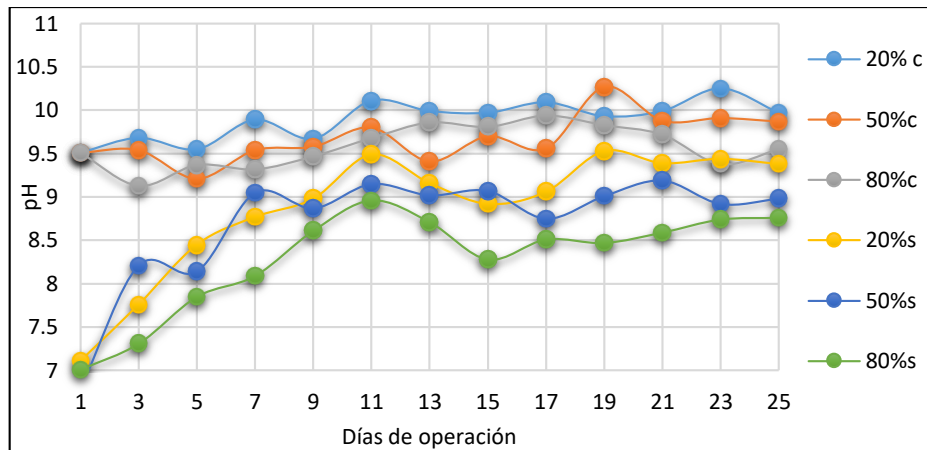


Figura 3.14 Porcentaje de remoción al 20%,50% y 80% de lodo porcícola/ *Spirulina máxima*

En el monitoreo de pH (Figura 3.15), se observó que el alga logró su estabilización de pH recomendado hasta el noveno día, debido a que el pH que maneja esta especie está en el rango de 9.5 es por ello la tardía adaptación de pH comparado con *Chlorella spp.*



**Figura 3.15** Monitoreo de pH 20%,50% y 80% de lodo porcícola/ *Spirulina máxima*

En cuanto al análisis de varianza mediante el software NCSS 2007, al utilizar como variable de respuesta la degradación o remoción de DQO, se tuvo como resultado que la  $F_{calculada}$  (3.26) es mayor a la  $F$  de tablas (2.35) por lo que la dosis aplicada resulta ser significativa (Figura 3.16) en la degradación de materia orgánica de este residuo y por medio del método de Tukey, se tuvo como resultado que la dosis al 20 % con tratamiento alcalino fue diferente a las demás dosis y por ende esta dosis tuvo la mayor remoción de DQO con una media de 27.01923, por lo que resulta recomendable operar a esta dosis para tener resultados favorables de remoción de materia orgánica.

Spirulina m. - Lodo porcícola						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob.	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	98.68044	19.73609	3.26	0.003429*	
S	72	3934.9	54.65139			
Total (Ajustado)	77	4033.58				
Total	78					

\*Termino significativo de alpha =0.05

**Figura 3.16** Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ *Spirulina máxima* (degradación de DQO)

Al utilizar como variable de respuesta el crecimiento celular, resulta ser significativa al ser mayor  $F_c > F_\alpha$  ( $2.83 > 2.35$ ) la dosis de los residuos en el crecimiento poblacional de dicha especie. En lo que respecta a la prueba de significancias entre medias por el

método de Tukey, la dosis al 20 % con tratamiento alcalino resultó ser diferente con la demás dosis con una media de 356461.5, por lo que es recomendable trabajar a esta dosis para tener crecimiento celular favorable, en la Figura 3.17 se presenta el Anova de este residuo.

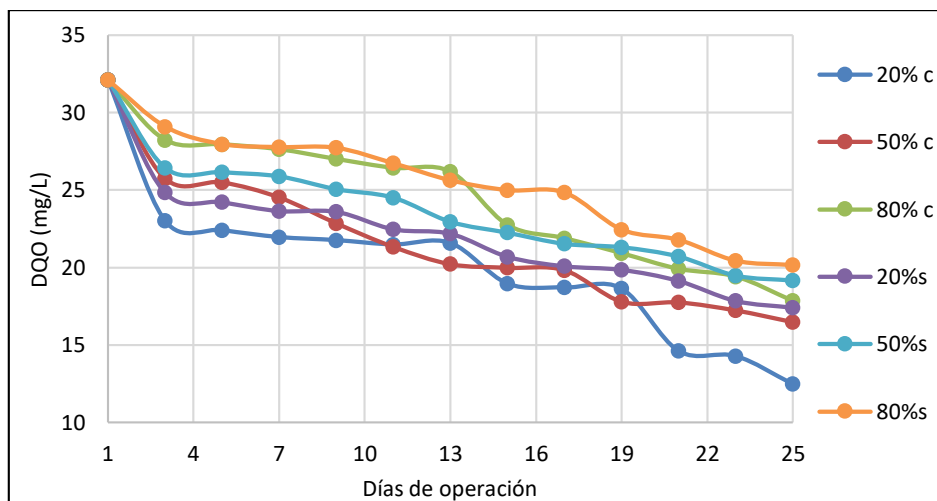
Spirulina m. - Lodo porcícola		Suma de	Media de	Prueba F	Nivel	(Alpha
Termino	DF	cuadrados	cuadrados		Prob.	=0.05
A: Factor_A	5	1.190511E+11	2.381023E+10	2.83	0.032908*	
S	72	2.066648E+12	2.870345E+10			
Total (Ajustado)	77	2.185699E+12				
Total	78					

\* Termino significativo de alpha = 0.05

**Figura 3.17 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de lodo porcícola/ *Spirulina máxima* (crecimiento celular)**

### **Pollinaza- *Chlorella spp***

Los resultados obtenidos de la remoción del residuo con el cultivo algal (Figura 3.18) arrojan que se obtuvo un 62% de remoción de DQO<sub>T</sub> para la cinética con tratamiento alcalino al 20% de residuo- 80% agua con una desviación estándar de 6.26. Esto es verificado con lo obtenido en el parámetro de STV el cual se obtuvo un 65% de remoción de STV (Figura 3.19).



**Figura 3.18 DQO de pollinaza- *Chlorella spp*.**



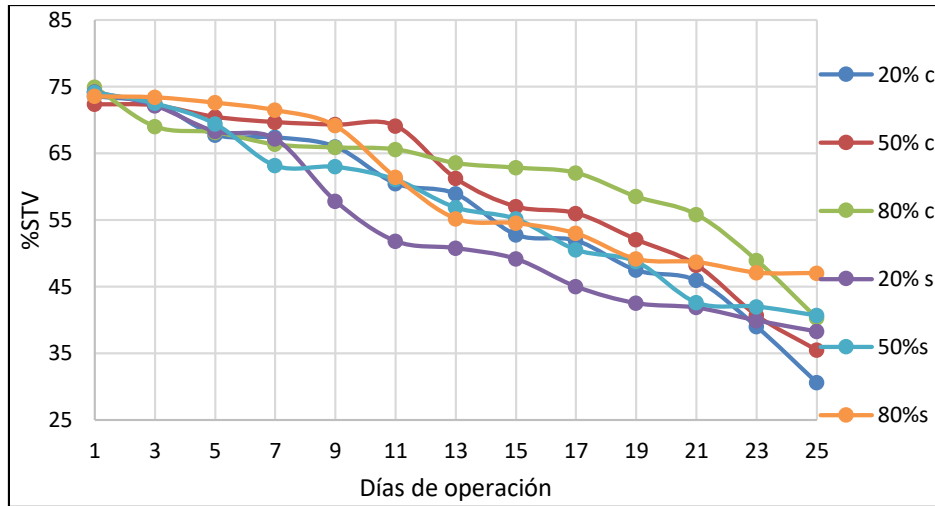


Figura 3.19 % STV de pollinaza- *Chlorella spp.*

La dosis recomendada de pollinaza al igual que el lodo fue la de 20% con tratamiento alcalino, la cual se obtuvo un crecimiento celular de  $1.46 \times 10^7$  Cel/mL (Figura 3.20), dato superior al de Loaiza (2007), el cual encontró que al utilizar la fracción soluble de gallinaza degradada aeróbicamente como fuente de cultivo para la especie *Chromonas sp.* eleva la densidad celular hasta  $13.66 \times 10^6$  Cel/mL.

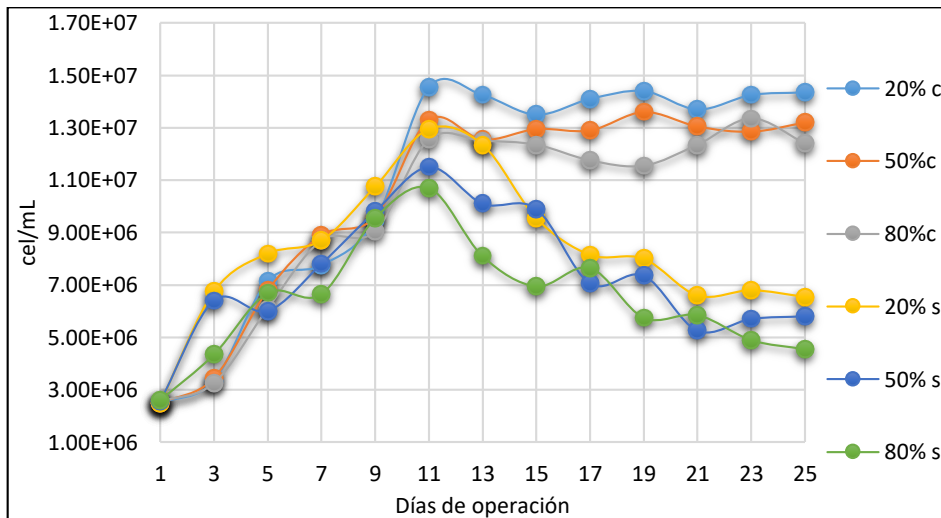


Figura 3.20 Crecimiento celular de *Chlorella spp.*- Pollinaza

Los porcentajes de remoción de materia orgánica en la pollinaza en *Chlorella spp.*, con respecto a la absorbancia se muestran en la Figura 3.21, teniendo como valor máximo 69.7% de remoción en la cinética al 20% con tratamiento alcalino.

