

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

“REMOCIÓN DE FÓSFORO CONTENIDO EN
RESIDUOS PORCÍCOLAS DIGERIDOS VÍA ANAEROBIA
EN FOTOBIORREACTORES CON MICROALGAS
(*DUNALIELLA SP* Y *SPIRULINA MÁXIMA*)”.

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS EN
INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:

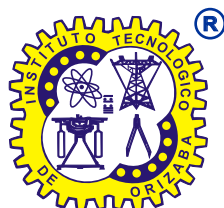
I. Q. Karina Marlene Morales Chávez

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

CODIRECTOR DE TESIS:

M. C. María Elena García Reyes





FECHA: 07/05/2018
DEPENDENCIA: POSGRADO
ASUNTO: Autorización de Impresión
OPCIÓN: I

C. KARINA MARLENE MORALES CHAVEZ
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:
CIENCIAS 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:

"REMOCION DE FOSFORO CONTENIDO EN RESIDUOS PORCICOLAS DIGERIDOS VIA ANAEROBIA EN FOTOBIOREACTORES CON MICROALGAS (DUNALIELLA SP Y SPIRULINA MAXIMA)".

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



FECHA : 25/04/2018

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. :

KARINA MARLENE MORALES CHAVEZ

la cual lleva el título de:

"REMOCION DE FOSFORO CONTENIDO EN RESIDUOS PORCICOLAS DIGERIDOS VIA ANAEROBIA EN FOTOBIOREACTORES CON MICROALGAS (DUNALIELLA SP Y SPIRULINA MAXIMA) ".

Y concluyen que se acepta.

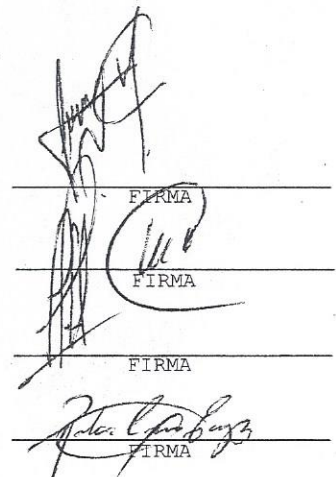
A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : DR. JUAN MANUEL MENDEZ CONTRERAS

SECRETARIO : M.C. MARIA ELENA GARCIA REYES

VOCAL : DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN

VOCAL SUP. : DRA. ROSALIA CERECERO ENRIQUEZ



FIRMA
FIRMA
FIRMA
FIRMA

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

OPCION: I Tesis

DEDICATORIAS

A Dios por darme sabiduría y fortaleza para ir superando cada etapa de mi vida.

A mi madre, Sra. Angélica Chávez por su amor incondicional, apoyo y esfuerzo para convertirme en la persona que soy y no dejarme caer a lo largo de mi vida. ¡Te amo!

Familia Rosario Aguilera por su apoyo y consejos, en especial a Ángel Rosario por estar conmigo siempre, motivarme y cumplir con las metas que tenemos juntos.

A mis amigas Diana y Laura por su apoyo en cada momento a lo largo de esta etapa y Liliana por sus consejos y enseñanzas, las quiero.

A mis amigos Luis Pablo, Kelvyn, Emmanuel, Gerardo, Juan, Alfredo, Paul y Víctor por los días divertidos, bonitas anécdotas y apoyarnos durante este periodo.

A todas las personas que me ayudaron con la realización de esta investigación en el laboratorio por su tiempo brindado y dedicación.

RECONOCIMIENTOS

Dr. Juan Manuel Méndez Contreras por aceptarme e integrarme a su gran equipo de trabajo, su confianza, asesoría y conocimientos compartidos a lo largo de esta investigación y formación académica.

M.C. María Elena García Reyes por brindarme su confianza, apoyo y disposición para la culminación de la maestría, reconozco su calidad humana y ética profesional.

Dr. Alejandro Alvarado Lassman por sus aportaciones, observaciones y conocimientos compartidos tanto en clase y en la presente investigación.

Dra. Rosalía Cerecero Enríquez agradezco su amable atención, observaciones y críticas constructivas en mi etapa de preparación y culminación profesional.

A cada uno de mis profesores investigadores de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Química por sus grandes enseñanzas, compartir conocimientos y prepararme para ser una profesionista exitosa.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada con número de registro 738700 en el periodo Enero 2016 a Diciembre 2017.

RESUMEN

Elaborado por: I.Q. Karina Marlene Morales Chávez

Dirigido por: Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

Co-Asesor: M.C. María Elena García Reyes

En los últimos años, se han implementado tecnologías de bajo costo para la reutilización de materia orgánica y deshecho de origen animal lo que genera un valor agregado al obtener un biosólido amigable al medio ambiente.

Para la remoción de contaminantes contenidos en residuos porcícolas existen tecnologías de bajo costo como lo son el reciclaje, los procesos anaerobios y cultivo de microalgas de forma intensiva. Estas tecnologías se han utilizado para el tratamiento de residuos de alta carga de sólidos en granjas porcinas.

La digestión anaerobia es utilizada para disminuir la materia orgánica, que a su vez permite obtener biogás como fuente de energía renovable. La excreta animal se ha asociado con la contaminación de los ecosistemas acuáticos, debido a los nutrientes, sedimentos, compuestos que demandan oxígeno y patógenos. Los nutrientes, en particular el fósforo, están relacionados con el deterioro de la calidad del agua al desencadenar la eutrofización de arroyos y lagos. En la presente investigación se cuantificó el porcentaje de remoción de fósforo mediante la operación de fotobiorreactores con residuo porcícola a diferentes proporciones de alimentación y en presencia de las microalgas *Spirulina Máxima* y *Dunaliella sp.* Se monitorearon cinéticas de crecimiento, en periodos de operación de 21 días con agitación por burbujeo e iluminación con fotoperiodos de 12 h luz-obscuridad. Al mismo tiempo se llevó a cabo la evaluación de otros parámetros como biomasa, conteo celular, pH y DQO que ayudaron al seguimiento para la remoción de fósforo.

ABSTRACT

Elaborado por: I.Q. Karina Marlene Morales Chávez

Dirigido por: Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

Co-Asesor: M.C. María Elena García Reyes

In recent years, low-cost technologies have been implemented for the reuse of organic matter and animal waste, which generates an added value to obtain an environmentally friendly biosolid.

For the removal of contaminants contained in pig residues there are low cost technologies such as recycling, anaerobic processes and microalgae cultivation intensively. These technologies have been used for the treatment of high load pollutants in pig farms.

Anaerobic digestion is used to reduce organic matter, which in turn allows biogas to be obtained as a source of renewable energy. Animal excreta has been associated with the contamination of aquatic ecosystems, due to nutrients, sediments, compounds that demand oxygen and pathogens. Nutrients, in particular, phosphorus, are related to the deterioration of water quality by triggering the eutrophication of streams and lakes. In the present work, the percentage of phosphorus elimination was quantified by the operation of photobioreactors with water concentration by different feeding proportions and in the presence of the microalgae *Spirulina Máxima* and *Dunaliella* sp. Growth kinetics were monitored, the operation period was 21 days with agitation and illumination in photoperiods of 12 hours of dark light, during this period the evaluation of other parameters such as biomass, cell density, pH and COD was carried out which helped the monitoring for the removal of phosphorus.

Índice

Índice	iii
Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Nomenclatura	vii
Introducción	vii
CAPÍTULO 1 Fundamentos teóricos.....	2
1.1 Residuos Porcícolas.....	2
1.1.1 Tecnificación de granjas	3
1.1.2 Características de las excretas porcinas	4
1.1.3 Composición de la excreta sólida	5
1.1.4 Contaminación ambiental ocasionada por excretas porcina.....	6
1.2 Fósforo	7
1.2.1 Fósforo como nutriente.....	7
1.2.2 Fósforo como contaminante	7
1.3 Digestión anaerobia	8
1.3.1 Pretratamientos	9
1.3.2 Producción de biogás mediante la digestión anaerobia.....	9
1.4 Microalgas.....	10
1.4.1 Fotobiorreactores para el cultivo masivo de microalgas	12
1.5 Condiciones ambientales en el cultivo de microalgas	13
1.5.1 Luz.....	13
1.5.2 Temperatura	13
1.5.3 Agitación.....	14
1.5.4 pH.....	15
1.5.5 Macronutrientes, micronutrientes y vitaminas.....	16

1.5.6	Microbiología predictiva	17
1.5.7	Metabolismo microbiano	17
1.5.8	Crecimiento microbiano	18
1.6	<i>Spirulina Máxima</i>	19
1.7	<i>Dunaliella Sp</i>	21
1.8	Antecedentes	22
CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS		27
2.1	Metodología experimental	27
2.2	Obtención del residuo porcícola	28
2.3	Caracterización Fisicoquímica	28
2.3.1	Determinación de pH	29
2.3.2	Determinación de sólidos totales	29
2.3.3	Determinación de sólidos volátiles.....	30
2.3.4	Determinación de nitrógeno amoniacal	31
2.3.5	Determinación de nitrógeno total	31
2.3.6	Determinación de fósforo.....	31
2.4	Digestión anaerobia del residuo en condiciones mesofílicas	32
2.5	Propagación de las especies <i>Spirulina Maxima</i> y <i>Dunaiella sp</i> en fotobiorreactores con nutrientes sintéticos.....	32
2.5.1	Medio de cultivo de <i>Spirulina Máxima</i>	32
2.5.2	Medio de cultivo de <i>Dunaliella sp</i>	33
2.5.3	Condiciones de operación de las especies.....	33
2.5.4	Diferentes pruebas adaptadas a las condiciones de operación en la propagación de las especies	34
2.5.5	Biomasa en peso húmedo	34
2.5.6	Determinación de DQO _T	35
2.5.7	Conteo celular.....	35

2.5.8	ST, SV, pH y nitrógeno.....	36
2.6	Diseño Experimental.....	36
2.7	Pruebas de consumo de fósforo con microalgas.....	37
2.8	Caracterización del residuo tratado y evaluación de la calidad.....	38
CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		40
3.1	Obtención del residuo porcícola.....	40
3.2	Etapa preliminar: Caracterización fisicoquímica.....	40
3.3	Etapa 1: Digestión anaerobia del residuo porcícola en condiciones mesofílicas.....	41
3.3.1	Remoción de materia orgánica en base a sólidos totales.....	41
3.3.2	Monitoreo de pH.....	42
3.3.3	Producción de biogás.....	43
3.4	Etapa 2: Propagación de las especies <i>Spirulina Máxima</i> y <i>Dunaliella sp.</i> en fotobiorreactores con nutrientes sintéticos.....	44
3.4.1	Adaptación y caracterización de las especies <i>Spirulina Máxima</i> y <i>Dunaliella sp</i>	44
3.4.2	Condiciones de operación de las especies <i>Spirulina Máxima</i> y <i>Dunaliella sp</i>	46
3.4.3	Diferentes pruebas adaptadas a las condiciones de operación en la propagación de las especies.....	47
3.5	Etapa 3: Pruebas de consumo de fósforo con algas.....	56
3.6	Etapa 4: Caracterización del residuo tratado y evaluación de la calidad.....	60
Referencias bibliográficas.....		69

Índice de tablas

Tabla 1.1	Composición nutritiva de excretas porcinas.....	5
Tabla 1.2	Clasificación científica del género <i>Spirulina Máxima</i>	20
Tabla 1.3	Clasificación científica del género <i>Dunaliella sp</i>	21
Tabla 2.1	Determinaciones empleadas para la caracterización fisicoquímica.....	29

Tabla 2.2 Cargas Orgánicas Aplicadas	32
Tabla 2.3 Concentraciones para la propagación de las especies	34
Tabla 2.4 Condiciones de operación en el diseño 3x2	37
Tabla 2.5 Condiciones de operación en el diseño unifactorial	37
Tabla 3.1 Caracterización Fisicoquímica.....	40
Tabla 3.2 Caracterización fisicoquímica de <i>Spirulina Máxima</i>	45
Tabla 3.3 Caracterización fisicoquímica de <i>Dunaliella sp</i>	45
Tabla 3.4 Proporciones de alimentación de <i>Spirulina Máxima</i> y <i>Dunaliella sp</i>	47

Índice de figuras

Figura 1.1 Granja tecnificada	3
Figura 1.2 Granja semitecnificada.....	3
Figura 1.3 Granja no tecnificada o traspatio.....	4
Figura 1.4 Proceso de extracción de energía de biomasa animal.....	10
Figura 1.5 Ilustración de la trayectoria de la luz y de los ciclos luz/oscuridad	13
Figura 1.6 Temperatura óptima de cultivo	14
Figura 1.7 Dependencia del pH de las especies químicas del sistema carbonato ...	16
Figura 1.8 Clasificación nutricional de los organismos en función de su fuente de energía y fuente de carbono.....	18
Figura 1.9 Curva representativa de crecimiento de un cultivo de microalgas en un volumen limitado	19
Figura 1.10 <i>Spirulina Máxima</i>	19
Figura 1.11 <i>Dunaliella Sp</i>	21
Figura 2.1 Esquema de bloques de la metodología	27
Figura 2.2 Preparación y almacenamiento de la muestra	28
Figura 2.3 Estufa, mufla y balanza analítica utilizados.....	31
Figura 2.4 Pipeta automática, placa digestora y espectrofotómetro utilizados	35
Figura 2.5 Detalle de la rejilla de una cámara de Neubauer	36
Figura 3.1 Remoción de COA 1. 5 y 10.....	42

Figura 3.2 pH de las COA 1, 5 y 10 en el periodo de operación	43
Figura 3.3 Producción de biogás de las COA 1, 5 y 10.....	44
Figura 3.4 Propagación de las microalgas y residuo porcícola en fotobiorreactores. 46	
Figura 3.5 Biomasa Total en la corrida de <i>Spirulina Máxima</i>	48
Figura 3.6 Biomasa total de <i>Dunaliella sp</i>	48
Figura 3.7 a) Comportamiento de pH en corrida sin tratamiento y b) comportamiento de pH en corrida con tratamiento en <i>Spirulina Máxima</i>	49
Figura 3.8 Comportamiento de pH con <i>Dunaliella sp</i>	50
Figura 3.9 Incremento celular a) corrida sin tratamiento y b) corrida con tratamiento en <i>Spirulina Máxima</i>	51
Figura 3.10 Incremento celular con <i>Dunaliella sp</i>	52
Figura 3.11 Disminución de DQO a) corrida sin tratamiento y b) corrida con tratamiento con <i>Spirulina Máxima</i>	53
Figura 3.12 Disminución de concentración de DQO con <i>Dunaliella sp</i>	54
Figura 3.13 % Remoción en base a STV a) corrida sin tratamiento y b) corrida con tratamiento con <i>Spirulina Máxima</i>	55
Figura 3.14 % Remoción en base a STV con <i>Dunaliella sp</i>	56
Figura 3.15 Pruebas de consumo de fósforo a) sin tratamiento y b) con tratamiento en <i>Spirulina Máxima</i>	57
Figura 3.16 ANOVA de cinéticas con <i>Spirulina Máxima</i>	57
Figura 3.17 Gráficas de los tratamientos en NCSS con <i>Spirulina Máxima</i>	58
Figura 3.18 Pruebas de consumo de fósforo con <i>Dunaliella sp</i>	59
Figura 3.19 ANOVA de cinéticas con <i>Dunaliella sp</i>	59
Figura 3.20 Gráficas en NCSS con <i>Dunaliella sp</i>	60

Nomenclatura

ST	Sólidos totales
SV	Sólidos volátiles
COA	Carga orgánica aplicada
LMP	Límite máximo permisible

Introducción

La producción de ganado porcino se lleva a cabo en todo México, concentrándose en los estados de Jalisco, Michoacán, Guanajuato, Sonora y Yucatán, mientras que en el estado de Veracruz se encuentra dentro de los diez estados con mayor producción porcícola (INEGI, 2016). Las excretas porcinas (heces + orina + agua) presentan una concentración alta de sólidos, materia orgánica, nitrógeno y fósforo, bajo ciertas condiciones de tratamiento anaerobio generan Gases de Efecto Invernadero (GEI) como son: metano (CH_4), bióxido de carbono (CO_2), óxido nitroso (N_2O). Los efluentes generados en granjas porcinas varían de acuerdo al grado de tecnificación de la granja y la etapa productiva. (Escalante-Estrada *et al.*, 2012)

Otro importante desafío mundial es la seguridad del suministro energético, ya que la mayor parte las reservas convencionales de petróleo y gas se concentran en regiones políticamente inestables. En este contexto, el biogás de residuos y energía de cultivos tendrán un papel vital en el futuro. El biogás es una fuente de energía renovable, que puede utilizarse para la producción de energía y calor y ser utilizado también como combustible de vehículo gaseoso.

La producción de biogás a través de la digestión anaerobia ofrece ventajas significativas sobre otras formas de producción de bioenergía. Ha sido evaluada como una de las tecnologías energéticas más eficientes y ambientalmente benéficas. Puede reducir drásticamente las emisiones de GEI en comparación con los combustibles fósiles mediante la utilización de los recursos disponibles localmente (Weiland, 2010).

La creciente eutrofización de los recursos hídricos y el consecuente deterioro de la calidad de los manantiales ha exigido el compromiso de todos los actores envueltos. De éstos, el fósforo es considerado como el nutriente de mayor importancia en los fenómenos de eutrofización y ha sido el foco de atención para mejorar la calidad de los cuerpos de agua, por ser considerado factor limitante en el crecimiento de las algas (Soares-Chao *et al.*, 2011).

La presente investigación tiene como objetivo aprovechar las propiedades de la excreta porcina a partir de su caracterización nutritiva, con el fin de suministrar nutrientes en el cultivo de las microalgas: *Dunaliella sp.* y *Spirulina Máxima* para la remoción de fósforo en fotobiorreactores y previamente digeridos mediante la digestión anaerobia.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 Fundamentos teóricos

1.1 Residuos Porcícolas

La producción de ganado porcino se lleva a cabo en todo México, concentrándose en los estados de Jalisco, Michoacán, Guanajuato, Sonora y Yucatán, mientras que el estado de Veracruz se encuentra dentro de los diez estados con mayor producción Nacional. La industria porcícola se lleva a cabo en granjas tecnificadas, semitecnificadas, y no tecnificadas también llamada esta última de traspatio y/o familiar. Esta clasificación refleja diferentes formas de manejo de los procesos productivos (automatización) y del uso del agua (nivel de dilución). Por lo que la concentración de efluentes es diferente, siendo más alta cuando más tecnificada se encuentre, aunado a esto, la concentración depende de la edad del animal o madurez fisiológica, cantidad y calidad del alimento consumido del clima, entre otros (Escalante-Estrada y Garzón-Zuñiga, 2011).

Los residuos sólidos y líquidos generados en la producción porcina ocasionan un impacto al ambiente, además del potencial de infección que pudieran causar estos desechos. Los efluentes de la industria porcícola presentan una concentración alta de sólidos, materia orgánica, nitrógeno y fósforo, que sin tratamiento y bajo ciertas condiciones generan Gases de Efecto Invernadero (GEI) como son: metano (CH₄), bióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O) principalmente (Escalante-Estrada *et al.*, 2012).

Los principales contaminantes de las excretas porcinas pueden dividirse a su vez en: físicos como materia orgánica y sólidos en suspensión; químicos como el nitrógeno, fósforo, potasio excretados y gases el cual es ocasionado por una gran cantidad de compuestos orgánicos volátiles (FAO, 2007).