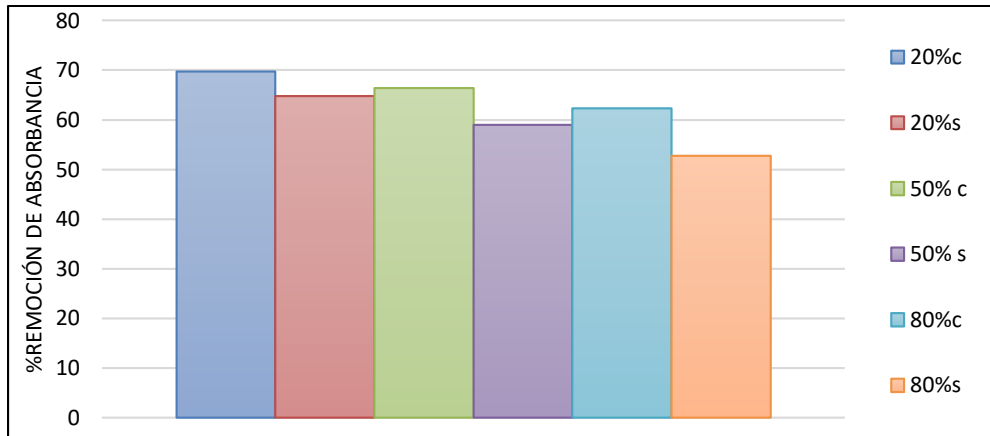


Figura 3.21 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de pollinaza- *Chlorella spp.*

En cuanto a pH se observó una estabilización a partir del día 5 (Figura 3.22) debido a que el pH que maneja el residuo es cercano al 6.5 por lo que no costó alcanzar el rango de pH requerido para esta especie, cabe señalar que el pH es una manera cuantitativa de la generación de biomasa (Figura 3.23), a mayor concentración de biomasa mayor cantidad de pH.

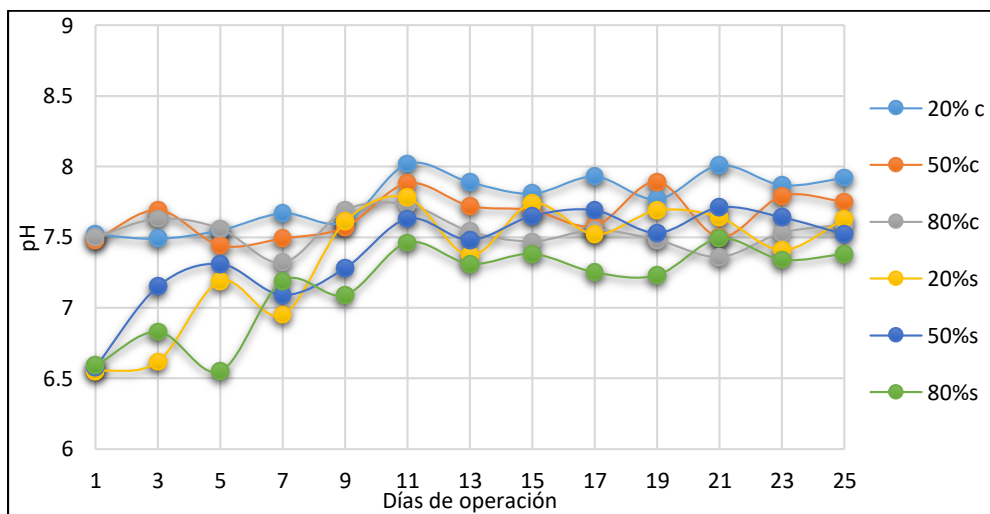
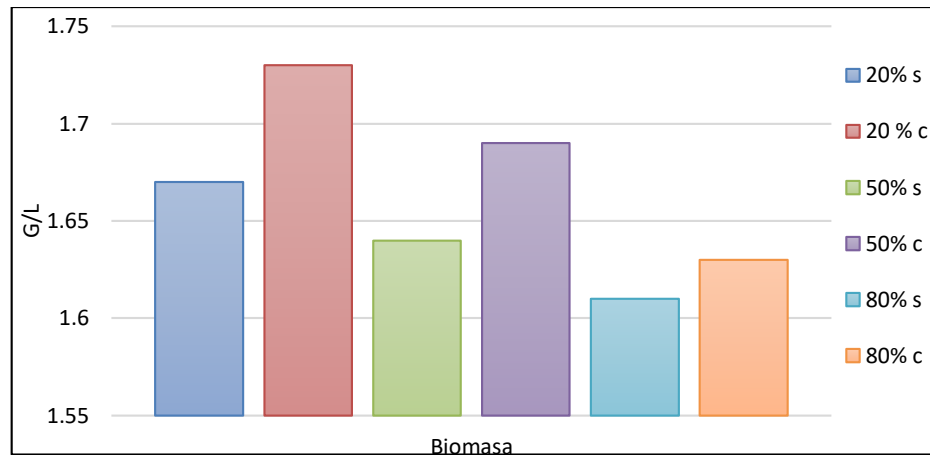


Figura 3.22 Monitoreo de pH al 20%, 50% y 80% de pollinaza- *Chlorella spp.*



**Figura 3.23 Biomasa al 20%, 50% y 80% de pollinaza- *Chlorrella spp.***

Mediante el software NCSS 2007, se realizó el análisis de varianza utilizando como variable de respuesta la degradación o remoción de DQO, se tuvo como resultado que la  $F_{calculada}$  (3.96) es mayor a la  $F$  de tablas (2.35) por lo que la dosis aplicada resulta ser significativa (Figura 3.24) en la degradación de materia orgánica de este residuo; en cuanto a la comparación de significancia entre medias por medio del método de Tukey, se tuvo como resultado que la dosis al 20 % con tratamiento alcalino fue diferente a las demás dosis y por ende fue la mayor en la remoción de DQO con una media de 25.95738, por lo que para tener resultados favorables de remoción de materia orgánica, resulta recomendable operar a esta dosis.

<i>Chlorrella spp.</i> - Pollinaza						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob.	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	254.4601	50.89201	2.98	0.016892*	
S	72	1230.821	17.09474			
Total (Ajustado)	77	1485.281				
Total	78					

\*Termino significativo de alpha =0.05

**Figura 3.24 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de pollinaza/ *Chlorrella spp.* (degradación de DQO)**

Al utilizar como variable de respuesta el crecimiento celular, resulta ser significativa la dosis de los residuos en el crecimiento poblacional de dicha especie, siendo  $F_{calculada}$  (2.99) mayor a la  $F$  de tablas (2.35). En lo que respecta a la prueba de significancias

entre medias por método de Tukey, con una media de 9992308, la dosis al 20 % con tratamiento alcalino fue diferente con la demás dosis, por lo que se recomienda trabajar a esta dosis. Los resultados del Anova se presentan en la Figura 3.25.

Chlorella spp. - Pollinaza		Suma de	Media de		Nivel	(Alpha
Termino	DF	cuadrados	cuadrados	Prueba F	Prob	=0.05
A: Factor_A	5	7.945026E+13	1.589005E+13	2.99	0.000162*	
S	72	5.745427E+14	7.97976E+12			
Total (Ajustado)	77	6.539929E+14				
Total	78					

\* Termino significativo de alpha = 0.05

Figura 3.25 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de pollinaza/ *Chlorella spp.* (crecimiento celular)

### Pollinaza- *Spirulina máxima*

Se muestran en la Figura 3.26 los resultados obtenidos de la remoción del residuo con *Spirulina máxima* obteniendo un 59% de remoción de DQO<sub>T</sub> en la cinética al 20% de residuo- 80% agua con tratamiento alcalino con una desviación estándar de 4.78.

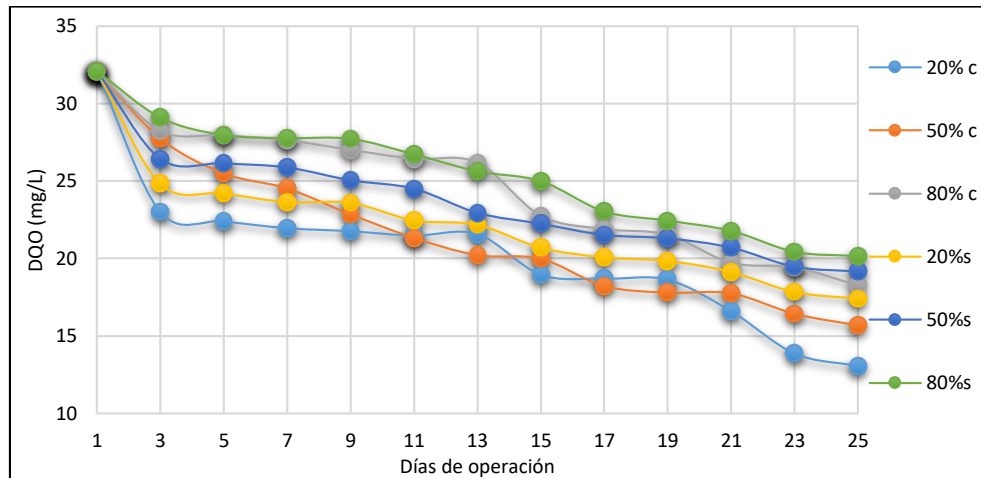


Figura 3.26 DQO de pollinaza- *Spirulina máxima*

La dosis recomendada al igual que en cinéticas anteriores la que mejor tuvo resultados favorable fue la de 20% residuo con tratamiento alcalino, teniendo un crecimiento celular de  $6.48 \times 10^5$ ; en general, en cultivos mixotróficos, donde el cultivo es provisto de luz y una fuente de carbono, nitrógeno y fósforo orgánico se obtienen

concentraciones celulares y velocidades de crecimiento mucho más altas que cultivos autótrofos (Yang *et al.*, 2000; Chojnacka y Noworyta, 2004). El monitoreo se muestra en la Figura 3.27.

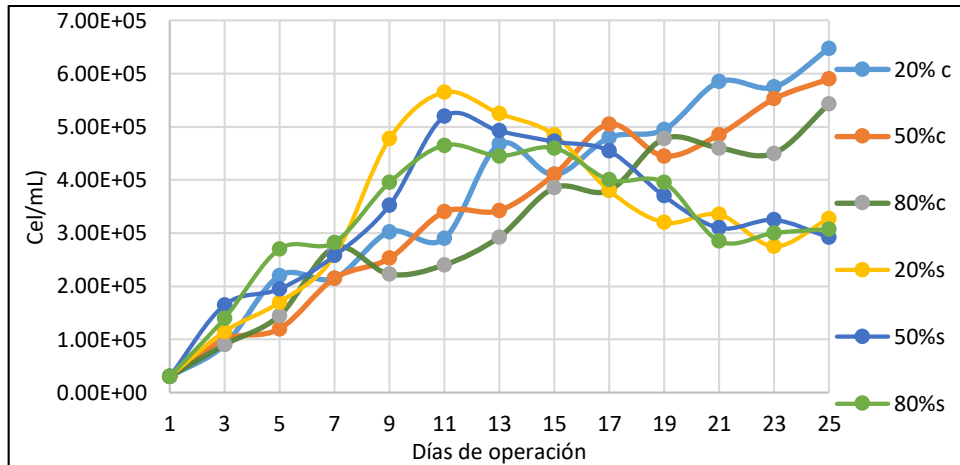


Figura 3.27 Crecimiento celular de *Spirulina máxima*- Pollinaza

Los porcentajes de remoción de materia orgánica de la pollinaza en *Spirulina máxima*, con respecto a la absorbancia se muestran en la Figura 3.28, teniendo como valor máximo 64.5% de remoción para la dilución al 20% con tratamiento alcalino por lo que Este tratamiento biológico constituye una buena alternativa para la depuración de aguas residuales, ya que los bajos requerimientos energéticos y la simplicidad de su tecnología permiten su fácil implementación.

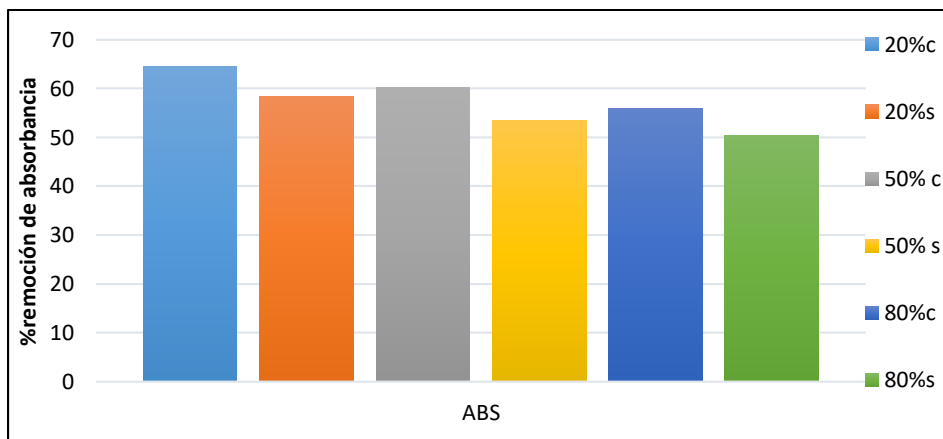


Figura 3.28 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de pollinaza- *Spirulina máxima*

A partir del día 7 se vió una estabilización de pH en el rango de 9 para las cinéticas sin tratamiento (Figura 3.29), este le costó más alcanzar el rango de pH requerido para esta especie, debido a que esta especie maneja pHs mas alcalinos que *Chlorella spp.* Aunque Jacob-Lopes et al., 2008, Ramirez,2013 afirman que existe un consenso general acerca de la preferencia de cianobacterias para el CO<sub>2</sub> (como fuente de carbono inorgánico), ya que se controla fácilmente y produce cambios menores de pH.

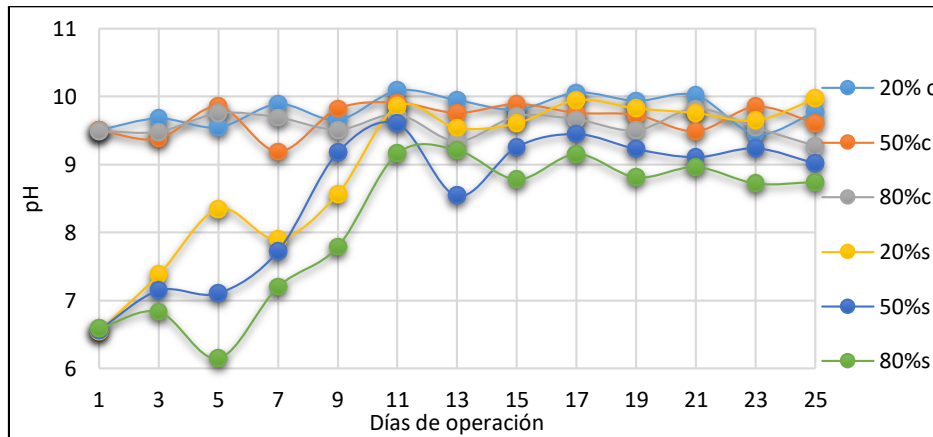


Figura 3.29 Monitoreo de pH al 20%, 50% y 80% de pollinaza- *Spirulina máxima*

Las cantidades de biomasa, alrededor de 3.39 g/L de biomasa (Figura 3.30), generadas en estas cinéticas fueron menores comparadas con la del residuo porcícola, debido a que el lodo porcícola al tener un mayor porcentaje de nitrógeno (base de alimentación de cultivo algal) se eleva la producción de biomasa y no de otros compuestos como son los lípidos.

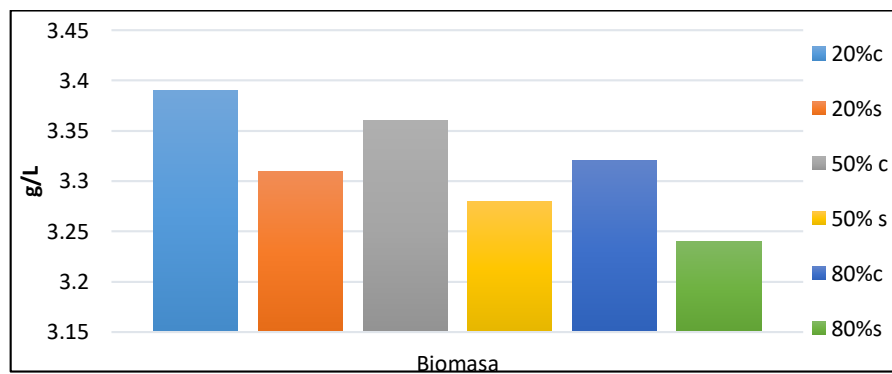


Figura 3.30 Biomasa al 20%, 50% y 80% de pollinaza- *Spirulina máxima*

Con ayuda del software NCSS 2007, se obtuvo que el resultado de la  $F_{\text{calculada}}$  (2.75) es mayor a la  $F$  de tablas (2.35) por lo que la dosis aplicada resulta ser significativa en la degradación de materia orgánica de este residuo; en cuanto a la comparación de significancia entre medias por medio del método de Tukey, se tuvo como resultado que la dosis al 20 % con tratamiento alcalino fue diferente a las demás dosis y por ende es la que mayor remoción de DQO alcanza con una media de 20.31523, por lo que para tener resultados favorables de remoción de materia orgánica, resulta recomendable operar a esta dosis. El análisis de varianza utilizando como variable de respuesta la degradación o remoción de DQO se muestra en la Figura 3.31.

Spirulina m. – Pollinaza						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob.	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	239.3028	47.86055	2.75	0.024800*	
S	72	1251.708	17.38484			
Total (Adjusted)	77	1491.011				
Total	78					

\*Termino significativo de alpha =0.05

**Figura 3.31 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de pollinaza/ *Spirulina máxima* (degradación de DQO)**

Por otra parte, resulta ser significativa la dosis de los residuos en el crecimiento poblacional de dicha especie, siendo  $F_{\text{calculada}}$  (3.22) mayor a la  $F$  de tablas (2.35). En lo que respecta a la prueba de significancias entre medias por método de Tukey, la dosis al 20 % con tratamiento alcalino resultó ser diferente con la demás dosis con una media de 369923.1, por lo que se recomienda trabajar a esta dosis. Los resultados del Anova obtenido se muestran en la Figura 3.32.

Spirulina m. – Pollinaza						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob.	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	2.943103E+10	5.886205E+09	3.22	0.001838*	
S	72	1.907233E+12	2.648935E+10			
Total (Ajustado)	77	1.936664E+12				
Total	78					

\* Termino significativo de alpha = 0.05

**Figura 3.32 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de pollinaza/ *Spirulina máxima* (crecimiento celular)**

### Melaza- *Chlorella spp*

La melaza presentó mayor dificultad de remover la materia orgánica en comparación a los residuos anteriores obteniendo un 56% de remoción de DQO<sub>T</sub> con una desviación estándar de 6.92 (Figura 3.33) y un 51% de remoción de STV (Figura 3.34) para la cinética con tratamiento alcalino al 20% de residuo (dosis recomendada), esto valores son superiores con lo de Olarte, (2016), el cual obtuvo un 30.92% de DQO utilizando como especie *Chlorella vulgaris* y la misma configuración de reactor, la diferencia radica en que este autor no aplico un pretratamiento al residuo por ello el bajo rendimiento de remoción de DQO.

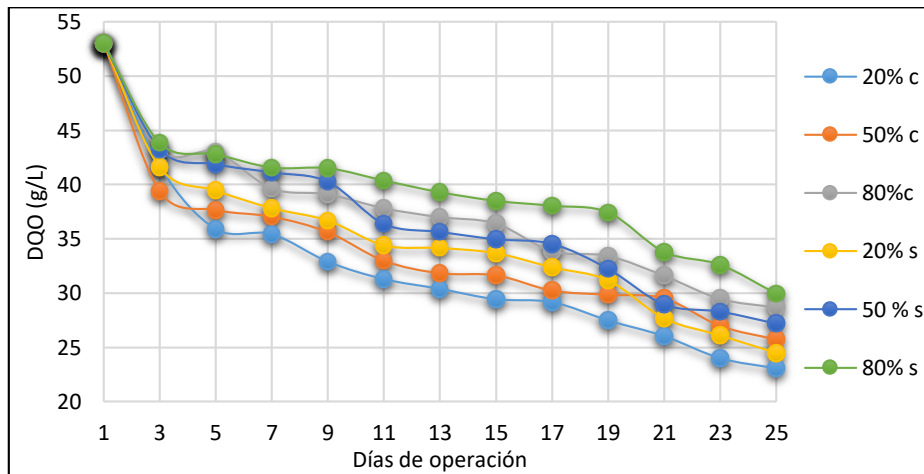


Figura 3.33 DQO de Melaza- *Chlorella spp*.