Aunque existe presión por parte de las autoridades e interés de los porcicultores para reducir las descargas de residuales, el manejo de las excretas, como un paso importante para lograr lo anterior, solo lo realizan el 45 % de los porcicultores. Además

los análisis de aguas residuales realizados por los mismos poricultores muestran que la mayoría de los parámetros evaluados exceden los LMP de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996.

1.1.1 Tecnificación de granjas

La tecnificación de las granjas porcinas se ha desarrollado en tres estratos productivos: tecnificado, semi–tecnificado y de traspatio. El tecnificado (Figura 1.1) ha cobrado relevancia al incrementar paulatinamente su participación en el volumen total de la producción de carne de cerdo, que su aportación fue de 50 %. El semitecnificado (Figura 1.2) ha decrecido ante las presiones económicas y la falta de competitividad, de ahí que solamente aportó alrededor de 20 % de la producción nacional. Traspatio o familiar (Figura 1.3) se ha mantenido debido a su concurrencia a mercados locales y al autoconsumo, que difícilmente son cubiertos por alguno de los estratos anteriores. Este último contribuye con 30 % de la producción nacional.



Figura 1.1 Granja tecnificada



Figura 1.2 Granja semitecnificada



Figura 1.3 Granja no tecnificada o traspatio

1.1.2 Características de las excretas porcinas

Las aguas residuales porcinas están formada por heces fecales y orina, mezcladas con el material utilizado como cama, residuos de alimento, polvo, otras partículas y una cantidad variable de agua proveniente de las labores de limpieza y pérdidas desde los bebederos.

La orina representa aproximadamente 45 % de la excreta y heces el 55 %. El contenido de humedad de la excreta es alrededor del 88% y el contenido de materia seca es del 12 %. Cerca del 90 % de los sólidos se excretan en las heces; la orina contiene 10 % de los sólidos (Escalante-Estrada, et al., 2012).

La densidad de la excreta fresca es levemente menor de 1.0 (aunque son comunes las referencias de valores ligeramente superiores). El total de los sólidos tiene una densidad baja, de 0.84 kg/L. La excretas porcinas contienen sólidos que flotan, los que sedimentan, además de sólidos en suspensión (Arias-Martinez *et al.*, 2010).

Típicamente se pueden encontrar cantidades variables de los diferentes nutrientes; sin embargo, existen, constantes que dan ciertas cualidades deseables al estiércol porcino. Las fracciones más importantes que se pueden encontrar en los reportes son el Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) y la Proteína Cruda (PC) debido a su posibilidad de rehúso como nutrientes para el ganado y el suelo; también es importante la Fibra

Cruda (FC) como nutrimento animal o mejorador de suelo. En la Tabla 1.1 se muestra la composición nutricional de la excreta porcina.

Tabla 1.1 Composición nutritiva de excretas porcinas

Concepto	%
Materia Seca	26.43
Proteína Cruda	15.87
Extracto Etéreo	4.69
Fibra Cruda	17.52
Cenizas	12.05
Extracto Libre de Nitrógeno	49.87
Calcio	0.61
Fósforo	1.36
Nutrientes digestibles totales	71.20
Pared Celular	44.00

1.1.3 Composición de la excreta sólida

De acuerdo a la forma, las excretas sólidas son las más abundantes, el sistema de extracción influye en la consistencia de éstas, y es que, el modo recomendable para conservar esta forma de las excretas con la mayor cantidad de nutrientes, es el barrido o paleado manual y acarreo mecánico. Siendo importante determinar o analizar las características nutritivas de las excretas.

Independientemente del nivel de tecnificación de una granja, los cerdos no utilizan el 100 % de los nutrimentos consumidos, en proporción se excreta 45 al 60 % de Nitrógeno, 50 a 80 % de calcio y fósforo, y 70 a 95 % del potasio, sodio, cobre, zinc, hierro y magnesio; que sin ningún tratamiento son considerados un problema ambiental y sanitario para los mismos animales y humanos, dado su potencial contaminante. Pero también se considera al residuo una fuente potencial de nutrientes

para implementar estrategias de reutilización y reducir el impacto de estos nutrientes sobre la contaminación de los cuerpos receptores.

Los elementos principales a considerar en las excretas sólidas frescas, como lo es el Nitrógeno (N) y Fósforo (P). Desde que el animal ingiere alimento, hasta como es excretado.

El fósforo en el animal actúa en el sistema óseo, siendo parte esencial en moléculas, ácidos nucleicos, fosfoproteínas, coenzimas y ligadura de gran contenido energético, los cerdos solo pueden digerir de forma natural un tercio del fósforo contenido; el resto lo excretan en las heces, esto contribuye de forma significativa al aumento de la carga contaminante de las deyecciones porcinas (Domínguez-Araujo *et al.*, 2014).

1.1.4 Contaminación ambiental ocasionada por excretas porcina

La contaminación generada por una granja porcina afecta al microambiente (la granja misma) y al ambiente en general. En lo que respecta al microambiente, se ha visto que la exposición a los gases producidos (amoníaco, sulfuro de hidrógeno, metano y bióxido de carbono) representa riesgos directos a la salud de los trabajadores y de la explotación de cerdos. Esto es debido a que el amoníaco es irritante por lo que tiende a producir malestar en los cerdos.

Así mismo, la producción de bióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄) contribuye al efecto invernadero mundial, aunque en mucha menor escala que el CO₂ y CH₄ producidos por rumiantes. Sin embargo, el principal problema ocasionado por las excretas es la contaminación química debida a la excreción de grandes cantidades de nitrógeno (en forma de nitratos), fósforo y potasio, el fósforo consumido es excretado en proporciones variables. Una cerda excreta alrededor 75 %, los lechones destetados 38 % y los cerdos de abasto 63 %, la vía de excreción del fósforo es principalmente fecal; en lo referente al nitrógeno la proporción excretada para las mismas categorías de animales fue de 76, 46 y 67 % respectivamente y este es excretado principalmente vía urinaria (FAO, 2007).

1.2 Fósforo

El fósforo es un mineral esencial en el desarrollo y mantenimiento de las estructuras óseas, es un componente de Adenosina Trifosfato (ATP) y forma parte de los fosfolípidos que integran la membrana celular. Por lo tanto es un componente esencial en la dieta de los animales. Este nutriente juega un papel destacado en las transformaciones metabólicas de la energía en las células. Puesto que la eficacia de uso del P de la dieta (incluyendo digestión, absorción y metabolismo) es incompleta, la determinación de la proporción realmente utilizada es muy importante. Debido que el uso ineficiente del P de los alimentos vegetales ha sido relacionado con problemas de contaminación ambiental a través del estiércol, especialmente en las zonas de producción más intensiva (Manríquez-Vergara, 2010).

1.2.1 Fósforo como nutriente

Por otro lado, los cerdos producen enzimas en sus intestinos para mineralizar fósforo orgánico; como tal, el estiércol porcino es predominantemente ortofosfato (Liang *et al.*, 2017). Todo nutriente que es ingerido, una parte de dicha ingesta es excretada. Esto puede representar un problema a la hora de repartir el estiércol producido en las granjas, estando limitada la cantidad a la capacidad de absorción de las plantas. Las materias primas de origen vegetal tienen alrededor de dos tercios del contenido de fósforo en forma de fitatos, cuya disponibilidad para monogástricos es prácticamente nula.

1.2.2 Fósforo como contaminante

La excreta animal ha sido reciclada a través de la producción de cultivos de campo para la reutilización benéfica de los nutrientes transmitidos por la excreta, además del valioso carbono orgánico. Sin embargo, los campos con estiércol se han asociado con la contaminación de los ecosistemas acuáticos por fuentes no puntuales, principalmente debido a los nutrientes, sedimentos, compuestos que demandan oxígeno y patógenos. Los nutrientes, en particular el fósforo, están relacionados con el deterioro de la calidad del agua al desencadenar la eutrofización de arroyos, lagos

y estuarios (Blaustein *et al.*, 2017), produciéndose un crecimiento acelerado de algas y vegetales subacuáticos, que agotan el oxígeno del agua, provocando la desaparición de las especies piscícolas.

1.3 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia ha sido reconocida como una práctica prometedora para la estabilización de la excreta animal debido a su potencial para la producción de bioenergía a través de la descomposición de materia orgánica, la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero y la desactivación de patógenos (Wenli *et al.*, 2016).

La digestión anaerobia es una tecnología utilizada para la disminución de la materia orgánica en aguas residuales debido a su bajo costo de instalación, mínima producción de lodos residuales y obtención de biogás como fuente de energía renovable; la cual puede ser usada para obtener electricidad y calor. La degradación del sustrato hasta metano depende en gran medida de la actividad metanogénica del inóculo utilizado. Se ha descrito la aplicación de lodos de plantas depuradoras de aguas residuales, sistema de tratamiento anaerobio de residuos porcinos, sedimentos marinos y otros, en el sistema de aguas residuales alcanzándose una buena remoción de materia orgánica (Fernández *et al.*, 2010).

La digestión anaerobia es un proceso complejo desde el punto de vista microbiológico; al estar enmarcado en el ciclo anaerobio del carbono, es posible en ausencia de oxígeno al transformar la sustancia orgánica en biomasa y compuestos inorgánicos en su mayoría volátiles. Naturalmente ocurre en el tracto digestivo de animales y debajo de aguas estancadas o pantanos, pero también puede realizarse herméticamente en depósitos llamados digestores. Estos se utilizan cuando se requiere captar todos los productos obtenidos de la descomposición anaerobia (gases y sólidos), ya que al haber en su interior un ambiente oscuro y sin aire favorece al medio óptimo para el cultivo intensivo de bacterias anaerobias (Ramon *et al.*, 2012).

1.3.1 Pretratamientos

Se han estudiado diversos métodos de desintegración de lodos como un pretratamiento: estos métodos destruyen paredes de las células que resulta en una lisis o la desintegración de las células de lodos. Las partículas se convierten de bajo peso molecular, compuestos fácilmente biodegradables, evitando así la etapa de hidrólisis limitante de la velocidad. Posibles pretratamiento incluyen la acción biológica mecánica, térmica y química (Appels *et al.*, 2008).

1.3.1.1 Pretratamiento alcalino

El pretratamiento alcalino se refiere a la aplicación de soluciones alcalinas para remover la lignina y varias sustituciones de ácidos urónicos que reducen la accesibilidad de la enzima a la celulosa (Niño-López *et al.*, 2013).

1.3.2 Producción de biogás mediante la digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso que involucra la transformación de la materia orgánica en biogás (60-70 % metano; 30-40 % dióxido de carbono). Durante este proceso participan varios grupos de microorganismos en un metabolismo coordinado en cuatro etapas: (1) la hidrólisis, donde la materia orgánica es fermentada, produciendo compuestos sencillos (monómeros); (2) la acidogénesis, que produce ácidos orgánicos; (3) la acetogénesis, caracterizada por la formación de acetatos, propionatos y butiratos, y finalmente, (4) es la metanogénesis, donde microorganismos producen metano a través de la ruta acetotrófica e hidrogenotrófica. Durante estas etapas, las principales variables ambientales del proceso son temperatura, que debe ajustarse a un régimen mesofílico (25 a 40 °C) o termofílico (45 a 60 °C); el potencial redox, que debe ser negativo (-220 mV); y el pH, que debe estar entre 6.7 y 7.4 (González-Sánchez *et al.*, 2015).

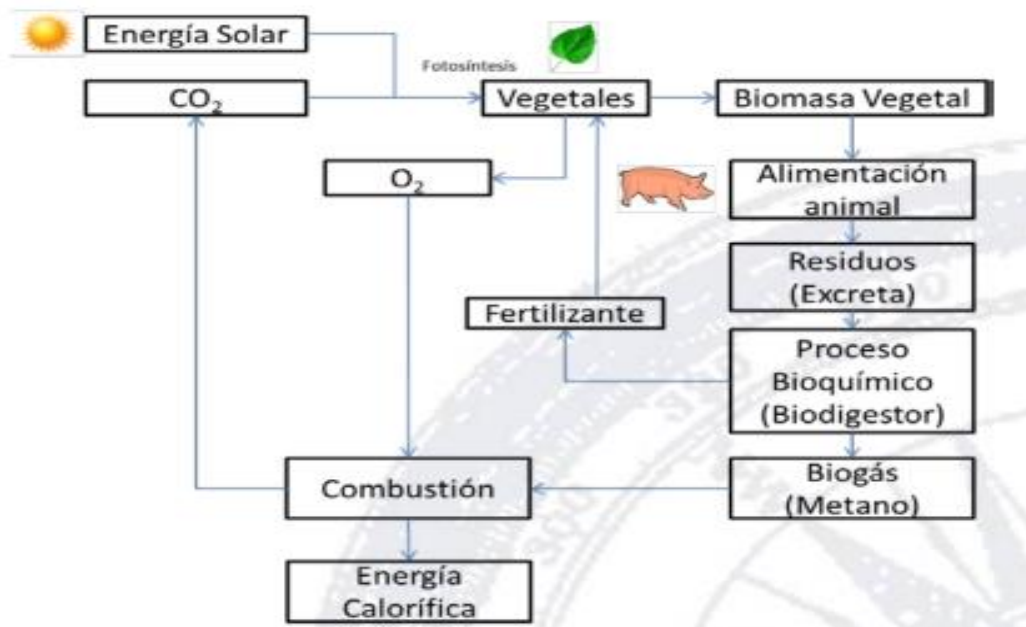


Figura 1.4 Proceso de extracción de energía de biomasa animal (Martínez, 2015)

En la Figura 1.4 se muestra el proceso de extracción de biomasa animal. El biogás es un tipo de energía de biomasa, que se obtiene producto de la digestión anaeróbica o fermentación de la materia orgánica (residuos animal y vegetal) y presentar diferentes usos energéticos, como calefacción, alumbrado o electricidad. Esta mezcla gaseosa o combustible, está compuesta por metano (55-70 %), anhídrido carbónico (30-45 %), elementos traza tales como, oxígeno (200 ppm – 1 %), nitrógeno (menor a 5 %), vapor de agua y sulfuro de hidrógeno (50 ppm – 3 %). La concentración de los distintos gases en el biogás dependerá de la composición de las materias primas, las condiciones de descomposición, tiempo de retención hidráulica en el biodigestor, entre otros (Varnero *et al.*, 2012).

1.4 Microalgas

Las microalgas son organismos unicelulares, eucariotas fotosintéticos que tienen la capacidad de transformar la energía luminosa en energía química. El crecimiento de estas especies radica en la utilización de luz como energía y CO₂ como fuente de carbono. Estas características les permiten tomar un rol importante ya que toman un

papel como productores primarios de la red trófica, capaces de generar biomasa orgánica a partir del CO₂ y la luz. Presentan altos niveles de producción y adaptabilidad a las diferentes condiciones ambientales, por lo que se pueden encontrar en cualquier medio acuático donde exista una fuente de carbono, nutriente, salinidad y luz suficiente. Además el uso de estas contribuye de manera significativa a la producción de biodiesel, además de subproductos a partir de biomasa. El crecimiento de este microorganismo se ve alterado por las condiciones del entorno, tales como temperatura, salinidad, luz, pH y nutrientes son factores que tienden a influenciar en ellas si no se encuentran en condiciones óptimas.

El fósforo favorece la eutrofización, se ha demostrado que la ausencia de este elemento es más importante que la del nitrógeno para limitar el crecimiento de las algas planctónicas, especialmente en algunos tipos (algas «azules-verdes»), capaces de fijar el nitrógeno atmosférico.

Las condiciones óptimas de temperatura, intensidad luminosa, salinidad, nutrientes y pH para el cultivo de microalgas, varían ampliamente de una especie a otra, estos parámetros fisicoquímicos, han sido determinados en laboratorio y ayudan a comprender las condiciones óptimas para el desarrollo de las diferentes especies en cultivo (Ramos, 2015).

Los principales sistemas de producción de microalgas son estáticos secuenciales y se utilizan como unidades de producción de recipientes de vidrio y plástico. Los fotobiorreactores son diseñados indistintamente en cualquiera de estos materiales y el crecimiento celular es similar en ambos tipos de recipientes. Las microalgas producen gran variedad de compuestos conocidos como metabolitos secundarios (Gomez *et al.*, 2016).

Actualmente a nivel comercial, los cultivos masivos de microalgas al exterior y los fotobiorreactores cobran mayor importancia para la producción de compuestos químicos de alta pureza, como: biocombustibles, biofertilizantes, intercambiadores

iónicos y carotenos; así mismo, para el tratamiento de aguas residuales, obtención de compuestos terapéuticos y como alimento de consumo humano y animal.

En los últimos años se han logrado avances importantes en la utilización de las microalgas para diversos fines como salud humana, cosmetología, purificación de aguas residuales, prevención de contaminación acuática, industria farmacéutica, acuicultura, producción de pigmentos y antibióticos, entre otros. Se han reportado aproximadamente 493 especies que podrían ser utilizadas como alternativas de alimentación para el hombre y otros animales. En países como Alemania, Perú, India, Japón y México, han registrado que algunas especies de microalgas son un excelente complemento alimenticio para el hombre (Medina *et al.*, 2012).

1.4.1 Fotobiorreactores para el cultivo masivo de microalgas

Los fotobiorreactores (FBRs) son dispositivos destinados al cultivo masivo de microalgas. Para ello, tienen que mantener un medio estable (temperatura, pH, baja concentración de O₂) y proporcionar los nutrientes necesarios para el crecimiento incluyendo la luz. Existen dos filosofías de diseño opuestas. Los reactores abiertos priman la economía aceptando un control pobre del entorno mientras que los FBR cerrados consiguen unas condiciones estrechamente controladas que permiten a las microalgas crecer a una velocidad óptima a cambio de un mayor coste.

1.4.1.1 Metodos de cosechas de microalgas

García-Cubero (2014) indican que las propiedades de las microalgas que influyen en su separación son: morfología (filamentosa o unicelular), tamaño, peso específico y carga superficial de la célula (habitualmente carga negativa). De acuerdo con Sing *et al.* (2011) citados por Valladares-Peñaherrera (2014) el método de cosecha a aplicar depende de las características de las microalgas (densidad de partícula, tamaño) y del valor de los productos que se quiere obtener. El líquido que se obtiene después de la cosecha todavía tiene nutrientes y este debe ser reciclado porque en plantas procesadoras grandes esto implicaría problemas considerables de eliminación.

1.5 Condiciones ambientales en el cultivo de microalgas

1.5.1 Luz

Para el cultivo de microorganismos fototróficos, la luz es un requerimiento esencial (Figura 1.5). El suministro de una luz adecuada, al mismo tiempo que se controla la temperatura, no es una tarea sencilla. Exponiendo los cultivos a la luz del día puede obtenerse una iluminación relativamente incontrolada y discontinua. Debe evitarse la exposición directa a la luz del sol, porque la intensidad puede ser demasiado elevada y la temperatura puede subir hasta un punto en donde el crecimiento se detiene. Muchos microorganismos fototróficos pueden tolerar una iluminación continua y su desarrollo es mucho más rápido bajo estas condiciones, por lo que las fuentes de luz artificial son más ventajosas.

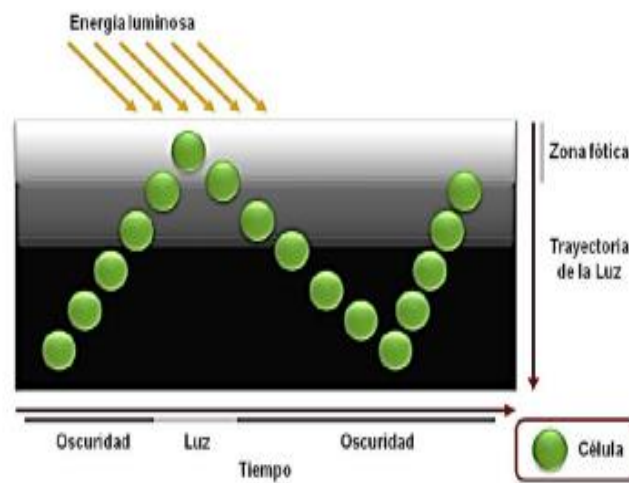


Figura 1.5 Ilustración de la trayectoria de la luz y de los ciclos luz/oscuridad

1.5.2 Temperatura

La temperatura óptima del cultivo depende de la microalga que se emplee y de sus características, pero el valor óptimo puede variar en función de los demás parámetros. 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, existe un nivel de iluminación

óptimo para cada nivel de temperatura de cultivo como se muestra en la Figura 1.6 (Plasencia, 2012).

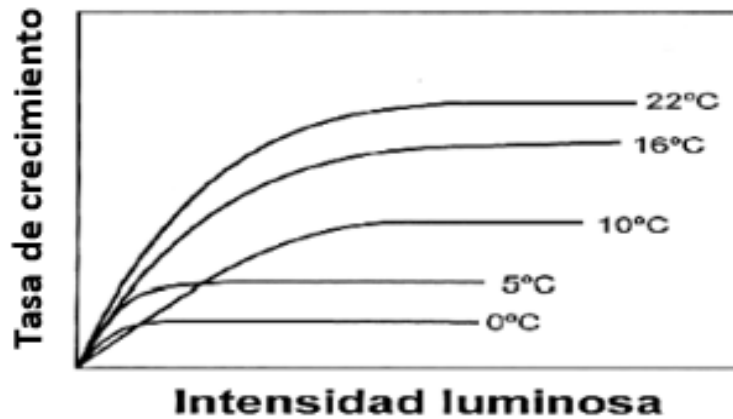


Figura 1.6 Temperatura óptima de cultivo

La temperatura óptima para el cultivo de microalgas se encuentra generalmente entre los 20 y 24 °C, no obstante, estas pueden variar dependiendo del medio de cultivo, la especie y la cepa utilizada. Comúnmente, los cultivos de microalgas toleran temperaturas de entre 16 y 27 °C, en donde a temperaturas menores a 16 °C disminuyen el crecimiento, mientras que una temperatura mayor a los 35 °C resulta ser letal para un gran número de especies.

Los cambios en la temperatura alteración en las rutas metabólicas, incluyendo la biosíntesis de los carotenoides. Algunas algas aumentan la acumulación de carotenoides a una temperatura de 40 °C en comparación con la tasa obtenida a la temperatura óptima de crecimiento de 28 °C (Benavente-Valdés *et al.*, 2012).

1.5.3 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 cultivos a escala, la agitación puede

complementarse con la adición de CO₂ para lograr la agitación y enriquecer el cultivo con más carbono para el metabolismo celular.

Una alta densidad de células fotosintéticamente activas provoca concentraciones extremadamente altas de O₂ disuelto. Concentraciones de O₂ superiores a las del aire provocan un efecto inhibitorio de la fotosíntesis, especialmente si la concentración de CO₂ es baja.

Es posible obtener una respuesta lineal en el carbono de la biomasa con el aporte de masa de carbono (que corresponde a una eficacia de prácticamente del 100 %, esto solo sucede con entradas limitadas de carbono inorgánico y rangos estrechos de pH (Molina, 2008).

1.5.4 pH

El desarrollo del pH en el cultivo se ve modificado por factores como la capacidad buffer del medio utilizado, la cantidad de CO₂ disuelto, la temperatura que afecta los gases disueltos y la actividad metabólica. El medio se alcaliniza por el consumo de la fuente de carbono, lo que genera bases como el NaOH. La medición del pH puede convertirse en 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 Trina, 2006).

A niveles de pH alcalinos, la disponibilidad de CO₂ puede ser limitante para el crecimiento y la fotosíntesis de microalgas. El rango de pH para la mayoría de los cultivos de microalgas está entre 7 y 9, con un rango óptimo de 8.2 a 8.7. Un pH óptimo en el cultivo generalmente es mantenido gracias a la aeración enriquecido con CO₂. El pH se incrementa conforme a la edad del cultivo es mayor, esto es debido a la acumulación de minerales y la oxidación de nutrientes (Benavente- Valdés, *et al.*, 2012)

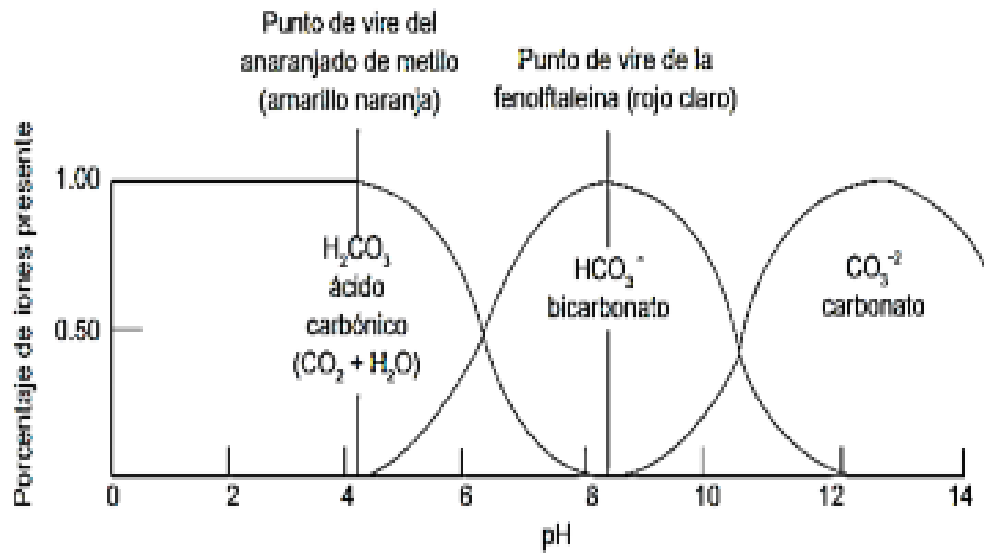


Figura 1.7 Dependencia del pH de las especies químicas del sistema carbonato (Cortijo, 2013)

Como se aprecia en la Figura 1.7, para un pH entre 8.3 y 8.4, a 25 °C, prácticamente todo el CO₂ ha desaparecido, siendo el HCO₃⁻ la mayor especie presente del sistema carbonato, y a un pH mayor que 8.4 empieza a aparecer el ion carbonato, convirtiéndolo en un agua incrustante.

1.5.5 Macronutrientes, micronutrientes y vitaminas

Las microalgas y cianobacterias requieren para su crecimiento macronutrientes (fuentes de nitratos, fosfatos y en el caso de las diatomeas la adición de silicatos) 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. Aparte de los micronutrientes y macronutrientes, las vitaminas como la tiamina (B₁), Cianocobalamina (B₁₂), y Biotina (B₆) son consideradas esenciales para la mayoría de las microalgas (Romo, 2001).

En la elección de un medio de cultivo se debe considerar aspectos la salinidad, la composición y concentración de iones, fuente de nitrógeno, fuente de fósforo, fuente

de carbono, pH, elementos traza y vitaminas para adecuarlo a las necesidades de la microalga a cultivar (Tecnoplades, 2015).

1.5.6 Microbiología predictiva

La microbiología predictiva se basa en la premisa de que las respuestas de las poblaciones microbianas a los factores ambientales son reproducibles, y que al considerar los ambientes en términos de dominios identificables es posible, a partir de las observaciones del pasado, predecir las respuestas de los microorganismos (Cabeza-Herrera, 2013).

1.5.7 Metabolismo microbiano

Algunos microorganismos pueden alimentarse con sustancias inorgánicas mediante la utilización de vías metabólicas no disponibles para las plantas ni para los animales. Los organismos fotoautótrofos (Figura 1.8), utilizan la luz como fuente de energía y el CO₂ como fuente principal de carbono. Estos organismos comprenden bacterias fotosintéticas (bacterias verdes y púrpura y cianobacterias), algas y plantas verdes (Tórtora *et al.*, 2007).

Los tres nutrientes más importantes para el cultivo de microalgas en condiciones autótrofas son el carbono, nitrógeno y fósforo. Para obtener altas tasas de crecimiento es esencial el abastecimiento de fuentes inorgánicas de carbono como el CO₂ y NaHCO₃. El nitrógeno también es un contribuyente principal de la producción de biomasa y se suministra en forma de nitrato, amonio y urea. El fósforo también influye en el crecimiento de las microalgas y es proporcionado comúnmente en forma de ortofosfatos. Una reacción óptima de carbono, nitrógeno y fósforo es crucial para la obtención de una alta productividad de lípidos (Gracida-Álvarez *et al.*, 2013)

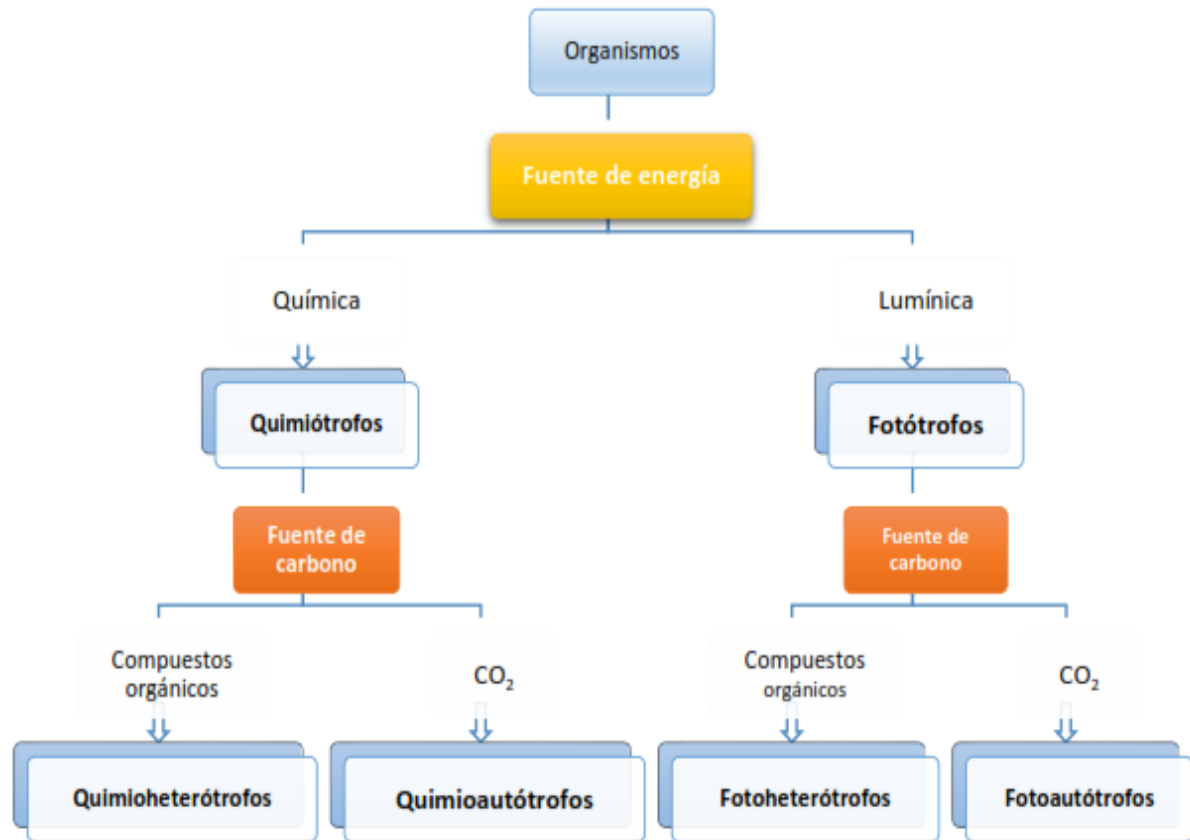


Figura 1.8 Clasificación nutricional de los organismos en función de su fuente de energía y fuente de carbono (Adaptado de Tórtora *et al.*, 2007)

1.5.8 Crecimiento microbiano

Se reconoce un patrón estándar de crecimiento (Figura 1.9) que comprende las siguientes fases (Romo, 2001):

1. Fase de retraso o fase de adaptación
2. Fase de crecimiento exponencial
3. Fase de reclinación relativa de crecimiento
4. Fase estacionaria
5. Fase de muerte

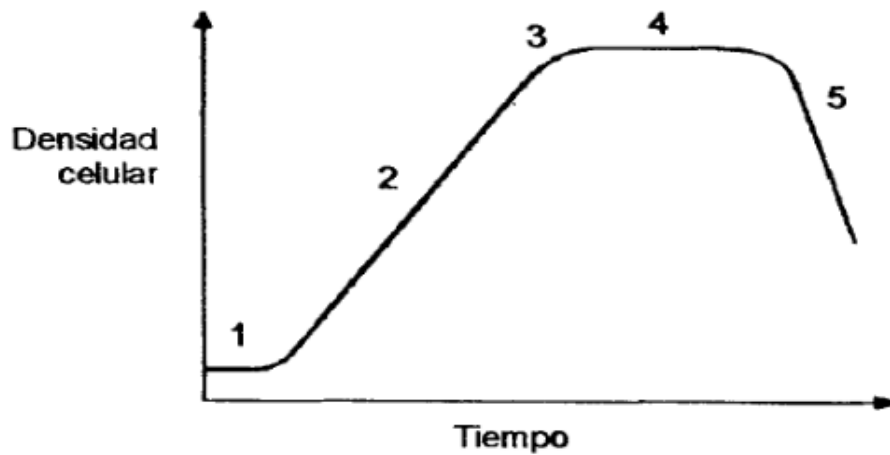


Figura 1.9 Curva representativa de crecimiento de un cultivo de microalgas en un volumen limitado (Romo, 2001)

1.6 *Spirulina Máxima*

La *Spirulina Máxima* es una cianobacteria que tiene forma de espiral (de ahí su nombre), y es de color azul verdoso por la presencia de clorofila que le da el color verde y de ficocianina, pigmento que le da el color azulado, con un alto contenido de proteínas, que se utiliza principalmente como una fuente de proteína unicelular para los seres humanos y los animales. En la Figura 1.10 se aprecia la especie en su máximo crecimiento exponencial.



Figura 1.10 *Spirulina Máxima*

Muchas especies de microalgas son capaces de crecer eficazmente en aguas porque son eficientes en la eliminación de nitrógeno y fósforo de las aguas residuales y, por lo tanto, tienen el potencial de desempeñar un papel importante en la fitoremediación. Varios estudios muestran una alta eficiencia en la eliminación de nutrientes inorgánicos, materia orgánica, metales pesados y el color de los efluentes de microalgas (Rezende *et al.*, 2016). En la Tabla 1.2 se muestra la clasificación científica de la *Spirulina Máxima*.

Tabla 1.2 Clasificación científica del género *Spirulina Máxima*

Dominio	Bacteria
Filo	Cyanobacteria
Clase	Cyanophyceae
Subclase	Oscillatoriothyracales
Orden	Chroococcales
Familia	Spirulinaceae
Genero	Spirulina

Spirulina Máxima presenta un alto contenido de proteína y se ha usado como complemento alimenticio en la dieta para pesar la pérdida y la desnutrición. Esto es debido al valor elevado de proteínas (60 a 70 % en peso en seco), el valor de vitaminas, principalmente la vitamina B₁₂, y el contenido de lípidos (rico en ácidos grasos poliinsaturados), principalmente y linolénico (GLA), un antioxidante altamente utilizado en la medicina.

El fósforo es un recurso finito, no renovable, es un nutriente esencial para las plantas (cultivos). La eficiencia del uso del P actual es de 20 %, el restante 80 % termina en residuos. Las algas como la *Spirulina Maxima* pueden absorber y acumular grandes

cantidades de P enriquecido a biomásas de algas que se pueden aplicar como fertilizantes para suelo (Solovchenko *et al.*, 2016).

1.7 *Dunaliella Sp*

Las microalgas *Dunaliella sp.* (Figura 1.11) es reconocida como una de las principales fuentes naturales de β -caroteno, entre otras algas, plantas terrestres y microorganismos. Se han utilizado algunas estrategias para aumentar el contenido de carotenos en las microalgas (Medina-Felix, et al., 2014). En la Tabla 1.3 se muestra la Clasificación científica del género *Dunaliella Sp.*

Tabla 1.3 Clasificación científica del género *Dunaliella Sp*

Reino	Plantae
Division	Chlorophyta
Clase	Chlorophyceae
Orden	Volcanes
Familia	Dunaliellaceae
Género	Dunaliella

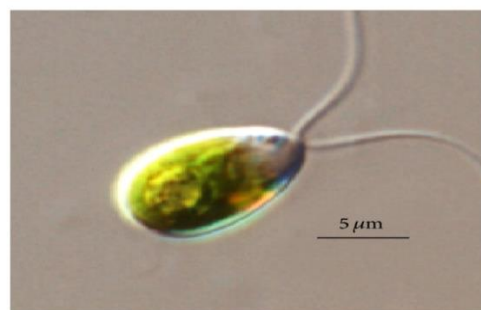


Figura 1.11 *Dunaliella Sp*

Es una alga clorofita predominante en ambientes hipersalinos, caracterizada por acumular grandes cantidades de carotenoides, llegando hasta 14 % de su masa seca, lo que la convierte en una fuente potencial de β -caroteno natural de importancia para el uso en las industrias alimenticias y farmacéuticas, así como una herramienta útil para estudios bioquímicos relacionados con biosíntesis de pigmentos y mecanismos de regulación ante ambientes extremos. Diversos estudios han demostrado que la producción de carotenoides en *Dunaliella salina* puede optimizarse mediante variaciones de las condiciones de cultivo, las cuales incluyen aumento de la salinidad, intensidad luminosa y temperatura

Otros estudios abarcan el aprovechamiento de esta microalga con la finalidad de producir β -caroteno natural y glicerol que es utilizado como materia prima en la industria cosmética, alimenticia y farmacéutica (Acacio-Chirino *et al.*, 2013).

Dunaliella sp son candidatos prometedores para la producción sostenible de biocombustibles, se han estudiado en detalle con respecto a la salinidad, estrés y su efecto en el aumento de los ácidos grasos totales (Mixson y Burkholder, 2017).

La *dunaliella sp* tiene la habilidad de vivir en concentraciones salinas extremas, lo que brinda una ventaja selectiva frente a los demás cultivos microalgales. Su principal y a veces única fuente de Nitrógeno es el nitrato (NO_3^-), que junto con el ortofosfato (PO_4^{3-}) se caracterizan por ser los nutrientes que más requieren las microalgas para su crecimiento, después del carbono. En sistemas de aguas residuales, las algas utilizan el nitrógeno y el fósforo solubles y los incorporan a su biomasa para su metabolismo celular y crecimiento (Fimbre *et al.*, 2010).

1.8 Antecedentes

Entre los más relevantes que pueden contribuir a la realización de este trabajo de investigación solo los siguientes:

Caballero García (2013) Desarrolló el proceso de bioconversión del CO₂ en biogás a O₂ y biomasa a partir de microalgas, determinó la dosis óptima de nutrientes y vitaminas para la microalga *Chlorella spp* y la concentración máxima de CO₂ que puede tolerar. Los resultados obtenidos indican que en las condiciones experimentales en la que fue realizada la investigación, y mediante la adición de la dosis recomendable de macronutrientes, micronutrientes y vitaminas, es posible desarrollar con éxito cultivos de esta especie de microalgas.