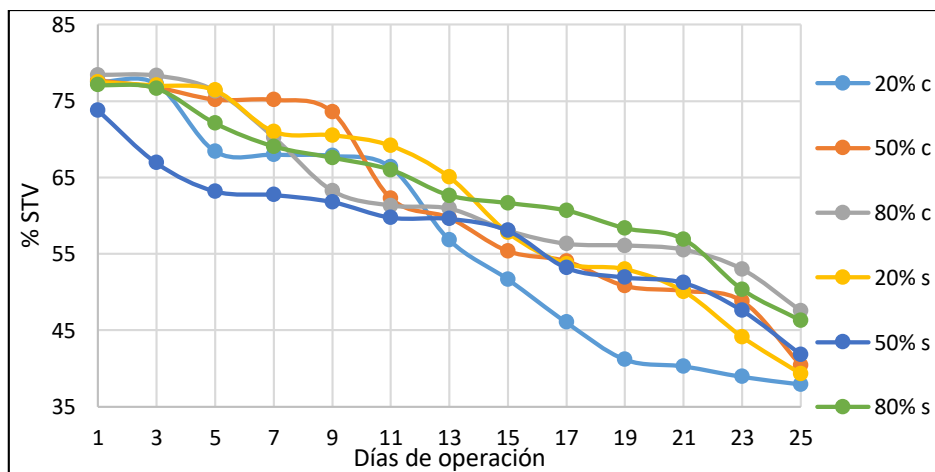
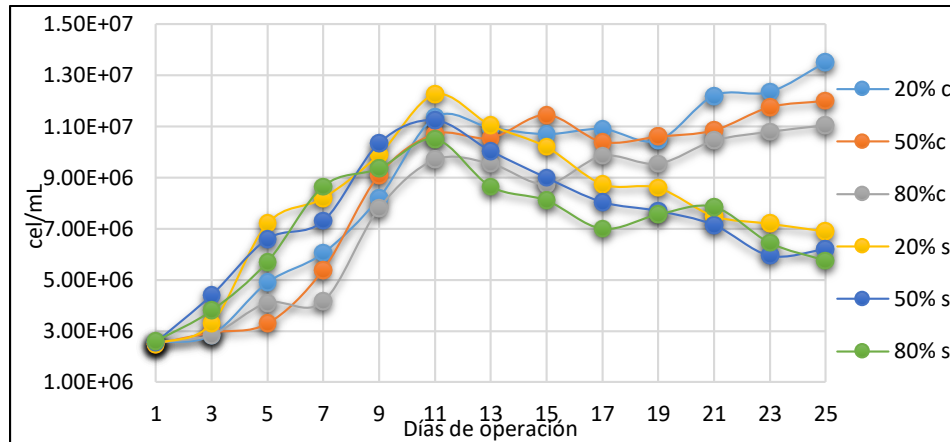


Figura 3.34 %STV de Melaza- *Chlorella spp*.

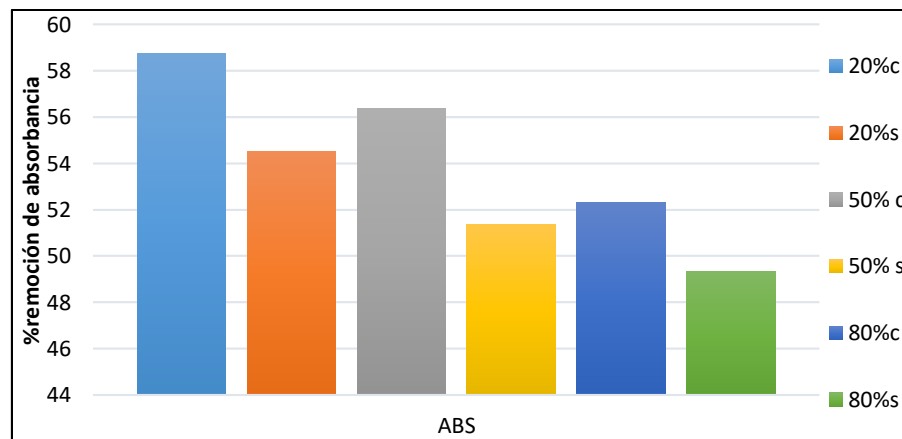


En cuanto a la dosis de melaza que mejor se adaptó (20% con tratamiento alcalino), obtuvo un crecimiento celular de  $1.35 \times 10^7$  Cel/mL, el monitoreo se presenta en la Figura 3.35.



**Figura 3.35 Crecimiento celular de *Chlorella spp.*- Melaza**

La dilución al 20% con tratamiento alcalino para la melaza en *Chlorella spp.*, tuvo un valor máximo 58.76% de remoción de materia orgánica. Los porcentajes de remoción de acuerdo a la absorbancia, se presentan en la Figura 3.36.

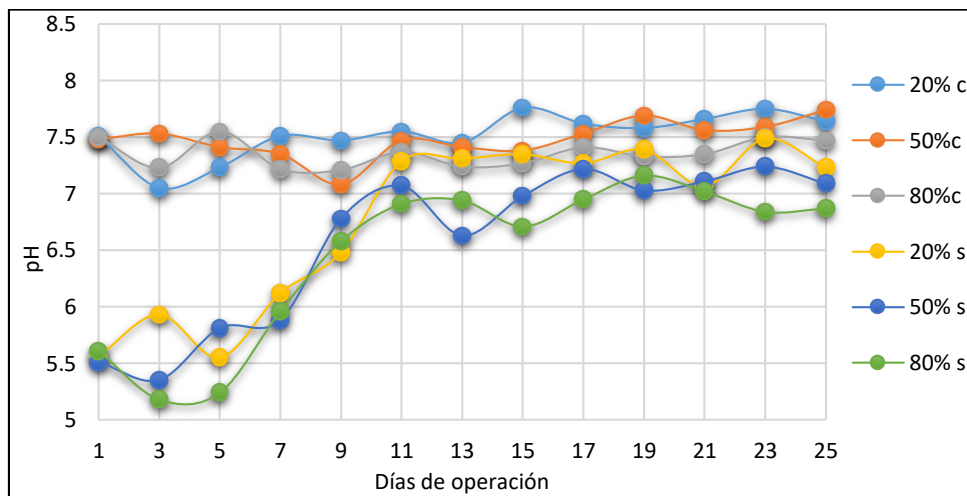


**Figura 3.36 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de Melaza- *Chlorella spp.***

Los resultados son menores debido a su composición física (color café oscuro característico de dicho residuo) y debido a su composición fisicoquímica (menor

porcentaje de proteínas, las cuales son de gran beneficio para el desarrollo celular de estas especies) por lo que se dificulta la remoción de material orgánico en este residuo ya que no hay una buena interacción entre la luz y células además de la falta de nutrientes, lo que se ve reflejado en un crecimiento menor en comparación al del lodo porcícola o el residuo avícola.

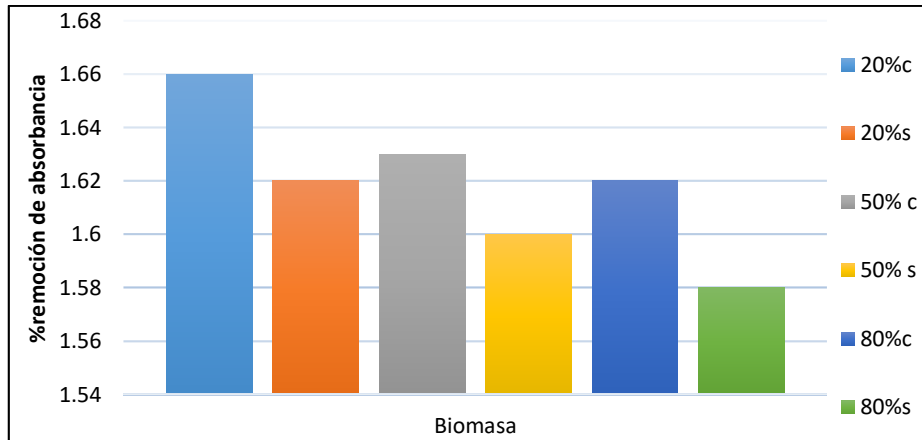
La estabilización de pH se logró a partir del día 10 (Figura 3.37) debido al pH ácido que maneja este residuo la estabilización fue más lenta en comparación a los demás residuos en estudio. Caso contrario con Dorantes (2014), el cual reporta que a pesar de que al tratamiento que se le agregó diariamente 0.3 gramos de  $\text{NaHCO}_3$  no mostró una alcalinidad bastante alta, por el contrario, fue bastante similar al tratamiento al que no se le agregó el bicarbonato, la diferencia radica en que la vinaza fue tratada previamente anaeróbicamente por lo que el pH inicial fue de 7, cercano al que maneja el medio Basal Bold.



**Figura 3.37 Monitoreo de pH al 20%, 50% y 80% de Melaza- *Chlorella spp.***

Como era de esperarse, el contenido de biomasa generado fue menor en este residuo en comparación con lo demás residuos, debido a la sobresaturación y oscurecimiento del mismo lo cual provoco una baja concentración celular y por ende una baja cantidad de biomasa, los resultados de esta cinética se muestran en la Figura 3.38, teniendo

solo 1.66 g/L de biomasa generada, sin embargo, Olarte (2016), considera la producción de biomasa obtenida (0,086 g) sustenta la viabilidad del uso de *Chlorella Vulgaris* en tratamientos de depuración, generando un subproducto de valor significativo en otras industrias como la producción de biocombustibles.



**Figura 3.38 Biomasa al 20%, 50% y 80% de Melaza- *Chlorella spp.***

Con el software NCSS 2007, se realizó el Anova de este tratamiento, y se confirmó que la dosis de residuos como fuente de nutrientes influye en la remoción de DQO. Al obtener como resultado en la degradación de materia orgánica de este residuo ( $F_c > F_{\alpha}$ :  $2.68 > 2.35$ ; en lo que respecta a los resultados obtenidos del método de Tukey, se tiene que la dosis al 20 % con tratamiento alcalino resultó ser diferente a las demás dosis y por ende la mayor remoción de DQO con una media de 33.89046, así que resulta recomendable operar a esta dosis para tener resultados favorables de remoción de materia orgánica. Los resultados del Anova se presentan en la Figura 3.39.

<i>Chlorella spp.</i> - Melaza						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob.	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	389.7579	77.95158	2.68	0.006571*	
S	72	2574.373	35.75518			
Total (Ajustado)	77	2964.131				
Total	78					

\*Termino significativo de alpha =0.05

**Figura 3.39 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de melaza/ *Chlorella spp.* (degradación de DQO)**

Resulta ser significativa (Figura 3.40) la dosis de los residuos en el crecimiento poblacional de dicha especie, al tener como variable de respuesta el crecimiento celular ( $F_C > F_{\alpha}$ :  $2.87 > 2.35$ ). En lo que respecta a la prueba de significancias entre medias por método de Tukey, con una media de 8800000 la dosis al 20 % con tratamiento alcalino resultó ser diferente con la demás dosis, por lo que es recomendable trabajar a esta dosis para tener crecimiento celular favorable.

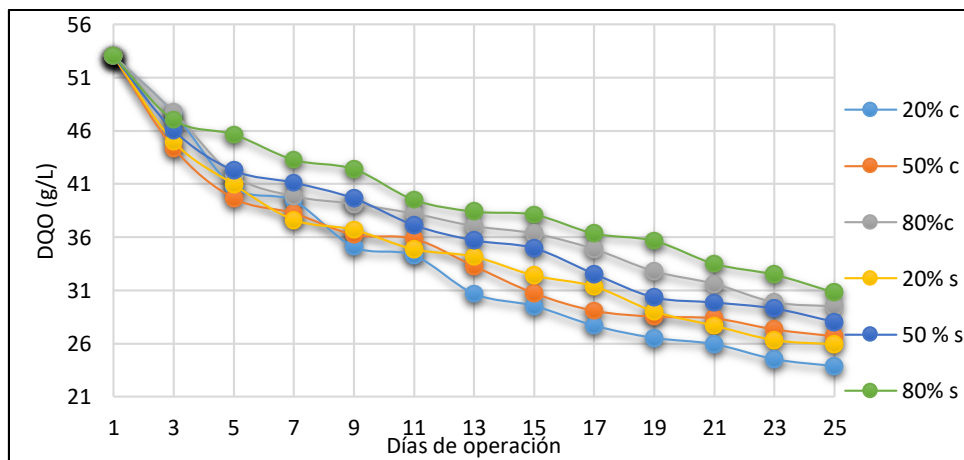
Chlorella spp. - Melaza						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	3.291708E+13	6.583417E+12	2.87	0.008631*	
S	72	5.476785E+14	7.606646E+12			
Total (Ajustado)	77	5.805956E+14				
Total	78					

\* Termino significativo de alpha = 0.05

**Figura 3.40 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de melaza/ Chlorella spp. (crecimiento celular)**

### Melaza- Spirulina máxima

Se obtuvo un 55% de remoción de  $DQO_T$  con una desviación estándar de 6.17 (Figura 3.41) y un 47% de remoción de STV (Figura 3.42) para la cinética con tratamiento alcalino al 20% de residuo, valores menores comparados con el mismo residuo, pero con *Chlorella spp*, debido a la tolerancia que esta última tiene para sobrevivir en cualquier ambiente (limitación de nutrientes, luminosidad, pH, etc).



**Figura 3.41 DQO Melaza- Spirulina máxima**

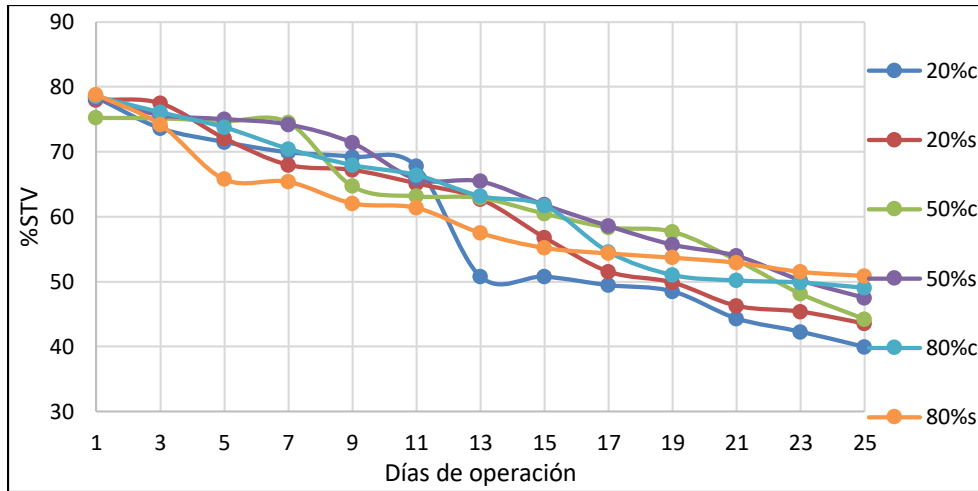


Figura 3.42 %STV Melaza- *Spirulina máxima*

La dosis con mayor crecimiento celular y remoción de materia orgánica fue la de 20% residuo con tratamiento alcalino, la cual se obtuvo un crecimiento celular de  $6.23 \times 10^5$  Cel/mL, Bajo ciertas condiciones, los cultivos con mayor densidad celular ( $> 3 \text{ g L}^{-1}$ ) son capaces de utilizar la luz incidente con mayor eficiencia en comparación con cultivos convencionales diluidos. Esto se debe al autosombreado, donde las células más cercanas a la superficie dan sombra a las capas inferiores, con células más alejadas de la superficie como lo menciona Hernández (2014). Los valores obtenidos se muestran en la Figura 3.43.

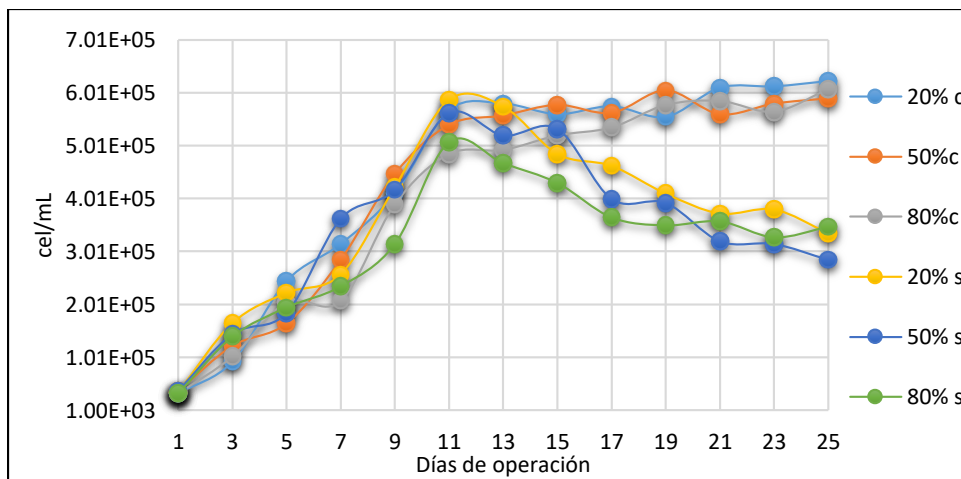
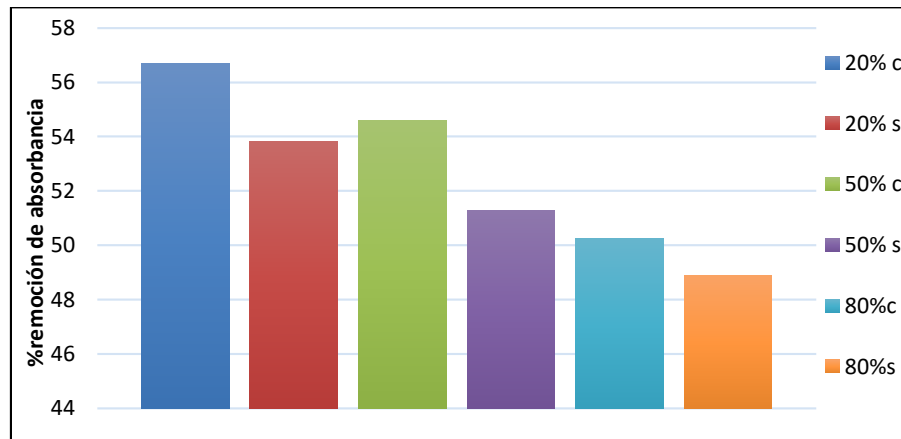


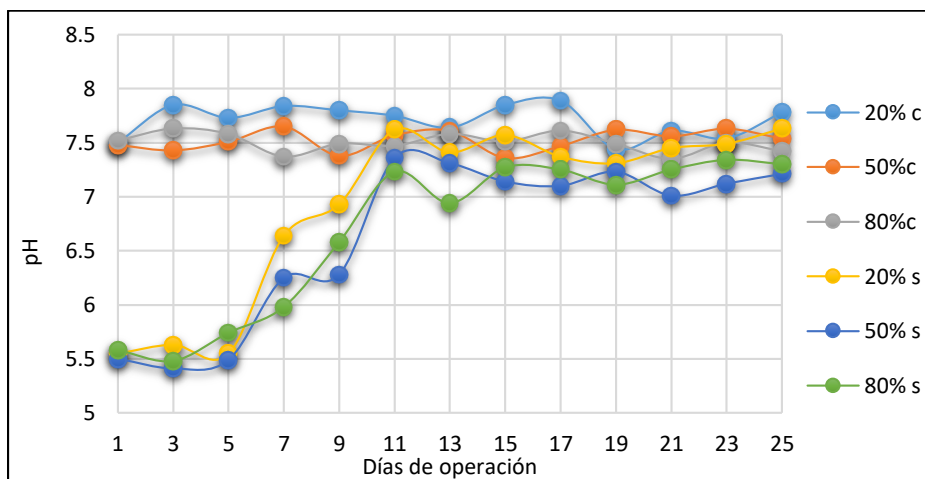
Figura 3.43 Crecimiento celular de *Spirulina máxima*- Melaza

Los porcentajes de remoción con respecto a la absorbancia se muestran en la Figura 3.44, teniendo como valor máximo 56.67% de remoción en la cinética al 20% con tratamiento alcalino. Este valor comparado con Dorantes (2014) es superior, el cual obtuvo un 44.79% de remoción o degradación de color al tratamiento de vinaza al que se le agregó  $\text{NaHCO}_3$  y un 36.22% para el tratamiento sin  $\text{NaHCO}_3$ .



**Figura 3.44 Porcentajes de remoción al 20%, 50% y 80% de Melaza- *Spirulina máxima***

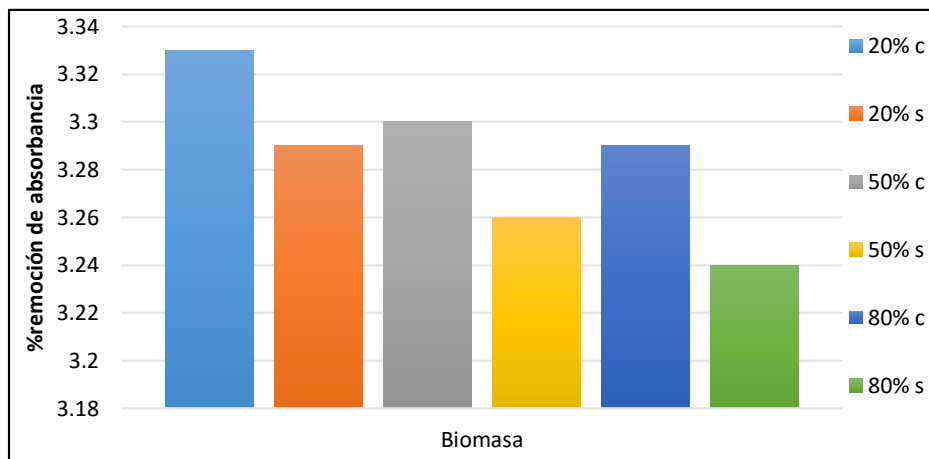
En cuanto a la estabilización de pH, el cual se alcanzó hasta el día 10 (Figura 3.45) debido a que el pH ácido que maneja este residuo y por ende la estabilización de pH fue más lenta comparada con los demás residuos en estudio, requiriendo más tiempo para llegar al pH que maneja *Spirulina máxima*.