Chen *et al.*, (2015) publicaron un estudio para la producción de biogás a partir de una fermentación continua de estiércol porcino a través de un Reactor Anaerobio de Flujo Pistón Descendente (DPAR, por sus siglas en inglés). El uso de estiércol porcino como materia prima fue operado de acuerdo a la concentración de Sólidos Totales (ST) de 20 %, 25 %, 30 % y 35 %, con una producción de biogás de 2.40, 1.92, 0.911 y 0.644 L/día y rendimientos de biogás de 0.665, 0.532, 0.252, y 0.178 L/gST. La tasa de degradación de sólidos totales fueron 46.5 %, 4.4 %, 53.2 % y 55.6 %, respectivamente. Estos valores ayudaron a concluir que al aumentar la carga de materia prima (ST) la concentración de nitrógeno amoniacal creció hasta un valor máximo de 3500 mg/L y cuando se alcanzó un valor por encima de 3000 mg/L la producción de biogás era inhibida. Lo que logra concluir que es factible llevar a cabo una fermentación continua en un reactor DPAR utilizando estiércol de cerdo como materia prima sin exceder el 30 % para alcanzar una producción de biogás favorable.

Domínguez (2014) evaluó el desempeño de la *Chlorella spp* y *Spirulina Máxima* en el proceso de bioconversión de CO₂ contenido en biogás y biomasa, los requerimientos necesarios para el adecuado crecimiento de *Spirulina Máxima* y *Chlorella spp*. se realizaron en distintas proporciones: 80-20, 60-40, 50-50, 40-60 y 20-80 (%v/v), respectivamente. Los resultados mostraron que la proporción 40-60 % presentó el mayor crecimiento con 5.75×10^5 cel/mL para la *Spirulina Máxima*. Para evaluar el desempeño de bioconversión de ambas especies, éstas se adaptaron por separado a un fotobiorreactor tubular adicionando 7.6 mL/min de CO₂ una hora al día, por dos días

consecutivos y suspendiendo la adición dos días. La *Spirulina Máxima* sí realizó el consumo total del CO₂, mientras que *Chlorella spp.* obtuvo un valor máximo de 97.792 % de remoción.

Ekpo *et al.*, (2016) presentaron un estudio de la influencia del pH en la extracción de nitrógeno y el fósforo del estiércol de cerdo después del tratamiento hidrotérmico. Las condiciones incluyen la hidrólisis térmica (TH) a 120 °C y 170 °C, ya sea en agua sola o en presencia de 0.1 M NaOH, H₂SO₄, CH₃COOH o HCOOH. La extracción de fósforo para su pH y la temperatura dependiente es mejorada en condiciones ácidas. El más alto nivel de fósforo es extraído por medio de H₂SO₄ llegar 94 % a 170 °C. El fósforo se mantiene en gran medida en el residuo para todas las demás condiciones. La extracción de nitrógeno no está influenciada por el pH de manera significativa. Los resultados indican que el funcionamiento de tratamiento hidrotérmico en presencia de aditivos ácidos tiene beneficios en términos de mejora de la extracción de fósforo y nitrógeno.

Huang *et al.*, (2016) informaron sobre los estudios experimentales de la recuperación de amoníaco a partir de excretas de cerdos por la digestión anaeróbica (AD). Los efectos de las diferentes condiciones de operación, incluyen temperaturas (25 a 55°C), el total de sólidos (TS, 20 % a 35 %) y el pH inicial (7.0 a 12.0). Entre los resultados obtenidos se estimó cambios en la producción de biogás y su composición señala la bioactividad de las bacterias que implica en la producción de amoníaco a partir de excretas porcina, se recuperó de manera eficiente mediante el paso de aire a TS sobre 20 %.

Wang *et al.*, (2016) realizaron un análisis para determinar los coeficientes de códigos de fósforo (PSC, por sus siglas en inglés) para la cuantificación diferencial del fósforo en riesgo para varios abonos relativos de los fertilizantes solubles. La evaluación de riesgos en la pérdida de fósforo y la gestión de otros nutrientes en el medio ambiente se ha enfrentado a retos importantes debido a la falta adecuada de técnicas.

Zhang y Chen (2015) informaron sobre los estudios de la floculación en *Chlorella sorokiniana* cultivada en las aguas residuales de estiércol de cerdo, suplementado con materias orgánicas diferentes (glucosa, urea y triptona). Los resultados demostraron que la cantidad mínima que se requiere para la floculación completa en aguas residuales aumentaría sustancialmente la eficiencia de floculación la cual se convierte altamente sensible al pH. La triptona podría causar grado similar de inhibición en la floculación como en las aguas residuales. Mientras tanto, la glucosa podría aumentar las concentraciones de algógenas Materia Orgánica (OMA), la inhibición de la floculación con fuerza en pH superior. Sin embargo, la urea tuvo poco efecto en la floculación de *Chlorella sorokiniana*.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Metodología experimental

En este capítulo se describe la metodología experimental y desarrollada para cumplir los objetivos de esta investigación. En la Figura 2.1 se muestra esquemáticamente las diferentes etapas.

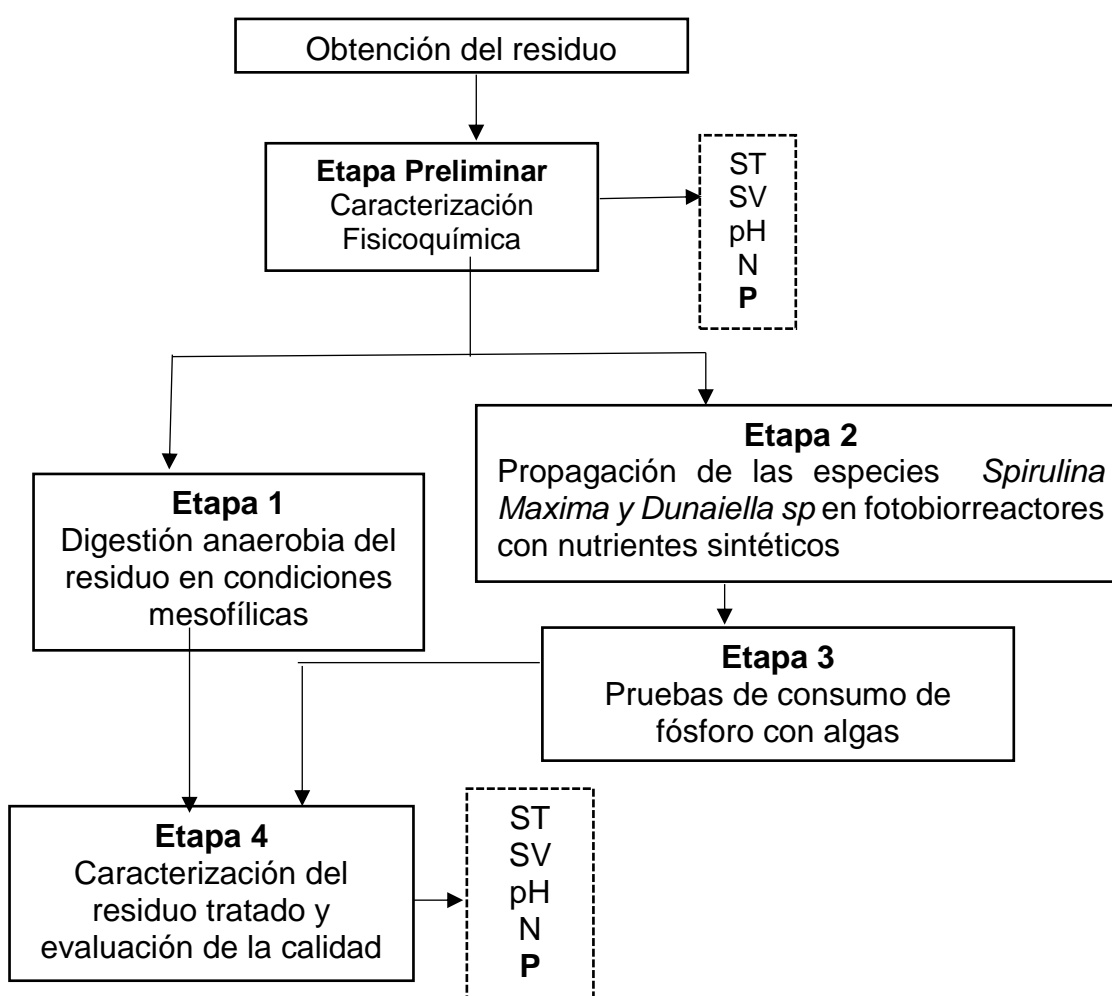


Figura 2.1 Esquema de bloques de la metodología

2.2 Obtención del residuo porcícola

Los residuos sólidos porcícolas se muestrearon de una granja ubicada en Orizaba, Veracruz. En la cual se obtuvieron de 2 a 3 kilogramos de excreta sólida. La muestra fue preparada y almacenada a 4 °C de acuerdo a la norma NMX-AA-052-1985 titulada “Preparación de muestras en el laboratorio para su análisis”, para su posterior caracterización fisicoquímica. En la Figura 2.2 se presenta la metodología gráfica para la preparación y almacenamiento de la muestra.



Figura 2.2 Preparación y almacenamiento de la muestra

2.3 Caracterización Fisicoquímica

Para realizar la caracterización fisicoquímica del lodo se utilizaron las determinaciones descritas en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1 Determinaciones empleadas para la caracterización fisicoquímica

Parámetro	Unidades	Método
pH	-	Potenciómetro
Sólidos Totales	%	Método 2540 de la APHA-AWWA-WPFC
Sólidos Totales Volátiles	%	Método 2540 de la APHA-AWWA-WPFC
Nitrógeno Amoniacal	g/ kg ST	Método Micro Kjeldhal
Nitrógeno Total	g/ kg ST	Método Micro Kjeldhal
Fósforo	%	Método 4500-PB 4

2.3.1 Determinación de pH

El principio básico de la medida electrométrica del pH es la determinación de la actividad de los iones hidrógeno por medición potenciométrica usando un electrodo de hidrógeno estándar y un electrodo de referencia. La determinación de pH se realizó a través de un potenciómetro marca ORION Research. Inc. Model 250 A. siguiendo el método Potenciometrico 4500-H B de la Standard methods.

2.3.2 Determinación de sólidos totales

Los Sólidos Totales se definen como el material residual después de evaporación y secado de una muestra a cierta temperatura, esta determinación se realizó mediante la técnica gravimétrica descrita en el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999). Se evapora la muestra en un crisol a peso constante en una estufa a 103-105 °C por un lapso de 24 horas. El aumento de peso sobre el peso del crisol vacío representa los Sólidos Totales; y el cálculo se realiza con la siguiente ecuación:

$$\% ST = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \cdot 100 \quad (2.1)$$

Donde:

P_1 = peso del crisol a peso constante

P_2 = peso del crisol a peso constante + peso de la muestra antes de evaporación

P_3 = peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco

2.3.3 Determinación de 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 siguiente ecuación:

$$\% SV = \frac{P_3 - P_4}{P_3 - P_1} \cdot 100 \quad (2.2)$$

Donde:

P_1 = peso del crisol a peso constante

P_3 = peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco

P_4 = peso del crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada

En la Figura 2.3 se muestran los equipos utilizados para la determinación de los procesos descritos anteriormente.



Figura 2.3 Estufa, mufla y balanza analítica utilizados

2.3.4 Determinación de nitrógeno amoniacal

Este parámetro se analizó por destilación siguiendo el método 4500-NH B de la APHA/WWA-WPFC (1999), que es similar a la determinación de nitrógeno total sin la previa digestión y utilizando óxido de magnesio como base; mientras el contenido de nitrógeno orgánico es la diferencia entre los valores de nitrógeno total y nitrógeno amoniacal.

2.3.5 Determinación de nitrógeno total

El nitrógeno total se midió siguiendo la técnica analítica del método 4500-NTK C de la APHA-AWWA-WPFC (1999), el cual determina el nitrógeno en estado tri-negativo y se basa en convertir el nitrógeno disponible como amino presente en la materia orgánica, en amonio, en presencia de ácido sulfúrico, sulfato de potasio y sulfato cúprico como catalizador, sin tomar en cuenta el nitrógeno en otras formas como: nitrato, nitrito, nitrilo, nitroso, etc.

2.3.6 Determinación de fósforo

De acuerdo al apartado 4500-P de los Métodos Normalizados, la determinación de fósforo se realizó en dos etapas, la primera corresponde a la conversión de las formas fosforadas a ortofosfatos disueltos, a través del método 4 de digestión utilizando ácido

nítrico y sulfúrico concentrados, en tanto que la segunda etapa refiere a la determinación colorimétrica del ortofosfato convertido, aplicando el método E del ácido ascórbico.

2.4 Digestión anaerobia del residuo en condiciones mesofílicas

En la etapa 1, se llevó a cabo la digestión anaerobia del residuo porcícola en condiciones mesofílicas. El objetivo es determinar el porcentaje de remoción de sólidos totales, sólidos volátiles, pH, así como el porcentaje de remoción de nitrógeno y fósforo y la generación de biogás a diferentes Cargas Orgánicas Aplicadas (COA) como se muestra en la Tabla 2.2

Tabla 2.2 Cargas Orgánicas Aplicadas

COA	Parámetros evaluados
1	ST, SV, pH, N, P
5	
10	

2.5 Propagación de las especies *Spirulina Maxima* y *Dunaliella sp* en fotobiorreactores con nutrientes sintéticos

De acuerdo con la investigación realizada por Caballero (2013), el cultivo de microalgas tiene requerimientos mínimos de nutrientes y vitaminas para lograr un crecimiento adecuado, por lo que es necesario adaptar el medio de cultivo necesario para su crecimiento y experimentación.

2.5.1 Medio de cultivo de *Spirulina Máxima*

De acuerdo con las recomendaciones sugeridas por la universidad de Texas y el CINVESTAV para el correcto crecimiento de la cepa de *Spirulina Máxima* se utiliza el

medio de cultivo UTEX. Con la finalidad de evitar la formación de precipitados durante la esterilización en autoclave se prepararan dos soluciones por separada cada una de 500 ml para realizar su esterilizado, mezclar y almacenar a temperatura de 5 °C.

2.5.2 Medio de cultivo de *Dunaliella sp*

El medio de cultivo f/2 es un medio de agua de mar de mantenimiento general y ampliamente utilizado para microalgas tanto de agua dulce, salobre y marinas en crecimiento, ideado en principio para diatomeas y extendido su uso a otros grupos. La concentración del original. El medio original fue realizado por Guillard y Ryther (1962) y se denominó "medio f", el cual se ha reducido a la mitad.

Para su preparación se emplea con 950 mL de agua de mar natural filtrada o del agua particular de las microalgas y dependerá del sitio en donde hayan sido aisladas o la procedencia de las mismas, en donde se le agregará los siguientes componentes que se proporcionan a continuación, la solución A es de macronutrientes, compuesta por nitrato, fosfato y silicatos, éstos últimos sólo en caso de cultivar diatomeas, cada una de las soluciones se esteriliza por separado y se conservan en refrigeración.

2.5.3 Condiciones de operación de las especies

Las especies *Dunaliella sp* y *Spirulina Máxima* se propagan en fotobiorreactores cada uno con un volumen útil de 500 mL, con un periodo de operación de 21 días.

Se realizan dos procesos de operación el primero sin tratamiento y el segundo con tratamiento alcalino el cual consistió en elevar su pH entre 9 y 10 con NaHCO₃.

Las especies se propagarán en diferentes concentraciones equidistantes como se muestra en la Tabla 2.3

Tabla 2.3 Concentraciones para la propagación de las especies

20 %	50 %	80 %
125 mL alga	125 mL alga	125 mL alga
75 mL lodo	187.5 mL lodo	300 mL lodo
300 mL agua	187.5 mL agua	75 mL agua

2.5.4 Diferentes pruebas adaptadas a las condiciones de operación en la propagación de las especies

Las pruebas adaptadas para las condiciones de operación de la propagación de las especies son las siguientes.

2.5.5 Biomasa en peso húmedo

La medida de la masa de los constituyentes de la célula bacteriana es utilizada frecuentemente como base para la medida de la actividad metabólica o de un gran constituyente metabólico o química. Algunos de los métodos para cuantificar la biomasa son obvios y confiables, pero pueden volverse complicados si se busca exactitud.

A continuación el peso húmedo se obtiene a partir de una muestra en suspensión que es pesada luego de la separación de las células por filtración o centrifugación. Es una técnica útil para grandes volúmenes de muestra. La principal desventaja es que el diluyente queda atrapado en el espacio intracelular y contribuye al peso total de la masa. Para corregir el peso húmedo se determina la cantidad del líquido que queda retenida en el espacio intracelular luego de la centrifugación.

2.5.6 Determinación de DQO_T

La Demanda Química de Oxígeno, total y soluble se llevó a cabo por el Micrométodo Colorimétrico 5220 D Standard Methods, para lo cual se utilizó una placa digestora (COD Reactor) marca Hach para suministrar el calor de reacción, un espectrofotómetro ODYSSEY DR2500 marca Hach para leer la transmitancia de la muestra y pipetas [se muestran los equipos utilizados.



Figura 2.4 Pipeta automática, placa digestora y espectrofotómetro utilizados

2.5.7 Conteo celular

Es importante conocer la concentración de biomasa generada, esta se lleva a cabo principalmente por dos métodos: cámara de Neubauer y por espectrofotometría.

2.5.7.1 Cámara de Neubauer

A pesar del desarrollo tecnológico que ha tenido lugar en los laboratorios, el conteo visual con hematocitómetro o cámara de Neubauer sigue siendo el método más utilizado. El conteo directo de células es importante en los cultivos de microalgas ya que es necesario conocer la concentración celular. En la Figura 2.5 se muestra el detalle de los cuadros que componen la cámara de Neubauer.

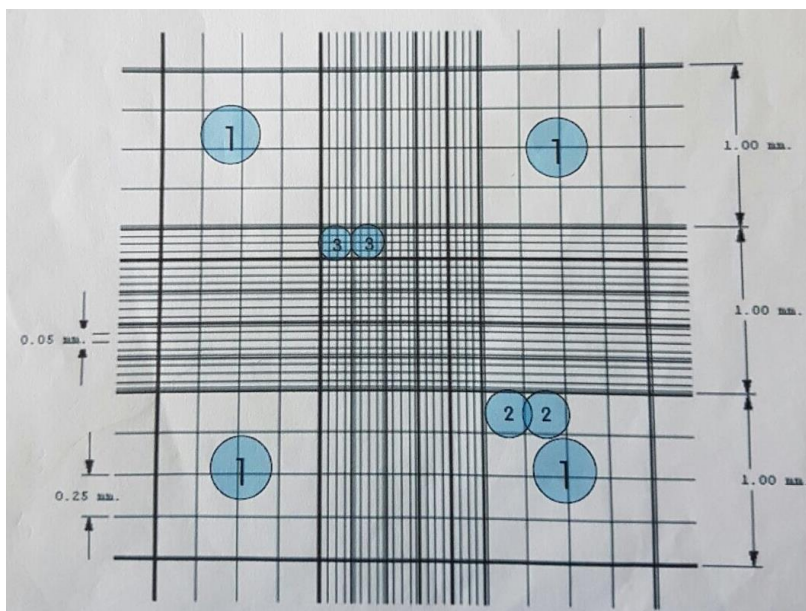


Figura 2.5 Detalle de la rejilla de una cámara de Neubauer

2.5.8 ST, SV, pH y nitrógeno.

De igual forma se realizaron pruebas de sólidos totales, sólidos volátiles y pH los cuales fueron determinados como se describe en el apartado 2.3 Caracterización Físicoquímica.