**Figura 3.45 Monitoreo de pH al 20%,50% y 80% de Melaza- *Spirulina máxima***

Cabe recalcar que los mejores resultados se obtuvieron al utilizar porcentajes menores de efluentes (20%) y aplicando un pretratamiento alcalino con  $\text{NaHCO}_3$  además de ayudar a otras rutas metabólicas (lípidos), como lo reporta Dorantes (2014), el cual obtuvo una mayor productividad de lípidos, cerca del 38.5% de lípidos totales en la especie *N. oleoabundans*, al recibir un pretratamiento alcalino el efluente anaerobio de vinaza.

Mientras que el contenido de biomasa generado fue menor (3.33 g/L) en comparación a los demás residuos con *Spirulina máxima* debido al bajo porcentaje de nitrógeno, fuente principal en la producción de biomasa, los resultados de cada una de las diluciones con y sin pretratamiento se muestran en la Figura 3.46.



**Figura 3.46 Biomasa al 20%,50% y 80% de Melaza- *Spirulina máxima***

En lo que respecta al análisis estadístico, se empleó como variable la remoción de DQO y el crecimiento celular. Al utilizar como variable de respuesta la degradación o remoción de DQO, se tuvo como resultado que la dosis aplicada resultó ser significativa (Figura 3.47) en la degradación de materia orgánica de este residuo teniendo  $F_C (3.12) > F_\alpha (2.35)$ ; en cuanto a la comparación de medias por el método de Tukey, se tuvo como resultado que la dosis al 20 % con tratamiento alcalino fue diferente a las demás dosis y por ende es que la mayor remoción de DQO con una

media de 33.77092, así que resulta recomendable operar a esta dosis para tener mejores resultados de remoción de materia orgánica.

<i>Spirulina m. - Melaza</i>						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob.	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	323.4084	64.68169	3.12	0.039015*	
S	72	4168.636	57.89772			
Total (Ajustado)	77	4492.044				
Total	78					
* Termino significativo de alpha = 0.05						

**Figura 3.47 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de melaza/ *Spirulina máxima* (degradación de DQO)**

Al utilizar como variable de respuesta el crecimiento celular, resultó ser significativa la dosis de los residuos en el crecimiento poblacional de dicha especie ( $F_c > F_{\alpha}$ :  $3.11 > 2.35$ ). En la prueba de significancias entre medias por método de Tukey, con una media de 444538.5, la dosis al 20 % con tratamiento alcalino resultó ser diferente a la demás dosis, por lo que es recomendable trabajar a esta dosis. El Anova se muestra en la Figura 3.48.

<i>Spirulina m. - Melaza</i>						
Termino	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel Prob.	(Alpha =0.05)
A: Factor_A	5	1.782331E+11	3.564663E+10	3.11	0.01562*	
S	72	2.307456E+12	3.2048E+10			
Total (Ajustada)	77	2.485689E+12				
Total	78					
* Termino significativo de alpha = 0.05						

**Figura 3.48 Anova de cinéticas al 20%, 50% y 80% de melaza/ *Spirulina máxima* (crecimiento celular)**

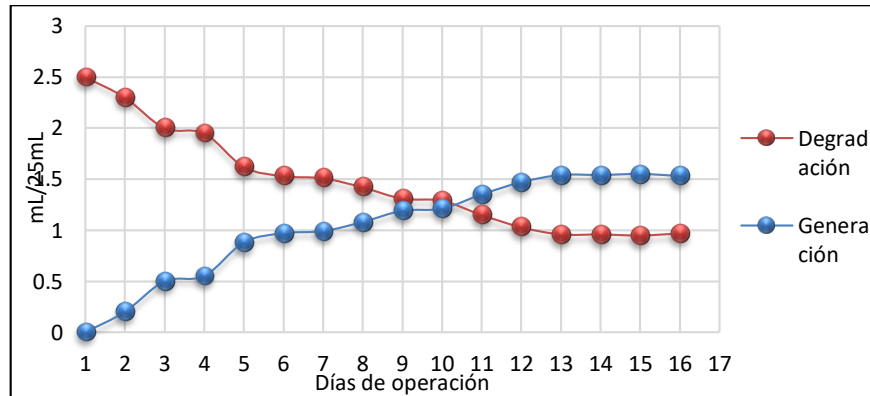
#### **Etapas 4. Comparación de los rendimientos de biomasa generada con los de referencia**

La realización de esta etapa se llevó a cabo por medio de la evaluación del grado de bioconversión del residuo a biomasa, siguiendo la metodología de los sólidos sedimentables (NMX-AA-004-SCFI-2013). Los resultados de las mejores dosis se muestran a continuación, de acuerdo al residuo.



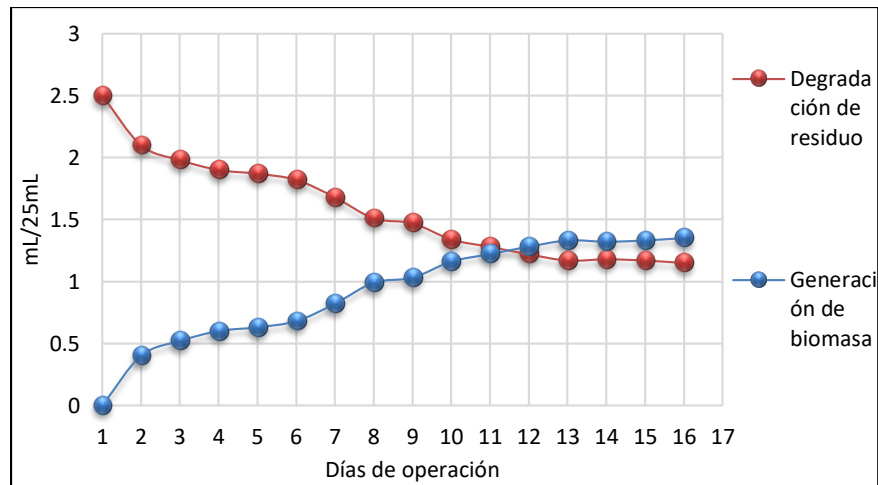
### ***Lodo porcícola***

Se obtuvo un 61% de grado de bioconversión del residuo con *Chlorella spp*, lo cual indica que las microalgas son capaces de originar nuevas moléculas que constituyen un complejo Mineral Orgánico con funciones ecológicas, a partir de materiales contaminados como ecológicas, este porcentaje se aproxima al reportado por el departamento de Cundinamarca, Bogotá y Cury *et al.* (2017), en el que se evaluó el crecimiento y producción de este hongo sobre tres residuos agroindustriales (capacho de uchuva, cascara de arvejas y tusa de maíz) alcanzado un 76.1 % de eficacia orgánica. En la Figura 3.49 se muestran los resultados obtenidos del residuo con las dos especies en estudio.



**Figura 3.49 Bioconversión de Lodo porcícola- *Chlorella spp*.**

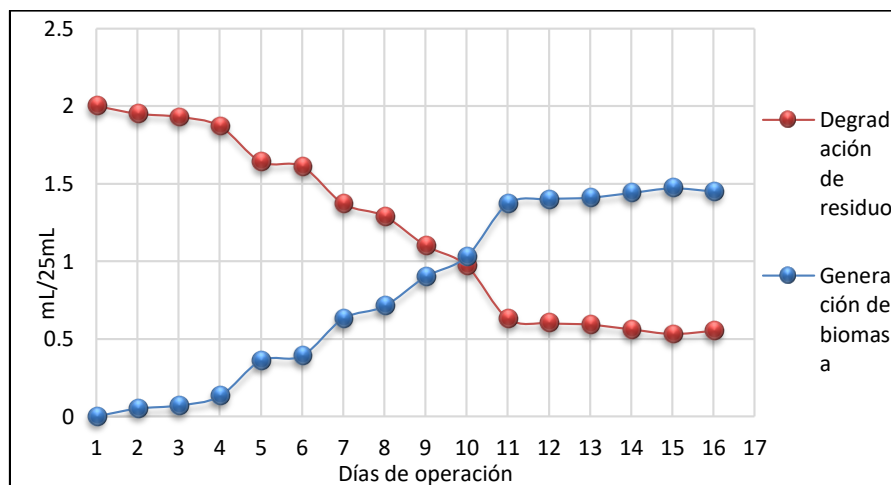
Mientras que para el mismo residuo utilizando a la especie *Spirulina máxima*, se tiene un grado de conversión del 54% (Figura 3.50), esto se ve reflejado en la baja generación de células de esta especie con lodo porcícola, pero comparando las cantidades de biomasa obtenida debido a la concentración característica de *Spirulina máxima*, se obtuvo una mayor cantidad de biomasa al final de las pruebas. Demostraciones con Cianobacterias en distintos efluentes han dado rendimientos relevantes como los obtenidos por Vijayakymor *et al.*, (2005) citado en Olarte (2016), en donde utilizando *Oscillatoria Aphanopsa* en aguas residuales, percibieron una eliminación del 100 % de los fosfatos presentes en el medio.



**Figura 3.50 Bioconversión de Lodo porcícola- Spirulina máxima.**

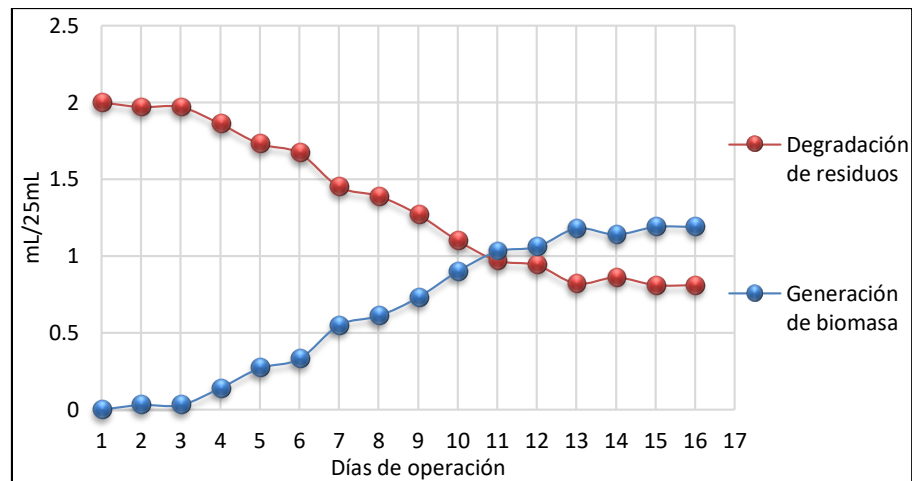
### **Pollinaza**

En el caso de la pollinaza se obtuvo un grado de conversión de 72% (Figura 3.51), debido a que este residuo presenta menor cantidad de sólidos y por ende facilitó a un porcentaje mayor de degradación en comparación al lodo porcícola. Travieso *et al.*, (1999) citado en Olarte (2016), emplearon cultivos de *C. vulgaris* SR/2 para el tratamiento de vinazas luego de haber realizado un pretratamiento anaeróbico, presentándose como resultado un excelente medio de cultivo para el crecimiento de las microalgas, y una remoción de nitrógeno y fósforo (> 85%) .



**Figura 3.51 Bioconversión de Pollinaza- Chlorella spp.**

Para la pollinaza con *Spirulina máxima* se obtuvo un porcentaje del 60% de bioconversión, menor al obtenido con la especie *Chlorella spp.* En la Figura 3.52 se muestra el monitoreo de la biconversión de la pollinaza con *Spirulina máxima*. (Sims y Christenson (2011) afirma que la composición del medio de cultivo y las condiciones de crecimiento de microalgas tienen un efecto importante en el rendimiento de biomasa y en el contenido de lípidos, por lo que ha surgido como una opción promisoriosa, debido a que presentan mayor eficiencia fotosintética, son más eficaces en la asimilación de CO<sub>2</sub> y otros nutrientes con respecto a las plantas, acumulan entre 20 y 80% de triglicéridos (Chisti, 2011).

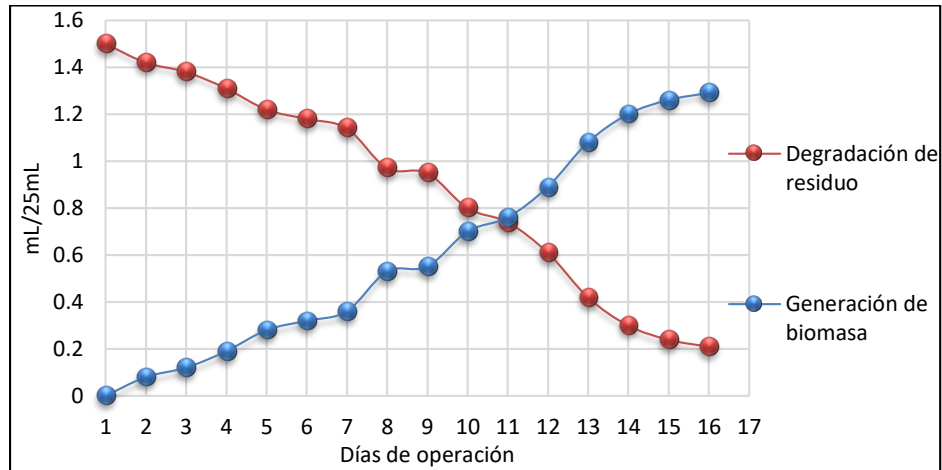


**Figura 3.52 Bioconversión de Pollinaza- *Spirulina máxima***

### **Melaza**

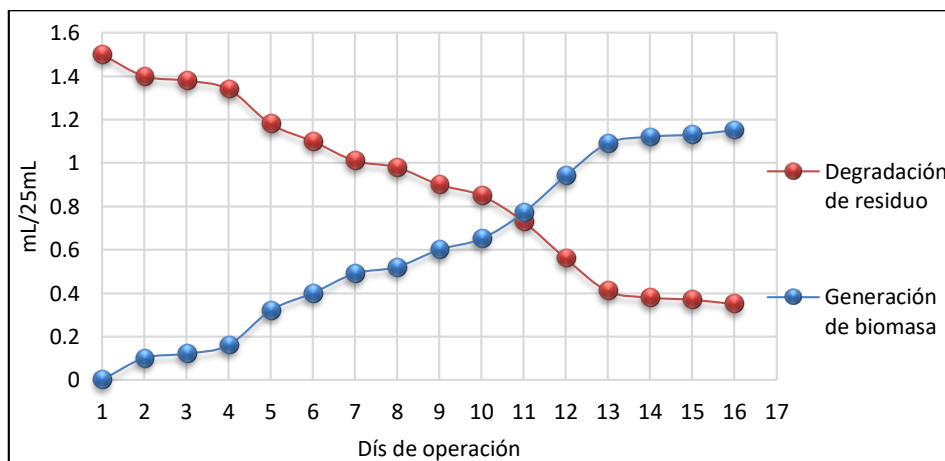
El grado de bioconversión en la melaza fue superior a los dos primeros residuos, alrededor del 86%, debido a que este residuo presenta menor cantidad de sólidos (estado físico: miel) aunque debido a la característica fisicoquímica de este residuo le fue imposible obtener elevados porcentajes de biomasa como en el caso del lodo porcícola. La Figura 3.53 muestra el monitoreo de este residuo con *Chlorella spp.* sin embargo, por su bajo contenido de nitrógeno en comparación al lodo porcícola y pollinaza, lo hace susceptible de aprovechamiento en la generación de biocombustibles, ya que se ha demostrado que la limitación de nitrógeno y fósforo,

incrementan el contenido lipídico en microalgas (Beer et al., 2009 citado en Scott et al., 2010).



**Figura 3.53 Bioconversión de Melaza- *Chlorella* spp.**

La Figura 3.54 muestra el monitoreo en lo que respecta a la melaza con *Spirulina máxima*, obteniendo un porcentaje del 76% de bioconversión. Yuan y Kumar (2011) alcanzaron altas densidades de *Spirulina platensis* (3,5-3,8 g/L) cultivada en un fotobiorreactor, concluyendo que el sistema muestra un buen potencial para tratar aguas residuales con altas concentraciones de nutrientes (412 mg nitrógeno/L y 90 mg fósforo/L)



**Figura 3.54 Bioconversión de Melaza- *Spirulina máxima***

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## CONCLUSIONES

La caracterización fisicoquímica de residuos determinó el grado de contaminación que presentó cada uno de estos. Además, permitió conocer el porcentaje de los principales nutrientes que contienen los residuos para el aprovechamiento de cultivo algal, los cuales son nitrógeno y carbono. Teniendo para lodo porcícola un valor de 76.81 % de sólidos totales volátiles, de igual manera se alcanzaron valores promedio de DQO de 49.86 g DQO/ L. Se observó que el lodo es rico en compuestos nitrogenados al obtener un alto contenido de nitrógeno total, alrededor de un 4.7%, seguido de la pollinaza con un 3.97%, en cuanto a la composición química de la pollinaza se obtuvieron un porcentaje de sólidos volátiles del 81.42 %. y 32.09 g DQO<sub>T</sub>/L, indicando una elevada cantidad de carga orgánica contenida en la pollinaza, su mayor fuente son las proteínas teniendo un promedio de 25.08%. En lo que respecta a la melaza se obtuvo un 4.55 g/L de carbohidratos, un 4.93% para proteínas y en el contenido de material orgánico se obtuvo un porcentaje del 78.72% para sólidos volátiles y 53.05 g DQO<sub>T</sub>/L, siendo este residuo el que mayores niveles de contaminación presenta.

El aumento de pH de los residuos con ayuda del pretratamiento alcalino, contribuyó al desdoblamiento de los enlaces péptidos presentes en los residuos y así el cultivo algal pudiera asimilar de manera rápida y sencilla las corrientes contaminadas de los residuos en estudio, además fungió como una fuente adicional de carbono el cual está relacionado con la generación de biomasa.

Se logró determinar la dosis recomendada de los residuos como fuente de nutrientes para el adecuado crecimiento de las especies *Chlorella spp.* y *Spirulina máxima*, la cual fue la dosis de 20%lodo- 80%agua y con un pretratamiento alcalino, con remociones del 67% de DQO, en cuanto a crecimiento celular comparado con la concentración celular reportado por Gonzalez (2015), el cual obtuvo un crecimiento del  $3.69 \times 10^7$  cel/mL de la especie *Chlorella spp.*, utilizando como medio de crecimiento el

medio basal Bold, los resultados en esta investigación son menores, teniendo un crecimiento celular de la misma especie y lodo porcícola (residuo al que mayor se adaptó la especie) del  $1.54 \times 10^7$  cel/mL en el día 11, debido a que los residuos presentan alta turbiedad por lo que dificulta al cultivo algal tomar la luz para llevar a cabo la fotosíntesis, por consiguiente el cultivo se somete en una etapa de stress llevando a cabo canibalismo entre célula y por otra parte cambiando la ruta de clorofilas a carotenoides debido a las características que presentaron los residuos. Por su parte para la especie *Spirulina máxima* con lodo porcícola, se obtuvo un crecimiento celular del  $7.23 \times 10^5$  Cel/mL y una remoción del 63% de DQO.

*Chlorella spp.* con pollinaza alcanzó un crecimiento celular del  $1.46 \times 10^7$  Cel/mL con una remoción del 62% de DQO, mientras que con *Spirulina máxima* y pollinaza se obtuvo un 59% de remoción de DQO y un crecimiento celular del  $6.48 \times 10^5$  Cel/mL. La melaza fue el residuo que presentó mayor dificultad de remoción de materia orgánica y esto se vio reflejado en la disminución de crecimiento celular; para la especie *Chlorella spp* con este residuo se obtuvo un porcentaje de remoción del 51% de DQO con un crecimiento celular de  $1.35 \times 10^7$  Cel/mL, en cuanto a la especie *Spirulina máxima* se obtuvo un crecimiento celular de  $6.23 \times 10^5$  Cel/mL y una remoción del 55% de DQP.

Es posible lograr con éxito el cultivo algal con residuos de alta carga orgánica, así como remover más del 50% de materia orgánica presente en estos residuos, además esto se puede aumentar si se le da un tratamiento a la coloración al residuo para que haya una mayor interacción entre luz- alga, además de concentrar los nutrientes que contienen estos residuos, ejemplo de ellos son los tratamientos térmicos, que provoquen la insolubilización de la fracción proteica, pero normalmente se combinan tratamientos de temperatura, con variaciones de pH y una etapa de separación que puede ser una centrifugación o una filtración. La recuperación proteica depende de las condiciones de pH, temperatura y concentración proteica.

Trabajos como los realizados por Loera – Quezada y Olguin (2010) demostraron que altos contenidos de nitrógeno en el medio favorece la producción de biomasa, por ello la máxima producción de biomasa entre los dos residuos se obtuvo en el lodo porcícola con un 3.46g/L de biomasa seca; esto se comprueba con el porcentaje de nitrógeno obtenido en la caracterización fisicoquímica de los residuos, además con la obtención del grado de bioconversión se demostró que las microalgas son capaces de regenerar materiales contaminados como es el caso del lodo porcícola, pollinaza y melaza, teniendo porcentajes arriba del 70% de bioconversión.