2.6 Diseño Experimental

Spirulina Máxima

Se aplicó el diseño factorial con dos factores 3x2 con el objetivo de comparar que tratamiento tiene la mayor producción de microalgas y remoción de fósforo bajo distintos proporciones de alimentación para la especie *Spirulina Máxima*.

El volumen de trabajo es de 500 ml, la temperatura de operación se mantuvo en condiciones ambientales dentro del laboratorio (25 ± 2 °C). Se realizaron pruebas durante 21 días y monitoreándose los parámetros descritos anteriormente. La Tabla 2.4 muestran las condiciones en las que se realizaron los experimentos.

Tabla 2.4 Condiciones de operación en el diseño 3x2

Factor	Niveles
Sin tratamiento	20 %, 50 % y 80 %
Con tratamiento	

Dunaliella sp

Por otra parte para la microalga *Dunaliella sp* se aplicó un diseño unifactorial con el objetivo de comparar cual proporción de alimentación era la óptima para mejor remoción de fósforo, las condiciones de operación fueron las siguientes volumen de trabajo es de 500 ml, la temperatura de operación se mantuvo en condiciones ambientales dentro del laboratorio (25 ± 2 °C). Se realizaron pruebas durante 21 días y monitoreándose los parámetros descritos anteriormente. La Tabla 2.5 muestran las condiciones en las que se realizaron los experimentos.

Tabla 2.5 Condiciones de operación en el diseño unifactorial

Factor	Niveles
Proporciones de alimentación	20 %, 50 % y 80 %

2.7 Pruebas de consumo de fósforo con microalgas

Las pruebas de consumo de fósforo se realizaron tres veces al inicio, a la mitad y al final del periodo de operación el cual fue de 21 días. El objetivo fue conocer el porcentaje de remoción de fósforo en la propagación de las especies *Dunaliella sp* y *Spirulina Máxima*. Se realizó mediante la técnica Determinación de fósforo (Método 4500-PB 4 Digestion con Ácido sulfúrico-Ácido Nítrico) descrita anteriormente.

2.8 Caracterización del residuo tratado y evaluación de la calidad

En la etapa 4 se realizó una segunda caracterización fisicoquímica como se describe en el objetivo preliminar, con el objetivo de determinar cómo se encuentra el residuo después de la digestión anaerobia y la propagación de las especies, de igual forma se realizó la evaluación de la calidad de cada uno para verificar que grado de remoción se encuentra el residuo tratado.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se presentan los resultados obtenidos durante la etapa pre eliminar y las cuatro etapas experimentales obtenidos a lo largo de esta investigación.

3.1 Obtención del residuo porcícola

La muestra fue recolectada, preparada y almacenada de acuerdo a la norma NMX-AA-052-1985 titulada "Preparación de muestras en el laboratorio para su análisis".

3.2 Etapa preliminar: Caracterización fisicoquímica

Después del muestreo del residuo porcícola, estos fueron trasladados al laboratorio de posgrado e investigación de ambiental II para su caracterización. La tabla 3.1 resume los parámetros determinados del residuo porcícola de acuerdo a los procedimientos.

Tabla 3.1 Caracterización Fisicoquímica

Parámetro Fisicoquímicos	Residuo Porcícola	Unidades
pH	6.97	-
Sólidos Totales	3.2021	%
Sólidos Totales Volátiles	72.7778	%
Nitrógeno Amoniacal	7.0	g/ kg ST
Nitrógeno Total	18.418	g/ kg ST
Fósforo	1.36	%

Los resultados de la caracterización fisicoquímica del residuo porcícola se utilizaron como indicadores de la calidad del sustrato alimentado a los fotobiorreactores y a la digestión anaerobia y se consideraron para establecer las condiciones de arranque y operación del proceso.

Se observó que el lodo es rico en compuestos como nitrógeno y fósforo al tener un alto valor en los mismos; debido a su naturaleza que generan los residuos porcícolas en estudio.

3.3 Etapa 1: Digestión anaerobia del residuo porcícola en condiciones mesofílicas

En la etapa 1 se llevó a cabo la digestión anaerobia del residuo pocícola en condiciones mesofílicas; dicha experimentación se realizó en un modo de operación semicontinuo a escala laboratorio en biorreactores de 350 mL de capacidad volumétrica, a temperaturas mesofílicas (25 a 40 °C). Se obtuvieron diferentes Cargas Orgánicas Aplicadas (1, 5 y 10) kgSV/m³ día, el periodo de trabajo fue de 21 días a una agitación constante de 120 rpm. Las diferentes pruebas realizadas durante el periodo de operación de las cinéticas fueron % de remoción de materia orgánica en base a STV, monitoreo de pH y la producción de biogás.

3.3.1 Remoción de materia orgánica en base a sólidos totales

En la Figura 3.1 se presenta el porcentaje de remoción de materia orgánica a diferentes COA, en el cual la COA 1 obtuvo su mejor porcentaje de remoción en el día 14 siendo de 68 %, por otra parte la COA 5 obtuvo 44 % de remoción en el día 14 y finalmente la COA 10 su porcentaje de remoción es de 42 % en el día 16. Estos resultados de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 logran un 38 % conseguido mediante la digestión anaerobia y proporciona una reducción de sólidos volátiles después de que el biosólido es estabilizado durante los 21 días de operación.

Castillo Borges, *et al.*, (2012) realizaron la remoción de materia orgánica de aguas residuales de un ratro municipal, su mejor COA para remover ST fue 12.2 kgDQO/m² día en 31 días de operación y alcanzaron una remoción de 37.1 %. Esto al compararse con los resultados obtenidos se encuentra por debajo de la remoción alcanzada y una COA más alta, lo cual nos muestra que la excreta porcina es más rica en nutrientes y mas fácil de degradar.

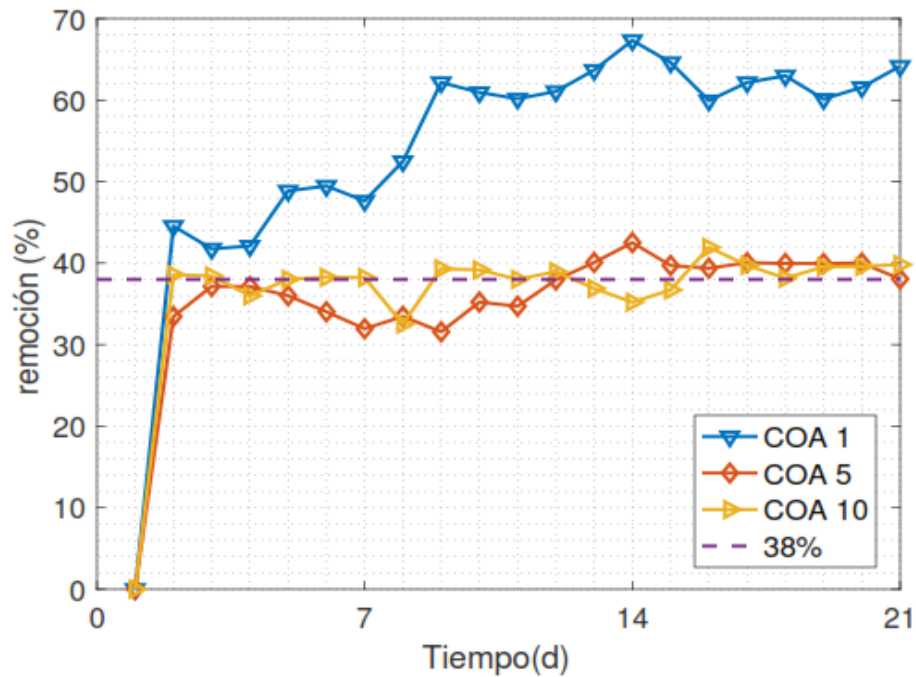


Figura 3.1 Remoción de COA 1, 5 y 10

3.3.2 Monitoreo de pH

En la Figura 3.2 se muestra el comportamiento del pH provenientes de la COA 1, 5 y 10 respectivamente. Como se puede observar el pH inicial oscila entre un rango de 7.3 a 7.6 manteniéndose constante a lo largo del periodo de trabajo, también se observa que el pH final oscila en un rango de 7.9 para las COA 5 y 10, por otro lado para la COA 1 tuvo pH final de 8.

De acuerdo a Castillo Borges, *et al.*, (2012) el monitoreo de pH para sus COA se encuentra en un rango de 7.5 a 8.0 para aguas residuales de un rastro municipal, esto contrastado a lo obtenido se encuentra dentro del mismo rango trabajado para el residuo porcícola.

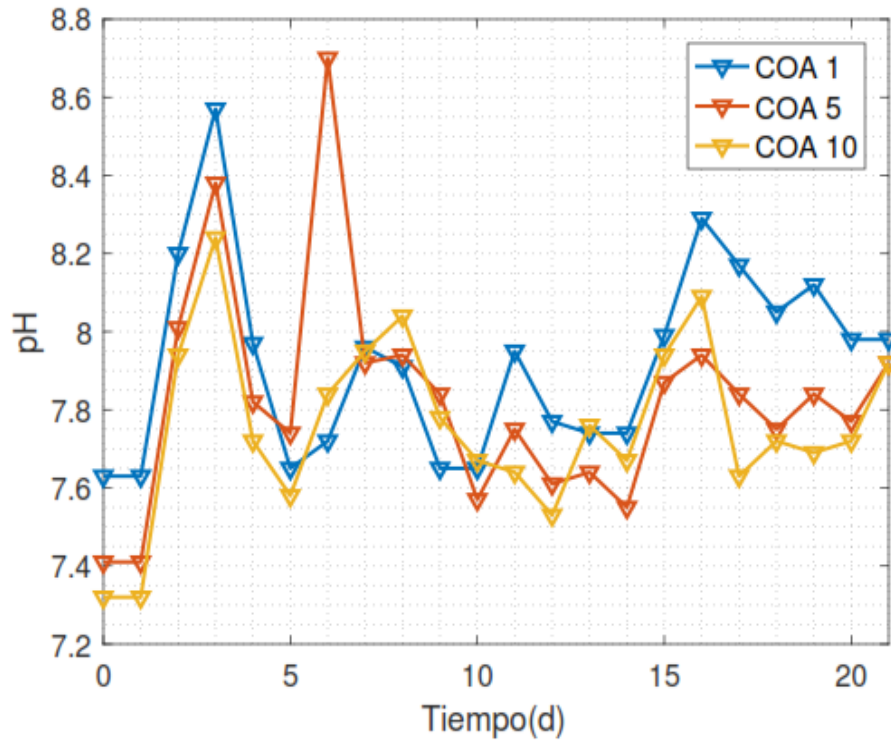


Figura 3.2 pH de las COA 1, 5 y 10 en el periodo de operación

3.3.3 Producción de biogás

La producción de biogás se muestra en la Figura 3.3, la cuantificación de biogás se obtuvo de acuerdo a las COA respectivamente. La COA 1 tuvo un máximo de 16 ml presentado en el día 6, la COA 5 obtuvo mayor producción de biogás con un máximo de 17 mL presentados en el día 10 y finalmente la COA 10 mostró una máxima producción de 13 mL presentados en el día 11.

De acuerdo a Berelleza Robles, et al., (2016) obtuvieron un rendimiento de biogás de 437 mL en 30 días de operación a través de residuos orgánicos teniendo un promedio diario de 14.56 mL, lo que se encuentra por debajo de lo obtenido en este trabajo, este biogás es útil para la generación de bionergía y la biomasa generada es un potencial biofertilizante.

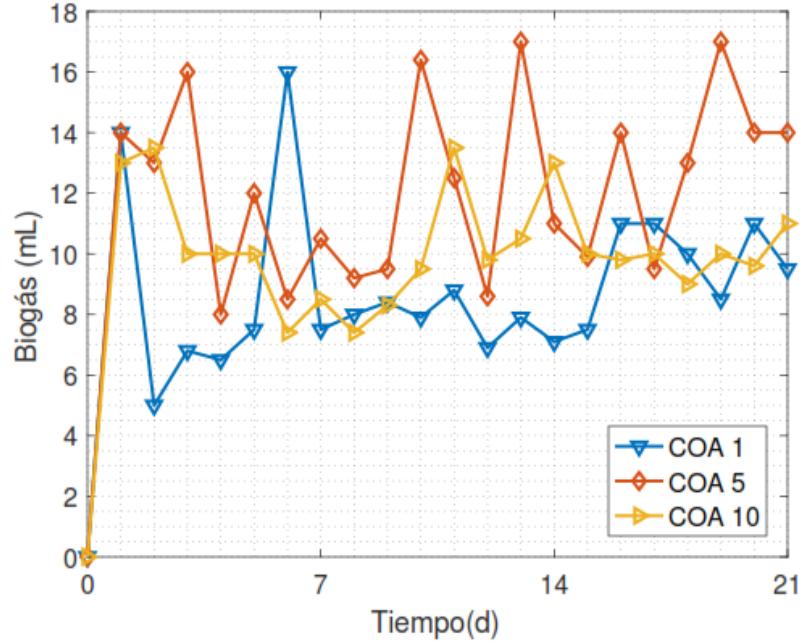


Figura 3.3 Producción de biogás de las COA 1, 5 y 10.

3.4 Etapa 2: Propagación de las especies *Spirulina Máxima* y *Dunaliella sp.* en fotobiorreactores con nutrientes sintéticos

De acuerdo con la investigación realizada por Caballero (2013), el cultivo de microalgas tiene requerimientos mínimos de nutrientes y vitaminas para lograr un crecimiento adecuado, por lo que es necesario adaptar el medio de cultivo necesario para su crecimiento y experimentación.

3.4.1 Adaptación y caracterización de las especies *Spirulina Máxima* y *Dunaliella sp*

La especie *Spirulina Máxima* fué cultivada y escalada con medio UTEX, mientras que la especie *Dunaliella sp* se cultivó y escaló por el medio "f".

En la Tabla 3.2 se presentan los resultados de la caracterización de la especie *Spirulina Máxima* obtenidos y se comparan con los datos presentados por Torres-Durán, *et al.*, (2009) a nivel comercial, en el que se destaca el porcentaje de fósforo el cual se encuentra en el mismo rango.

Tabla 3.2 Caracterización fisicoquímica de *Spirulina Máxima*

Parámetros	<i>Spirulina Máxima Obtenida</i>	<i>Spirulina Máxima comercial</i>
Densidad Celular (cel/mL)	9.5x10 ⁵	-
Clorofilas (μg/mL)	a:11.5	a:7.6
pH	9.72	9.3
Carbohidratos (mg/mL)	60	16.5
Proteínas (mg/mL)	0.61	0.71
Biomasa Seca (g/L)	3.31	9.0
Lípidos (g/Kg biomasa)	9.8	7.0
Fosforo (%)	7.61	7.94

En la Tabla 3.3 se muestra la caracterización fisicoquímica de la *Dunaliella sp* obtenida y también comparada a nivel comercial de acuerdo a Boriwitzka y Siva, (2007) destacando el fósforo presente en la alga el cual tiene una presencia mayor en la microalga obtenida.

Tabla 3.3 Caracterización fisicoquímica de *Dunaliella sp*

Parámetros	<i>Dunaliella sp. Obtenida</i>	<i>Dunaliella sp. comercial</i>
Densidad Celular (cel/mL)	8.5x10 ⁵	7.9x10 ⁵
Clorofilas (μg/mL)	a:10.3	a:9.8
pH	7.2	7.0
Carbohidratos (mg/mL)	56	49
Proteínas (mg/mL)	0.51	0.5
Biomasa Seca (g/L)	3.33	2.23
Lípidos (g/Kg biomasa)	7.8	6.8
Fosforo (%)	8.64	5.4

3.4.2 Condiciones de operación de las especies *Spirulina Máxima* y *Dunaliella sp*

Una vez que fue caracterizado el residuo porcícola mismo que se utilizó en la etapa 1 para la digestión anaerobia, se llevó a cabo la propagación de las especies *Spirulina Máxima* y *Dunaliella sp*.

Las microalgas *Spirulina Máxima* y *Dunaliella sp* más el residuo porcícola se propagaron en 3 fotobiorreactores (fotobiorreactor 1, fotobiorreactor 2, fotobiorreactor 3) como se muestra en la Figura 3.4. Todos los fotobiorreactores cuentan con un volumen útil de 500 mL, 28 °C de temperatura e intensidad luminosa de 524 luxes en un periodo de operación de 21 días en modo batch y con aireación. Se realizaron dos procesos de operación, el primero sin tratamiento y el segundo con tratamiento alcalino, el cual consistió en elevar el pH entre 9 y 10 con NaHCO_3 grado comercial, adicionado en solución 1M. Las especies se propagaron en diferentes proporciones de alimentación equidistantes en relación volumen/volumen como se muestra en la Tabla 3.4.

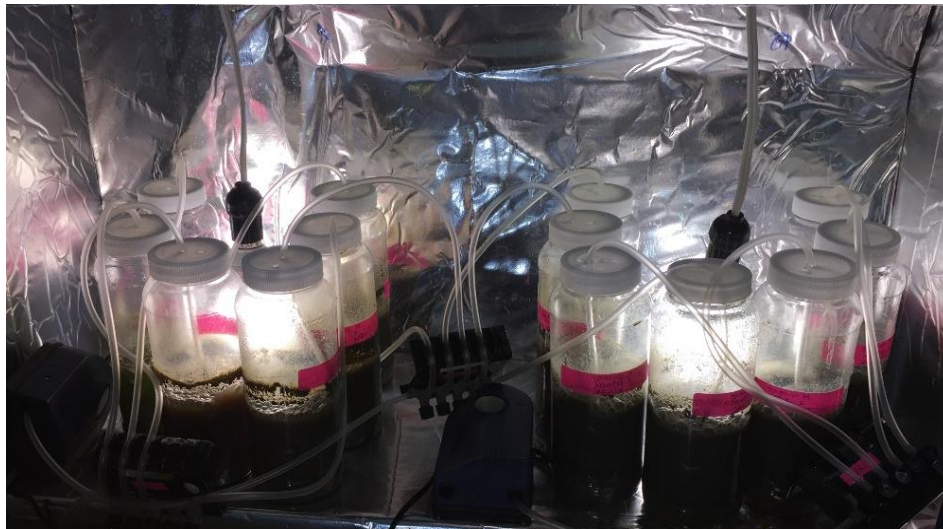


Figura 3.4 Propagación de las microalgas y residuo porcícola en fotobiorreactores

Tabla 3.4 Proporciones de alimentacion de *Spirulina Máxima* y *Dunaliella sp.*

	Fotobiorreactor 1 (20 %)	Fotobiorreactor 2 (50 %)	Fotobiorreactor 3 (80 %)
Alga (mL)	125	125	125
Lodo (mL)	75	187.5	300
Agua (mL)	300	187.5	75

3.4.3 Diferentes pruebas adaptadas a las condiciones de operación en la propagación de las especies

En el periodo de propagación de las especie se llevaron a cabo diferentes pruebas las cuales nos permitieron conocer el porcentaje de remoción de materia orgánica, así como identificar si el tratamiento alcalino para el monitoreo del pH es un factor importante para la reproducción y un mayor crecimiento exponencial de las microalgas.

3.4.3.1 Biomasa y peso húmedo

Spirulina Máxima

El contenido de biomasa generado fue mayor en los fotobiorreactores que se les realizó el pretratamiento alcalino, como se muestra en la Figura 3.5, la mayor biomasa se presentó al 20 % con pretratamiento con 39.99 g/L, Calderón-Bautista (2017) obtuvo 33.3 g/L de biomasa con un pretratamiento alcalino debido al bajo porcentaje de nitrógeno que presentó en el mismo periodo de operación.

Dunaliella sp

La biomasa obtenida en los 3 fotobiorreactores con *Dunaliella sp* se presenta en la Figura 3.6 en la cual se reporta que el fotobiorreactor 1 alcanzó 20.94 g/L durante los 21 días de operación esto fue proporcional a la degradación de materia orgánica presentada y a la remoción de nutrientes, sin embargo los fotobiorreactores 1 y 2 tuvieron generación de biomasa importante. López-Elias, *et al.*, (2013) obtuvieron 19.56 g/L de biomasa seca para la microalga *Dunaliella tertiolecta* en medios limitados

de nitrógeno y comprueban que al carecer de dicho nutriente su densidad poblacional disminuye considerablemente.

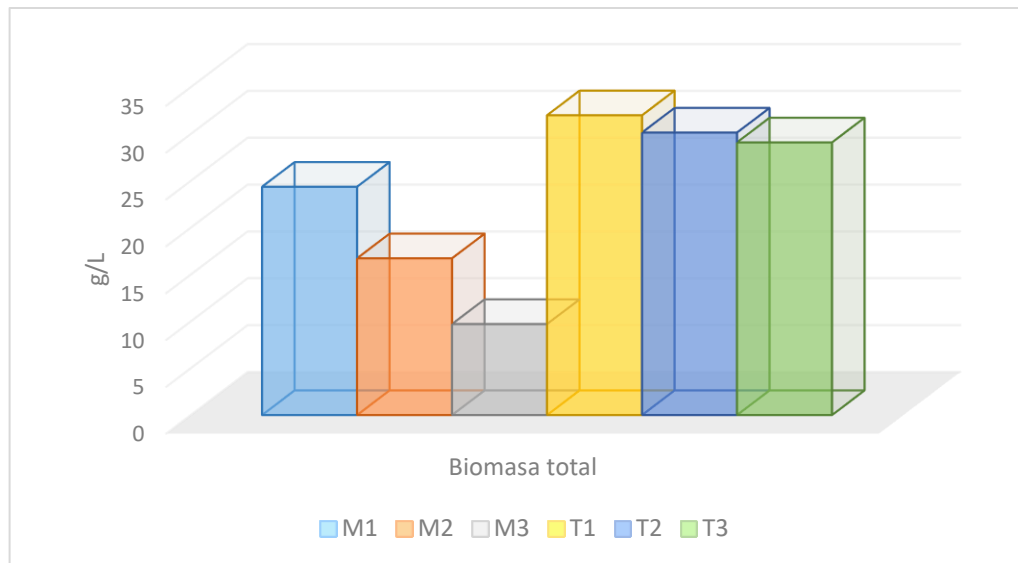


Figura 3.5 Biomasa Total en la corrida de *Spirulina Máxima*

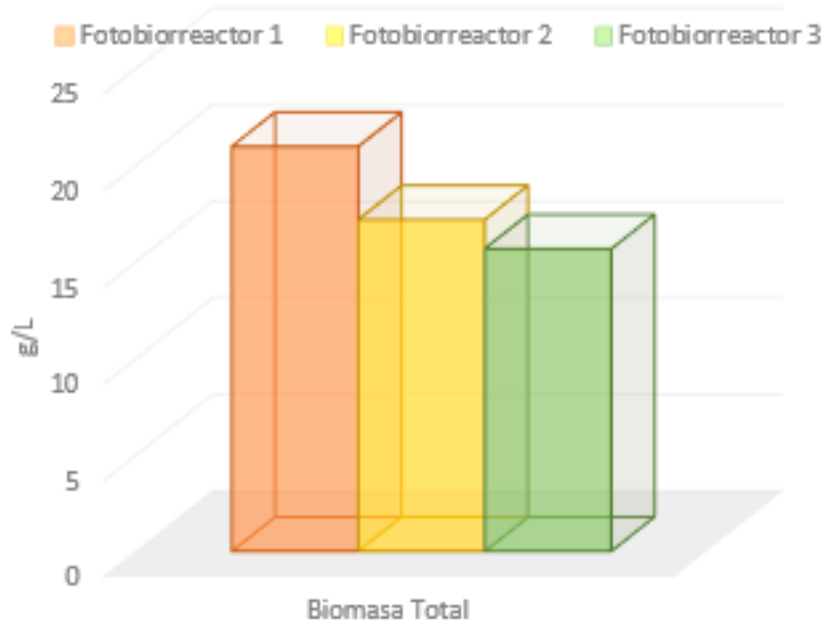


Figura 3.6 Biomasa total de *Dunaliella sp*

3.4.3.2 pH

Spirulina Máxima

El comportamiento del pH se mantuvo dentro de los valores aceptables para esta microalga (7 y 10). En la Figura 3.7 se presentan los resultados del monitoreo de pH para la microalga *Spirulina Máxima*, en la corrida sin tratamiento en el fotobiorreactor 1 se observó un aumento de pH significativo, mientras que en el fotobiorreactor 3 pH disminuyó; esto se debe al incremento de biomasa, cada fotobiorreactor tuvo una proporción de alimentación diferente y por lo tanto un incremento de biomasa distinto. Por otra parte se observó que en la corrida con tratamiento el pH se mantiene constante en los tres fotobiorreactores pero este no afectó en su crecimiento microalgal.

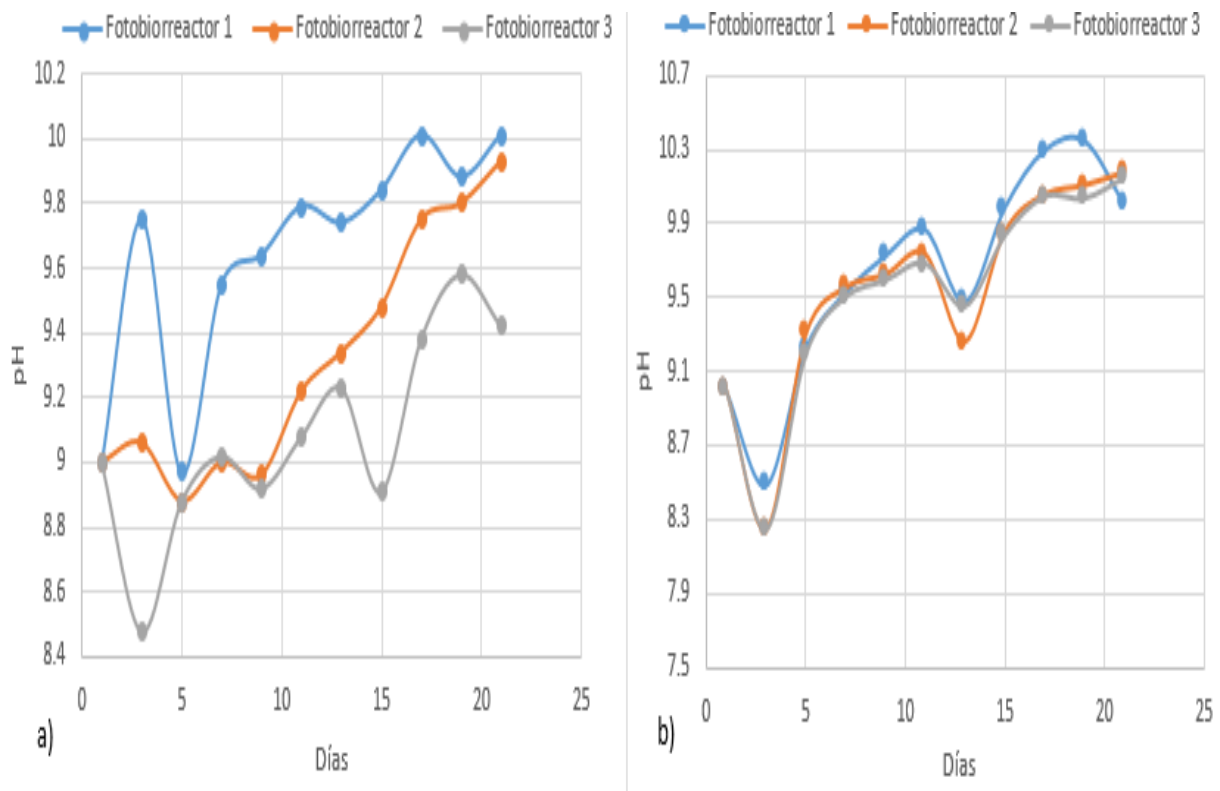


Figura 3.7 a) Comportamiento de pH en corrida sin tratamiento y b) comportamiento de pH en corrida con tratamiento en *Spirulina Máxima*

Dunaliella sp

El comportamiento de pH para la *Dunaliella sp* es entre 7.5 y 8.4 encontrándose en un medio salino. En la Figura 3.8 se muestra el comportamiento del pH para los días de operación en el que se puede observar que los tres fotobiorreactores se encuentran dentro del rango de crecimiento de la microalga, sin embargo no tiene un comportamiento estable debido al incremento y disminución de temperatura que al aumentar el pH disminuye e inversamente.

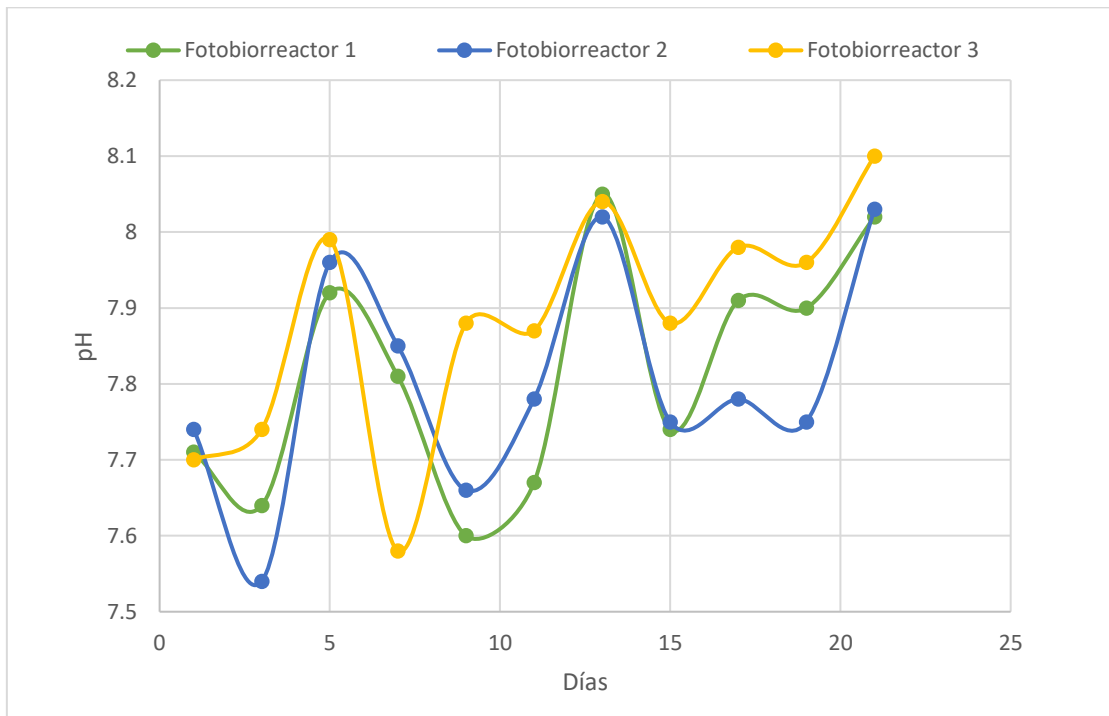


Figura 3.8 Comportamiento de pH con *Dunaliella sp*.

Benavente-Valdés *et al.*, (2012) demostraron que cuando existe un crecimiento óptimo de microalgas el pH tiende a incrementar debido a la acumulación de minerales y la oxidación de nutrientes.

3.4.3.3 Densidad celular

Spirulina Máxima

En la Figura 3.9 se presenta el incremento de la densidad celular de la microalga *Spirulina Máxima*, se observó un mayor incremento en el fotobiorreactor 1 para ambas corridas con y sin tratamiento, esto se debe a que existió una mayor degradación de materia orgánica y el crecimiento microalgal fue mayor.

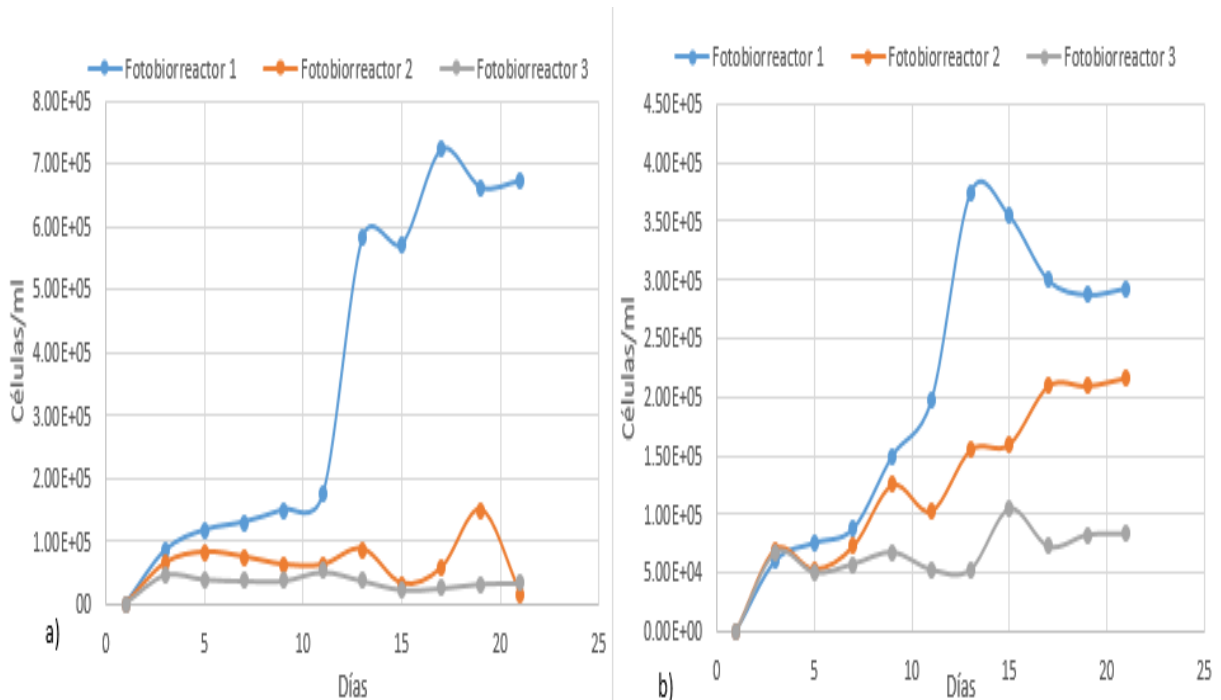


Figura 3.9 Incremento celular a) corrida sin tratamiento y b) corrida con tratamiento en *Spirulina Máxima*

Dunaliella sp

En la Figura 3.10 se muestra el crecimiento celular de la microalga durante los 21 días de operación, en el que nuevamente se observa un crecimiento importante en el fotobiorreactor 1 con el 20% de lodo porcícola pero sin descartar el crecimiento del fotobiorreactor 2 y 3 respectivamente. Es importante mencionar que este crecimiento se dio debido a que se mantuvo la temperatura constante mediante una lámpara incandescente porque la microalga se encuentra en entre 20 y 24 °C.

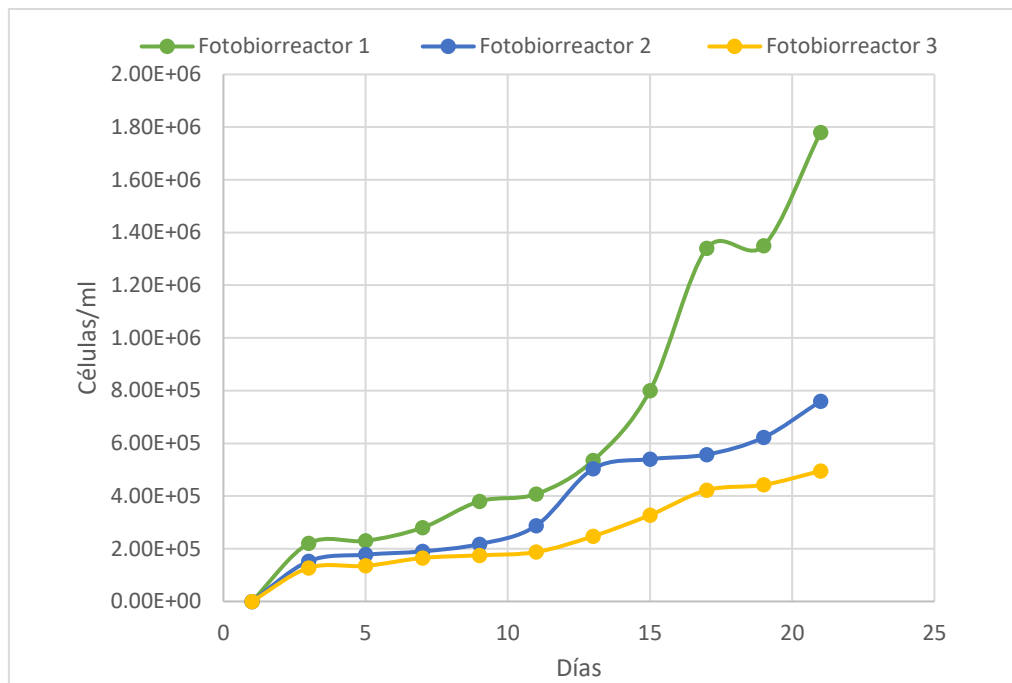


Figura 3.10 Incremento celular con *Dunaliella sp.*

En el capítulo 1 se mencionó la temperatura adecuada para el crecimiento de las microalgas; la cual se encuentra entre 20 y 24 °C, pero a temperaturas menores de 16 °C el crecimiento disminuye, mientras que a temperaturas mayores de 35 °C es letal para la mayoría de las microalgas. Una ventaja son los periodos de luz:oscuridad, ya que en la luz el cultivo tiene un mayor incremento celular, por lo que resulta un recurso energético eficiente para el cultivo a altas densidades celulares.

3.4.3.4 DQO

Spirulina Máxima

La concentración de DQO representa la remoción de materia orgánica en cada uno de los fotobiorreactores. En la Figura 3.11 se representa la disminución de la concentración de DQO cuyo valor inicial es 55.6 g/L. Dicha concentración disminuye lo cual resulta favorable, en la corrida sin tratamiento a partir del quinto día el fotobiorreactor 1 y 2 se mantienen estables a lo largo del periodo de operación después

de alcanzar su mínima concentración de DQO mientras que el fotobiorreactor 3 sigue en descenso. De la misma forma en la corrida con tratamiento las muestras se mantienen estables a partir del quinto día y llegan a una concentración de DQO mínima y favorable. Para aguas residuales la mejor disminución de la concentración de DQO se alcanza en el día 35 siendo de 36.8 mg/L Pire-Sierra *et al.*, (2016), en cambio en la operación de los fotobiorreactores se alcanza al día 21 una concentración de 8.9 mg/L.