Los resultados demuestran que el cultivo de microalgas en corrientes con una alta carga de materia orgánica ofrece el tratamiento de las misma, así como la producción de biomasa microalgal, además de realizar cultivo por lotes para la obtención de biomasa, la cual es susceptible de aprovechamiento en sectores como la alimentación, medicina, agricultura, etc. por su gran valor nutricional. Dependiendo de la ruta metabólica que se le dé a la microalga.



## RECOMENDACIONES

- Estudiar a diferentes porcentajes de sólidos totales para observar el crecimiento de las microalgas así como el porcentaje de remoción de materia orgánica, ya que en este caso de estudio se decidió trabajar con un porcentaje promedio de sólidos totales como en el que se maneja en la digestión anaerobia, debido a que este residuo es materia prima para otros trabajos de investigación que se desarrollan en el mismo laboratorio donde se llevó a cabo la experimentación de este trabajo.
- Realizar un pretratamiento a los residuos en cuanto al color, debido a que, por sus colores característicos de cada uno de los residuos en estudio, dificultó el paso de la luz hacia las microalgas por lo que impidió que se llevara a cabo al 100% la fotosíntesis.
- Evaluar la influencia de una fuente de carbono ( $\text{CO}_2$ ) en el crecimiento celular de ambas especies
- Realizar un estudio detallado sobre el contenido fisicoquímico de la biomasa obtenida a partir de estos residuos y así poder determinar el uso (uso directo o indirecto hacia los humanos).
- Estudiar diferentes geometrías de fotobioreactores para eliminar zonas muertas del residuo y por consiguiente obtener una mejor homogenización de los nutrientes con las microalgas.
- Comparar diferentes especies de microalgas para evaluar el grado de bioconversión.
- Evaluar cultivos en modo semi-continuo para estudiar la rentabilidad de la generación de biomasa a largo plazo.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abdel N., Al-Homaidanb A. y Ibraheemb I. 2012. Microalgae and wastewater treatment. Saudi Journal of Biological Sciences **19**(3): 257–275.

Angulo E., Castellar G., Morales E. y Barrios M. 2012. Remoción de azul de metileno por la microalga *Chlorella sp. viva*. Prospect. **10**(1): 53-60.

Arias M., Martínez A., y Cañizares R. 2013. Producción de biodiesel a partir de microalgas: Parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos. Acta Biológica Colombiana. **18**(1): 43-68.

Caballero G. M. 2013. Desarrollo del proceso de bioconversión del CO<sub>2</sub> contenido en biogás a O<sub>2</sub> y biomasa a partir de microalgas. Tesis de grado. Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. I. T. de Orizaba.

Cañizares-Villanueva, R.O., Martínez-Roldán, A., Perales-Vela, H., Torzillo, G. 2013. Aplicaciones biotecnológicas de las microalgas y las cianobacterias: cultivo, bioproductos y bioenergéticos. CINVESTAV IPN. Manual de prácticas.

Castro L. y Parra J. 2011. Aprovechamiento de vinazas como medio de cultivo para la producción de *chlorella vulgaris* UTEX 1803 a escala laboratorio. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química. U. Industrial de Santander.

Chisti Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances. **25**: 294-306.

Cury R.K., Aguas M. Y., Martinez M. A., Olivero V. R., Chams Ch. L. 2017. Agroindustriales waste impact, management and exploitation. Revista Colombiana de Ciencia Animal. 9(Supl):122-132.

Dermirbas, A. 2011. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. *Applied Energy* 88 5341-3547.

Dorantes Efrain. 2014. Evaluación de la production de lípidos por *Neochloris oleoabundans* utilizando efluentes anaerobios de vinazas. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química. U. Veracruzana.

Fajardo E. y Sarmiento S. 2007. Evaluacion de melaza de caña como sustrato para la produccion de *Saccharomyces Cerevisiae*. Tesis de grado. Lic. Microbiólogo Industrial. Bogotá D.C.

FAO (Food and Agricultura Organization of the United Nations). 2012. Revisión del Desarrollo Avícola: Gestión de residuos de aves de corral en los países en desarrollo. Disponible en: [www.fao.org](http://www.fao.org)

FAO-FIRA (Food and Agricultura Organization of the United Nations- Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura) Evaluación de consistencia y resultados de los programas de apoyo financiero y tecnológico.

González F. K. (2015). Efecto de las condiciones ambientales en el contenido de pigmentos en la microalga *Chlorella spp.* Tesis de Grado en Maestria en Ciencias en Ingenieria Química. I.T. Orizaba.

Gersen S., Saygin D., Wicke B., Patel M. y Faaiji A. 2014. Competing uses of biomass: Assessment and comparison of the performance of bio-based heat, power, fuels and materials. *Revista de energías renovables y sostenible*. **40**: 964-998.

Gross M. 2012. Looking for alternative energy source. *Current Biology*. **22**(4): 103–106.

Hernández A. y Labbé J. 2014. Microalgas, cultivo y beneficios. Revista de Biología Marina y Oceanografía. **49**(2): 157-173.

Huerta B., Téllez D., Laguna T., 2008. Utilización de residuos agroindustriales. Revista Sistemas Ambientales. **2**(1): 44-50.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2017.

Infante C. y Angulo E., Zárate A., Florez J., Barrios F. y Zapata C. 2012. Propagación de la Microalga *chlorella sp.* en cultivo por lote: Cinética de crecimiento celular. Avances en Ciencias E Ingeniería. **3**(2):159-164.

INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias). 2007. Uso de pollinaza y gallinaza en la alimentación de rumientes. México.

Instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias (INIFAP). 2014. Las excretas porcinas como materia prima para procesos de reciclaje utilizados en actividades agropecuarias. México.

Loaiza N., Bermúdez J., Moronta R. y Morales E. 2007. Gallinaza: un residual avícola como fuente alternativa de nutrientes para la producción de biomasa microalgal. México. Rev. Colombiana de Biotecnología. **9**(1): 41-48.

Loera M. y Olgún E. 2010. Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades. Rev. Latinoamericana Biotecnología Ambiental Algal. 1(1):91-116.

Mariscal G. 2007. Tecnologías disponibles para reducir el potencial contaminante de las excretas de granjas porcícolas. Disponible en:  
[www.fao.org/wairdocs/LEAD/X6372S/x6372s08.htm](http://www.fao.org/wairdocs/LEAD/X6372S/x6372s08.htm)

NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos.

NMX-F-068-S-1980. Determinación de proteínas. Normas Mexicanas.

NMX-AA-036-SCFI-2001. Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la nmx-aa-036-1980)

Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental.- Lodos y biosolidos- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.

Olivieri G., Salatino P. y Marzochella A. 2013. Advances in photobioreactors for intensive microalgal production: configurations, operating strategies and applications. *J. Chem Technol Biotechnol.* **89**: 178-195.

Olguín, M., O. Maser y A. Velázquez. 2003. El potencial de captura de carbono en mercados emergentes. Las enseñanzas de San Juan. INE-Semarnat. México, D.F., México. pp. 489-511.

Plasencia, A. J. 2012. Cultivo de microalgas (*Chlorella sorokiniana*) con iluminación mediante LEDs. Tesis de licenciatura. Universidad Politécnica de Madrid. España.

Ramírez C., Alonso M. 2012. Valorización de Residuos Agroindustriales del Tequila para Alimentación de Rumiantes. *Revista Chapingo.* **18**(3): 449-457.

Ramírez L., Queiroz L. y Lopes E. 2013. Fotobiorreactor: Herramienta Para Cultivo De Cianobacterias. *Ciencia y Tecnología. UTEQ. Quevedo-Ecuador.* **6**(2): 9-19.

Rosales L., Bermúdez J., Moronta R. y Morales E. Olivieri G. 2007. Gallina: un residuo avícola como fuente alternativa de nutrientes para producción de biomasa microalgal. *Revista Colomb. Biotecnología,* 41-48.

Ruiz A. 2011. Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de agua residual urbana tratada anaeróbicamente. Tesis de Grado en Maestría en Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente. U. Politecnica de Valencia. Valencia, España.

SAGARPA. 2009. Situación actual y Perspectiva de la Producción de Carne de Porcino en México.

Santos A., González Y. y Sastre C. 2014. Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. Anales de mecánica y electricidad. 20-28.

Saval S. 2012. Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente y futuro. Rev. de Biotecnología. **16**(2):14-46.

Scott, S. A., Davey, M. P., Dennis, J. S. y Horst, I. 2010. Biodiesel from algae: challenges and prospects. Current Opinion in Biotechnology. 21(3): 277-286

Sims, R. y Christenson, L. 2011. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels and subproducts. Biotechnology Advances. 29(6): 686–702.

Slade R. y Bauen. A. 2013. Micro-algae cultivation for biofuels: Cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. Revista Rev. Biomasa y bioenergía. **53**: 29-38.

Tortora, G. J., Funke, B. R. y Case, C. L. 2007. Introducción a la microbiología. Editorial Médica Panamericana. Argentina.

Ullah K., Ahmad M., Sharma V., Lu P., Harvey A., Zafar M., Sultana S. y Anyanwu C. 2014. Algal biomasses a global source of transport fuels: Overview. Rev. Progress in Natural Science: Materials International. **24**(3): 329-339.

UNA (Unión Nacional de Avicultores). 2011. Pollinaza: recurso nutricional y amenaza sanitaria. México. Disponible en: [una.org.mx](http://una.org.mx)

Wang S., Stiles A. y Liu C. 2014. Microalgae Cultivation in Photobioreactors: An Overview of Light Characteristics. Rev. Biomasa y bioenergía **14**: 550-559.

Wang, L., Min, M. 2009. Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. Applied Biochemical Biotechnology.

Wang L., Y Li, P Chen, M Min, Y Chen, J Zhu & RR Ruan. 2010. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. Bioresource Technology 101: 2623-2628.

Yang C., Hua Q., Shimizu K. 2000. Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light-autotrophic/dark-heterotrophic conditions. Biochem. Engin. J. 6: 87-102.

Yen C., Ling K., Aisyah R., Jong D., Shu J. 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. Bioresource Technology. **102**(1): 71-81.

Yuan, X., Kumar, A. 2011. Impact of ammonia concentration on *Spirulina platensis* growth in an airlift photobioreactor. Bioresource Technology 102, 3234-3239.

Zhang Y., Ma N., Zhou Y., Fu T., Meng J., Zhou W. 2014. Journal of Sustainable Development.