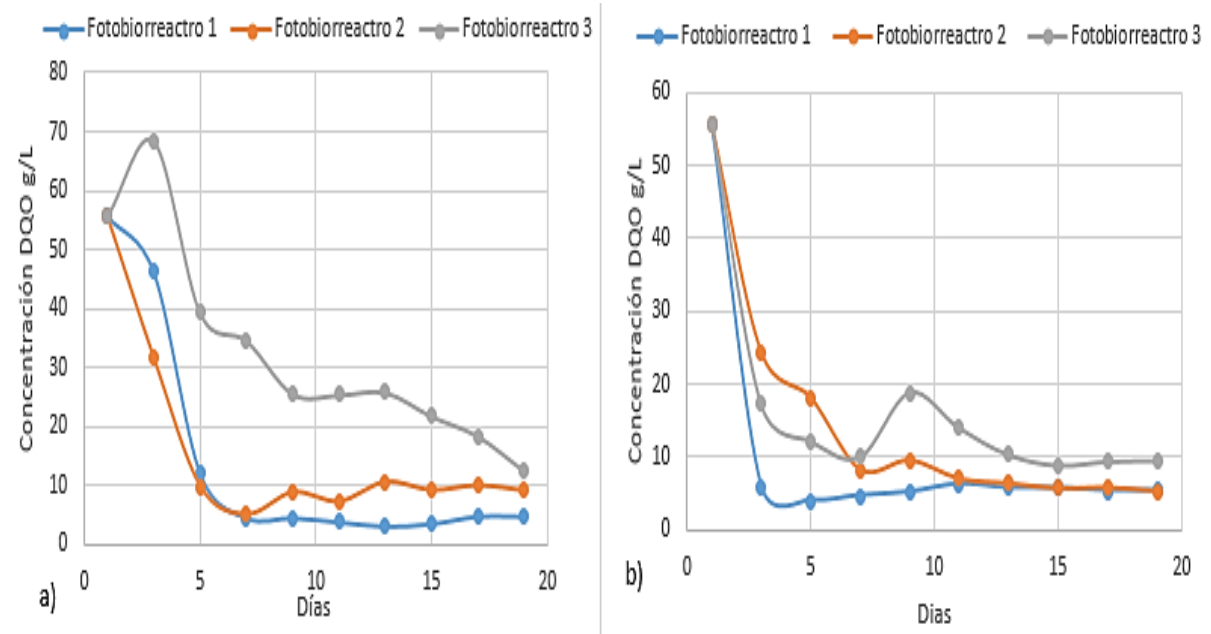


Figura 3.11 Disminución de DQO a) corrida sin tratamiento y b) corrida con tratamiento con *Spirulina Máxima*

Dunaliella sp

En la Figura 3.12 se presenta la disminución de DQO para la *Dunaliella sp*, se observa que la menor DQO se encuentra presente en el fotobiorreactor 1 llegando a los 21 g/L en el día 21, los fotobiorreactores 2 y 3 presentan disminución importante debido a la carga y a que la microalga se encuentra en un medio salado y esto hace más lento pero importante la disminución de DQO. Cobos-Becerra, et al., (2011) alcanzaron una disminución de concentración de DQO de 36 g/L en condiciones aerobias para aguas residuales, esto contribuye a que cuando existe una baja carga orgánica la biomasa aumenta.

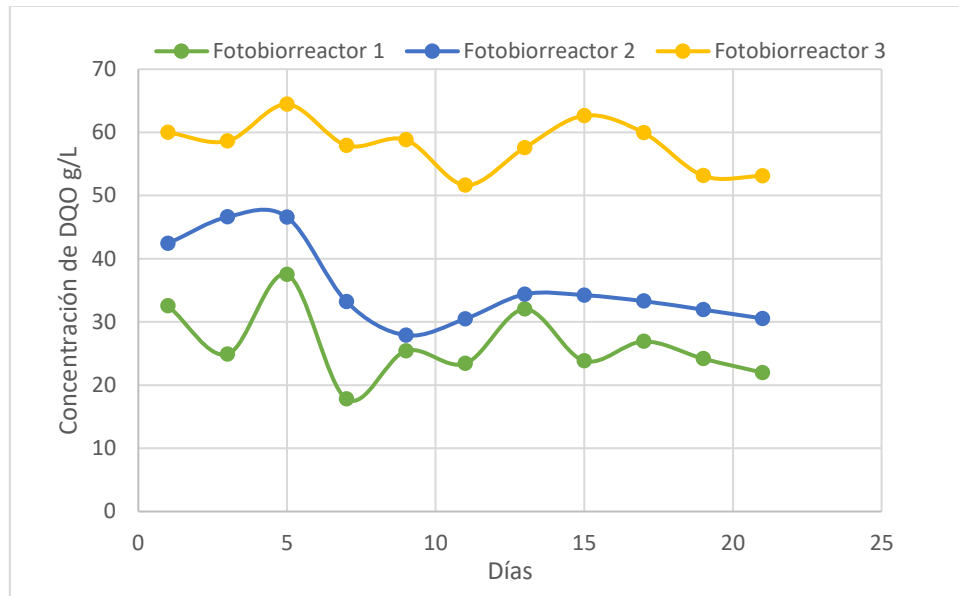


Figura 3.12 Disminución de concentración de DQO con *Dunaliella sp.*

3.4.3.5 % remoción de STV

Spirulina Máxima

En cuanto al porcentaje de remoción de sólidos totales en la Figura 3.13 se representa la remoción de materia orgánica en las tres muestras para las dos corridas con y sin tratamiento, la cual se cuantificó con los parámetros de sólidos totales y volátiles según el método descrito en la Tabla 2.1, así mismo se trabajó conforme a la NOM-004-SEMARNAT-2002. Se concluye que la mejor remoción fue la muestra 1 con y sin tratamientos, mientras que las demás muestras son óptimas ya que durante el periodo de operación logran alcanzar el 38 % de remoción con lo indica la norma ya mencionada. Esta remoción es de acuerdo a la disminución de concentración de DQO, mientras exista una mayor reducción de materia orgánica mayor remoción ocurrirá.

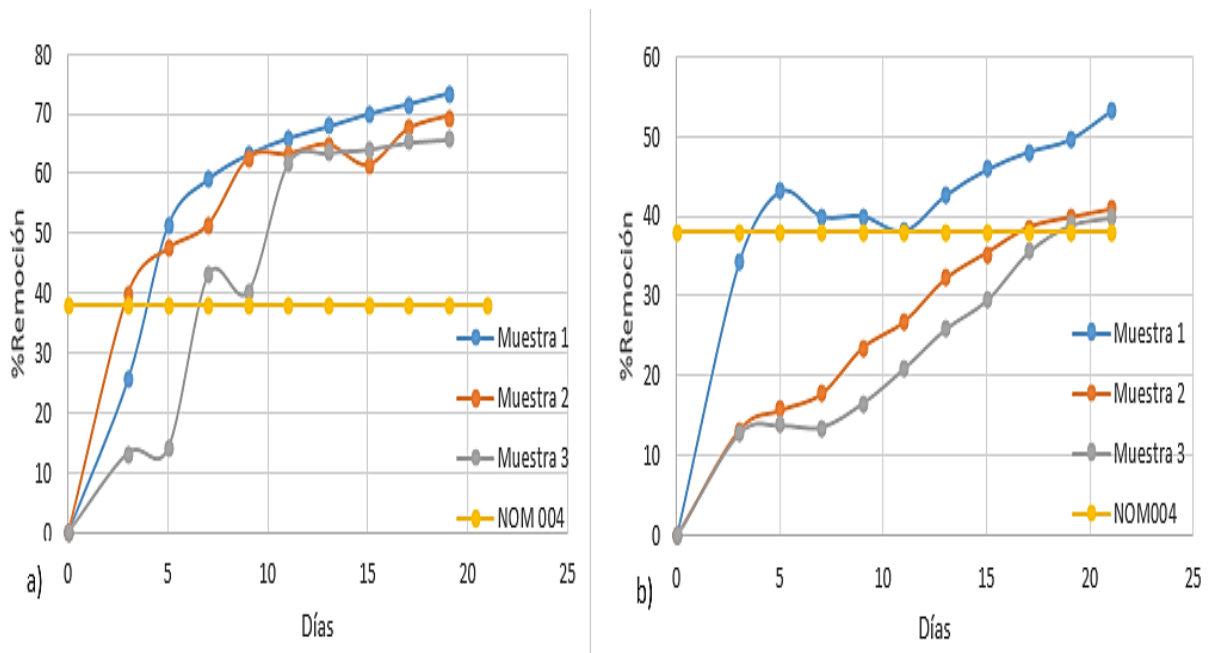


Figura 3.13 % Remoción en base a STV a) corrida sin tratamiento y b) corrida con tratamiento con *Spirulina Máxima*

Dunaliella sp

La Figura 3.14 representa el porcentaje de remoción en base a STV con *Dunaliella sp*, en la que la mayor remoción de materia orgánica se presenta en el fotobiorreactor 2 alcanzando el 45 % de la misma de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 esto se debe a que se encuentra en un equilibrio óptimo de materia orgánica y alga 50/50 % respectivamente. Sin embargo el fotobiorreactor 1 y 2 no lograron alcanzar una remoción mayor a la norma ya mencionada pero es significativa debido a la biomasa generada y a los nutrientes que contiene, cabe señalar que el agua utilizada en los fotobiorreactores es salada y esto genera una mayor cantidad de sólidos que se ven presentados en las remociones de los mismos.

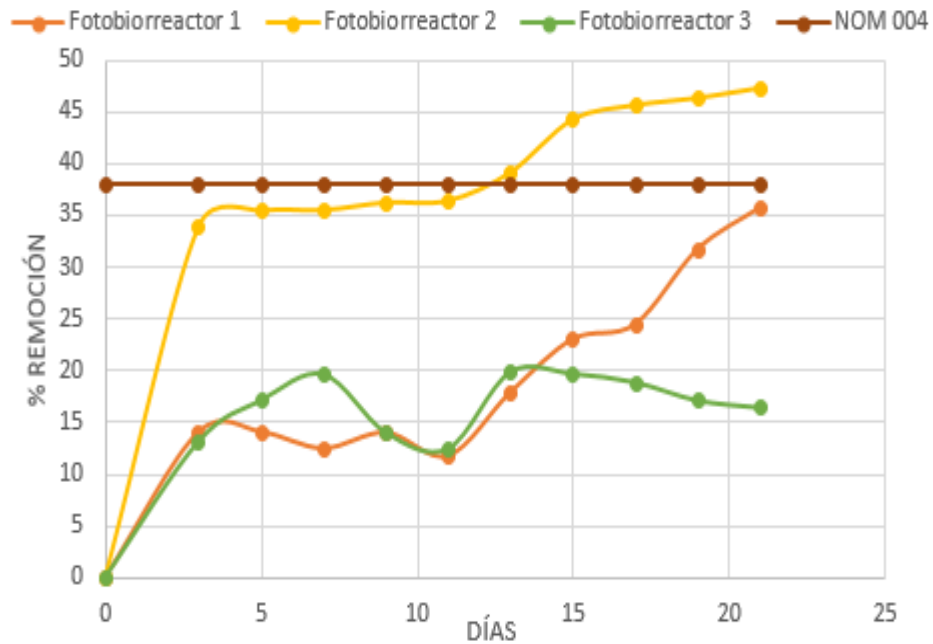


Figura 3.14 % Remoción en base a STV con *Dunaliella sp.*

3.5 Etapa 3: Pruebas de consumo de fósforo con algas

Spirulina Máxima

Los residuos porcícolas presentan una alta cantidad de fósforo, para determinar el porcentaje de remoción del mismo se realizó por el método 4500-PB Digestión con Ácido sulfúrico-Ácido nítrico. En la Figura 3.15 se presentan los porcentajes de remoción de fósforo en los 21 días de operación, la mayor remoción se obtuvo en el fotobiorreactor 1 sin tratamiento alcanzando un 47 % de remoción, Arias-Martínez *et al.*, (2010) lograron remover cerca de 11.63 % de fósforo en aguas residuales porcícolas. De la misma forma las demás muestras con y sin tratamiento presentaron remoción en menor porcentaje pero igualmente significativas, dichas remociones son menores debido a las diferentes proporciones de alimentación del residuo porcícola en cada fotobiorreactor presentado en la Tabla 3.4.

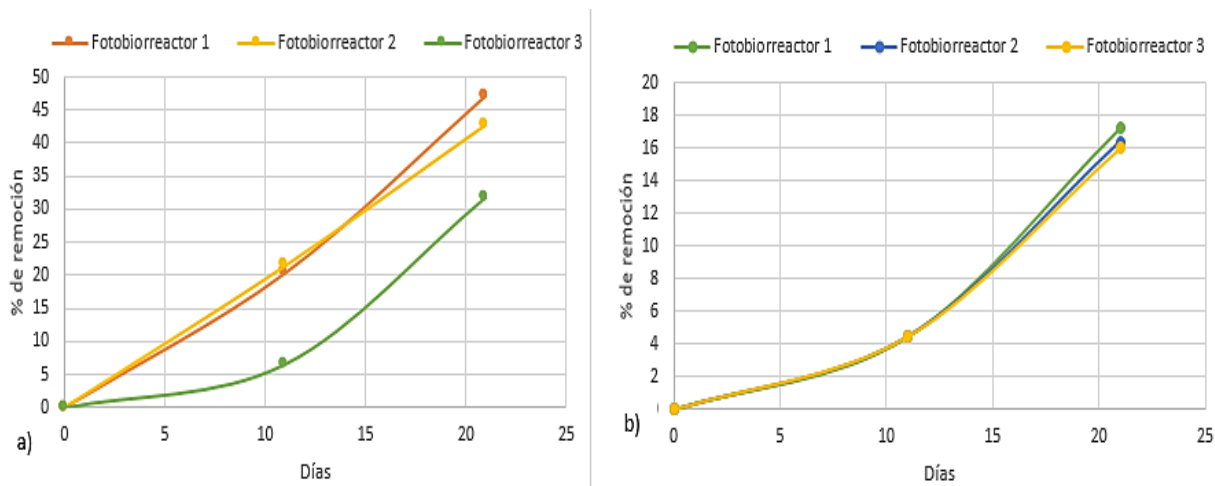


Figura 3.15 Pruebas de consumo de fósforo a) sin tratamiento y b) con tratamiento en *Spirulina Máxima*

Se llevó a cabo un análisis de varianza mediante el software NCCS 2007, en la cual se confirma la mejor proporción de alimentación para la remoción de fósforo en base al residuo porcícola y a los nutrientes que contiene como alimento para el cultivo algal, el diseño experimental fue el reportado en la Tabla 2.4 para la especie de *Spirulina Máxima* para ambas corridas con y sin tratamiento, la Figura 3.16 muestra el ANOVA obtenido lo que nos indica que existe una diferencia significativa en las tres proporciones de alimentación.

Analysis of Variance Table						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	1	0.025886	0.025886	39.94	0.001462*	0.998340
B: Alimentacion	2	0.036972	0.018486	28.52	0.001844*	0.998035
AB	2	0.030484	0.015242	23.51	0.002863*	0.992917
S	5	0.003241	0.0006482			
Total (Adjusted)	10	0.1076716				
Total	11					

* Term significant at alpha = 0.05

Figura 3.16 ANOVA de cinéticas con *Spirulina Máxima*

La Figura 3.17 muestra que la alimentación al 20 % sin tratamiento tiene menor presencia de fósforo teniendo una mayor remoción y por lo tanto se confirma que es la mejor dosis de alimentación.

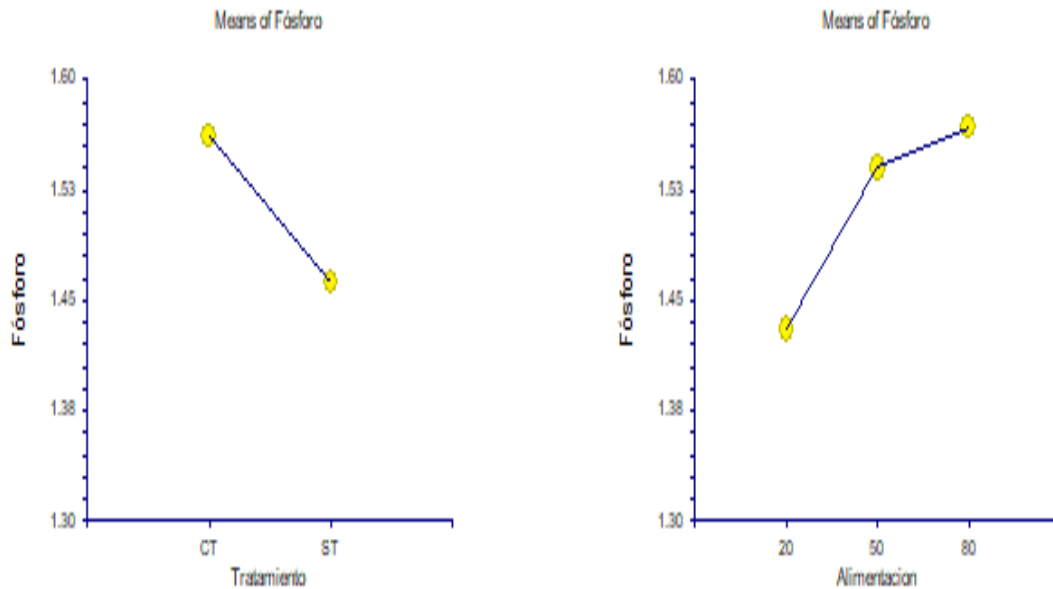


Figura 3.17 Gráficas de los tratamientos en NCSS con *Spirulina Máxima*

Dunaliella sp

Para determinar el porcentaje de remoción de fósforo se realizó por el método 4500-PB Digestión con Ácido sulfúrico-Ácido nítrico. En la Figura 3.18 se presenta la remoción de fósforo en la que se observa 97 % para el fotobiorreactor 1, sin embargo el fotobiorreactor 2 y 3 presentan una remoción significativa del 57 y 54 % respectivamente, esta remoción es mayor a la obtenida con la *Spirulina Máxima* en los mismos días de operación.

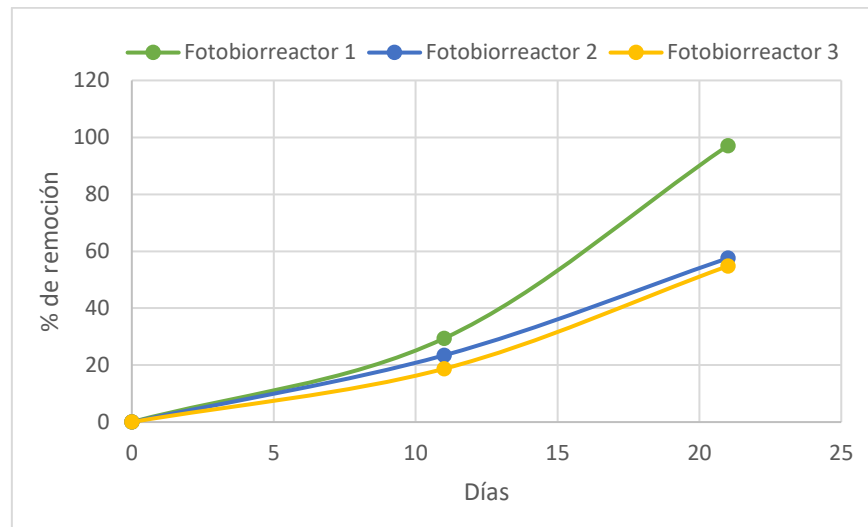


Figura 3.18 Pruebas de consumo de fósforo con *Dunaliella sp.*

Barthel, et al., (2017) logran el proceso de eliminación de sustancias orgánicas y el aprovechamiento de nutrientes tales como las concentraciones nitrogenadas y fósforo a partir de la microalga *Chlorella sp* y obtienen una alta producción de biomasa para la generación de productos amigables para el medio ambiente.

En lo que representa al análisis estadístico para la *Dunaliella sp* se empleó un diseño unifactorial presentado en la Tabla 2.5 utilizando como variable de respuesta el fósforo final. La Figura 3.19 representa el ANOVA del análisis obteniendo una $F_{calculada}$ de 3796.87 por lo que la dosis resulta ser significativa en la remoción de fósforo.

Analysis of Variance Table						
Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Alimentacion	2	0.3872803	0.1936402	3796.87	0.000008*	1.000000
S	3	0.000153	0.000051			
Total (Adjusted)	5	0.3874333				
Total	6					

* Term significant at alpha = 0.05

Figura 3.19 ANOVA de cinéticas con *Dunaliella sp.*

La Figura 3.20 muestra las tres proporciones de alimentación, se observa que la menor presencia de fósforo se encuentra con la dosis al 20 % siendo esta la mejor dosis para la remoción de fósforo con la microalga *Dunaliella sp.*

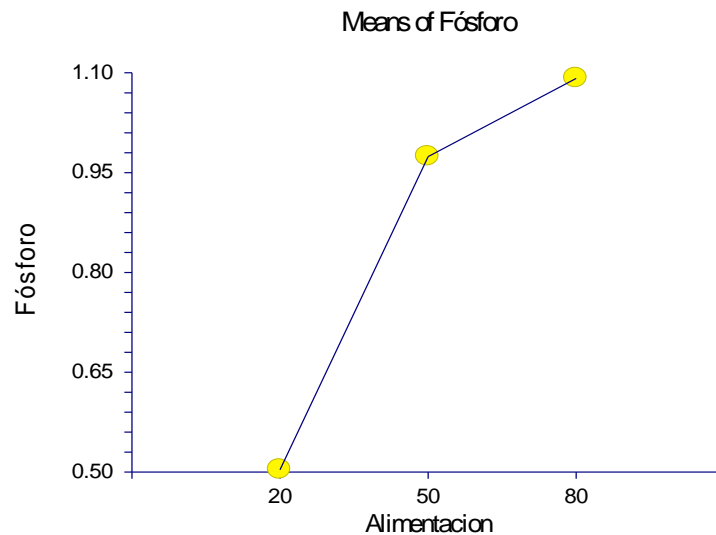


Figura 3.20 Gráficas en NCSS con *Dunaliella sp*

3.6 Etapa 4: Caracterización del residuo tratado y evaluación de la calidad

En esta etapa se realizó una segunda caracterización fisicoquímica del residuo pocícola tratado tanto en la digestión anaerobia y en la propagación de las especies *Spirulina Máxima* y *Dunaliella sp.*

En la Tabla 3.5 se presenta la caracterización del residuo porcícola en digestión anaerobia en el cual se observó una reducción considerable de los parámetros fisicoquímicos evaluados favorables para las diferentes COA. Entre los parámetros evaluados destacan nitrógeno total y fósforo, en la cual la COA 5 presenta una reducción significativa en los mismos, esto se debe a que existe una degradación de materia orgánica óptima y se reflejó en la caracterización final de las diferentes COA.

Tabla 3.5 Caracterización final de residuo porcícola en digestión anaerobia

Parámetro Físicoquímicos	Residuo Porcícola Inicial	COA 1 Final	COA 5 Final	COA 10 Final
pH	6.97	7.1	7.6	7.9
Sólidos Totales (%)	3.2021	2.54	3.65	3.79
Sólidos Totales Volátiles (%)	72.7778	54.61	59.64	58.4
Nitrógeno Total (g/kg ST)	18.418	0.13	0.2	0.14
Fósforo (%)	1.36	0.094	0.064	0.098

En las Tablas 3.6 y 3.7 se presenta la caracterización final de la microalga *Spirulina Máxima* con y sin tratamiento, en la cual los mejores resultados se presentan en el fotobiorreactor 1 al 20 % para ambos casos, sin embargo los fotobiorreactores al 50 y 80 % también representan una reducción significativa en los sólidos totales y volátiles así como la remoción de fósforo y nitrógeno.

Tabla 3.6 Caracterización final de residuo porcícola con *Spirulina Máxima* sin tratamiento

Parámetro Físicoquímicos	Residuo Porcícola Inicial	<i>Spirulina Máxima</i> final	<i>Spirulina Máxima</i> final	<i>Spirulina Máxima</i> final
		20 %	50 %	80 %
pH	6.97	9.88	9.8	9.58
Sólidos Totales (%)	3.2021	1.54	1.88	1.23
Sólidos Totales Volátiles (%)	72.7778	44.21	43.22	56.49
Nitrógeno Total (g/kg ST)	18.418	0.64	0.89	0.71
Fósforo (%)	1.36	0.065	0.070	0.089

Tabla 3.7 Caracterización final de residuo porcícola con *Spirulina Máxima* con tratamiento

Parámetro Físicoquímicos	Residuo Porcícola Inicial	<i>Spirulina Máxima</i> final	<i>Spirulina Máxima</i> final	<i>Spirulina Máxima</i> final
		20 %	50 %	80 %
pH	6.97	9.8	9.93	9.42
Sólidos Totales (%)	3.2021	3.09	3.20	3.20
Sólidos Totales Volátiles (%)	72.7778	56.49	57.99	59.88
Nitrógeno Total (g/kg ST)	18.418	0.38	0.65	0.70
Fósforo (%)	1.36	0.076	0.079	0.08

En la Tabla 3.8 se presenta la caracterización final del residuo tratado con *Dunaliella sp*, en la cual se reflejan los mejores resultados en el fotobiorreactor 1 al 20 % principalmente el porcentaje de fósforo que se encuentra en el lodo final por lo que se encontró la dosis óptima de residuo porcícola que la microalga necesita para llegar a su mejor crecimiento, remoción de nutrientes y producción de biomasa.

Tabla 3.8 Caracterización final de residuo porcícola con *Dunaliella sp*.

Parámetro Físicoquímicos	Residuo Porcícola Inicial	<i>Dunaliella sp</i> final	<i>Dunaliella sp</i> final	<i>Dunaliella sp</i> final
		20 %	50 %	80 %
pH	7.97	7.02	7.03	7.01
Sólidos Totales (%)	3.2021	3.01	3.12	3.15
Sólidos Totales Volátiles (%)	72.7778	56.78	57.6	58.1
Nitrógeno Total (g/kg ST)	18.418	0.38	0.65	0.70
Fósforo (%)	1.36	0.02	0-049	0.048

Finalmente en un digestor anaerobio se puede obtener biogás que puede ser empleado en una planta para sustituir gas licuado u otra variante. Por otra parte la biomasa obtenida de las microalgas puede venderse como abono y acondicionador o mejorador de suelo, en esta alternativa hay gasto energético en el funcionamiento de los fotobiorreactores y en el procesamiento de la biomasa pero se reportan beneficios al obtener una biomasa rica en proteínas y vitaminas, un residuo porcícola depurado para diversos usos y biogás.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- ❖ La caracterización fisicoquímica del residuo porcícola determinó el grado de contaminación inicial del mismo, para conocer la cantidad de nutrientes que contiene, principalmente el fósforo para el aprovechamiento del cultivo algal.
- ❖ El tratamiento alcalino para el control del pH contribuyó en el cultivo algal asimila de manera más rápida y sencilla las corrientes contaminadas de los residuos porcícolas.
- ❖ Los porcentajes de remoción de materia orgánica (ST/SV) de las corridas con y sin tratamiento son favorables, se alcanzó al 38 % de remoción como lo indica la NOM-004-SEMARNAT-2002 dentro del periodo de operación establecido.
- ❖ Las diferentes proporciones de alimentación contribuyen a evaluar la factibilidad de remoción de fósforo contenido en la excreta porcina para un mismo volumen operacional, a su vez, la obtención masiva de microalgas logran generar productos químicos de alta pureza como mejorador de suelos, en la industria alimenticia y fármacos.
- ❖ Se logró determinar la dosis recomendada del residuo porcícola como fuente de nutriente, la cual, tuvo mayor remoción de fósforo y un crecimiento adecuado de la especie, esta dosis corresponde a 20 % lodo y 80 % agua sin pretratamiento.
- ❖ La remoción combinada de nutrientes permite lograr con éxito el cultivo algal a través de residuos de alta carga orgánica como son los residuos porcícolas, sin

embargo la recuperación de dichos nutrientes dependen de las condiciones de pH, temperatura y concentración proteica.

- ❖ La remoción de residuos porcícolas contribuyen a no generar formación de gases de efecto invernadero (CO₂), pero permiten generar un biogás amigable al medio ambiente con la degradación del residuo y el aprovechamiento de los nutrientes.
- ❖ Trabajos realizados por Ruiz (2011) demuestran que altos contenidos de nitrógeno y fósforo presentes en el residuo porcícola favorecen la producción de biomasa al ser los principales nutrientes de las microalgas *Spirulina Máxima* y *Dunaliella sp* para su crecimiento.
- ❖ Los resultados presentados indican que el cultivo de microalgas adicionadas con una alta carga de materia orgánica ofrecen tratamiento a la misma, adicionando una producción de biomasa microalgal la cual es beneficiosa en sectores como agricultura, medicina, alimentación entre otras por su gran valor nutricional.

Recomendaciones

- Obtener una caracterización fisicoquímica detallada sobre el contenido de la biomasa generada a partir del residuo porcícola y así poder determinar el uso directo o indirecto hacia los humanos y/o animales.
- Realizar diferentes geometrías de fotobiorreactores, periodos de fotoluz-oscuridad y burbujeo para alcanzar una mejor homogenización de los nutrientes con las microalgas.
- Comparar diferentes especies de microalgas para evaluar el grado de bioconversión.
- Tener periodos en modo semi-continuo para estudiar la rentabilidad de la generación de biomasa a largo plazo y la generación de biogás en cada uno de los fotobiorreactores y en las diferentes proporciones de alimentación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referencias bibliográficas

Acacio-Chirino, N., Zumala, L. y Almera-Medina, J., 2013. Desarrollo de un procedimiento para la extracción de β -caroteno y glicerol a partir de la microalga *Dunaliella* Sp en la salina Las Cumaraguas. *Revista Cubana de Química*, **25**(2): 214-228.

Arias-Martínez, S., Betancur, F., Gómez, G., Salazar, J. y Hernández M., 2010. Phytoremediation with artificial wetlands for the treatment of swine wastewater. *Informador Tecnico (Colombia)*,**74**:12-22.

Barthel, L., Victoria de Oliveira, A. y Ribeiro, H., 2017. Plankton biomass in secondary ponds treating piggery waste. *Brazilian Archives of biology and technology*, **51**(6): 1287-1298.

Benavente-Valdés, J., Aguilar, C., Méndez-Zavala, A. y Valdibia, B., 2012. Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. *Revista Científica de la Universidad Coahuila*, **4**(7):23-27.

Berelleza Robles, L., Armendáriz Tapia, F. y Pérez Fabiel, S., 2016. Biogas generation from organic waste of thw dining romm of the University of Sonora. *EPISTEMUS*, **20**:5-13.

Blaustein, R., Dao, T., Pachepsky, Y. y Shelton, D., 2017. Differential release of manure-borne bioactive phosphorus forms to runoff and leachate under simulated rain. *Journal of Environmental Management*, **19**:2309-318.

Boriwitzka, M. y Siva, C., 2007. La taxonomía del genero *Dunaliella*. *Journal of Applied Phycology*, **19**:567-590.

Castillo Borges, E., Bolio Rojas, A., Méndez Novelo, R. y Pat Canul, R., 2012. Remoción de materia orgánica en aguas residuales de rastro por el proceso de Contactor Biológico Rotacional. *Revisa Academia de la FI-UADY* , **16**(2):83-91.

Calderón-Bautista, M. 2017. Producción de *Chlorella spp.* y *Spirulina Máxima* en el tratamiento de residuos de las industrias: avícola, porcícola y azucarera.. Tesis de grado. Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. I. T. de Orizaba. México.

Caballero-García, M. 2013. Desarrollo del proceso de bioconversión del CO₂ en biogás a O₂ y biomásas a partir de microalgas. Tesis de grado. Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. I. T. de Orizaba. México.

Chen, C. Gang-Jin, D., Liang-Wei, D., Yan, L. y Zhan-Hui, F., 2015. Continuous dry fermentation of swine manure for biogas production. *Waste Managment*, **38**:436-442.

Cobos-Becerra, Y., Gonzalez-Martinez, S. y Gonzalez-Barcelo, O., 2011. Aerobic granules wastewater ammonia nitrogen and nitrate removal. *Revista Aidis*, **4**(1), 1-11.

Domínguez-Araujo, G., Galindo-Barbosa, G., Barrera-Camacho, G. y Sánchez-García, F., 2014. Las excretas porcinas como materia prima para procesos de reciclaje utilizados en actividades agropecuarias. *Mexico*: (6):22-31

Domínguez-García, S. 2014. Evaluación del desempeño de la *Chlorella spp* y *Spirulina máxima* en el proceso de bioconversión de CO₂ contenido en biogás y biomásas. Tesis de grado. Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. I. T. de Orizaba. México.

Ekpo, U., Ross, A., Camargo-Valero, M. y Fletcher, L., 2016. Influence of pH on hydrothermal treatment of swine manure: Impact on extraction of nitrogen and phosphorus in process water. *Bioresource Tecnology*, 214:637-644.

Escalante-Estrada, V. y Garzón-Zuñiga, M., 2011. Opciones de tratamiento para aguas residuales de tres grajas porcícolas. *Ingenieria Aricola y biomásas*, **2**(2):87-90.

Escalante-Estrada, V., Garzón-Zuñiga, M. y Valle-Cervantes, S., 2012. Remoción de macronutrientes en el tratamiento de aguas residuales porcícolas. *Ra Ximhai*, **8**(3): 75-82.

Fernández, M., Ávalos, A., Crombet, S. y Caballero, H., 2010. Anaerobic biodegradability of wastewaters of soybean oil refining plant. *INTERCIA*, **35**(8): 600-604.

Fimbre, D., Mercado, L., Murgia, A. y López, J., 2010. Crecimiento y biomasa de *Dunaliella* sp. cultivada en medios limitantes en nitrógeno. *Biotechnia*, **12**(3):58-66.

Gómez, A. López, A., Rodríguez, A., Fortiz, J., Martínez, L., Apolinar, A. y Enríquez, L., 2016. Production of phenolic compounds by four species of marine microalgae under different light conditions. *Latin America Journal of Aquatic Research*, **44**(1): 137-143.

Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Pp 26-60. *In*: Smith W.L. & M.H. Chanley (Eds.). *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, USA.

Guillard, R.R.L. y J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve. *Canadian Journal of Microbiology* **8**: 229-239.

González-Sánchez, M., Pérez-Fabiell, S. y Wong-Villarreal, A., 2015. Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia. *Revista de Argentina de Microbiología*, **3**(47):229-235.

INEGI. 2016. Estadísticas del medio ambiente. www.inegi.org.mx

Liang, X., Jin, Y., Sheng, W. y Guangming, T., 2017. Composition of phosphorus species and phosphatase activities in a paddy soil treated with manure at varying rates. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **213**:173-180.

López-Elias, J., Fimbres-Olivarría D., Medina-Júarez, A., Miranda-Baeza, A. y Martínez-Córdova, L.R., 2013. Production of biomass and carotenoids of *Dunaliella*

tertiolecta in nitrogen-limited cultures. *International Journal of Experimental Botany*, **82**(1):23-30.

Huang, W. Zhao, Z., Yuan, T., Lei, Z., Cai, W., Huifang, L. y Zhang, Z., 2016. Effective ammonia recovery from swine excreta through dry anaerobic digestion followed by ammonia stripping at high total solids content. *Biomass and Bioenergy*, 90:139-147.

Manríquez-Vergara , P., 2010. El fósforo en nutrición animal, España: Grupo Omega de nutrición animal. Disponible en: <http://www.g-omega.com>

Martínez, M., 2015. Producción potencial de biogás empleando excretas de ganado porcino en el estado de Guanajuato. *Nova Scientia*, **7**(15): 96-115.

Medina-Felix, D., López-Elías, J., Martínez-Córdova, L., López-Torres, M., Hernández-López, J., Rivas-Vega, M., y Mendoza-Cano, F., 2014. Evaluation of the productive and physiological responses of *Litopenaeus vannamei* infected with WSSV and fed diets enriched with *Dunaliella* sp.. *Journal of Invertebrate Pathology*, 117:9-12.

Medina, J., Piña, M., Arzola, J. y Guerrero, M., 2012. La importancia de las microalgas. *CONABIO*, 103:1-5.

Mixson, S. y Burkholder, J., 2017. Environmental stressors and lipid production in *Dunaliella* spp, nutrients, pH and light under or low salinity. *Journal of Experimental Marine*, 487: 33-44.

Molina, L. L. 2008. Influencia de la salinidad, irradiancia y concentración de nutrientes sobre el crecimiento de la microalga *Rhodospirillum rubrum*: Caracterización de su flora bacteriana asociada. Tesis de grado. Universidad del Zulia. Venezuela.

Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996. Estable los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario Oficial de la Federación.

Niño-López, L., Acosta-Cádenas, A. y Gelves-Zambrano, R., 2013. Evaluación de pretratamientos químicos para la hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Facultad de Ingeniería*, **69**:317-326.

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

Piere-Sierra, Cegarra-Badell y Carrasquero-Ferrer, 2016. Nitrogen and COD removal from tannery wastewater using biological and physicochemical treatments. *Revista Facultad de Ingeniería*, **80**:63-73.

Ramón, J., Romero, L. y Simanca, L., 2012. Design of biodigester of garbage can to obtain gas methane and fertilizers to leave of the fermentation of excrements of pig. *Revista Ambiental: Agua, Aire y Suelo*, **1**(1): 15-23.

Rezende, R., Fernández, O. y Medeiros, J., 2016. Cultivation of *Spirulina Maxima* in medium supplemented with sugarcane vinasses. *Bioresource Technology*, **204**: 38-48.

Rodríguez, C. A. R. y Triana, S. F. C. 2006. Evaluación del pH en el cultivo de *Spirulina* spp. (= *Arthrospira*) bajo condiciones de laboratorio. Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.

Romo, P. A. K. 2001. Manual para el cultivo de microalgas. Memoria técnica profesional. UABCS.

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.

Soares Chao, I., Yabroudi, C. y Morita, D., 2011. Phosphorus removal from stabilization lagoon effluents using water treatment plant sludge. *Interciencia*, **36**(10): 774-778.

Solovchenko, A., Verschoor, A., Jablonowski, N. y Nedbal, L., 2016. Phosphorus from wastewater to crops: An alternative path involving microalgae. *Biotechnology Advances*, 34: 550-564.

Torres-Durán, Paredes-Carbajal, Zamora-González y Díaz-Zagoya (2009). Historia, nutrición, salud y ecología para generar estrategias de comunicación sobre la *Spirulina Máxima*. Tesis de grado. Maestría en Filosofía de la Ciencia. UNAM, México, D.F.

Tórtora, G. J., Funke, B. R. y Case, C. L. 2007. Introducción a la microbiología. Ed. Médica Panamericana. España.

Varnero, M., Carru, M., Galleguillos, K. y Achondo, P., 2012. Available Technologies for urification of biogas used in power generation. *Informacion Tecnologica*, **23**(2): 31-40.

Wang, Y., Zhang, T., Hu, Q. y Tan, C., 2016. Phosphorus source coefficient determination for quantifying phosphorus loss risk of various animal manures. *Geoderma*, 278: 23-31.

Weiland, P., 2010. Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85: 849-860.

Zhang, B. y Chen, S., 2015. Effect of different organic matters on flocculation of *Chlorella sorokiniana* and optimization of flocculation conditions in swine manure wastewater. *Bioresource Technology*, 192: 774-780.